

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

МИКИТЕНКО АНДРІЙ ОЛЕГОВИЧ

УДК: 616.36:615.099-07-085

ДИСЕРТАЦІЯ

**РОЛЬ H_2S В ПАТОГЕНЕЗІ РОЗВИТКУ АЛКОГОЛЬНОГО
УШКОДЖЕННЯ ПЕЧІНКИ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

22 – Охорона здоров'я

222 – Медицина

Подається на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук

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

_____ А.О. Микитенко

ПОЛТАВА 2025

АНОТАЦІЯ

Микитенко А.О. Роль H_2S в патогенезі розвитку алкогольного ушкодження печінки. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 «Патологічна фізіологія» - Полтавський державний медичний університет, Полтава, 2025. – Харківський національний медичний університет МОЗ України, Харків, 2025.

Дисертація присвячена вивченню механізмів участі сірководню та його метаболітів у розвитку алкогольного ушкодження печінки.

Мета дослідження полягала у з'ясуванні ролі H_2S та його метаболітів за умов модуляції транскрипційного фактора NF- κ B та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази в етанол-індукованому ушкодженні печінки.

Завданнями дослідження стали: дослідження зміни показників прооксидантно-антиоксидантного балансу, системи оксиду азоту, метаболізму екстрацелюлярного матриксу і сірководню в печінці щурів за умов етанол-індукованого ушкодження печінки; оцінка зміни показників прооксидантно-антиоксидантного балансу, системи оксиду азоту, метаболізму екстрацелюлярного матриксу і сірководню в печінці щурів за умов інгібування транскрипційного фактора NF- κ B на тлі етанол-індукованого ушкодження печінки; вивчення впливу бактеріального ліпополісахариду як активатора транскрипційного фактора NF- κ B на показники прооксидантно-антиоксидантного балансу, систему оксиду азоту, метаболізм екстрацелюлярного матриксу і сірководню в печінці щурів за умов моделювання етанол-індукованого ушкодження печінки; дослідження впливу інгібування 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази доксорубіцином на показники прооксидантно-антиоксидантного балансу, систему оксиду азоту, метаболізм екстрацелюлярного матриксу і сірководню в печінці щурів за умов моделювання етанол-індукованого ушкодження печінки; оцінка впливу активації 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази фенформіном на показники

прооксидантно-антиоксидантного балансу, систему оксиду азоту, метаболізм екстрацелюлярного матриксу і сірководню в печінці щурів за умов моделювання етанол-індукованого ушкодження печінки; оцінка дії нанодисперсного діоксиду церію на показники прооксидантно-антиоксидантного балансу, систему оксиду азоту, метаболізм екстрацелюлярного матриксу і сірководню в печінці щурів за умов моделювання етанол-індукованого ушкодження печінки; дослідження впливу модуляції транскрипційного фактора NF- κ B та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази і введення нанодисперсного діоксиду церію на патоморфологічні та морфометричні показники в печінці щурів за умов моделювання етанол-індукованого ушкодження печінки; проведення кореляційного аналізу концентрації сульфід аніонів (S^{2-}) відносно показників прооксидантно / антиоксидантної системи, параметрів метаболізму оксиду азоту і маркерів обміну екстрацелюлярного матриксу печінки за умов моделювання етанол-індукованого ушкодження печінки.

Дослідження були проведені на 144 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-220 г, що знаходилися на стандартному харчовому раціоні та питному режимі згідно зі «Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)». Дослідження на тваринах проводилися відповідно до рекомендацій ARRIVE (Дослідження на тваринах: звіт про експерименти *in vivo*) 2.0 Percie du Sert та ін., 2020) і Посібника з догляду та використання лабораторних тварин (2011).

Комісією з питань біомедичної етики Полтавського державного медичного університету (протокол № 232 від 21.11.2024р) встановлено, що проведені наукові дослідження відповідають етичним вимогам, порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Тваринам моделювали хронічний алкогольний гепатит методом примусової переривистої алкоголізації протягом 5 діб, з повтором через дві доби шляхом внутрішньочеревного введення 16,5 % розчину етанолу на 5 % розчині глюкози, з розрахунку 4 мл/кг маси тіла. Після чого їх переводили на 10 % етанол в якості єдиного джерела пиття (Степанов Ю.М. та ін. 2017) для вивчення біохімічних,

морфометричних та морфологічних змін в динаміці з метою визначення оптимальної тривалості моделювання для вивчення впливу модуляторів хронічного етанол-індукованого ушкодження печінки з вилученням із експерименту щурів під тіопенталовим наркозом шляхом забору крові з правого шлуночка серця на 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 57, 63 добу по 6 тварин в групі.

Модуляцію транскрипційного фактору NF- κ B та АМФ-активованої протеїнкінази протягом 63 діб за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту здійснювали шляхом внутрішньочеревинного введення амоній піролідіндітіокарбамат (ПДТК, *Sigma-Aldrich*, США) у дозі 76 мг/кг 3 рази на тиждень, в якості інгібітора NF- κ B; внутрішньочеревинно вводили як активатор NF- κ B бактеріальний ліпополісахарид (ЛПС) із *S. Typhi* в дозі 0,4 мкг/кг у перший тиждень 3 рази на тиждень, у подальшому 1 раз на тиждень протягом всього експерименту; в якості інгібітора АМФ-активованої протеїнкінази використовували доксорубіцину гідрохлорид (*S.C. Sindan-Pharma S.R.L.*, Румунія), який вводили внутрішньоочеревинно в дозі 1,25 мг/кг 4 рази на тиждень протягом 63 днів; фенформіну гідрохлорид (*Sigma-Aldrich*, USA) як активатор АМФ-активованої протеїнкінази вводили перорально в дозі 10 мг/кг щоденно протягом 63 днів. Нанокристалічний діоксид церію (CeO_2 ; НДЦ) з розміром частинок 2-7 нм був люб'язно наданий академіком Миколою Співаком (Інститут мікробіології і вірусології ім. Заболотного НАН України) нам у вигляді стабілізованого розчину цитрату натрію з концентрацією 140 мкг/мл CeO_2 , який ми вводили за допомогою ендogaстрального зонда у дозі 1 мг/кг щоденно протягом 63 днів на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту.

Контрольній групі тварин проводили ті ж маніпуляції, що і дослідним використовуючи фізіологічний розчин для ін'єкцій та дистильовану воду для перорального введення.

У сироватці крові щурів визначали активність аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази та γ -глутамілтранспептидази (γ -ГГТ) за допомогою діагностичних комплектів (виробник НПП «Філісіт-Діагностика»).

В гомогенаті печінки щурів досліджували показники метаболізму H_2S (концентрації сульфід аніонів (S^{2-}), сульфат аніонів (SO_4^{2-}) та біотіолів), прооксидантно-антиоксидантного балансу (активність каталази, супероксиддисмутази, продукція супероксидного аніон-радикала, концентрація малонового діальдегіду та вміст окисно-модифікованих білків), систему оксиду азоту (загальна активність NO-синтаз та їх ізоформ (індуцибельної та конститутивних), аргіназ, нітритредуктаз і нітратредуктаз, концентрація нітритів, пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів, нітрозотіолів), метаболізм екстрацелюлярного матриксу печінки щурів (загальна концентрація глікозаміногліканів, концентрація окремих фракції глікозаміногліканів (гепарин-гепаранової, кератан-дерматанової і хондроїтинової), вільного L-оксипроліну та сіалових кислот).

Для морфометричних досліджень на світлооптичному рівні судинного русла печінки щурів користувалися окремими вибірками серійних напівтонких зрізів. В кожній групі зрізів визначали середній діаметр просвіту синусоїдних капілярів центральної та периферичної зон печінкових часточок та середній діаметр просвіту центральних вен, міжчасточкових вен та артерій і часточкових венул і артеріол щурів.

В роботі показано, що моделювання хронічного алкогольного гепатиту протягом 63 діб призводить до розвитку оксидативно-нітрозативного стресу при цьому переважаючим шляхом утилізації NO є утворення пероксинітриту. Надмірна продукція активних форм кисню та азоту за умов етанольної інтоксикації призводить до оксидативного ушкодження білкових та ліпідних структур клітин та супроводжується колагенолізом і катаболізмом глікопротеїнів екстрацелюлярного матриксу печінки. Встановлено, що концентрації сульфід аніонів (S^{2-}), сульфат аніонів (SO_4^{2-}) та біотіолів (R-SH) в печінці щурів зростають за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту.

Вперше виявлено, що введення амоній піролідиндітіокарбамату на тлі етанол-індукованого ушкодження печінки знижує інтенсивність оксидативного

ушкодження білкових структур печінки та посилює утворення NO нітрит- та нітратредуктазним шляхом і зменшує його утилізацію в пероксинітрит. Введення амоній піролідіндітіокарбамату на тлі етанол-індукованого ушкодження печінки збільшує утворення NO на тлі зменшення активних форм кисню, сприяє зменшенню деградації екстрацелюлярного матриксу і зниженню концентрації сульфід аніонів (S^{2-}). Введення бактеріального ліпополісахариду на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту призводить до збільшення утворення NO із нітритів зберігаючи переважаючий шлях утилізації надмірного його утворення в пероксинітрит, що призводить до посилення етанол-індукованого ушкодження гепатоцитів та збільшує деградацію екстрацелюлярного матриксу печінки. Роль сірководню в етанол-індукованому ушкодженні печінки не змінюється під впливом бактеріального ліпополісахариду та полягає у нейтралізації активних форм кисню та відновленні біотіолів. Активація NF- κ B бактеріальним ліпополісахаридом призводить до виснаження ендогенних систем синтезу сірководню.

Вперше показано, що введення доксорубіцину на тлі хронічного алкогольного гепатиту змінює характер деградації сполучної тканини в печінці збільшуючи загальну концентрацію глікозаміногліканів, зменшуючи при цьому деградацію колагену та глікопротеїнів, що обумовлено посиленням оксидативного ушкодження гепатоцитів внаслідок доксорубіцин-індукованої цитотоксичності. Доксорубіцин змінює співвідношення основних продуктів NO в печінці за рахунок зниження активності індукцибельної NO-синтази та збільшення активності нітритредуктаз, посилюючи при цьому утилізацію надлишкового NO в пероксинітрит. Введення доксорубіцину на тлі етанол-індукованого ушкодження печінки блокує адаптивне зростання концентрації сірководню і знижує концентрації сульфід аніонів та біотіолів. Введення фенформіну на тлі хронічного алкогольного гепатиту призводить до зменшення оксидативного ушкодження білків, збільшуючи загальну концентрацію глікозаміногліканів проте зменшуючи деградацію колагену та глікопротеїнів. Введення фенформіну на тлі хронічного алкогольного гепатиту призводить до

посилення продукції NO за рахунок активації нітрит-, нітратредуктазної ланки його синтезу і зменшує його утилізацію на пероксинітритний шлях, чим захищає від розвитку нітрозативного стресу. Фенформін, як активатор АМФ-активованої протеїнкінази, сприяє синтезу сірководню за умов етанол-індукованого ушкодження печінки, проте блокує здатність сірководню нейтралізувати активні форми кисню та відновлювати тіолові групи білків.

Вперше встановлено, що введення нанокристалічного діоксиду церію, як неселективного модулятора транскрипційного фактору NF- κ B та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази, супроводжується зростанням продукції NO від нітритредуктазного шляху і попереджає розвиток нітрозативного стресу в печінці. Застосування нанокристалічного діоксиду церію збільшує активність аргіназ, чим зменшує токсичний вплив аміаку за умов хронічного алкогольного гепатиту та попереджає розвиток алкогольної енцефалопатії. Використання нанокристалічного діоксиду церію захищає від етанол-індукованого ушкодження білків та зменшує колагеноліз і катаболізм неколагенових білків екстрацелюлярного матриксу печінки, при цьому деградація протеогліканів збільшується за рахунок протизапальної гепарин-гепаранової фракції глікозаміногліканів. Застосування нанокристалічного діоксиду церію за умов етанол-індукованого ушкодження печінки нормалізує метаболізм сірководню наближаючи показники концентрації сульфід аніонів (S^{2-}), сульфід аніонів (SO_3^{2-}) та біотіолів до параметрів контрольної групи.

Вперше виявлено, що введення амоній піролідиндітіокарбамату за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту сприяє відновленню обміну метаболітами між центральними та міжчасточковими венами. Введення бактеріального ліпополісахариду за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту призводить до надмірного розширення судин мікроциркуляторного русла печінки, що сприяє стазу і запаленню. Введення фенформіну та доксорубіцину, що модулюють активність 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту запобігає розвитку гіпоксичного ураження гепатоцитів та призводить до інтенсифікації

міжчасточкового кровообігу. Введення нанокристалічного діоксиду церію на тлі хронічного алкогольного гепатиту не порушує мікроциркуляцію в печінці щурів на відміну від модуляторів транскрипційного фактору NF-κB та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази і збільшує інтенсивність міжчасточкового кровообігу.

На підставі кореляційного аналізу вперше встановлено, що сульфідний аніон у печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту може модулювати концентрацію нітритів, активність аргіназ та сприяти колагенолізу. Вплив сульфідного аніону на біохімічні зміни в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту залежить від активації транскрипційного фактора NF-κB та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази. Активація транскрипційного фактора NF-κB сприяє реалізації антиоксидантних властивостей H_2S . Інгібування активації транскрипційного фактора NF-κB знижує антиоксидантні властивості H_2S та загрожує розвитком нітрозативного ушкодження печінки. Активація 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази сприяє сульфід-залежному утворенню пероксинітриту за умов хронічного алкогольного гепатиту. Інгібування 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази сприяє сульфід-залежному накопиченню нітрозотіолів в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту. Введення нанокристалічного діоксиду церію за умов хронічного алкогольного гепатиту потенціює антиоксидантні властивості H_2S , і виявляє NO-синтазноміметичні властивості нанокристалічного діоксиду церію за цих умов.

Ключові слова: етанол-індуковане ушкодження печінки, метаболізм сірководню та його метаболітів (біотіолі, сульфіти) за умов хронічного алкогольного гепатиту, синусоїдні капіляри та судинне русло печінкової часточки щурів, транскрипційний фактор NF-κB, 5'-аденозинмонофосфат-активована протеїнкіназа, нанокристалічний діоксид церію, екстрацелюлярний матрикс печінки, цикл оксиду азота, прооксидантно/антиоксидантний баланс, амоній піролідіндітіокарбамат, бактеріальний ліпополісахарид із *S. Typhi*, доксорубіцину гідрохлорид, фенформіну гідрохлорид.

SUMMARY

Mykytenko A.O. The role of H₂S in the pathogenesis of alcoholic liver damage. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Medical Sciences in the specialty 14.03.04 “Pathological Physiology” - Poltava State Medical University, Poltava, 2025. - Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2025.

The dissertation is devoted to the study of the mechanisms of participation of hydrogen sulfide and its metabolites in the development of alcoholic liver damage.

The aim of the study was to elucidate the role of H₂S and its metabolites in the modulation of the transcription factor NF-κB and 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase in ethanol-induced liver injury.

The research objectives were: to study of changes in the indicators of prooxidant-antioxidant balance, nitric oxide system, extracellular matrix metabolism and hydrogen sulfide in the liver of rats under conditions of ethanol-induced liver damage; to assess the changes in prooxidant-antioxidant balance, nitric oxide system, extracellular matrix metabolism, and hydrogen sulfide in rat liver under conditions of inhibition of the transcription factor NF-κB against the background of ethanol-induced liver damage; to study of the effect of bacterial lipopolysaccharide as an activator of the transcription factor NF-κB on indicators of prooxidant-antioxidant balance, nitric oxide system, extracellular matrix and hydrogen sulfide metabolism in the liver of rats under conditions of modeling ethanol-induced liver damage; to study of the effect of inhibition of 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase by doxorubicin on indicators of prooxidant-antioxidant balance, nitric oxide system, extracellular matrix and hydrogen sulfide metabolism in rat liver under conditions of modeling ethanol-induced liver damage; to evaluate the effect of activation of 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase by phenformin on indicators of prooxidant-antioxidant balance, nitric oxide system, metabolism of extracellular matrix and hydrogen sulfide in rat liver under conditions of modeling ethanol-induced liver

damage; to study the effect of nanodispersed cerium dioxide on indicators of prooxidant-antioxidant balance, nitric oxide system, metabolism of extracellular matrix and hydrogen sulfide in rat liver under conditions of modeling ethanol-induced liver damage; to study of the effect of modulation of the transcription factor NF- κ B and 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase and the introduction of nanodispersed cerium dioxide on pathomorphological and morphometric parameters in the liver of rats under conditions of modeling ethanol-induced liver damage; to conduct a correlation analysis of the concentration of sulfide anions (S^{2-}) in relation to indicators of the prooxidant / antioxidant system, parameters of nitric oxide metabolism and markers of liver extracellular matrix metabolism under conditions of modeling ethanol-induced liver damage.

The studies were conducted on 144 white male Wistar rats weighing 180-220 g, which were on a standard food and drinking regimen in accordance with the “Standard Rules for the Arrangement, Equipment and Maintenance of Experimental Biological Clinics (Vivaria)”. Animal studies were conducted in accordance with the ARRIVE (Animal Research: Report of In Vivo Experiments) 2.0 guidelines (Percie du Sert et al., 2020) and the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (2011).

The Biomedical Ethics Commission of Poltava State Medical University (protocol No. 232 dated 11/21/2024) established that the conducted scientific research meets ethical requirements, no violations of moral and ethical norms were detected during the conduct of scientific research work.

Animals were modeled with chronic alcoholic hepatitis by forced intermittent alcoholization for 5 days, repeated after two days by intraperitoneal administration of a 16.5% ethanol solution in 5% glucose solution, at the rate of 4 ml/kg of body weight. After that, they were transferred to 10% ethanol as the only source of drinking (Stepanov Yu.M. et al. 2017). In order to study biochemical, morphometric and morphological changes in dynamics in order to determine the optimal duration of modeling to study the effect of modulators of chronic ethanol-induced liver damage with the withdrawal of rats from the experiment under thiopental anesthesia by taking

blood from the right ventricle of the heart on days 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 57, 63, with 6 animals in a group.

Modulation of the transcription factor NF- κ B and AMP-activated protein kinase for 63 days under conditions of chronic alcoholic hepatitis modeling was carried out by intraperitoneal administration of ammonium pyrrolidinedithiocarbamate (PDTC, Sigma-Aldrich, USA) at a dose of 76 mg/kg 3 times a week, as an NF- κ B inhibitor; bacterial lipopolysaccharide (LPS) from *S. Typhi* was administered intraperitoneally as an NF- κ B activator at a dose of 0.4 μ g/kg in the first week 3 times a week, then once a week throughout the experiment; as an inhibitor of AMP-activated protein kinase, doxorubicin hydrochloride (S.C. Sindan-Pharma S.R.L., Romania) was used, which was administered intraperitoneally at a dose of 1.25 mg/kg 4 times a week for 63 days; phenformin hydrochloride (Sigma-Aldrich, USA) as an activator of AMP-activated protein kinase was administered orally at a dose of 10 mg/kg daily for 63 days. Nanocrystalline cerium dioxide (CeO₂; NDC) with a particle size of 2-7 nm was kindly provided by Academician Mykola Spivak (Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine) to us in the form of a stabilized sodium citrate solution with a concentration of 140 μ g/ml of CeO₂, which we administered via an endogastric tube at a dose of 1 mg/kg daily for 63 days against the background of chronic alcoholic hepatitis modeling..

The control group of animals underwent the same manipulations as the experimental ones using saline for injection and distilled water for oral administration.

The activity of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and γ -glutamyl transpeptidase (γ -GGT) was determined in the blood serum of rats using diagnostic kits (manufacturer NPP "Filisit-Diagnostics").

In rat liver homogenate, we studied the indicators of H₂S metabolism (concentrations of sulfide anions (S²⁻), sulfite anions (SO₃²⁻) and biothiols), prooxidant-antioxidant balance (activity of catalase, superoxide dismutase, production of superoxide anion radical, concentration of malondialdehyde and content of oxidatively modified proteins), nitric oxide system (total activity of NO synthases and their isoforms (inducible and constitutive), arginases, nitrite reductases and nitrate

reductases, concentration of nitrites, peroxynitrites of alkali and alkaline earth metals, nitrosothiols), metabolism of the extracellular matrix of rat liver (total concentration of glycosaminoglycans, concentration of individual fractions of glycosaminoglycans (heparin-heparan, keratan-dermatan and chondroitin), free L-hydroxyproline and sialic acids).

For morphometric studies at the light-optical level of the rat liver vascular bed, separate samples of serial semi-thin sections were used. In each group of sections, the average lumen diameter of the sinusoidal capillaries of the central and peripheral zones of the liver lobules and the average lumen diameter of the central veins, interlobular veins and arteries, and lobular venules and arterioles of rats were determined.

The work shows that modeling chronic alcoholic hepatitis for 63 days leads to the development of oxidative-nitrosative stress, with the predominant way of NO utilization being the formation of peroxynitrite. Excessive production of reactive oxygen and nitrogen species under conditions of ethanol intoxication leads to oxidative damage to protein and lipid structures of cells and is accompanied by collagenolysis and catabolism of glycoproteins of the extracellular matrix of the liver. It has been established that the concentrations of sulfide anions (S^{2-}), sulfite anions (SO_3^{2-}), and biothiols (R-SH) in the liver of rats increase under conditions of chronic alcoholic hepatitis modeling.

It was first discovered that the administration of ammonium pyrrolidinedithiocarbamate against the background of ethanol-induced liver damage reduces the intensity of oxidative damage to liver protein structures and enhances the formation of NO via the nitrite and nitrate reductase pathways and reduces its utilization into peroxynitrite. The administration of ammonium pyrrolidinedithiocarbamate against the background of ethanol-induced liver damage increases the formation of NO against the background of a decrease in reactive oxygen species, contributes to a decrease in the degradation of the extracellular matrix and a decrease in the concentration of sulfide anions (S^{2-}). The introduction of bacterial lipopolysaccharide in the context of chronic alcoholic hepatitis modeling leads to an increase in the formation of NO from nitrites, while maintaining the predominant

pathway of utilization of its excessive formation into peroxynitrite, which leads to an increase in ethanol-induced damage to hepatocytes and increases the degradation of the extracellular matrix of the liver. The role of hydrogen sulfide in ethanol-induced liver damage does not change under the influence of bacterial lipopolysaccharide and consists in the neutralization of reactive oxygen species and the reduction of biothiols. Activation of NF- κ B by bacterial lipopolysaccharide leads to depletion of endogenous hydrogen sulfide synthesis systems.

It has been shown for the first time that the administration of doxorubicin against the background of chronic alcoholic hepatitis changes the nature of connective tissue degradation in the liver, increasing the total concentration of glycosaminoglycans, while reducing the degradation of collagen and glycoproteins, which is due to increased oxidative damage to hepatocytes due to doxorubicin-induced cytotoxicity. Doxorubicin changes the ratio of the main NO products in the liver by reducing the activity of inducible NO synthase and increasing the activity of nitrite reductases, while enhancing the utilization of excess NO into peroxynitrite. Administration of doxorubicin in the setting of ethanol-induced liver injury blocks the adaptive increase in hydrogen sulfide concentration and reduces the concentrations of sulfite anions and biothiols. Administration of phenformin in chronic alcoholic hepatitis leads to a decrease in oxidative damage to proteins, increasing the total concentration of glycosaminoglycans but reducing the degradation of collagen and glycoproteins. The administration of phenformin against the background of chronic alcoholic hepatitis leads to increased NO production due to the activation of the nitrite and nitrate reductase link of its synthesis and reduces its utilization by the peroxynitrite pathway, thereby protecting against the development of nitrosative stress. Phenformin, as an activator of AMP-activated protein kinase, promotes the synthesis of hydrogen sulfide under conditions of ethanol-induced liver damage, but blocks the ability of hydrogen sulfide to neutralize reactive oxygen species and restore thiol groups of proteins.

It has been established for the first time that the administration of nanocrystalline cerium dioxide, as a non-selective modulator of the transcription factor NF- κ B and 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase, is accompanied by an increase in

NO production from the nitrite reductase pathway and prevents the development of nitrosative stress in the liver. The use of nanocrystalline cerium dioxide increases the activity of arginase, thereby reducing the toxic effects of ammonia in chronic alcoholic hepatitis and preventing the development of alcoholic encephalopathy. The use of nanocrystalline cerium dioxide protects against ethanol-induced protein damage and reduces collagenolysis and catabolism of non-collagenous proteins of the extracellular matrix of the liver, while proteoglycan degradation is increased due to the anti-inflammatory heparin-heparan fraction of glycosaminoglycans. The use of nanocrystalline cerium dioxide in conditions of ethanol-induced liver damage normalizes hydrogen sulfide metabolism, bringing the concentration of sulfide anions (S^{2-}), sulfite anions (SO_3^{2-}) and biothiols closer to the parameters of the control group.

It was first discovered that the administration of ammonium pyrrolidinedithiocarbamate under conditions of chronic alcoholic hepatitis modeling promotes the restoration of metabolite exchange between the central and interlobular veins. The introduction of bacterial lipopolysaccharide under conditions of chronic alcoholic hepatitis modeling leads to excessive dilation of the vessels of the liver microcirculatory bed, which contributes to stasis and inflammation. The administration of phenformin and doxorubicin, which modulate the activity of 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase under conditions of chronic alcoholic hepatitis modeling, prevents the development of hypoxic damage to hepatocytes and leads to intensification of intercellular blood circulation. The administration of nanocrystalline cerium dioxide against the background of chronic alcoholic hepatitis does not disrupt microcirculation in the liver of rats, unlike modulators of the transcription factor NF- κ B and 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase, and increases the intensity of intercellular blood circulation.

Based on correlation analysis, it was first established that sulfide anion in the liver of rats under conditions of chronic alcoholic hepatitis can modulate nitrite concentration, arginase activity, and promote collagenolysis. The effect of sulfide anion on biochemical changes in the liver of rats under conditions of chronic alcoholic hepatitis depends on the activation of the transcription factor NF- κ B and 5'-adenosine

monophosphate-activated protein kinase. Activation of the transcription factor NF- κ B contributes to the realization of the antioxidant properties of H₂S. Inhibition of activation of the transcription factor NF- κ B reduces the antioxidant properties of H₂S and threatens the development of nitrosative liver damage. Activation of 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase promotes sulfide-dependent peroxynitrite formation in chronic alcoholic hepatitis. Inhibition of 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase promotes sulfide-dependent accumulation of nitrosothiols in rat liver under conditions of chronic alcoholic hepatitis. The introduction of nanocrystalline cerium dioxide under conditions of chronic alcoholic hepatitis potentiates the antioxidant properties of H₂S, and reveals the NO-synthase mimetic properties of nanocrystalline cerium dioxide under these conditions.

Key words: ethanol-induced liver damage, metabolism of hydrogen sulfide and its metabolites (biothiols, sulfites) in chronic alcoholic hepatitis, sinusoidal capillaries and vascular bed of rat hepatic lobule, transcription factor NF- κ B, 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase, nanocrystalline cerium dioxide, liver extracellular matrix, nitric oxide cycle, prooxidant/antioxidant balance, ammonium pyrrolidine dithiocarbamate, bacterial lipopolysaccharide from *S. Typhi*, doxorubicin hydrochloride, phenformin hydrochloride.

Список публікацій здобувача за темою дисертації:

Праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA. Peculiarities of connective tissue degradation in rat's liver on early terms of chronic alcoholic hepatitis modelling. World of Medicine and Biology. 2021;1(75):197-200. DOI: 10.26724/2079-8334-2021-1-75-197-200. **(Web of Science)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

2. Mykytenko AO, Akimov OY, Neporada KS. Influence of lipopolysaccharide on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcohol intoxication. Fiziol. Zh. 2022;68(2):29-35. DOI: 10.15407/fz68.02.029. **(Scopus)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

3. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Extracellular matrix of rat liver under the conditions of combining systemic inflammatory response syndrome and chronic alcohol intoxication. World of Medicine and Biology. 2022;1(79):214-217. DOI: 10.26724/2079-8334-2022-1-79-214-217. **(Web of Science)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

4. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of NF -κB on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcohol intoxication. Ukr. Biochem. J., 2022;94(6):57-66. DOI: 10.15407/ubj94.06.057. **(Scopus)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання*

патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).

5. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of transcription factor κB on remodeling of extracellular matrix of rat liver under conditions of chronic alcohol intoxication. World of Medicine and Biology. 2022;2(80):214-217. DOI: 10.26724/2079-8334-2022-2-80-214-217. **(Web of Science)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

6. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. The role of sulfide anion in the development of oxidative stress in the liver under conditions of chronic alcoholic hepatitis. World of Medicine and Biology. 2022;3(81):223-226. DOI: 10.26724/2079-8334-2022-3-81-223-226. **(Web of Science)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

7. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Shevchenko OM, Neporada KS. Biochemical changes in the extracellular matrix of rat liver during chronic alcohol intoxication. World of Medicine and Biology. 2022;4(82):221-225. DOI: 10.26724/2079-8334-2022-4-82-221-225. **(Web of Science)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

8. Mykytenko AO, Akimov OY, Shevchenko OM, Neporada KS. Role of sulfide anion in the development of chronic alcoholic hepatitis under the conditions of modulation of adenosine monophosphate kinase – a correlational study. Eur J Clin Exp Med. 2023;21(3):567–575. DOI: 10.15584/ejcem.2023.3.24. **(Scopus)** *(Особистий*

внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).

9. Микитенко АО. Метаболічні зміни в екстрацелюлярному матриксі печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту. *Experimental and clinical physiology and biochemistry*; 2023;1/2(96):12–17. DOI: 10.25040/ecpb2023.01-02.012.

10. Микитенко АО. Метаболізм оксиду азота за умов моделювання хронічної алкогольної інтоксикації. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2023;92(1):13-20. DOI: 10.35339/ekm.2023.92.1.myk.

11. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of doxorubicin on the extracellular matrix of the liver of rats under conditions of chronic alcoholic hepatitis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2023;14(2):278–283. DOI: 10.15421/022341. **(Scopus)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні та морфологічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

12. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Shevchenko OM, Neporada KS. Changes in the microcirculatory bed of the liver during alcoholic hepatitis modeling. *World of Medicine and Biology*. 2023;4(86):212-216. DOI: 10.26724/2079-8334-2023-4-86-212-216. **(Web of Science)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні, морфологічні та морфометричні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

13. Mykytenko AO, Akimov OY, Neporada KS. The influence of phenformin on the extracellular matrix of the liver of rats under long-term administration of ethanol. *Fiziol. Zh.* 2024;70(2):75-81. DOI: 10.15407/fz70.02.075. **(Scopus)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури,*

проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).

14. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of nanosized cerium dioxide on metabolic changes of the liver under conditions of chronic alcoholic hepatitis. Letters in Applied NanoBioScience. 2024;13(3):129. DOI: 10.33263/LIANBS133.129. **(Scopus)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

15. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Phenformin attenuates the oxidativenitrosative stress in the liver of rats under long-term ethanol administration. Ukr. Biochem. J., 2024;96(3):22-30. DOI: 10.15407/ubj96.03.022. **(Scopus)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

16. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of nanosized cerium dioxide on the vascular bed of the liver under the conditions of chronic alcoholic hepatitis modeling. World of Medicine and Biology. 2024;2(88):211-215. DOI: 10.26724/2079-8334-2024-2-88-211-215. **(Web of Science)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні, морфологічні та морфометричні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

17. Mykytenko AO, Akimov OY, Neporada KS. Influence of doxorubicin on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcoholic hepatitis. Медична та клінічна хімія. 2024;26(2):5-11. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2024.i2.14761. *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне*

моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).

18. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of nuclear factor κ B and adenosine monophosphate-activated protein kinase on the vascular bed of the liver under the conditions of modeling chronic alcoholic hepatitis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2024;15(3):410–415. DOI: 10.15421/022457. **(Scopus)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані морфологічні та морфометричні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

19. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Єрошенко ГА, Непорада КС. Зміни морфометричних показників судин печінки щурів за умов тривалої дії етанолу. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2024;93(2):8с. DOI: 10.35339/ekm.2024.93.2.may. *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані морфологічні та морфометричні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

20. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Єрошенко ГА, Непорада КС. Зміни морфометричних показників судин печінки за умов хронічного алкогольного гепатиту. *Медицина сьогодні і завтра*. 2024;93(3):8с. DOI: 10.35339/msz.2024.93.3.may. *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані морфологічні та морфометричні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

Праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

21. Микитенко А.О. Активність НАДФН-оксидази та вміст окисно-модифікованих білків в гомогенаті печінки щурів за умов моделювання алкогольного гепатиту. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: матеріали XII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМУ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О. (Галицькі читання II) (Тернопіль, 29-30 жовтня 2020 р.). Тернопіль: ТНМУ; 2020. С.73-74.

22. Микитенко А.О. Концентрація сульфідного аніону в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту. Перші читання, присвячені Д.О. Альперну «Актуальні питання патологічної фізіології»: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції (до 150-річчя кафедри загальної та клінічної патофізіології ім.. Д.О.Альперна) (Харків, 26 березня 2021 р.). Харків: ХНМУ; 2021. С. 103-104.

23. Микитенко А.О. Стан оксидантно-антиоксидантного балансу в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту. Фізіологія, валеологія, медицина: сучасний стан та перспективи розвитку: тези доповідей Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції (Харків, 06 квітня 2021 р.). Харків: Вид-во НФаУ; 2021. С. 100-101.

24. Микитенко А.О. NO-синтазна активність в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту. 42 Наукові читання імені О.О. Богомольця: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченій 140-річчю з дня народження академіка О.О. Богомольця (Київ, 24 травня 2021 р.). Київ: НМУ імені О.О. Богомольця; 2021. С. 113.

25. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Непорада КС. Роль сульфідного аніону в розвитку оксидативного ушкодження печінки щурів за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Бабенківські читання: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю присвяченій пам'яті академіка Георгія Овксентійовича Бабенка (Івано-Франківськ, 18-19 жовтня 2021 р.). Івано-

Франківськ: ІНФМУ; 2021. С. 33. *(Особистий внесок здобувача – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).*

26. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Непорада КС. Вплив стимуляції організму тварин бактеріальним ліпополісахаридом на розвиток оксидативного стресу в печінці. Біологічні, медичні та науково-педагогічні аспекти здоров'я людини: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції (Полтава, 21-22 жовтня 2021 р.). Полтава: Астроя; 2021. С. 126-127. *(Особистий внесок здобувача – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).*

27. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Непорада КС. Метаболізм оксиду азоту в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: тези доповідей IV Науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю (Харків, 18 листопада 2021 р.). Харків: Вид-во НФаУ; 2021. С. 189-190. *(Особистий внесок здобувача – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).*

28. Mykytenko AO, Akimov OY, Matsytska YK, Neporada KS. Nitrogen oxide metabolism in the liver under conditions of systemic inflammatory response: Abstracts from the 19h Annual World Congress on Insulin Resistance Diabetes & Cardiovascular Disease (Los Angeles, 2-4 December 2021). Metabolism - Clinical and Experimental, Volume 128, Supplement, 155004 DOI: 10.1016/j.metabol.2021.155004. *(Особистий внесок здобувача – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).*

29. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Непорада КС. Дія ліпополісахариду на метаболізм оксиду азоту за умов моделювання хронічної алкогольної інтоксикації у щурів. Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації: тези доповідей IV науково-практичної

конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (Харків, 19 травня 2022 р.). – Х.: Вид-во НФаУ, 2022. С. 242-243. *(Особистий внесок здобувача – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).*

30. Mykytenko AO, Akimov OY, Neporada KS. Influence of systemic inflammatory response syndrome on the development of oxidative stress during simulation of chronic alcohol intoxication in rats. *Biotechnologia acta*. 2022;15(2):62-63. DOI: 10.15407/biotech15.02.062. *(Особистий внесок здобувача – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).*

31. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Непорада КС. Вплив наноцерію на позаклітинний матрикс печінки за умов хронічного алкогольної інтоксикації. Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини: матеріали науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю (Полтава, 11-12 жовтня 2022 р.). – Полтава: ТОВ НВП «Укрпромторгсервіс», 2022. – С. 64-65. *(Особистий внесок здобувача – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).*

32. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Єрошенко ГА, Непорада КС. Вплив наноцерію на метаболізм по в печінці за умов хронічного алкогольної інтоксикації. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: матеріали XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.). – Тернопіль: ТНМУ ім. І. Я. Горбачевського, 2022. – С. 44-45. *(Особистий внесок здобувача – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).*

33. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Єрошенко ГА, Непорада КС. Роль сульфідного аніону в метаболізмі печінки щурів за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх

фармакологічна корекція: тези доповідей V науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю (Харків, 17 листопада 2022 р.). – Х.: Вид-во НФаУ, 2022. – С. 263-264. *(Особистий внесок здобувача – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).*

34. Микитенко А.О. Вплив нанодисперсного діоксиду церію на редуказний шлях утворення оксиду нітрогену в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доповідей IX Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (19-21 вересня 2024 р.). – Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет, 2024. – С. 148-150.

35. Mykytenko AO. Effect of doxorubicin on the content of glycosaminoglycans in the liver of rats with chronic alcoholic hepatitis. The collection contains abstracts of reports and research articles that were presented as part of the VI International Scientific and Practical Conference "KyivLvivPharma-2023. Pharmaceutical Technology and Pharmacology in Ensuring Active Longevity" (November 16-18, 2023, Kyiv, Lviv). Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers. Tallinn: Nordic Sci Publisher, 2023: 188-189.

36. Микитенко А.О. Вплив доксорубіцину на вміст сіалових кислот та оксипроліну в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція: матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю. (Харків, 16 листопада 2023 р.) – Х.: НФаУ, 2023. – С. 317-318.

37. Микитенко А.О. Загальна NO-синтазна активність та концентрація нітрозотіолів в печінці щурів за умов моделювання хронічної алкогольної інтоксикації. XXIII-і читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (Одеса, 16-17 травня 2024 року). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2024. – С. 88-89.

38. Mykytenko AO. Development of oxidative-nitrosative stress underconditions of chronic alcoholic hepatitis in dynamics. Експериментальна та

клінічна фармакологія: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, присвячена 100-річчю кафедри фармакології НФаУ (Харків, 23-24 жовтня 2024 року) – Х.: НФаУ, 2024. – С. 141-144.

39. Микитенко АО. Вплив модуляції NF-κB на метаболізм сірководню в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту. Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини: збірка тез та статей науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю (Полтава, 30-31 жовтня 2024 р.). – Полтава: ТОВ НВП «Укрпромторгсервіс», 2024. – С. 101-103.

40. Микитенко АО. Вплив модуляції аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази на метаболізм сірководню в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту. Ендокринна патологія у віковому аспекті: матеріали науково-практичної конференції з онлайн-трансляцією (Харків, 21-22 листопада 2024 р.). – Х.: ДУ ІПЕП, 2024. – С. 135-136.

Праці, які додатково відображають результати дисертації:

41. Акімов ОЄ, Микитенко АО, Костенко ВО, Катрушов ОВ, винахідники; Полтавський державний медичний університет, патентовласник. Спосіб спектрофотометричного визначення концентрації сульфідів у продуктах харчування тваринного походження. Патент на корисну модель № 151753. Україна, МПК G01N 21/31 (2006.01) G01N 33/02 (2006.01). № u 2022 00726; заявл. 18.02.2022; опубл. 07.09.2022, Бюл. № 36. *(Здобувачу належать дані щодо визначення концентрації сірководню в гомогенаті печінки щурів за умов модуляції транскрипційного фактора NF-κB, АМФ-активованої протеїнкінази та нанокристалічного діоксиду церію за умов етанол-індукованого ушкодження печінки).*

42. Акімов О.Є., Микитенко А.О., Костенко В.О., Катрушов О.В., Соловйова Н.В., Міщенко А.В. Спосіб спектрофотометричного визначення концентрації сульфідів у продуктах харчування тваринного походження. Перелік

наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я, Вип. № 9. 2023. Реєстр № 49/9/23. С. 75-76. *(Здобувачу належать дані щодо визначення концентрації сірководню в гомогенаті печінки щурів за умов модуляції транскрипційного фактора NF-κB, АМФ-активованої протеїнкінази та нанокристалічного діоксиду церію за умов етанол-індукованого ушкодження печінки).*

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	31
ВСТУП	34
 РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА РОЗВИТОК ЕТАНОЛ-ІНДУКОВАНИХ ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН В ПЕЧІНЦІ ТА ШЛЯХИ ЇХ КОРЕКЦІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	49
1.1. Сучасні аспекти розвитку алкоголь-асоційованих хвороб печінки	49
1.2. Роль транскрипційного фактора NF-κB в розвитку патологічних змін в печінці за умов етанол-індукованого ушкодження	84
1.3. Вплив АМФ-активованої протеїнкінази на розвиток патологічних змін в печінці за умов етанол-індукованого ушкодження	95
1.4. Зміни метаболізму H ₂ S в печінці за умов етанол-індукованого ушкодження	108
1.5. Перспективи корекції нанокристалічним діоксидом церію етанол-індукованих патологічних змін в печінці	126
 РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	133
2.1. Загальна характеристика досліджуваних груп лабораторних тварин в експерименті	133
2.2. Біоетичні, правові та метрологічні аспекти дослідження	135
2.3. Методика відтворення хронічного алкогольного гепатиту	136
2.4. Протоколи введення модуляторів NF-κB та АМФ-активованої протеїнкінази, і нанокристалічного діоксиду церію	136
2.5. Біохімічні методи дослідження крові експериментальних тварин	137
2.6. Біохімічні методи дослідження в гомогенаті печінки щурів	138
2.7. Морфологічні та морфометричні методи дослідження печінки щурів	143

2.8. Методи статистичної обробки результатів експерименту	144
---	-----

РОЗДІЛ 3. МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН В ПЕЧІНЦІ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ ХРОНІЧНОГО АЛКОГОЛЬНОГО ГЕПАТИТУ	145
--	-----

3.1. Біохімічні маркери цитолітичного синдрому гепатоцитів у крові за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту	145
3.2. Розвиток оксидативно-нітрозативного стресу та концентрація S^{2-} в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту	151
3.3. Показники метаболізму екстрацелюлярного матриксу печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту	170
3.4. Морфометричні та патоморфологічні зміни судин печінкової часточки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту	178

РОЗДІЛ 4. ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ФАКТОРУ NF-κB НА МЕТАБОЛІЗМ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ ХРОНІЧНОГО АЛКОГОЛЬНОГО ГЕПАТИТУ	190
--	-----

4.1. Вплив модуляторів транскрипційного фактору NF- κ B на маркери цитолітичного синдрому гепатоцитів у крові за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту	190
4.2. Показники оксидативно-нітрозативного стресу в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту та дії модуляторів NF- κ B	194
4.3. Екстрацелюлярний матрикс печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту та дії модуляторів NF- κ B	204
4.4. Морфометричні та патоморфологічні зміни судин печінки щурів за умов впливу модуляторів транскрипційного фактору NF- κ B на тлі хронічної алкоголізації	210

РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ АМФ-АКТИВОВАНОЇ ПРОТЕЇНКІНАЗИ НА МЕТАБОЛІЗМ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ ХРОНІЧНОГО АЛКОГОЛЬНОГО ГЕПАТИТУ 221

5.1. Вплив модуляторів АМФ-активованої протеїнкінази на маркери цитолітичного синдрому гепатоцитів у крові за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту 221

5.2. Показники оксидативно-нітрозативного стресу в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту та дії модуляторів АМФ-активованої протеїнкінази 225

5.3. Екстрацелюлярний матрикс печінки щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту та дії модуляторів АМФ-активованої протеїнкінази 234

5.4. Морфометричні та патоморфологічні зміни судин печінкової часточки за умов хронічного алкогольного гепатиту та дії модуляторів АМФ-активованої протеїнкінази 241

РОЗДІЛ 6. ОБГРУНТУВАННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ НАНОКРИСТАЛІЧНОГО ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ЕТАНОЛ-ІНДУКОВАНОГО УШКОДЖЕННЯ ПЕЧІНКИ 252

6.1. Зміни біохімічних маркерів цитолітичного синдрому гепатоцитів у крові за умов експериментальної корекції нанокристалічним діоксидом церію хронічного алкогольного гепатиту 252

6.2. Зміни показників оксидативно-нітрозативного стресу в печінці щурів за умов експериментальної корекції нанокристалічним діоксидом церію хронічного алкогольного гепатиту 254

6.3. Вплив нанокристалічного діоксиду церію на показники екстрацелюлярного матриксу печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту 258

6.4. Морфометричні та патоморфологічні зміни судин печінкової часточки за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту та впливу нанокристалічного діоксиду церію	261
--	-----

РОЗДІЛ 7. МЕТАБОЛІЗМ H_2S ЗА УМОВ ДІЇ МОДУЛЯТОРІВ NF-κB, АМФ-АКТИВОВАНОЇ ПРОТЕЇНКІНАЗИ ТА НАНОКРИСТАЛІЧНОГО ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ ЗА УМОВ АЛКОГОЛЬНОГО УШКОДЖЕННЯ ПЕЧІНКИ	267
--	-----

7.1. Вплив модуляторів транскрипційного фактору NF- κ B на показники метаболізму H_2S в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту	267
---	-----

7.2. Показники обміну H_2S в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту та дії модуляторів АМФ-активованої протеїнкінази	270
--	-----

7.3. Вплив нанокристалічного діоксиду церію на метаболізм H_2S в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту	273
---	-----

7.4. Кореляційний аналіз концентрації сульфід аніонів (S^{2-}) відносно показників прооксидантно / антиоксидантної системи, параметрів метаболізму оксиду азота і маркерів обміну екстрацелюлярного матриксу печінки	274
--	-----

РОЗДІЛ 8. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	295
---	-----

ВИСНОВКИ	350
-----------------	-----

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	357
-------------------------------	-----

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	358
-----------------------------------	-----

ДОДАТКИ	444
----------------	-----

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АДГ – алкогольдегідрогеназа

АДН – алкоголь на душу населення

АлАТ – аланінамінотрансфераза

АЛДГ – альдегіддегідрогеназа

АМФК – 5'-аденозинмонофосфат-активована протеїнкіназа

АсАТ – аспартатамінотрансфераза

АФА – активні форми азоту

АФК – активні форми кисню

ВЖК – вищі жирні кислоти

ГАГ – глікозаміноглікани

КАТ – каталаза

ЛПДНЩ – ліпопротеїни дуже низької щільності

ЛПС – бактеріальний ліпополісахарид із *S. Typhi*

НДЦ – нанокристалічний діоксид церію (CeO_2)

ОМБ – окисно-модифіковані білки

ПДТК – амоній піролідіндітіокарбамат

ПТСР – посттравматичний стресовий розлад

СОД – супероксиддисмутаза

4-HNE – 4-гідроксиноненаль (англ. 4-Hydroxynonenal)

Akt – протеїнкіназа B (англ. Protein Kinase B, PKB)

AP-1 – активаторний протеїн-1 (англ. Activating Protein-1)

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

CaMKK2 – Ca^{2+} /кальмодулін-залежною протеїнкіназою-кіназою 2 (англ. Calcium/Calmodulin Dependent Protein Kinase Kinase 2)

CBS – цистатіонін- β -синтази (англ. Cystathionine- β -synthase)

CSE – цистатіонін γ -ліазою (англ. Cystathionine γ -lyase)

CXCL – хемокінний ліганд C-X-C (англ. C-X-C Motif Chemokine Ligand)

CYP2E1 – цитохром P450 2E1

DAMPs – молекулярні патерни, пов'язані з пошкодженням (англ. Damage-Associated Molecular Patterns)

ECM – екстрацелюлярний матрикс (англ. Extracellular Matrix)

ER – ендоплазматичний ретикулум

ERK – позаклітинно сигнально-регульована кіназа (англ. Extracellular Signal-Regulated Kinase)

GSH – глутатіону (англ. Glutathione)

HIF-1 α – фактор індукований гіпоксією-1альфа (англ. Hypoxia-inducible factor 1-alpha)

ICAM – молекули міжклітинної адгезії (англ. Inter-Cellular Adhesion Molecule)

IKK – ІкВ-кіназний комплекс (англ. ІкВ-Kinase Complex)

IL, ILs – інтерлейкін (и) (англ. Interleukin (s))

IRF3 – регуляторний фактор інтерферону 3 (англ. Interferon Regulatory Factor 3)

JNK – c-Jun аміно-кінцева кіназа (англ. c-Jun N-Terminal Kinases)

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

LKB1 – печінкова кіназа B1 (англ. Liver Kinase B1)

L-NAME – N(G)-нітро-L-аргінін

LSECs – синусоїдні ендотеліальні клітини печінки (англ. Liver Sinusoidal Endothelial Cells)

MAA – MDA-ацетальдегід-протеїн (англ. Malondialdehyde/Acetaldehyde Adduct)

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

MDA, МДА – малоновий діальдегід (англ. Malondialdehyde)

MEOS – мікросомальна система окислення етанолу (англ. Microsomal Ethanol Oxidizing System)

MIP – білок запалення макрофагів (англ. Macrophage Inflammatory Protein)

MMP – матриксна металопротеїназа (англ. Matrix Metalloproteinase)

MPST – 3-меркапто-піруватсульфуртрансфераза (англ. 3-Mercaptopyruvate Sulfurtransferase)

N2-Et-dG – N2-етилдезоксигуанозин (англ. N2-Ethyl-Deoxyguanosine)

NF-κB – ядерний фактор капа В (англ. Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of Activated B Cells)

NOS (cNOS, nNOS, eNOS, iNOS) – синтази нітроген монооксиду (конститутивні, нейрональна, ендотеліальна, індукцйбельна ізоформи) (англ. Nitric Oxide Synthases; constitutive, neuronal, endothelial, inducible isoforms)

Nrf2 – транскрипційний фактор (англ. Nuclear Factor Erythroid 2–Related Factor 2)

PAMPs – молекулярні патерни, пов'язані з патогеном (англ. Pathogen-Associated Molecular Patterns)

PdG – 1,N(2)-пропано-2'-дезоксигуанозин (англ. 1,N(2)-Propano-2'-Deoxyguanosine)

PPARα – альфа-рецептор, активований проліфератором пероксисом (англ. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha)

PPAR-γ – гамма-рецептор, активований проліфератором пероксисом (англ. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma)

RANKL – ліганд активатора рецептора NF-κB (англ. Receptor Activator of NF-κB Ligand)

RXR – рецептор ретиноїду X (англ. Retinoid X receptor)

SAM – S-аденозилметіоніну (англ. S-Adenosyl methionine)

SIRT-1 – деацетилаза сіртуїн 1 (англ. Sirtuin 1)

SREBP-1 – транскрипційний фактор-1, що зв'язує регуляторний елемент стеролу (англ. Sterol Regulatory Element-Binding Transcription Factor 1)

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

TIMP – тканинний інгібітор металопротеїна (англ. Tissue Inhibitor Of Metalloproteinase)

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

VEGF – фактор росту ендотелію судин (англ. Vascular Endothelial Growth Factor)

γ-ГТТ – γ-глутамілтранспептидаза

ВСТУП

Актуальність теми. Вживання алкоголю популярне в багатьох культурах світу, а ферментовані напої варили ще в сьомому тисячолітті до нашої ери [175, 202]. Алкоголь є психоактивною речовиною, якою найчастіше зловживають, незважаючи на відомості про його потенційні негативні наслідки для здоров'я та суспільства [44, 225, 454, 561, 635]. Відповідно до звіту Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) в 2024 році про стан здоров'я в усьому світі, в 2019 році приблизно 2,5 мільярда людей старше 15 років вживають алкоголь, таким чином, алкоголь споживає більше половини населення Європи, Америки та західної частини Тихого океану [631]. У 2017 році 23,6 мільйона людей у всьому світі мали алкогольний цироз печінки, з яких приблизно у 10% (або 2,5 мільйона людей) була декомпенсована стадія хвороби [479]. У 2019 році в усьому світі 2,6 мільйона смертей була спричинена вживанням алкоголю, що становить 4,7% усіх смертей у цьому році [631]. Вживання алкоголю також є актуальною проблемою для підлітків віком від 15 до 19 років. У 2019 році поширеність споживання алкоголю серед 15–19-річних була неприйнятно високою в усьому світі (22%) із дуже незначними гендерними відмінностями та тенденцією до зростання з початково низьких рівнів у деяких регіонах [631]. Найвищий рівень споживання алкоголю на душу населення спостерігається в Європейському регіоні ВООЗ [630]. Люди з Азії та західних країн мають значні відмінності в метаболізмі етанолу через поліморфізм алкогольдегідрогенази і альдегіддегідрогенази 2. 30–40 % осіб зі Східної Азії мають неактивні гени альдегіддегідрогенази 2 (ALDH2*2/1, ALDH2*2/2), і приблизно 70 % з цих осіб мають більш високу експресію і активність алкогольдегідрогенази [475, 617]. Таким чином, багато азіатів п'ють менше алкоголю, але виробляють набагато більше ацетальдегіду, порівняно з людьми із західних країн, що може по-різному впливати на розвиток і прогресування алкоголь-асоційованих хвороб печінки [84]. Збільшується кількість доказів того, що споживання етанолу серед тих, хто має поліморфізм

ALDH2*2 зростає, і виявлення будь-яких відмінностей у патогенезі алкоголь-асоційованих хвороб печінки у цій популяції ставатиме все більш важливим. Експериментальні моделі показали, що миші з дефіцитом альдегіддегідрогенази 2 мають більш інтенсивне запалення та фіброз та сильнішу імуносупресію, але нижчі рівні АлАТ в сироватці крові та менш інтенсивний розвиток стеатозу порівняно з контрольними мишами після прийому етанолу [289, 344]. Таким чином, патогенез алкоголь-асоційованих хвороб печінки у людей зі Сходу і Заходу може демонструвати деякі відмінності, і нам можуть знадобитися різні рекомендації щодо діагностики та лікування в залежності від поліморфізму і активності алкогольдегідрогенази і альдегіддегідрогенази 2.

Алкоголь є основною причиною захворювань печінки в усьому світі з більшою поширеністю в розвинених країнах і може бути причиною або супутнім фактором до 80% смертей, пов'язаних із хворобами печінки. Спектр алкоголь-асоційованих захворювань печінки охоплює різноманітні клінічні прояви, від безсимптомного ізольованого стеатозу до декомпенсованого цирозу, а в деяких випадках гострої або хронічної печінкової недостатності [479]. Існує пряма залежність дози спожитого алкоголю та ризику розвитку хвороб печінки. Мета-аналіз Rehm J. et al. (2010) показав, що навіть дуже низькі рівні споживання алкоголю підвищують ризик смертності, пов'язаної з цирозом (будь-яке вживання алкоголю у жінок або більше 12 г/день у чоловіків) [498]. Цей ризик різко зростає зі збільшенням споживання, причому чоловіки та жінки, які вживають більше 60 г алкоголю на день, мають у 14 та 22,7 разів більший ризик смерті від цирозу відповідно порівняно з особами, що не вживають алкоголь [498].

Існує чітка статеві невідповідність щодо епідеміології алкоголь-асоційованих хвороб печінки. Жінки більш сприйнятливі до алкоголь-асоційованих хвороб печінки, ніж чоловіки за умов однакової кількості споживання алкоголю, проте механізми такої гендерної невідповідності все ще в процесі вивчення [225]. Відносний ризик розвитку алкоголь-асоційованих хвороб печінки становить 3,7 у чоловіків і 7,3 у жінок [559]. Ризик цирозу,

пов'язаного з алкоголем, у чоловіків і жінок, які сильно п'ють (у віці 40 років, з 10 порціями на день протягом більше 15 років) становить 3,1% і 4,7% відповідно [537]. Порівняно з чоловіками, жінки з алкогольним гепатитом, як правило, молодші, але мають вищий рівень пов'язаних з алкогольним гепатитом ускладнень, супутніх захворювань і смертності [468]. І незважаючи на те, що в цілому більше чоловіків хворіють на алкоголь-асоційовані хвороби печінки, зростання смертності від цих хвороб відбувається швидше серед жінок у порівнянні з чоловіками [39]. Таким чином, визначення гендерних механізмів, що лежать в основі вищих ризиків алкоголь-асоційованих хвороб печінки у жінок, має бути пріоритетом для подальших досліджень і гендер має обов'язково враховуватися під час планування експериментально-клінічних досліджень.

Пандемія коронавірусної хвороби 2019 (COVID-19) суттєво вплинула на стан здоров'я людей із розладами, пов'язаними із вживанням алкоголю і алкогольною хворобою печінки [123]. Під час пандемії COVID-19 значно зросло споживання алкоголю, при цьому місячні продажі зросли в залежності від країни на 14-40 % порівняно з подібним періодом до COVID-19 у світі [693]. Пандемія COVID-19 мала значний негативний вплив як на фізичне, так і на психічне здоров'я людей, і під час пандемії відбувся сплеск вживання алкоголю серед населення США, Канади, Великобританії, Польщі та Бельгії і, швидше за все, у всьому світі [424]. Блокування та інші пандемічні обмеження також призвели до поширення онлайн-замовлень спиртних напоїв і були пов'язані з вищим рівнем смертності, пов'язаної з алкоголем [389, 626].

Вплив війни росії проти України на епідеміологію алкоголь-асоційованих хвороб печінки в процесі вивчення. Проте вже відомо за даними соціологічних досліджень проведеними в листопаді-грудні 2023 року в Україні, які організував Київський міжнародний інститут соціології за підтримки ВООЗ споживають алкоголь 77,4 % (80,1 % чоловіків і 75,2 % жінок). Вживання алкоголю більш поширене в молодших вікових групах: 18–29 років — 86,3%; 30–44 роки — 80,6 %; 45–59 років — 80,7 %, 60 років і старші — 66,5 %. Серед респондентів 22,6 % не вживали алкоголь протягом останніх 12 місяців, з них 10,7 % — ніколи не

вживали алкоголь протягом життя, а 11,9 % — раніше вживали алкоголь, але припинили. Середньодобове споживання алкоголю серед тих, хто вживає — 8,5 г чистого спирту на календарний день (чоловіки — 14,7 г, жінки — 3,1 г) [22]. Загальноновизнано, що стресові життєві події відіграють важливу роль у впливі на вживання алкоголю та, зокрема, в провокуванні регулярного вживання алкоголю [50]. Порушення циркадіадних ритмів, також, сприяють розладам пов'язаним із вживанням алкоголю (залежність, абстиненція та звикання) і розладам сну [167, 586]. В свою чергу розлади циркадіадних ритмів пов'язані з нічними тривогами під час війни і хронічним стресом у населення України, ймовірно, негативно вплинуть на стан здоров'я і збільшать кількість алкоголь-асоційованих хвороб печінки та смертність від них. Ветерани з високим рівнем симптомів уникнення ПТСР можуть відчувати симптоми тяги до алкоголю, оскільки вони вірять, що вживання алкоголю усуне або пом'якшить думки, почуття або зовнішні нагадування про травму [164]. Всі ці фактори мають суттєвий вплив і важливе клінічне значення для лікування супутніх хвороб ПТСР і алкоголь-асоційованих хвороб печінки.

Споживання алкоголю на душу населення (АДН) визначається як споживання алкоголю протягом календарного року в літрах чистого спирту людьми у віці 15 років і старше. У всьому світі АДН зріс з 5,5 літрів у 2005 році до 6,4 літрів у 2016 році. Споживання стабільно зростало у Західно-Тихоокеанському регіоні (з 4,6 літрів у 2005 році до 7,3 літрів у 2016 році) і регіоні Південно-Східної Азії (2,1 літра у 2005 році до 4,5 літрів у 2016 році), в основному завдяки збільшенню АДН у Китаї та Індії відповідно. За прогнозами ВООЗ споживання алкоголю на душу населення зросте до 7,6 літрів у 2030 році завдяки збільшенню споживання в країнах/регіонах із низьким і середнім рівнем доходу. Найбільше зростання прогнозують в регіоні Південно-Східної Азії (6,9 літрів у 2030 році) та регіоні Західної частини Тихого океану (9,9 літрів у 2030 році), що обумовлено зростанням економічного добробуту в густонаселених країнах/регіонах, таких як Індія та Китай. Європа мала найвищий рівень споживання алкоголю у світі в 2016 році, проте АДН в Європі знижується (12,3

літра в 2005 році до 9,8 літра в 2016 році) і ВООЗ прогнозує подальше зниження до 9,3 літра в 2030 році [225]. Але такий прогноз споживання алкоголю гарантує, що алкоголь-асоційовані хвороби печінки будуть у перспективі економічним і соціальним тягарем для суспільства у всьому світі.

Сірководень (H_2S) отримав визнання дослідників як третій газотрансмітер поряд з оксидом азоту (NO) і монооксидом вуглецю (CO), що має важливе значення як сигнальна молекула з чіткими фізіологічними та біохімічними ефектами [635]. На сьогоднішній день ідентифіковано його спектр впливу на такі сигнальні системи, як: ядерний фактор $\kappa\beta$ ($\text{NF-}\kappa\beta$) [57, 522], p38 мітоген-активовану протеїнкіназу (p38-MAPK) [567], c-Jun аміно-кінцеву кіназу (JNK) [534], позаклітинно сигнально-регульовану кіназу (ERK) [304], фосфоінозитид 3-кіназу-протеїнкіназу В (PI-3K-Akt) [556], протеїнкіназу С (PKC) [459], ядерний фактор 2 пов'язаний з ядерним еритроїдним фактором 2 (Nrf2) [496, 641], p53 [72], АМФ-активовану протеїнкіназу (АМФК) [293], гамма-рецептор, активований проліфератором пероксисом (PPAR- γ) [71], NAD-залежну деацетилазу сіртуїн-1 (SIRT1) [311], SIRT3 [640] та мішень рапаміцину (mTOR) [293] тощо. Дослідження, зосереджені на з'ясуванні впливу H_2S на ці сигнальні мережі встановили його важливу роль у цитозахисті [673], запаленні [303], функції судин [256, 556], відновленні та регенерації тканин [98], апоптозі та клітинному циклі [256, 521], мітохондріальній функції та енергетичному метаболізмі та біогенезу [98, 383, 384], ожирінні [102, 333] та старінні [469, 694]. Роль H_2S варіюється від його здатності діяти як антиоксидант під час епізодів підвищеного утворення вільних радикалів до прямої посттранскрипційної модифікації клітинних білків через S-сульфгідратацію [198, 694]. Про вплив екзогенного H_2S на розвиток алкоголь-асоційованих хвороб печінки є багато інформації і цей вплив можна використовувати для лікування. Натомість про вплив ендогенного H_2S та його метаболізм за умов хронічного надходження алкоголю (етанолу) відомо дуже мало.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана як самостійний фрагмент планових науково-дослідних тем

Полтавського державного медичного університету МОЗ України «Особливості розвитку патологічних змін в органах системи травлення за різних умов та розробка методів їх корекції» (№ держреєстрації 0120U100502) та «Розробка засобів корекції патологічних змін у органах системи травлення за умов хвороб цивілізації» (№ держреєстрації 0124U001922). Здобувач є співвиконавцем тем.

Мета дослідження. З'ясування ролі H_2S та його метаболітів за умов модуляції транскрипційного фактору NF- κ B та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази в етанол-індукованому ушкодженні печінки.

При виконанні досліджень поставленні та виконані наступні **завдання**:

1. Дослідити зміни показників прооксидантно-антиоксидантного балансу, системи оксиду азоту, метаболізму екстрацелюлярного матриксу і сірководню в печінці щурів за умов етанол-індукованого ушкодження печінки.
2. Оцінити зміни показників прооксидантно-антиоксидантного балансу, системи оксиду азоту, метаболізму екстрацелюлярного матриксу і сірководню в печінці щурів за умов інгібування транскрипційного фактора NF- κ B на тлі етанол-індукованого ушкодження печінки.
3. Вивчити вплив бактеріального ліпополісахариду як активатора транскрипційного фактора NF- κ B на показники прооксидантно-антиоксидантного балансу, систему оксиду азоту, метаболізм екстрацелюлярного матриксу і сірководню в печінці щурів за умов моделювання етанол-індукованого ушкодження печінки.
4. Дослідити вплив інгібування 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази доксорубіцином на показники прооксидантно-антиоксидантного балансу, систему оксиду азоту, метаболізм екстрацелюлярного матриксу і сірководню в печінці щурів за умов моделювання етанол-індукованого ушкодження печінки.
5. Оцінити вплив активації 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази фенформіном на показники прооксидантно-антиоксидантного балансу, систему оксиду азоту, метаболізм екстрацелюлярного матриксу і сірководню в печінці щурів за умов моделювання етанол-індукованого ушкодження печінки.

6. Оцінити дію нанодисперсного діоксиду церію на показники прооксидантно-антиоксидантного балансу, систему оксиду азоту, метаболізм екстрацелюлярного матриксу і сірководню в печінці щурів за умов моделювання етанол-індукованого ушкодження печінки.

7. Дослідити вплив модуляції транскрипційного фактора NF-κB та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази і введення нанодисперсного діоксиду церію на патоморфологічні і морфометричні показники в печінці щурів за умов моделювання етанол-індукованого ушкодження печінки.

8. Провести кореляційний аналіз концентрації сульфід аніонів (S^{2-}) відносно показників прооксидантно / антиоксидантної системи, параметрів метаболізму оксиду азоту і маркерів обміну екстрацелюлярного матриксу печінки за умов моделювання етанол-індукованого ушкодження печінки.

Об'єкт дослідження: роль транскрипційного фактора NF-κB та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази і метаболізм H_2S на біохімічні механізми етанол-індукованого ушкодження печінки.

Предмет дослідження: біохімічні та морфологічні зміни в печінці щурів з етанол-індукованим ушкодженням печінки за дії модуляторів транскрипційного фактора NF-κB та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази і введення нанодисперсного діоксиду церію; зв'язок показників обміну H_2S з гепатометаболічними чинниками, маркерами оксидативно-нітрозативного стресу, фіброгенезу та морфометричними показниками.

Методи дослідження: експериментальні – моделювання етанол-індукованого ушкодження печінки та дії модуляторів фактора транскрипції NF-κB та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази і впливу нанодисперсного діоксиду церію на метаболізм печінки щурів; біохімічні – оцінка активності ферментів-маркерів цитолізу гепатоцитів в сироватці крові (активність аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази та γ-глутамілтранспептидази), показники метаболізму H_2S (концентрації сульфід аніонів (S^{2-}), сульфід аніонів (SO_3^{2-}) та біотіолів), прооксидантно-антиоксидантного балансу (активність каталази, супероксиддисмутази,

продукція супероксидного аніон-радикала, концентрація малонового діальдегіду та вміст окисно-модифікованих білків), систему оксиду азоту (загальна активність NO-синтаз та їх ізоформ (індуцибельної та конститутивних), аргіназ, нітритредуктаз і нітратредуктаз, концентрація нітритів, пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів, нітрозотіолів), метаболізм екстрацелюлярного матриксу печінки щурів (загальна концентрація глікозаміногліканів, концентрація окремих фракції глікозаміногліканів (гепарин-гепаранової, кератан-дерматанової і хондроїтинової), вільного L-оксипроліну та сіалових кислот); *морфологічні* – гістологічні дослідження зразків печінки щурів; *морфометричні* (просвіт синусоїдних капілярів центральної та периферичної зон печінкових часточок та діаметр просвіту центральної вени, міжчасточкових вен та артерій і часточкових венул і артеріол щурів); *математико-статистичні методи*.

Наукова новизна одержаних результатів. Показано, що моделювання хронічного алкогольного гепатиту протягом 63 діб призводить до розвитку оксидативно-нітрозативного стресу при цьому переважаючим шляхом утилізації NO є утворення пероксинітриту. Надмірна продукція активних форм кисню та азоту за умов етанольної інтоксикації призводить до оксидативного ушкодження білкових та ліпідних структур клітин та супроводжується колагенолізом і катаболізмом глікопротеїнів екстрацелюлярного матриксу печінки. Встановлено, що концентрації сульфід аніонів (S^{2-}), сульфат аніонів (SO_3^{2-}) та біотіолів (R-SH) в печінці щурів зростають за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту.

Вперше виявлено, що введення амоній піролідіндітіокарбамату на тлі етанол-індукованого ушкодження печінки знижує інтенсивність оксидативного ушкодження білкових структур печінки та посилює утворення NO нітрит- та нітратредуктазним шляхом і зменшує його утилізацію в пероксинітрит. Введення амоній піролідіндітіокарбамату на тлі етанол-індукованого ушкодження печінки збільшує утворення NO на тлі зменшення активних форм кисню, сприяє зменшенню деградації екстрацелюлярного матриксу і зниженню

концентрації сульфід аніонів (S^{2-}). Введення бактеріального ліпополісахариду на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту призводить до збільшення утворення NO із нітритів зберігаючи переважаючий шлях утилізації надмірного його утворення в пероксинітрит, що призводить до посилення етанол-індукованого ушкодження гепатоцитів та збільшує деградацію екстрацелюлярного матриксу печінки. Роль сірководню в етанол-індукованому ушкодженні печінки не змінюється під впливом бактеріального ліпополісахариду та полягає у нейтралізації активних форм кисню та відновленні біотіолів. Активація NF- κ B бактеріальним ліпополісахаридом призводить до виснаження ендогенних систем синтезу сірководню.

Вперше показано, що введення доксорубіцину на тлі хронічного алкогольного гепатиту змінює характер деградації сполучної тканини в печінці збільшуючи загальну концентрацію глікозаміногліканів, зменшуючи при цьому деградацію колагену та глікопротеїнів, що обумовлено посиленням оксидативного ушкодження гепатоцитів внаслідок доксорубіцин-індукованої цитотоксичності. Доксорубіцин змінює співвідношення основних продуктів NO в печінці за рахунок зниження активності індукцибельної NO-синтази та збільшення активності нітритредуктаз, посилюючи при цьому утилізацію надлишкового NO в пероксинітрит. Введення доксорубіцину на тлі етанол-індукованого ушкодження печінки блокує адаптивне зростання концентрації сірководню і знижує концентрації сульфід аніонів та біотіолів. Введення фенформіну на тлі хронічного алкогольного гепатиту призводить до зменшення оксидативного ушкодження білків, збільшуючи загальну концентрацію глікозаміногліканів проте зменшуючи деградацію колагену та глікопротеїнів. Введення фенформіну на тлі хронічного алкогольного гепатиту призводить до посилення продукції NO за рахунок активації нітрит-, нітратредуктазної ланки його синтезу і зменшує його утилізацію на пероксинітритний шлях, чим захищає від розвитку нітрозативного стресу. Фенформін, як активатор АМФ-активованої протеїнкінази, сприяє синтезу сірководню за умов етанол-індукованого

ушкодження печінки, проте блокує здатність сірководню нейтралізувати активні форми кисню та відновлювати тіолові групи білків.

Вперше встановлено, що введення нанокристалічного діоксиду церію, як неселективного модулятора транскрипційного фактору NF- κ B та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази, супроводжується зростанням продукції NO від нітритредуктазного шляху і попереджає розвиток нітрозативного стресу в печінці. Застосування нанокристалічного діоксиду церію збільшує активність аргіназ, чим зменшує токсичний вплив аміаку за умов хронічного алкогольного гепатиту та попереджає розвиток алкогольної енцефалопатії. Використання нанокристалічного діоксиду церію захищає від етанол-індукованого ушкодження білків та зменшує колагеноліз і катаболізм неколагенових білків екстрацелюлярного матриксу печінки, при цьому деградація протеогліканів збільшується за рахунок протизапальної гепарин-гепаранової фракції глікозаміногліканів. Застосування нанокристалічного діоксиду церію за умов етанол-індукованого ушкодження печінки нормалізує метаболізм сірководню наближаючи показники концентрації сульфід аніонів (S^{2-}), сульфід аніонів (SO_3^{2-}) та біотіолів до параметрів контрольної групи.

Вперше виявлено, що введення амонію піролідиндинтіокарбамату за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту сприяє відновленню обміну метаболітами між центральними та міжчасточковими венами. Введення бактеріального ліпополісахариду за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту призводить до надмірного розширення судин мікроциркуляторного русла печінки, що сприяє стазу і запаленню. Введення фенформіну та доксорубіцину, що модулюють активність 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту запобігає розвитку гіпоксичного ураження гепатоцитів та призводить до інтенсифікації міжчасточкового кровообігу. Введення нанокристалічного діоксиду церію на тлі хронічного алкогольного гепатиту не порушує мікроциркуляцію в печінці щурів на відміну від модуляторів транскрипційного фактору NF- κ B та 5'-

аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази і збільшує інтенсивність міжчасточкового кровообігу.

На підставі кореляційного аналізу вперше встановлено, що сульфідний аніон у печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту може модулювати концентрацію нітритів, активність аргіназ та сприяти колагенолізу. Вплив сульфідного аніону на біохімічні зміни в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту залежить від активації транскрипційного фактора NF-κB та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази. Активація транскрипційного фактора NF-κB сприяє реалізації антиоксидантних властивостей H₂S. Інгібування активації транскрипційного фактора NF-κB знижує антиоксидантні властивості H₂S та загрожує розвитком нітрозативного ушкодження печінки. Активація 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази сприяє сульфід-залежному утворенню пероксинітриту за умов хронічного алкогольного гепатиту. Інгібування 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази сприяє сульфід-залежному накопиченню нітрозотіолів в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту. Введення нанокристалічного діоксиду церію за умов хронічного алкогольного гепатиту потенціює антиоксидантні властивості H₂S, і виявляє NO-синтазноміметичні властивості нанокристалічного діоксиду церію за цих умов.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати можуть бути використані для розробки та впровадження нових терапевтичних підходів для лікування хронічного алкогольного гепатиту, які включають використання модуляторів транскрипційного фактору NF-κB та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази, зокрема нанокристалічного діоксиду церію, з метою зниження ушкодження печінки та покращення її відновлення.

Результати дослідження свідчать про потенційну користь застосування модуляторів транскрипційного фактору NF-κB та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази, зокрема нанокристалічного діоксиду церію, як гепатопротекторів для розробки комплексних методів лікування, що поєднують

застосування модюляторів транскрипційного фактору NF- κ B і АМФ-активованої протеїнкінази з традиційними підходами до лікування хронічного алкогольного гепатиту.

Розроблено спосіб спектрофотометричного визначення концентрації сульфідів у продуктах харчування тваринного походження (патент на корисну модель № 151753, G01N 21/31 G01N 33/02 № u202200726; заявл. 18.02.2022; опубл. 07.09.2022, Бюл. № 36. – 4с.) (Додаток А). Впроваджено нововведення спосіб спектрофотометричного визначення концентрації сульфідів у продуктах харчування тваринного походження (Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я (Випуск 9) Київ, 2023, реєстр № 49/9/23.– С. 75-76.) (Додаток Б).

Результати роботи впроваджено у науково-педагогічний процес на кафедрі хімії ліків та лікарської токсикології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України, на кафедрі біологічної та медичної хімії імені академіка Г.О. Бабенка Івано-Франківського національного медичного університету МОЗ України, на кафедрі біологічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України, на кафедрі біохімії ім. професора О.О. Пентюка Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України, на кафедрі біохімії та медичної хімії Дніпровського державного медичного університету МОЗ України, на кафедрі біологічної хімії Харківського національного медичного університету, на кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету, на кафедрі загальної та клінічної патології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, на кафедрі патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету (Додатки В-І).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною науковою працею автора. Він розробив основні теоретичні і практичні положення роботи, визначив напрямки наукового дослідження, здійснив патентно-інформаційний пошук вітчизняної та зарубіжної літератури, виконав

статистичну обробку отриманих результатів, підготував текст наукових статей, дисертаційної роботи та реферату. Разом із д. мед. н., професором К.С. Непорадою, яка здійснювала консультаційну допомогу у виконанні дисертаційного дослідження, узгодив основні наукові положення та висновки роботи. Автору належить ідея вивчення ролі H_2S за умов модуляції транскрипційного фактору NF- κB та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази на тлі етанол-індукованого ушкодження печінки. Всі експериментальні дослідження виконані автором особисто або за безпосередньої участі. Автором самостійно змодельовано хронічний алкогольний гепатит у щурів та його корекція, виконані біохімічні та морфологічні дослідження (на базі МНДНМЛ ПДМУ). Проведення морфологічних досліджень виконано при консультативній допомозі д. мед. н., професора Г.А. Єрошенко.

Апробація результатів дослідження. Основні наукові положення і результати дисертації були представлені та обговорені на XII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 29-30 жовтня 2020 р.); Всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції «Фізіологія, валеологія, медицина: сучасний стан та перспективи розвитку» (Харків, 06 квітня 2021 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання патологічної фізіології» (Харків, 26 березня 2021 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 140-річчю з дня народження академіка О.О. Богомольця (Київ, 24 травня 2021 р.); 19th Annual World Congress on Insulin Resistance Diabetes & Cardiovascular Disease (Los Angeles, 2-4 December 2021); Міжнародній науково-практичній конференції «Біологічні, медичні та науково-педагогічні аспекти здоров'я людини» (Полтава, 21-22 жовтня 2021 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю присвяченій пам'яті академіка Г.О. Бабенка (Івано-Франківськ, 18-19 жовтня 2021 р.); IV Науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 18 листопада 2021 р.); IV науково-практичній конференції студентів та молодих

вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 19 травня 2022 р.); конференції-конкурсу молодих вчених «Актуальні проблеми біохімії і біотехнології—2022» (Київ, 31 травня 2022 р.); науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини»; XIII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.); V науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (Харків, 17 листопада 2022 р.); IX Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» (Івано-Франківськ, 19-21 вересня 2024 р.); VI International Scientific and Practical Conference "KyivLvivPharma-2023. Pharmaceutical Technology and Pharmacology in Ensuring Active Longevity" (November 16-18, 2023, Kyiv, Lviv); VI науково-практичній internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (Харків, 16 листопада 2023 р.); XXIII-их читаннях В. В. Підвисоцького (Одеса, 16-17 травня 2024 року); міжнародній науково-практичній конференції «Експериментальна та клінічна фармакологія» (Харків, 23-24 жовтня 2024 р.); науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини» (Полтава, 30-31 жовтня 2024 р.); науково-практичній конференції з онлайн-трансляцією «Ендокринна патологія у віковому аспекті» (Харків, 21-22 листопада 2024 р.); Полтавському відділенню Українського біохімічного товариства.

Публікації. Результати дослідження опубліковано в 42 друкованих працях, з яких – 20 статей, а саме 5 статей у фахових журналах України категорії Б, 8 статей у фахових журналах, що реферується міжнародною наукометричною базою Scopus; 7 статей у фахових журналах, що реферується міжнародною наукометричною базою Web of Scitnce. Окрім того, опубліковано 20 тез

доповідей у матеріалах конференцій та конгресах. Отриманий 1 патент (Додаток А) на спосіб спектрофотометричного визначення концентрації сульфідів у продуктах харчування тваринного походження (№ 151753, G01N 21/31 G01N 33/02, 07.09.2022), впроваджено 1 нововведення (Додаток Б), внесене у «Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я».

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 469 сторінках комп'ютерного набору, містить 41 таблицю та 40 рисунків. Складається з вступу, огляду літератури, характеристики матеріалів і методів дослідження, 5-х розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел, який містить 694 літературних джерел і додатків.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА РОЗВИТОК ЕТАНОЛ-ІНДУКОВАНИХ ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН В ПЕЧІНЦІ ТА ШЛЯХИ ЇХ КОРЕКЦІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Сучасні аспекти розвитку алкоголь-асоційованих хвороб печінки

Алкоголь-асоційована хвороба печінки є однією із найпоширеніших хронічних захворювань печінки в усьому світі, що виникає як результат регулярного надмірного споживання алкоголю. Споживання етанолвмісних напоїв є однією з найпоширеніших причин порушення метаболізму печінки і смертності в результаті ушкодження печінки та включає спектр кількох різних розладів: стеатоз, стеатогепатит, цироз печінки та гепатоцелюлярну карциному [344, 493]. Стеатоз печінки виникає у 90-95 % пацієнтів, що хронічно надмірно споживають алкоголь [424]. Стеатоз може призвести до розвитку запалення печінки, відоме як стеатогепатит, і прогресувати до фіброзу печінки, що відбувається у 20-40 % пацієнтів [427]. Фіброз печінки може продовжувати прогресувати та призводити до цирозу у 8–20 % пацієнтів [291]. Гепатоцелюлярна карцинома є первинним новоутворенням печінки, яке є ускладненням цирозу печінки та зустрічається у 3–10 % цих пацієнтів і є другою за поширеністю причиною смертей, пов'язаних з раком, у всьому світі [191, 493].

Найпоширенішим шляхом вживання алкоголю є оральний. Поглинання етанолу при вдиханні або іншими шляхами менш поширене. За деяких обставин етанол може вироблятися власним організмом. Природне бродіння сахаридів бактеріями в шлунково-кишковому тракті може призвести до утворення слідових кількостей ендogenous етанолу. Дисбактеріоз, викликаний видами *Candida albicans* або *Saccharomyces*, може сприяти виробленню етанолу в кишечнику, оскільки вони синтезують ацетальдегід як кінцевий продукт анаеробного метаболізму пірувату під дією піруватдекарбоксилази. Накопичення утвореного ацетальдегіду може призвести до синтезу ендogenous

етанолу шляхом оборотної реакції через бактеріальну алкогольдегідрогеназу. Ця незначна кількість етанолу, що утворюється таким шляхом, не є достатньою для забезпечення значних концентрацій у периферичній венозній крові [331]. Проте сучасні дослідження підтверджують вплив аутопродукції етанолу на розвиток деяких патологічних станів, таких як підвищена кишкова проникність, пов'язана зі стеатозом печінки і неалкогольна жирова хвороба печінки [60, 118, 507]. Крім згаданих раніше бактерій, також грамнегативні *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* і облигатні анаероби з класу *Clostridia* можуть колонізувати кишечник та продукувати етанол з можливими патологічними наслідками [306, 669, 687].

Прийнятий перорально алкоголь швидко всмоктується. Всмоктування етанолу з кишечника залежить від багатьох факторів: часу доби, стану гідратації тканин організму, кількості та концентрації спожитого етанолу, умов споживання (наявність додаткових субстратів у раціоні, чи голод), соматичних хвороб та генетики. Етанол вільно проходить через біологічні мембрани за градієнтом концентрації і швидко досягає рівноваги з вмістом у плазмі крові. Первинна метаболізація після всмоктування етанолу відбувається в шлунку та печінці [671]. Етанол вільно транспортується по організму кровоносними судинами без участі білків плазми крові. Перенесення в тканини може залежати від відносного вмісту води в тканинах або клітинах, так що розподіл етанолу може відрізнятися між тканинами [79]. Незначна частина етанолу, що потрапляє в організм піддається біотрансформації перед виділенням із сечею шляхом глюкуронізації з утворенням етилглюкуроніду (0,6–1,5%) або шляхом сульфатування з утворенням етилсульфату (0,1%). Як глюкуронізація, так і сульфатування етанолу можливі в легенях і печінці, а середній час до появи етилглюкуроніду та етилсульфату становить приблизно 20 годин [63].

Загалом метаболізм алкоголю в організмі здійснюється як окисними шляхами, які або додають кисень, або видаляють водень (через шляхи, що включають алкогольдегідрогенази, цитохром P450 і каталази), так і неокислювальними шляхами. Більшість спожитого етанолу окислюється

кількома можливими ферментативними шляхами одночасно, і печінка є основним органом (але не єдиним) для його метаболізму [63, 671].

Таким чином, алкоголь, що потрапляє до організму детоксикується головним чином у печінці за допомогою серії окисних метаболічних реакцій. Метаболізм етанолу включає три основні етапи: (1) оборотне окислення етанолу до ацетальдегіду, який є токсичним; (2) необоротний метаболізм токсичного ацетальдегіду до ацетату; і (3) розпад ацетату до води та вуглекислого газу (рисунок 1.1.1). Перший етап окислювального метаболізму алкоголю здійснюється ключовими ферментами, включаючи алкогольдегідрогеназу (АДГ), цитохром Р450 2Е1 (СУР2Е1) і пероксисомальну каталазу [635].

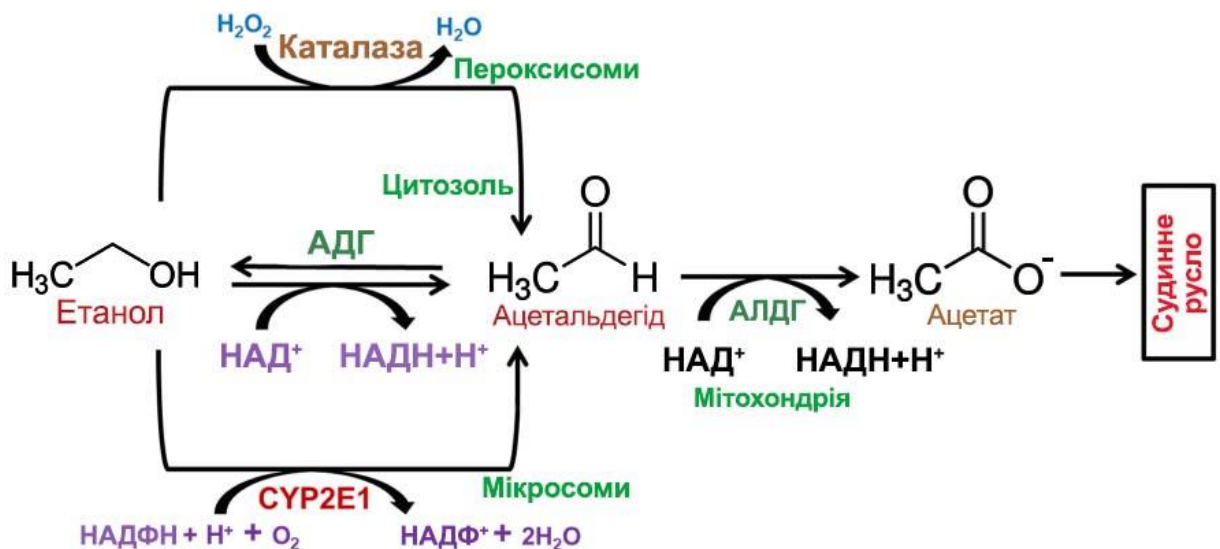


Рис. 1.1.1. Шляхи окислення етанолу в печінці. Алкогольдегідрогеназа (АДГ), основний фермент у цитозолі, і альдегіддегідрогеназа 2 (АЛДГ2), розташована в мітохондріях, каталізують послідовне окислення, яке перетворює етанол в ацетат, утворюючи два молярних еквівалента відновленого нікотинамідаденіндіуклеотиду ($\text{NADH}+\text{H}^+$). Цитохром Р450 2Е1 (CYP2E1) є основною індукцибельною оксидоредуктазою в ендоплазматичному ретикулумі, яка окислює етанол у присутності молекулярного кисню (O_2) до ацетальдегіду та перетворює відновлений нікотинамідаденіндіуклеотидфосфат ($\text{NADPH}+\text{H}^+$) у його окислену форму, утворюючи воду. Пероксисомальна каталаза — це другорядний печінковий шлях

окислення етанолу, який використовує перекис водню (H_2O_2) для окислення етанолу до ацетальдегіду та води.

Алкогольдегідрогенази – це клас цинкдегідрогеназ, що каталізують окислення первинних і вторинних спиртів до відповідних альдегідів або кетонів із відновленням $НАД^+$ до $НАДН+H^+$, а також можуть каталізувати оборотну реакцію [143]. Алкогольдегідрогеназа спочатку окислює етанол до ацетальдегіду, який потім окислюється до ацетату альдегіддегідрогеназою (АЛДГ). В організмі людини налічується не менше восьми ізоферментів АДГ і чотири АЛДГ. АДГ - це сімейство цитозольних ферментів, які в основному присутні в печінці, а також у шлунково-кишковому тракті, нирках, слизовій оболонці носа, яєчках, матці та інших органах і тканинах [63]. Людські АДГ кодуються принаймні сімома генами в хромосомі 4, розділеними на п'ять класів (таблиця 1.1.1), які відрізняються своїми структурними та кінетичними характеристиками і диференційовано розподілені в тканинах. Більшість класів АДГ виявляють найвищу активність у печінці. АДГ I класу здійснюють окислення більшої частини алкоголю (етанолу) в печінці, утворюючи ацетальдегід [275, 635].

Таблиця 1.1.1

Ізоферменти алкогольдегідрогенази людини

Клас	Номенклатура гена	Білок	K_m mM	V_{max} хв ⁻¹	Тканина, орган
1	2	3	4	5	6
I	<i>ADH1</i>	α	4,0	30	Печінка
	<i>ADH1B*1</i>	β_1	0,05	4	Печінка, легені
	<i>ADH1B*2</i>	β_2	0,9	350	
	<i>ADH1B*3</i>	β_3	40,0	300	
	<i>ADH1C*1</i>	γ_1	1,0	90	Печінка, шлунок

1	2	3	4	5	6
	<i>ADH1C*2</i>	γ_2	0,6	40	
II	<i>ADH4</i>	π	30,0	20	Печінка, рогівка
III	<i>ADH5</i>	χ	>1000	100	Більшість тканин
IV	<i>ADH7</i>	$\sigma(\mu)$	30,0	1800	Шлунок
V	<i>ADH6</i>		-	-	Печінка, шлунок

Реакції АДГ і АЛДГ призводять до накопичення НАДН+Н⁺ і, як наслідок, зниження співвідношення НАД/НАДН+Н⁺, що має значний вплив на важливі біохімічні шляхи, такі як гліколіз, цикл лимонної кислоти, окислення жирних кислот і глюконеогенез. НАДН+Н⁺ в основному окислюється до НАД в електронотранспортному ланцюзі мітохондрій. Під час перенесення електронів на кисень використовуються різні активні форми кисню (АФК), такі як супероксидний аніон-радикал (O₂⁻), гідроген пероксид (H₂O₂), і утворюється гідроксильний радикал (·OH). Ці види нестійкі і швидко реагують з додатковими електронами і протонами. Хоча більшість цих АФК перетворюються на воду до того, як вони можуть пошкодити клітини, невелика частина може генерувати токсичні ефекти, такі як перекисне окислення ліпідів, інактивація ферментів, мутації ДНК та руйнування клітинних мембран [81]. НАДН+Н⁺, побічний продукт метаболізму етанолу, також відповідає за багато добре описаних гострих біохімічних ефектів. Раптова надлишкова продукція НАДН+Н⁺ в реакціях, що каталізуються АДГ і АЛДГ, є причиною зсуву лактатдегідрогеназної реакції та продукції лактату. Крім того, надлишок НАДН+Н⁺ знижує швидкість трикарбонового циклу, порушує гліколіз і пригнічує глюконеогенез. Гіпоглікемія пов'язана з активацією гормонів стресу, які разом із надлишковим виробництвом кінцевого продукту окисл

ення етанолу ацетил-КоА, який не може бути використаний у загальмованому трикарбоновому циклі, підтримують і посилюють кетогенез. Ацидоз, спричинений надлишковим виробництвом лактату та кетонових тіл, є основною причиною важкого метаболічного ацидозу, пов'язаного з прийомом алкоголю. Зниження насичення гемоглобіну киснем внаслідок ацидозу та пригнічення дихального центру головного мозку погіршують реокислення $\text{НАДН} + \text{H}^+$ [29, 334, 375].

Іншою метаболічною системою, яка бере участь у метаболізмі етанолу, є мікросомальна система окислення етанолу (MEOS), що складається з ферментів цитохрому Р450 (CYP). Етанол-індуцибельна форма Р450 (CYP2E1) [115] каталізує окислення етанолу зі швидкістю, набагато вищою, ніж інші ферменти CYP. Хронічне вживання алкоголю збільшує експресію та активність деяких CYP, зокрема CYP2E1, ізоформа, яка зберігається в усіх видів ссавців і експресується в багатьох типах клітин і тканин. CYP2E1 відіграє значну роль в окисленні етанолу до ацетальдегіду, особливо в присутності високих концентрацій етанолу ($K_m = 8\text{-}10$ мМ, порівняно з $0,2\text{-}2,0$ мМ печінкової АДГ) [635, 671]. У фізіологічних умовах лише невелика кількість етанолу, близько 10 %, окислюється до ацетальдегіду CYP2E1 [691], але під час хронічного зловживання алкоголем відбувається індукція мікросомальної системи та збільшення експресії білка CYP2E1 [670]. Підвищення рівня CYP2E1 під час хронічного прийому етанолу корелює зі зменшенням протеасомної деградації, що підвищує стабільність білка CYP2E1 [133, 453]. CYP2E1 каталізує окислення етанолу до ацетальдегіду, і він може каталізувати окислення останнього до ацетату, проте ця реакція в присутності етанолу не вигідна і ацетальдегід накопичується. Каталітична реакція CYP2E1 генерує значну кількість АФК, таких як супероксидний аніон-радикал ($\text{O}_2^{\cdot-}$), гідроген пероксид (H_2O_2), гідроксильний радикал ($\cdot\text{OH}$) і гідроксиетильний радикал [338].

Пероксисомальна каталаза сильно експресується в гепатоцитах і є додатковим метаболічним шляхом, який бере участь в окисленні етанолу [63]. Каталаза є антиоксидантним гемвмісним ферментом, який міститься в усіх

живих організмах і особливо експресується в пероксисомах, головним чином каталізуючи розкладання гідроген пероксиду на кисень і воду у присутності донорів електронів. Таким чином, етанол, як донор електронів, окислюється до ацетальдегіду каталазою [81]. В умовах високої активності альдегідоксидази та ксантиноксидази, які є важливими виробниками гідроген пероксиду, окислення етанолу під дією каталази в печінці також збільшується [594].

Ацетальдегід, що утворюється в результаті окислення етанолу, є субстратом наступних чотирьох ізоферментів альдегіддегідрогенази: цитозольної ALDH1A1 (ALDH1, K_m 50–100 мкмоль/л), мітохондріальної ALDH1B1 (ALDH5, K_m 30 мкмоль/л), мітохондріальної ALDH2 (K_m <5 мкмоль/л), а також ALDH3A1 (ALDH3), яка локалізована в цитозолі та плазматичній мембрані. Етанол як попередник ацетальдегіду може стимулювати активність ALDH3. Печінковий ALDH2 відповідає за приблизно 50% кліренсу циркулюючого ацетальдегіду після вживання алкоголю (Рис. 1.1.1.), а ацетальдегід є основним субстратом для ALDH2 [63].

Таким чином, другий етап, який в основному виконується мітохондріальною альдегіддегідрогеназою, полягає в метаболізмі ацетальдегіду до ацетату. Крім того, ацетальдегід може метаболізуватися CYP2E1 через НАДФН-залежний шлях (мікросомальна система окислення ацетальдегіду). Коли ці окислювальні механізми перевантажуються, ацетальдегід накопичується і виявляє свою токсичну дію. Ацетальдегід завдяки своїй електрофільній природі може зв'язуватися з ключовими біомолекулами клітин та утворювати аддукти, тобто продукти ковалентного хімічного приєднання, з білками, ліпідами та ДНК, які можуть пригнічувати клітинні процеси та сприяти канцерогенезу. Ці аддукти мають широкий спектр патогенного впливу (таблиця 1.1.2), оскільки вони змінюють клітинний гомеостаз, змінюючи структуру білка і сприяючи пошкодженню та мутації ДНК [45, 58, 524, 566, 593]. На підставі токсичних властивостей ацетальдегіду, що утворюється при вживанні алкоголю, Міжнародне агентство з дослідження раку класифікує його як канцероген I групи [593]. Ацетальдегід також конкурує з іншими ендогенними альдегідами, що

утворюються в результаті метаболізму фізіологічних хімічних речовин, таких як дофамін, норадреналін і серотонін [635].

Таблиця 1.1.2.

Механізми патогенного впливу ацетальдегіду

Вплив	Механізм
Білкова/ферментна дисфункція	Утворення білкових, ДНК та гібридних аддуктів
Оксидативний стрес	Збільшення виробництва АФК, утворення продуктів перекисного окислення ліпідів, активація прозапальних цитокінів, пригнічення функції глутатіону.
Фіброгенез/цироз	Аддукти ацетальдегіду стимулюють зірчасті клітини печінки і міофібробласти продукувати колаген
Канцерогенез	Мутагенез шляхом зв'язування з ДНК
Атеросклероз	Окислення ЛПНЩ і його компонент аполіпопротеїн В-100
Кардіоміопатія	Пригнічує білковий метаболізм і індукує білкові аддукти, які разом порушують цілісність актинових і міозинових ниток і пригнічують скорочувальну функцію кардіоміоцитів
Макроцитоз еритроцитів	Утворення аутоантитіл до модифікованих ацетальдегідом білків мембрани еритроцитів
Анемія та надлишок заліза в печінці	Імуноопосередкована атака на еритроцити
Порушує коагуляційну функцію	Інактивує фактори згортання крові, наприклад тромбін, фібриноген, фактори II, VII, X, Ха, XIIIa

Ацетальдегід утворює білкові аддукти шляхом взаємодії з епсилон-аміногрупою лізину або α -аміногрупою N-кінцевих амінокислот. Стабільні аддукти ацетальдегіду змінюють структуру та функцію білків, включаючи

ферменти. Однак не всі амінокислоти в усіх білках однаково взаємодіють з ацетальдегідом, і певні білки особливо чутливі до утворення аддуктів з ацетальдегідом. До них належать такі [583]: білки, що містяться в мембранах еритроцитів, ліпопротеїни, гемоглобін, альбумін, колаген, цитохромні ферменти, такі як CYP2E1, тубулін.

Ацетальдегідно-лізинові аддукти в плазматичній мембрані гепатоцитів можуть опосередковано сприяти пошкодженню печінки, оскільки організм розпізнає їх як «чужорідні» і тому утворює антитіла проти них. Антитіла зв'язуються з аддуктами та спонукають імунну систему руйнувати гепатоцити, що містять ці аддукти. Цей процес відомий як імуніопосередкована гепатотоксичність або антитілозалежна клітинно-опосередкована цитотоксичність. Антитіла, спрямовані проти інших аддуктів ацетальдегіду та протеїну, також були виявлені в крові алкоголіків [321].

Функціональне порушення CYP2E1 (НАДФН-залежне) може призвести до подальшого накопичення ацетальдегіду. Зв'язування ацетальдегіду з глутатіоном пригнічує функцію поглинача перекису водню, тим самим посилюючи оксидативний стрес і перекисне окислення ліпідів. Перекисне окислення ліпідів є, ймовірно, найважливішим медіатором індукованого алкоголем цирозу печінки та канцерогенезу [420].

Найпоширенішими аддуктами ДНК є N2-етилдезоксигуанозин (N2-Et-dG) і 1,N(2)-пропано-2'-дезоксигуанозин (PdG). 1,N(2)-пропано-2'-дезоксигуанозин вирізняється своїми мутагенними ефектами, які порушують реплікацію ДНК, тим самим викликаючи загибель клітин. Ці два основних аддукти ацетальдегід-ДНК також сприяють канцерогенезу, ініціюючи помилки реплікації та мутації в онко/онкосупресорних генах [24].

Ацетальдегід є летючою рідиною, яка розчиняється у водних розчинах. Таким чином, дуже ймовірно, що будь-який ацетальдегід, який не перетворюється на оцтову кислоту/ацетат і залишається в циркулюючій крові, потрапляючи в легені, видихається в газоподібному стані. Інша частина ацетальдегіду, що лишається в крові може шляхом автоокислення перетворитися

на пероцтову кислоту (рисунок 1.1.2). Цю реакцію посилюють та/або індукують присутність металів, зокрема, III валентного заліза (Fe^{3+}). Таким чином, гемоглобін, залізовмісний білок, який відповідає за транспорт кисню та вуглекислого газу в крові, і має ступінь окислення заліза Fe^{3+} , коли кисень зв'язаний, може перетворити ацетальдегід на пероцтову кислоту та пояснити низькі або невизначувані рівні ацетальдегіду у венозній крові після споживання етанолу [83, 509].

Надоцтова кислота (пероцтова кислота) — перекис оцтової кислоти є дезінфікуючим засобом широкого спектру дії, демонструючи бактерицидні, віруліцидні, фунгіцидні та спороцидні властивості [281]. У дослідженнях клітинної токсичності пероцтова кислота була більш цитотоксичною, ніж гіпохлорит натрію [596]. Крім того, враховуючи, що пероцтова кислота є органічним пероксидом, вона проходить подібні реакції гомолізу, як і інші пероксиди [585]. Спонтанні або каталізовані металами реакції гомолізу пероксидів генерують вільні радикали, які ушкоджують клітини і тканини [588]. Подібно до реакцій Фентона за участю пероксиду водню, надоцтова кислота також вступає в такі реакції Фентона з Fe^{3+} , утворюючи пероксильний ($\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{OO}\bullet$), алкоксильний ($\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\bullet$) і гідропероксильний ($\text{HO}_2\bullet$) радикали [73]. Враховуючи ці нові встановлені факти, важливо зважати не лише на токсичний вплив ацетальдегіду, а й на його метаболіт – надоцтову кислоту (Рис. 1.2). Надоцтова кислота розкладається до оцтової кислоти, утворюючи гідроген пероксид (H_2O_2), який може реагувати з іонами металів, утворюючи високореакційно здатний гідроксильний радикал ($\bullet\text{OH}$), що визначає широкий спектр несприятливих біологічних реакцій [420].

Збільшення АФК під час метаболізму етанолу призводить до перекисного окислення ліпідів – пошкодження печінки та утворення токсичних альдегідів, включаючи малоновий діальдегід (MDA) та 4-гідроксиноненаль (4-HNE), які, подібно до ацетальдегіду, здатні реагувати з ДНК з утворенням екзоциклічних аддуктів ДНК, таких як N2-етилдезоксигуанозин (N2-Et-dG) і 1,N(2)-пропано-2'-дезоксигуанозин (PdG), та утворювати ДНК-білки та міжланцюгові зшивання

ДНК і, таким чином, спричиняти помилки реплікації та мутації в онко/онкосупресорних генах, що проявляється генотоксичною, мутагенною та канцерогенною дією [46, 70, 139]. Альдегіди, що утворюються в результаті метаболізму етанолу, також можуть перехресно реагувати, утворюючи гібридні аддукти. Наприклад, ацетальдегід і MDA разом можуть реагувати з білками з утворенням стабільного аддукту MDA-ацетальдегід-протеїн (МАО) [584]. Усі ці аддукти можуть індукувати імунну відповідь. Крім того, аддукти МАО можуть індукувати запальні процеси в певних типах клітин печінки (наприклад, зірчастих клітинах і ендотеліальних клітинах). Ці та інші результати вказують на зв'язок між аддуктами MDA, HNE та МАО та подальшим розвитком захворювань печінки [583].

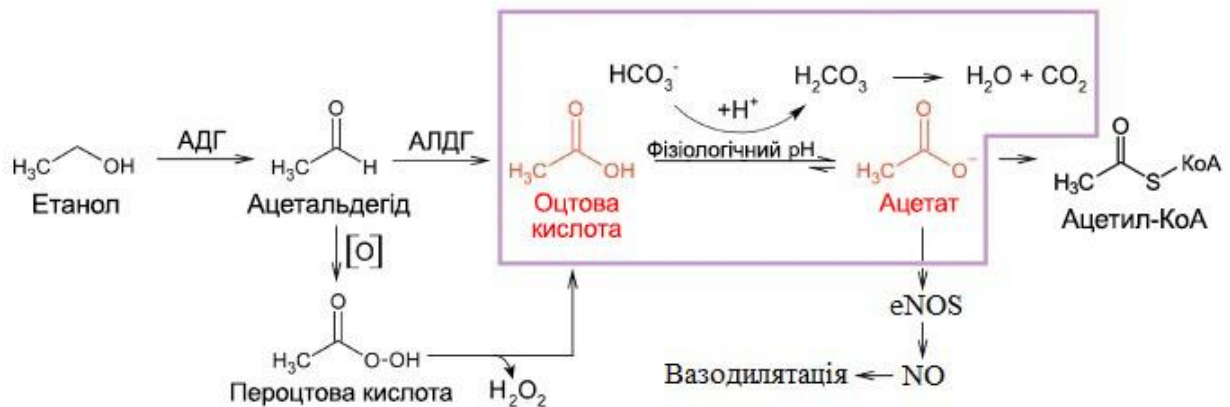


Рис. 1.1.2. Основний метаболічний шлях метаболізму етанолу. Автоокислення (позначається $[\text{O}]$) ацетальдегіду, яке може посилюватися присутністю Fe^{3+} з утворенням пероцтової кислоти (пероксіоцтової кислоти). Пероцтова кислота розкладається до оцтової кислоти, утворюючи перекис водню

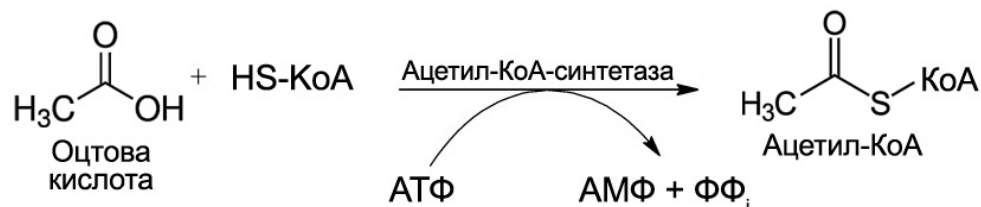
Основною прогалиною у вивченні метаболізму етанолу та його токсичного впливу на організм є обмежене дослідження ролі оцтової кислоти/ацетату в патологіях, пов'язаних із вживанням етанолу. Вважається, що оцтова кислота/ацетат є відносно доброякісною сполукою, оскільки ацетат є субстратом для синтезу АТФ в циклі лимонної кислоти і для утворення ацетил-КоА та реакцій ацетилювання. Однак оцтова кислота пов'язана з кількома різними

патологічними станами, включаючи хворобу Альцгеймера, нейродегенеративні захворювання [148], ожиріння і кишково-мозковий дисбактеріоз [470]. Оцтова кислота - це біоактивна коротколанцюгова жирна кислота, яка у великих кількостях утворюється в результаті метаболізму етанолу. Метаболізм етанолу викликає системні дезадаптивні зміни через оксидативний стрес. Метаболізм етанолу *in vivo* генерує активні форми кисню та азоту, переважно через окислювальні шляхи за участю НАДФН+H⁺ / НАДФ⁺, НАД⁺ / НАДН+H⁺ та/або H₂O₂ [671]. Етанол окислюється до оцтової кислоти, яка стає ацетатом при фізіологічному рН (Рис. 1.1.2) [82]. Ацетат потім переміщується в цикл лимонної кислоти, де, ймовірно, виникає додатковий оксидативний стрес через витік електронів з електронно транспортного ланцюга мітохондрій [242]. Хронічний оксидативний стрес, викликаний метаболізмом етанолу, призводить до ушкодження печінки [561], мозку [258] і серцево-судинних патологій [61].

Більша частина ацетату, що утворюється в результаті метаболізму алкоголю, виходить із печінки в кров і зрештою метаболізується до CO₂ у клітинах серця, скелетних м'язах і мозку. Ацетат не є інертним продуктом; він збільшує приплив крові до печінки та пригнічує центральну нервову систему, а також впливає на різні метаболічні процеси, зокрема встановлено, що швидке введення ацетату в експерименті збільшує серцевий викид, прискорює гемодинамічну нестабільність і знижує скорочувальну здатність міокарда. Ацетат підвищує рівні NO-синтаз (NOS) і оксида азоту (NO), потужного вазодилатора. Кілька досліджень також виявили індуковане ацетатом підвищення TNF-α і цАМФ, обох медіаторів NOS. Ймовірним механізмом, за допомогою якого етанол викликає вазодилатацію, є метаболізм етанолу до оцтової кислоти/ацетату, що стимулює утворення оксиду азоту NO-синтазами. Є також дані досліджень, що ацетат має сильний вплив на eNOS навіть при його мінімальних концентраціях. Хронічне вживання етанолу та підвищений вміст ацетату сприяють пошкодженню органів через індуковану етанолом дизрегуляцію сигналізації NO [82]. Ацетат також метаболізується до ацетил-КоА, який бере участь у біосинтезі ліпідів і холестерину в мітохондріях

периферичних тканин і тканин мозку. Існує гіпотеза, що при тривалому вживанні алкоголю мозок починає використовувати ацетат, а не глюкозу як джерело енергії [671].

Оцтова кислота активується в організмі до ацетил-КоА АТФ-залежною ацетил-КоА-синтетазою за такою реакцією:



Утворений ацетил-КоА може бути використаний у циклі трикарбонових кислот або спрямований на синтез жирних кислот *de novo*. Доступність ацетил-КоА модулює багато модифікацій ацетилювання білка на рівні субстрату [533].

Неокислювальний метаболізм алкоголю мінімальний, але його продукти можуть мати патологічне та діагностичне значення. Ферментативна кон'югація етанолу з ендогенними метаболітами призводить до утворення неокислювальних кінцевих продуктів етанолу, таких як етилглюкуронід, етилсульфат, фосфатидилетанол і етилові ефіри жирних кислот [635]. Діагностичне значення етилглюкороніду та етилсульфату вже було описано раніше. Утворення етилових ефірів жирних кислот, у результаті реакції спирту з жирними кислотами – слабкими органічними кислотами, має функціональну роль у клітинах людини. Переважними видами етилових ефірів жирних кислот є етилпальмітат (E16:0) і етилолеат (E18:1), а альбумін є їх основним носієм у плазмі крові [56]. Етилові ефіри жирних кислот також можна знайти в ядрі ліпопротеїнів разом з іншими нейтральними ліпідами [63].

Фосфоліпіди продукують фосфатидилетанол у процесі трансфосфатидилювання за рахунок дії мембраноасоційованої фосфоліпази D₂, що включає обмін етанолу на холін попередньо існуючого фосфатидилхоліну [671]. Фосфоліпаза D₂ має високий K_m для етанолу, і ферментативна реакція відбувається переважно при високих концентраціях циркулюючого спирту. На відміну від прямих алкогольних біомаркерів етилглюкуроніду та етилсульфату,

які можна виявити через кілька днів після вживання алкоголю, фосфатидилетанол, включений у мембрану еритроцитів, має період напіврозпаду до 28 днів після вживання [28].

Окислювальний і неокислювальний шляхи метаболізму алкоголю взаємопов'язані. Інгібування окислення етанолу сполуками, які пригнічують АДГ, CYP2E1 і каталазу, призводить до посилення неокислювального метаболізму алкоголю та збільшення утворення етилових ефірів жирних кислот в печінці та підшлунковій залозі [625].

Таким чином, токсичність етанолу у печінці пов'язана з надлишковим виробництвом НАДН+Н⁺, лактату, кетонів, тіл, ацетальдегіду, ацетил-КоА, пероцтової кислоти та ацетату, а також з оксидативним стресом, що виникає в результаті збільшення АФК в мітохондріях при окисленні великих концентрацій етанолу та від CYP2E1, що індуковано етанолом експресується в ендоплазматичному ретикулумі (мікросомальна система окислення етанолу).

Найбільш рання реакція печінки на зловживання алкоголю характеризується накопиченням ліпідів у гепатоцитах, що є оборотним станом, але може прогресувати до запалення та фіброзу. Для розуміння молекулярних механізмів за допомогою яких хронічне споживання алкоголю призводить до алкоголь-асоційованих хвороб печінки, важливо визначити шляхи, що ведуть до накопичення ліпідів у печінці. Надмірне накопичення ліпідів у печінці (стеатоз) може бути результатом комбінації таких метаболічних змін [353]:

- зниження β-окислення жирних кислот;
- підвищений синтез жирних кислот завдяки активації ліпогенних шляхів;
- збільшення доставки жирних кислот у печінку з жирової тканини та інших органів за рахунок активації ліполізу;
- пригнічення експорту триацилгліцеридів ЛПДНЩ.

Загалом, стеатоз – це метаболічний наслідок окислення етанолу; збільшення співвідношення НАДН+Н⁺ / НАД⁺ призводить до зміни клітинного окисно-відновного потенціалу з інгібуванням ліполізу та β-окислення ВЖК в гепатоцитах, оскільки багато ферментів окислення жирних кислот вимагають

НАД⁺ і інгібуються вищими рівнями НАДН+Н⁺, що порушує жировий обмін та призводить до накопичення триацилгліцеридів у гепатоцитах. Збільшення НАДН+Н⁺ призводить до посилення естерифікації жирних кислот у триацилгліцериди та збільшення синтезу жирних кислот, одночасно пригнічуючи β-окислення жирних кислот і активність циклу трикарбонових кислот [351]. Проте експериментальні дослідження на тваринах встановили, що етанол може призвести до відкладення жиру в печінці навіть після нормалізації співвідношення НАДН+Н⁺ / НАД⁺ [154]. Таким чином, метаболічного пояснення спричиненого алкоголем ожиріння печінки недостатньо для розуміння всіх змін, що відбулися в метаболізмі ліпідів печінки після вживання етанолу. Очевидно, що у розвитку стеатозу індукованого етанолом важливу роль відіграють фактори транскрипції, які змінюючи клітинний сигналінг забезпечують біосинтез ліпідів та знижують їх окислення.

Посилений ліпогенез у печінці після гострого чи хронічного споживання етанолу є відображенням більш високої експресії ліпогенних ферментів, включаючи комплекс синтетази жирних кислот (ЕС 2.3.1.85), ацетил-КоА-карбоксилази (ЕС 6.4.1.2), АТФ-цитратліази (ЕС 2.3.3.8), стеаройл-КоА-десатурази (ЕС 1.14.19.1) та малік-ензиму (ЕС 1.1.1.39). Ці ферменти кодуються генами, які регулюються транскрипційним фактором-1, що зв'язує регуляторний елемент стеролу (sterol regulatory element-binding transcription factor 1, або SREBP-1). Існує три ізоформи SREBP: SREBP-1a, 1c і 2. SREBP 1a і 1c є альтернативними формами білка, кодованого тим самим екзоном. Форми 1c і 2 головним чином беруть участь у регуляції синтезу жирних кислот і холестерину відповідно. Усі білки SREBP знаходяться в ендоплазматичному ретикулумі (ER). Щоб функціонувати як фактор транскрипції, амінокінцевий домен SREBP протеолітично відщеплюється від карбоксикінцевого домену в апараті Гольджі, і фрагмент переміщується до ядра клітини. Це досягається шляхом протеолітичного розщеплення під дією двох протеаз; протеаза сайту 1 (S1P) і протеаза сайту 2 (S2P), обидві розташовані в комплексі Гольджі. SREBP спочатку переміщується зі свого сайту в ER до комплексу Гольджі білком, що

активує розщеплення SREBP (SCAP). Активність SCAP чутлива до внутрішньоклітинних рівнів холестерину та має холестеринчутливий домен у своїй первинній структурі. Коли рівень холестерину низький, SCAP переміщує SREBP з ER до комплексу Гольджі, де S1P розщеплює попередник SREBP, утворюючи мембрано зв'язаний проміжний продукт. Проміжний продукт потім розщеплюється S2P, щоб вивільнити домен активного фактора транскрипції з мембрани, дозволяючи йому зв'язуватися зі специфічними промоторними елементами на ДНК. За звичайних обставин, коли рівень внутрішньоклітинного холестерину підвищується, активність SCAP пригнічується, тим самим запобігаючи транспорту та активації SREBP за допомогою S1P і S2P. Метаболізм етанолу порушує регуляторну петлю активації SREBP і викликає посилене розщеплення SREBP-1c, навіть коли внутрішньоклітинні рівні холестерину та/або жирних кислот високі. Саме тому, SREBP-1c відіграє важливу роль у розвитку жирової дистрофії печінки, викликаній етанолом. Таким чином, завдяки активації SREBP споживання етанолу може призвести до зміни нормального метаболізму ліпідів у печінці, перетворюючи печінку з органу, що окислює ліпіди, на орган, який накопичує ліпіди [133].

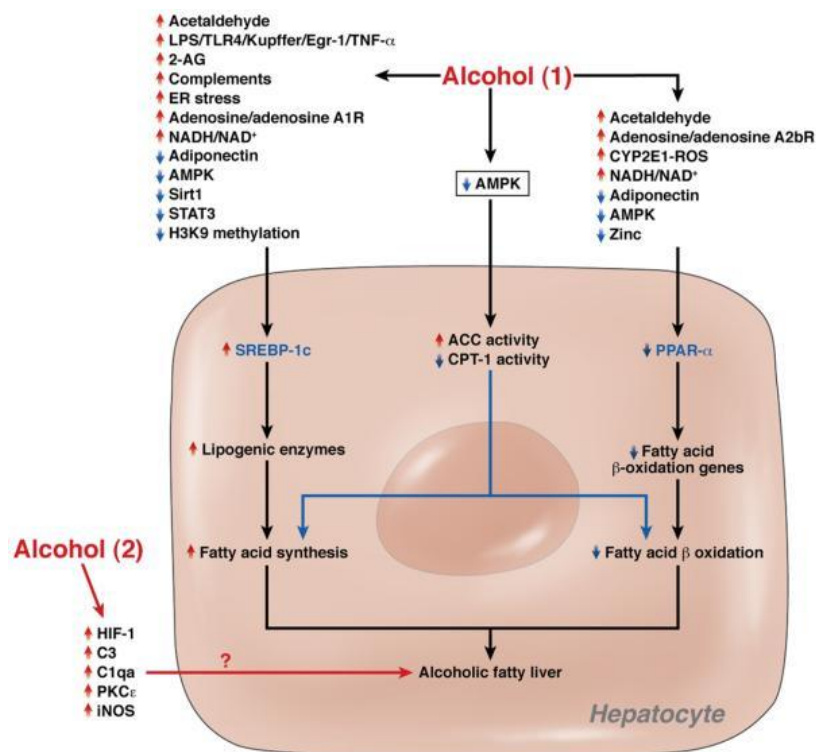


Рис. 1.1.3. Схема впливу алкоголю на метаболізм гепатоцита (Gao B. et al., 2011)

Одночасно з активацією ліпогенезу етанол зменшує окислення жирних кислот впливаючи на транскрипційний фактор проліфераційно-активованій пероксисомами рецептор α (PPAR α) (рисунок 1.1.3) [518]. PPAR α є ядерним рецептором, що взаємодіє з рецептором ретиноїду X (RXR). Білковий комплекс PPAR α -RXR активується шляхом зв'язування з жирними кислотами, тим самим посилюючи експресію білків, які беруть участь у транспорті та окисленні жирних кислот, включаючи карнітинпальмітоїлтрансферазу I (EC 2.3.1.21), білки, що беруть участь у експорті ліпідів, такі як аполіпопротеїн B, білок перенесення мікросомальних тригліцеридів, білок, що зв'язує жирні кислоти, і ацил-КоА-дегідрогеназу (EC 1.3.1.8) [133]. Експерименти на тваринах і культурах клітин показали, що застосування алкоголю призводить до зниження зв'язування PPAR α з промоторними ділянками ДНК і, відповідно, до зниження експресії кодованого білка. Ацетальдегід деактивує PPAR α , можливо, шляхом ковалентного зв'язування з ним або пригніченням зв'язування PPAR α з промоторними ділянками білковими аддуктами ацетальдегіду [171]. Крім того, алкоголь безпосередньо деактивує PPAR α через опосередкований CYP2E1 оксидативний стрес. Іншими факторами, які інгібують PPAR α , є НАДН+H⁺ / НАД⁺ або через зниження рівнів адипонектину, АМФК і цинку [81]. Спричинений етанолом оксидативний стрес через CYP2E1 порушує секрецію адипонектину з адипоцитів у кровообіг [564]. Клінічно доведено, що концентрація адипонектину у людей, що сильно п'ють значно знижується. Фізіологічний ефект адипонектину включає збільшення активності карнітинпальмітоїлтрансферази I (EC 2.3.1.21), що є ключовим ферментом окислення жирних кислот, тоді як активність комплексу синтетази жирних кислот (EC 2.3.1.85) та ацетил-КоА-карбоксилази (EC 6.4.1.2), двох ключових ферментів ліпогенезу *de novo*, інгібуються [246, 504, 665].

Існують суперечливі дані щодо впливу метаболізму етанолу на аутофагію і її значення у розвитку алкоголь-асоційованих хвороб печінки. Аутофагія спрямована на деградацію пошкоджених органел і білка з метою сприяння виживанню клітин. Мішень рапаміцину (mTOR) у ссавців є ключовим

регулятором аутофагії. Під час нестачі поживних речовин або іншої причини клітинного стресу відбувається інгібування шляху mTOR/рапаміцин і, як наслідок, активація аутофагії в гепатоцитах. Печінкова аутофагія відіграє гомеостатичну роль у регуляції ліпідного обміну для запобігання стеатозу печінки [262]. Тривале вживання алкоголю пригнічує аутофагію та сприяє стеатозу печінки, а також запаленню [130]. Короткочасний вплив етанолу активує аутофагію шляхом утворення ацетальдегіду і АФК та інгібування mTOR [436]. Ці дані свідчать про те, що гостра етанолова активація аутофагії може відігравати компенсаторну роль, запобігаючи розвитку стеатозу на ранніх стадіях алкогольного ураження печінки. На відміну від ролі аутофагії в ослабленні стеатозу та ушкодженні печінки, ряд досліджень свідчать, що аутофагія також сприяє розвитку стеатогепатиту. Так аутофагія в клітинах Купфера пригнічується за умов стеатозу в печінці, і це посилює запальну реакцію на ендотоксини [169].

НАД-залежна білкова деацетилаза сіртуїн 1 (SIRT-1) є посередником між аутофагією та транскрипційною регуляцією ліпідного обміну. Етанол знижує експресію SIRT-1 і порушує SIRT-1-індуковане деацетилювання SERBP-1, що призводить до збільшення синтезу жирних кислот [86]. НАДН+Н⁺ також інгібує деацетилазну активність SIRT-1 [37], що призводить до активації білка p53 з проапоптотичним ефектом [122]. Вплив фактора, індукованого гіпоксією (HIF) на розвиток алкогольної жирової дистрофії печінки неоднозначний. Є дані досліджень, що миші, у яких відсутній HIF-1 α у гепатоцитах, мають знижений стеатоз печінки та гіпертригліцеридемію. І навпаки, у дослідженнях з аналогічною молекулярною технологією, виявили, що активація HIF-1 α пригнічує індуковану етанолом жирову дистрофію печінки [439, 372].

Таким чином, результати про те, що головний регулятор комплексу mTOR 1 аутофагії (mTORC1) регулює SERBP-1, контролюючи вхід ліпіну-1 в ядро, і що адипонектин захищає клітини печінки від апоптозу, індукованого етанолом, шляхом індукції аутофагії [166], а HIF-1 α корелює зі стеатотичною інфільтрацією та активацією сигнального шляху Wnt/ β -катенін [656] вказують на

те, що метаболізм етанолу впливає на різні метаболічні мішені складної транскрипційної мережі, яка контролює ліпідний гомеостаз печінки.

Хронічне споживання алкоголю призводить до структурних і функціональних змін у мітохондріях печінки, включаючи збільшення розмірів і зміну морфології [114, 426], пошкодження мітохондріальної ДНК (мтДНК) [38] та синтезу мітохондріального білка [176] і зниження рівня АТФ у печінці [190]. Це може призвести до гепатоцелюлярного апоптозу та пов'язаного з ним некрозу [199]. Хронічний алкогольний метаболізм і пов'язана з ним мітохондріальна дисфункція причетні до збільшення продукції та накопичення АФК у мітохондріях печінки. Основним виробником надлишкових АФК за умов хронічного споживання алкоголю є індукований CYP2E1 у печінці [523]. Проте дихальний ланцюг також причетний до надлишкового виробництва АФК у мітохондріях у відповідь на хронічне вживання алкоголю. Надмірні рівні НАДН+Н⁺, що утворюються в процесі метаболізму алкоголю надходять у дихальний ланцюг мітохондрій, що призводить до скорочення транспортного ланцюга електронів, полегшуючи утворення супероксид-аніон радикалу [354]. Спричинене алкоголем надмірне виробництво супероксид-аніон радикалу може призвести до генерації активних форм азоту (АФА) - це реакційноздатний вид азоту, який може модифікувати залишки тирозину в білках і призвести до нітрозативного стресу і пошкодженням мітохондріальних білків. NO• може утворюватися в мітохондріях і спричиняти інгібування цитохромоксидази, а пероксинітрит впливає на активність цитохрому с [215]. Численні локалізовані в мітохондріях ферменти, що беруть участь у тканинному диханні та клітинних енергетичних процесах, інактивуються: НАДН-дегідрогеназа (ЕС 7.1.1.2), сукцинатдегідрогеназа (ЕС 1.3.5.1), цитохром-с-оксидаза (ЕС 7.1.1.9) та АТФ-синтаза (ЕС 7.1.2.2) [457]. Таким чином, етанол збільшує виробництво АФК і АФА, що може призвести до окисної модифікації та інактивації мітохондріальних макромолекул, тим самим сприяючи мітохондріальній дисфункції та втраті збереження енергії [354]. Споживання етанолу спричиняє деполаризацію мітохондрій і пригнічує окисне фосфорилування шляхом

зниження активності ферментів дихального ланцюга, що призводить до зменшення утворення АТФ. Дефіцит АТФ уповільнює реакції, що потребують енергії, і клітинні процеси, включаючи секрецію, транспорт і ендоцитоз. Крім того, ця деполяризація призводить до зменшення надходження жирних кислот у мітохондрії з подальшим зниженням β -окислення [354].

Мітохондріальний протеом надзвичайно чутливий до модифікацій АФК і АФА і, таким чином, дає можливість досліджувати молекулярні механізми, що лежать в основі патобіології хронічного споживання алкоголю. Окислення мітохондріальних білків є загальною ознакою як гострого, так і хронічного впливу етанолу. Щоб обмежити окисдазивне ушкодження після вживання алкоголю, мітохондрії печінки мають різні адаптивні механізми для запобігання функціональним і структурним порушенням. Роз'єднувальні білки (UCP), зокрема UCP 1-3, зменшують виробництво АФК шляхом роз'єднання мітохондріального окисного фосфорилування [347]. Крім того, існує мітохондріальна регуляція ферментативних антиоксидантів каталази, глутатіонтрансферази та гемоксигенази-1 та помітне збільшення глутатіону (GSH) [80]. Проте у пацієнтів з алкогольною залежністю та алкогольною хворобою печінки спостерігається мітохондріальне виснаження GSH [158], що свідчить про те, що хронічний вплив алкоголю знижує експресію GSH. Мітохондріальний супероксид-аніон радикал детоксикує марганець-залежна супероксиддисмутаза (MnSOD) [73], проте її роль може бути гепатотоксичною, а не гепатопротекторною, оскільки MnSOD може опосередковано підвищити утворення гідроксильних радикалів [114], тому роль MnSOD за умов розвитку алкоголь-асоційованих хвороб печінки ще потрібно з'ясувати.

Таким чином, хронічне споживання алкоголю індукує активність CYP2E1 і призводить до мітохондріальної дисфункції, що збільшує оксидативний і нітрозативний стрес і призводить до виснаження глутатіону та S-аденозилметіоніну (SAM) [142]. SAM є попередником для синтезу поліамінів, необхідних для життєздатності та проліферації клітин, і є основним донором метилу для метилування нуклеїнових кислот, біогенних амінів, фосфоліпідів,

гістонів та інших білків. У печінці SAM є важливим попередником для синтезу глутатіону. Виснаження SAM можна пояснити спричиненою етанолом інактивацією метіонінаденозилтрансферази (EC 2.5.1.6), надмірним споживанням SAM печінкою або порушенням опосередкованого бетаїном метилювання гомоцистеїну, що призводить до блокування вітаміну B₁₂ і фолієвозалежного синтезу метіоніну [482]. Таким чином, менші концентрації SAM призводять до підвищення рівня гомоцистеїну. Надлишок гомоцистеїну викликає накопичення неправильно згорнутих білків, що призводить до стресу ER. Стрес ER активує регуляторний фактор інтерферону 3 (IRF3), який модулює сигнальні шляхи в макрофагах печінки в процесі запалення і необхідний для мітохондріального шляху апоптозу гепатоцитів [63]. Вища доступність ацетил-КоА, що походить від окислення етанолу, збільшує ацетилювання прозапальних генів гістонів з наступним посиленням відповіді в макрофагах печінки, що сприяє розвитку гострого алкогольного гепатиту [263].

Алкоголь індукує клітинний оксидативний та/або стрес ER через метаболізм етанолу, що призводить до збільшення впливу молекулярних структур, пов'язаних із пошкодженням (DAMP). Згодом DAMPs зв'язуються з Toll-подібними рецепторами (TLR) у клітинах Купфера, що призводить до активації інфламасоми. Після активації інфламасоми під дією каспази 1 утворюється прозапальний цитокін інтерлейкін 1 бета (IL-1 β) [422]. Алкоголь чинить шкідливу дію на кишечник, що в кінцевому підсумку призводить до запалення печінки за допомогою багатьох механізмів. Зокрема, алкоголь чинить прямий токсичний вплив на епітеліальні клітини кишечника і знижує експресію білків щільних з'єднань, що підвищує проникність слизової оболонки кишечника, дозволяючи транслокувати в печінку через лімфоток і портальну циркуляцію молекулярні патерни, пов'язані з патогенами (PAMPs), такі як ліпополісахарид (LPS). Як і у випадку з DAMP, PAMPs можуть активувати інфламасоми макрофагів через TLR, що призводить до активації численних запальних цитокінів (включаючи IL-1 β , фактор некрозу пухлини альфа (TNF- α) та IL-10) та хемокінів нейтрофілів (включаючи IL-8, Gro- α , CXCL-5 та CXCL-6). Запалення,

що виникає в печінці продовжує подальшу мітохондріальну дисфункцію в гепатоцитах, генерацію АФК та печінкову недостатність. Кумулятивно, ці індуковані етанолом молекули ушкодження (DAMP і PAMP) призводять до активації різних шляхів загибелі клітин [635].

Складний баланс між шляхами виживання та загибелі паренхіматозних і непаренхіматозних клітин має вирішальне значення для регуляції пошкодження печінки та запалення під час прогресування алкогольної хвороби печінки. Запрограмована клітинна смерть є важливим процесом, який служить для підтримки тканинного гомеостазу в багатоклітинних організмах. Існує чотири основні процеси запрограмованої клітинної смерті: апоптоз, некроптоз, піроптоз і фероптоз. Нещодавно було вивчено ще один шлях розвитку прозапальної клітинної смерті під назвою паноптоз, який активується бактеріальними та вірусними тригерами, контролюється мультимерним білковим комплексом — паноптосомою і може паралельно залучати піроптоз, апоптоз і некроптоз.

Активація регуляторного фактору інтерферону 3 (IRF3) ініціює індукований алкоголем апоптоз гепатоцитів, що сприяє потужній вторинній альтерації процесу запалення і, таким чином, сприяє розвитку алкогольної хвороби печінки. Важливо, що сигналізація IRF3, керована циклічною ГМФ-АМФ-синтазою (ЕС 2.7.7.86), поширюється через зв'язок печінкового щілинного з'єднання між гепатоцитами – коннексин 32 (Cx32), тим самим посилюючи запалення та прискорюючи апоптоз гепатоцитів і, згодом, пошкодження [341]. Інтерлейкін 10 (IL-10), який виділяється з клітин Купфера М2-фенотипу, сприяє загибелі клітин Купфера М1-фенотипу через апоптоз, щоб захистити від розвитку запалення та ушкодження спричиненого алкоголем [602]. Таким чином, апоптоз моноцитів/макрофагів печінки сприяє гомеостазу печінки та відповіді на пошкодження, спричинене етанолом.

Експериментальні дослідження для визначення внеску осі некроптозу RIP1-RIP3-MLKL у прогресуванні алкогольної хвороби печінки, свідчать про те, що рецепторно-взаємодіюча протеїнкіназа 3 (RIP3) безпосередньо фосфорилується, ймовірно, через її домен RHIM, для активації некроптозу, що сприяє

прогресуванню алкогольної хвороби печінки через RIP1-незалежний шлях [203]. Інгібування RIP1 некростатином-1 послаблює опосередковане алкоголем запалення, але не ушкодження гепатоцитів, тоді як миші Rip3 - / - захищені від хронічного ушкодження печінки, викликаного етанолом [614]. Миші Mkl1 - / - лише частково захищені від хронічного ушкодження печінки, спричиненого етанолом [381], ці результати свідчать про те, що активація некроптозу сприяє розвитку алкоголь-асоційованих хвороб печінки через активацію неканонічними шляхами RIP3 і доменоподібного білка кінази змішаної лінії (MLKL).

Зростає кількість доказів того, що піроптоз, опосередкований родиною газдермінів (GSDM), є ключовим фактором розвитку алкогольної хвороби печінки як у пацієнтів, так і в експерименті на тваринних моделях. Етанол може індукувати піроптоз, опосередкований каспазою-1, через мікроРНК-148а, яка активує надмірну експресію білка, що взаємодіє з тіоредоксином (TXNIP) у гепатоцитах. Інфламасомний шлях NLRP3 активується в гепатоцитах у відповідь на індукований LPS стрес ER. Після переходу від хронічного алкогольного стеатозу до алкогольасоційованого гепатиту активується не канонічна передача сигналів каспази-1-IL-1 β , а неканонічна передача сигналів каспази-11-газдермін D (GSDMD) [212, 266].

Етанол, також, активує ферроптоз, шляхом надмірного накопичення внутрішньоклітинних ліпідів АФК і подальшим перекисним окисленням ліпідів в результаті виснаження Fe-залежного глутатіону та інактивації глутатіонпероксидази 4 (GPX4) [544]. Крім того, кишковий SIRT1 може опосередковувати спричинену етанолом дисфункцію метаболізму заліза в печінці та фероптоз через циркулюючу вісь LCN2-SAA1 у незалежному від GPX4 механізмі, що зрештою сприяє індукованому етанолом пошкодженню печінки [686].

Крім того, як вже згадувалося раніше, аутофагія та мембранний обмін, які мають загальні компоненти та впливають один на одного, відіграють важливу роль у відновленні пошкоджень клітин та їх виживанні. Порушення регуляції або гіперактивація аутофагії та мембранного обміну пов'язані з пошкодженням і

загибеллю клітин і сприяють розвитку алкогольної хвороби печінки. Доля клітин печінки визначається позаклітинною сигналізацією і залежить від клітинного середовища [530, 603].

Запалення виступає ключовим фактором, що сприяє прогресуванню алкоголь-асоційованих хвороб печінки до стеатогепатиту, цирозу та гепатоцелюлярної карциноми; багато різних типів клітин і медіаторів запалення беруть участь у цьому процесі. Фактично до запалення печінки призводить загибель гепатоцитів, підвищена проникність кишечника та порушення кишкового бактеріального гомеостазу (дисбактеріоз). Алкогольне запалення печінки характеризується інфільтрацією нейтрофілів і макрофагів, а також активацією клітин Купфера та інших типів клітин імунної системи. При хронічному алкогольному стеатогепатиті збільшується кількість печінкових макрофагів за рахунок інфільтрації моноцитів, які перетворюються на макрофаги. Як резидентні, так і інфільтруючі моноцити/макрофаги виявляють величезну пластичність, модулюючи функцію у відповідь на сигнали в своєму мікрооточенні. Наприклад, клітини Купфера стають сенсibiliзованими до TLR4-індукованої сигналізації після хронічного впливу етанолу, принаймні частково через окислювально-відновну модуляцію ключових сигнальних подій після TLR4 [495]. Ці прозапальні макрофаги разом з інфільтруючими макрофагами, активуються сигналізацією ЛПС, γ -інтерфероном та гранулоцитарно-макрофагальним колонієстимулюючим фактором (ГМ-КСФ), зазвичай класифікуються як макрофаги M1-фенотипу на відміну від макрофагів M2, які зазвичай виникають у відповідь на вплив Т-хелперів 2 типу (Th2) при алергії, утворенні гранульом та відновленні тканин. Активовані макрофаги M1-фенотипу продукують велику кількість цитокінів, таких як IL-1 β , TNF α , IL-12, IL-18 та IL-23, які допомагають індукувати специфічні до антигену клітинні запальні реакції Т-хелперам 1 і 17 типів (Th1 і Th17), тим самим сприяючи розвитку запаленню. Активовані макрофаги M2-фенотипу секретують велику кількість IL-10, антагоніста IL-1R, TGF- β , а потім пригнічують запалення та сприяють відновленню тканин. Однак це визначення поляризації не чітке і

суперечливе, а макрофаги досить пластичні, щоб реагувати на множинні і розбіжні сигнали в процесі розвитку алкоголь-асоційованих хвороб печінки. Моноцити, що прибувають в ділянку запалення печінки з циркулюючої крові розвиваються в макрофаги M1-фенотипу шляхом залежного від Notch-1 мітохондріального перепрограмування за умов розвитку алкогольного стеатогепатиту [172]. Достеменно невідомо, чи зберігаються або перепрограмуються ці макрофаги M1-фенотипу, що утворилися з моноцитів, і яким чином. У клітинах Купфера ЛПС взаємодіє з TLR4, активуючи MyD88-незалежний (TRIF/IRF-3) сигнальний шлях, що призводить до розвитку оксидативного стресу та синтезу прозапальних цитокінів, включаючи TNF- α , які спричиняють гепатоцелюлярне пошкодження [220]. Вживання алкоголю також активує компоненти системи комплемента C3 і C5, які згодом активують клітини Купфера. Активація комплементу супроводжується продукцією TNF- α та індукцією пошкодження гепатоцитів [512]. Активація TLR4 та факторів комплементу також стимулює клітини Купфера виробляти гепатопротекторні цитокіни, такі як IL-6, та протизапальні цитокіни, такі як IL-10. Ці цитокіни активують STAT3 у гепатоцитах та макрофагах/клітинах Купфера, відповідно, запобігаючи алкогольному пошкодженню та запаленню печінки [219]. У сукупності активація компонентів вродженого імунітету не тільки ініціює алкогольне пошкодження печінки, але й викликає гепатопротекторні, регенеративні та протизапальні реакції, які зменшують гепатоцелюлярне пошкодження, спричинене алкоголем [173].

Вторинне ушкодження гепатоцитів, опосередковане клітинами імунної системи, також відіграє важливу роль у розвитку алкогольного гепатиту. Як вже зазначалося раніше, хронічний вплив етанолу може призвести до підвищення проникності кишечника та підвищення рівня циркулюючих патогенних продуктів, таких як ЛПС, які також відомі як PAMPs (Pathogen Associated Molecular Patterns). Пошкоджені етанолом гепатоцити вивільняють асептичні медіатори запалення, або DAMPs (Damage Associated Molecular Patterns). DAMPs і PAMPs розпізнаються рецепторами розпізнавання патернів (PRR), такими як

TLR (Toll-подібні рецептори) та NLR (NOD-подібні рецептори) на клітинах імунної системи та паренхіматозних клітинах печінки і стимулюють вроджену імунну відповідь. Ці події призводять до нейтрофільної інфільтрації, що є характерною ознакою алкогольного гепатиту. В результаті численних досліджень встановлено, що майже кожен PRR був причетний до прогресування алкогольної хвороби печінки, включаючи внутрішньоклітинні рецептори, такі як TLR3/7/8/9, cGAS, AIM2, NLR, і позаклітинні рецептори, такі як TLR2/4 і рецептори лектину С-типу (CLR) [421, 609]. Активація сигналізації PRR призводить до експресії цитокінів і хемокинів, що сприяє розвитку алкогольної хвороби печінки і спричиняє значне додаткове пошкодження тканин.

Підвищення регуляції IL-8, CXCL1 (Gro- α) та IL-17 у печінці сприяє інфільтрації нейтрофілами та розвитку алкогольного гепатиту. Численні фактори стимулюють паренхіматозні та непаренхіматозні клітини до вироблення цих хемокинів та цитокінів при алкогольному гепатиті. До них відносяться ацетальдегід, ЛПС, TNF- α , пальмітинова кислота і пригнічення регуляції протеасомних функцій. IL-17, який підвищується у пацієнтів з алкогольним гепатитом, не тільки безпосередньо індукує рекрутинг нейтрофілів, але й стимулює зірчасті клітини печінки до вироблення IL-8 і CXCL1, які, також, секретуються клітинами Купфера, що може сприяти рекрутуванню нейтрофілів. Багато інших хемокинів (наприклад, CXCL5, CXCL6, CXCL4) і цитокінів (наприклад, TNF- α , IL-1, остеопонтин) помітно підвищують регуляцію і можуть сприяти інфільтрації нейтрофілів під час прогресування алкогольного гепатиту [173, 299, 458, 491]. Нейтрофіли, які рекрутуються специфічними запальними цитокінами та хемокінами, виконують різні ролі у прогресуванні алкоголь-асоційованих хвороб печінки, оскільки вони можуть допомагати макрофагам видаляти мертві клітини, а також сприяти пошкодженню тканин. Шкідливий вплив макрофагів, ймовірно, пов'язаний із виробництвом різноманітних медіаторів запалення, тоді як нейтрофіли загострюють алкогольну хворобу печінки, виробляючи АФК, медіатори запалення та позаклітинні пастки нейтрофілів. З іншого боку, макрофаги та нейтрофіли сприяють регенерації

печінки, ремоделюванню фіброзної тканини та антибактеріальному імунітету, таким чином, виконуючи захисну роль.

Адаптивні імунні реакції, опосередковані, Т-лімфоцитами, природними кілерами і В-лімфоцитами, також сприяють розвитку запалення печінки. Встановлено, що у пацієнтів з алкогольною хворобою печінки спостерігається значна інфільтрація та активація CD3 Т-лімфоцитів, включаючи CD4 та CD8 Т-лімфоцити в печінці та підвищення експресії маркерів активації (CD69, CD38) у циркулюючих Т-лімфоцитах [309]. Альдегідні білкові, ліпідні та змішані аддукти, що утворюються в результаті дії ацетальдегіду є антигенами для активація Т-клітин. Крім того, активація Т-клітин індукується за відсутності специфічної стимуляції Т-клітинних рецепторів великою кількістю цитокінів, DAMP та PAMP, що утворюються за умов розвитку алкоголь-асоційованих хвороб печінки. Таким чином, як антигеннеспецифічна, так і антигенспецифічна активація Т-клітин сприяють розвитку алкоголь-асоційованих хвороб печінки, проте їх точна роль залишається недостатньо вивченою і зрозумілою і, ймовірно, є складною. Інфільтрація Т-клітин корелює із запаленням печінки, некрозом та регенерацією у пацієнтів з алкогольною хворобою печінки [316]. Т-клітини не тільки сприяють прогресуванню хвороби, вивільняючи медіатори запалення (наприклад, TNF- α , IL-1, IL-17 тощо) і безпосередньо вбиваючи гепатоцити через цитотоксичні CD8⁺-Т-лімфоцити, але також може відігравати корисну роль у розвитку алкогольної хвороби печінки, сприяючи регенерації печінки та антибактеріальному імунітету [355]. Відомо, що у патогенезі алкоголь-асоційованих хвороб печінки задіяні Th1, Th2, Th9, Th17, Th22 і Т-регуляторні (Treg) CD4-Т-хелпери. Їх роль різна, так, наприклад, при алкогольному гепатиті прозапальні Th1 продукують IFN- γ , що сприяє прогресуванню хвороби [320]. Th17 не тільки сприяють запаленню печінки та фіброзу при алкоголь-асоційованих хворобах печінки, виробляючи IL-17, але вивільняючи IL-22 сприяє відновленню печінки [299, 339]. Дані експериментальних досліджень свідчать про те, що природні Т-кілери сприяють алкогольному ушкодженню печінки через активацію клітин Купфера та макрофагів [108] та рекрутування

нейтрофілів [364]. Хоча активовані Т-клітини часто виявляються при алкоголь-асоційованих хворобах печінки і можуть сприяти розвитку хвороби, надмірне вживання алкоголю також призводить до імуносупресії шляхом пригнічення функцій Т-клітин за допомогою ацетальдегіду і глюкокортикоїдів, тим самим призводить до підвищення ризику бактеріальної інфекції у пацієнтів з алкоголь-асоційованими хворобами печінки [174]. Імуносупресія посилюється через індуковану алкоголем дисфункцію дендритних клітин, що виникає як результат зміни в експресії ко-сигнальних молекул на цих клітинах [292]. Вживання алкоголю пригнічує здатність дендритних клітин ініціювати/посилювати клітинну імунну відповідь [454, 558]. В-лімфоцити, відповідальні за гуморальну імунну відповідь, також знижені у пацієнтів з алкогольною хворобою печінки через спричинене алкоголем пригнічення диференціювання В-лімфоцитів-попередників [611]. Підвищений циркулюючий рівень імуноглобуліну А є типовим для цирозу печінки, пов'язаного з алкоголем, і це відбувається внаслідок праймування TLR9 В-клітин [361].

Існують різні варіації запальної реакції на пошкодження печінки через генетичну варіабельність і різницю у впливі навколишнього середовища [370], що може призвести до регенерації печінки, або до фіброзу. Зірчасті клітини печінки активуються в печінці при алкогольному стеатогепатиті, стаючи основними продуцентами білків позаклітинного матриксу, таких як колаген і фібронектин, що призводить до фіброзу печінки [452]. Позаклітинний матрикс печінки складається, зокрема, з колагену I, III, V, VI типів, глікопротеїнів і протеогліканів, базальна мембрана з колагену IV, XV, XVIII, XIX типів [516]. Клітинні сигнальні шляхи, які беруть участь у фібриногенезі, спричиняють як якісні, так і кількісні зміни в позаклітинному матриксі. Втрата гепатоцитів, судинні зміни або флуктуації в популяції клітин печінки – це можливі зміни, які виникають при алкогольному стеатогепатиті [371, 489, 624].

Хронічне запалення печінки, оксидативний стрес, ацетальдегід і його аддукти, ЛПС, TGF- β та порушення нормальної регенерації печінки призводять до розвитку фіброзу і термінальної його стадії цирозу печінки. Фіброз печінки

фактично є реакцією на хронічне ураження печінки, що характеризується надмірним накопиченням колагену та інших білків позаклітинного матриксу і як результат печінкової недостатності. Активовані зірчасті клітини печінки є основним джерелом підвищеної продукції білків позаклітинного матриксу, поряд з портальними фібробластами та міофібробластами, що мігрували з кісткового мозку. Гепатоцелюлярне пошкодження алкоголем підвищує рівень та активує багато цитокінів, хемокінів, нейроендокринних факторів, ангіогенних факторів та компонентів вродженої імунної системи, які згодом індукують фіброгенез та пригнічують антифіброзну функцію природних кілерів [173, 350, 232].

Ушкодження печінки спричиняє активацію клітин Купфера, що вистилають стінки синусоїдних капілярів і входять до складу ретикулоендотеліальної системи та активують моноцити/макрофаги. Це викликає вивільнення цитокінів, таких як $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, $\text{TGF-}\beta_1$ і PDGF-BB , а також хемокінів CCL2 , -3 , -5 , -7 і -8 [489], запускають утворення міофібробластів і, таким чином, фібриногенез. Однак макрофаги також можуть демонструвати іншу фенотипову експресію, сприяючи фібринолізу.

Метаболізм алкоголю ініціює і закріплює фіброгенні механізми. Білкові аддукти, що утворюються ацетальдегідом, отриманим з етанолу, і альдегіди, що утворюються в результаті перекисного окислення ліпідів, такі як MDA, HNE та МАА, включають профіброгенні шляхи в активованих зірчастих клітинах печінки. Результати експерименту *in vitro* показали, що ацетальдегід, що вивільняється з гепатоцитів, потрапляє в зірчасті клітини печінки і безпосередньо призводить до експресії генів колагену I типу [483]. Ацетальдегід регулює експресію генів колагену через протеїнкіназу C (PKC). У зірчастих клітинах печінки людини PKC фосфорилує кіназу p70 S6 (p70S6K) шляхом активації регульованої позаклітинними сигналами кінази (ERK) та фосфоінозитид-3-кінази (PI3K), що призводить до експресії генів колагену [483]. Іншим профіброгенним механізмом, стимульованим ацетальдегідом, є шлях трансформуючого фактора росту бета ($\text{TGF-}\beta$), який має важливе значення у

фіброгенезі печінки. Результати досліджень на культивованих людських зірчастих клітинах печінки свідчать про секрецію латентного TGF- β_1 та експресію рецептора TGF- β II типу під дією ацетальдегіду [85]. Ацетальдегід, також, інгібує фосфорилування та деградацію β -катеніну шляхом блокування кінази глікогенсинтази 3В, тим самим активний β -катенін транслокується в ядро та підвищує експресію фіброгенних генів [40].

ЛПС не тільки стимулює клітини Купфера виробляти АФК та цитокіни, які згодом сприяють активації зірчастих клітин печінки, але також безпосередньо активує їх через TLR4. ЛПС також може активувати передачу сигналів TLR4 у синусоїдальних ендотеліальних клітинах печінки, що призводить до регуляції ангиогенезу та сприяє подальшому фіброгенезу [173]. ЛПС зі шлунково-кишкового тракту також сприяє активації зірчастих клітин печінки, підвищуючи їх чутливість до ацетальдегіду та TGF β [90].

АФК також стимулюють внутрішньоклітинні профіброгенні шляхи в зірчастих клітинах печінки, включаючи ERK, протеїнкіназу В (PKB/Akt), c-Jun N-кінцеву кіназу (JNK) та тканинний інгібітор металопротеїнази 1 (TIMP1). Тоді як активність матриксних металопротеїназ (MMP) пригнічується АФК [81]. Профіброзний ефект АФК був підтверджений виявленням того, що ферменти, що поглинають АФК, запобігають фіброзу печінки на тваринних моделях алкогольної хвороби печінки [308]. Накопичена сукупність фактів експериментальних досліджень вказує на те, що ацетальдегід активує зірчасті клітини печінки при алкогольній хворобі печінки, індукуючи оксидативний стрес [81]. АФК, що утворюються під час CYP2E1-залежного метаболізму етанолу, посилюють синтезу колагену в зірчастих клітинах печінки [438].

Сучасна гіпотеза щодо апоптозу гепатоцитів і фіброзу полягає в тому, що коли гепатоцити піддаються апоптозу, вони продукують апоптотичні тільця, які фагоцитуються клітинами Купфера, печінковими зірчастими клітинами і гепатоцитами. Фагоцитоз призводить до вироблення хемокінів і цитокінів, включаючи MIP-2, KC і TGF- β_1 , які в свою чергу активують печінкові зірчасті

клітини, що призводить до фіброзу. Якщо гепатоцити піддаються апоптозу без компенсаторної проліферації, то знову виникає фіброз [69].

Хронічне вживання алкоголю пригнічує антифіброзну функцію природних кілерів, які є цитотоксичними для активованих зірчастих клітин печінки, прискорюючи фіброгенез печінки. Це пригнічення опосередковується взаємодією пов'язаного з TNF ліганду, що індукує апоптоз (TRAIL) з рецепторами TRAIL та IFN γ [242, 350]. Крім того, IL-22, що вивільняється природними кілерами і Т-хелперами, пригнічує активацію та проліферацію зірчастих клітин печінки, стимульованих ацетальдегідом [437]. Таким чином, для попередження розвитку фіброзу важливо блокувати подальше відкладення позаклітинного матриксу печінковими зірчастими клітинами, і не менш важливо також усунути активуючі його тригери: алкоголь, запалення та пошкодження печінки.

Сучасні дані експериментально-клінічних досліджень свідчать про те, що розвиток фіброзу печінки є динамічним і потенційно двонаправленим процесом. Спонтанне розсмоктування фіброзної тканини спостерігали на тваринних моделях фіброзу печінки та під час клінічних дослідженнях на людях, за умови видалення подразника, що призвів до хронічного або повторного запалення печінки. Однак також очевидно, що на пізніх стадіях фіброзної хвороби печінки специфічні гістологічні ознаки свідчать про «необоротний» фіброз. Це включає в себе розвиток малоклітинних рубців, збагачених інтенсивно зшитим еластином і фібрилярним колагеном [467].

Печінка фільтрує токсини через синуси, які вистелені клітинами Купфера. Це опосередковується синусоїдними ендотеліальними клітинами печінки (LSECs), які з крові, що надходить з кишківника і системного кровообігу, видаляють і переробляють білки та ліпіди через високопроникні фенестри [532]. Відсутність базальної мембрани сприяє пермісивній природі синусоїдного ендотелію, що дозволяє LSECs і клітинам Купфера шляхом ендцитозу поглинати та елімінувати патогени з кров'яного русла. Динамічні зміни кількості та розміру печінкових фенестрацій регулюється фактором росту ендотелію

судин (VEGF), який є ключовим у визначенні фенотипу LSECs [121]. Алкоголь і харчові компоненти також можуть модулювати функцію фенестрації, змінюючи доступ макромолекул до паренхіматозних клітин і дозволяючи циркулюючим вірусам інфікувати гепатоцити. LSECs підтримують баланс між толерантністю та ефекторною імунною реакцією, чому сприяють їхні вроджені та адаптивні імунні функції. Дефенестрація та активація LSECs відбуваються на ранніх стадіях тваринних моделей жирової хвороби печінки [380], що сприяє активації зірчастих клітин печінки і фіброгенезу. Капіляризація також посилює передачу сигналів hedgehog [639] і погіршує активність VEGF-залежної ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS). LSECs також сприяють реверсії активованих зірчастих клітин печінки до спокійного фенотипу через продукцію NO. LSECs піддаються багатьом змінам під час пошкодження, які сприяють рекрутуванню прозапальних клітин імунної системи, включаючи підвищену експресію молекул адгезії, таких як молекула міжклітинної адгезії 1, протеїн судинної адгезії 1 і стабілізін 1, які сприяють адгезії Т- і В-лімфоцитів; хемокіни, такі як CXCL16, CXCL9 і CX3 С-хемокін-ліганд 1, які сприяють адгезії трансмігруючих Т-клітин і моноцитів; і гіалуронан, який сприяє адгезії нейтрофілів [635, 532].

Цироз є результатом складних механізмів, що включають, прямі токсичні ефекти і хронічне запалення, що призводить до загибелі гепатоцитів і фіброзу печінки, опосередкованого секрецією цитокінів і хемокінів. Запальна реакція — це скоординований процес, за допомогою якого печінка реагує на місцеві пошкодження, намагаючись відновити початкову структуру та функцію печінки. Однак, якщо місцеве пошкодження є стійким та/або інтенсивним, збережена запальна реакція призводить до поступового заміщення нормальної тканини печінки нефункціональною фіброзною тканиною. Дисбаланс між регенерацією тканин і фіброзом визначатиме результат у напрямку одужання або цирозу печінки [357]. Функція імунного нагляду печінки порушується ретикуло-ендотеліальною системою, пошкодженої фіброзом синусів і капіляризацією, фіброзом перегородки з портально-системними шунтами та втратою або пошкодженням клітин Купфера. Це структурне порушення знижує очищення

крові від ендотоксинів і бактерій, що призводить до бактеріємії, метастатичної інфекції органів і стійкої стимуляції імунної системи. Відсутність клітин Купфера або їх рецепторів комплементу призводить до неконтрольованої бактеріємії та збільшення загибелі господаря в експериментальних моделях. Згідно з цими експериментальними даними, зниження функції ретикуло-ендотеліальної системи при цирозі печінки асоціюється з більшим ризиком бактеріальної інфекції та нижчою виживаністю. Активовані циркулюючі клітини імунної системи вресі-ресі стають основними учасниками підвищення сироваткових концентрацій прозапальних цитокінів, таких як $\text{TNF}\alpha$, $\text{TNF}\alpha$ розчинних рецепторів I та II, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 та $\text{IFN}\gamma$, IL-17 , а також ICAM-1 та VCAM-1 при експериментальному та людському цирозі. Імунна дисфункція, пов'язана з цирозом, є результатом двох одночасних і взаємопов'язаних процесів, а саме системного запалення та пошкодження відповіді імунної системи, які виникають у міру прогресування цирозу [35].

При цирозі портальний тиск підвищується через посилений опір портальному відтоку і збільшення спланхнічного кровотоку. Декілька вазоактивних систем і молекул, активованих при портальній гіпертензії, насамперед оксид азоту (NO), визначають виражену спланхнічну вазодилатацію, яка відповідає за посилений спланхнічний кровообіг і початок гіпердинамічної циркуляції. Це характеризується збільшенням серцевого викиду та частоти серцевих скорочень, спланхнічною артеріальною вазодилатацією та зниженням артеріального тиску. Центральний об'єм крові зменшується через його витіснення в спланхнічну циркуляцію, що призводить до центральної гіповолемії. Ці події призводять до вторинної та масивної активації контррегуляторних систем, головним чином ренін-ангіотензин-альдостеронової системи та симпатичної нервової системи. Однак при цирозі наявність вегетативної дисфункції викликає знижену чутливість до вазоконстрикторів у системних і спланхнічних судинах, що сприяє спланхнічній вазодилатації та гіпердинамічній циркуляції, викликаній NO та іншими вазодилаторними системами [49, 67, 182, 221].

Локальне накопичення фіброзної тканини ізолює нормальні печінкові часточки, перешкоджаючи контакту та метаболічному обміну між гепатоцитами та синусоїдними капілярами, порушуючи нормальну архітектуру печінки, яка неухильно заміщується аномальними вузликами, оточеними фіброзною тканиною. Цей процес призводить до прогресуючої втрати функцій печінки, таких як катаболізм токсинів і ліків, регуляція метаболізму вуглеводів, ліпідів і білків, синтез білків плазми крові та інших важливих молекул. За клінічним перебігом цирозу печінки виділяють кілька стадій. Часто спостерігається безсимптомна або олігосимптомна стадія різної тривалості, яка називається компенсованим цирозом печінки, за якою слідує декомпенсована стадія цирозу печінки, яка характеризується наявністю асцити, печінкової енцефалопатії, варикозного розширення вен стравоходу та кровотечі, жовтяниці, ниркової та серцевої недостатності та часто призводить до розвитку гепатоцелюлярної карциноми [357].

Алкоголь визнаний канцерогеном Міжнародним агентством з вивчення раку. Це пов'язано з тим, що алкоголь викликає багато видів раку, включаючи гепатоцелюлярну карциному у людей. Запропоновано кілька механізмів, за допомогою яких алкоголь викликає канцерогенез у печінці. Серед них канцерогенний ефект аддуктів ДНК, що утворює ацетальдегід. Таких як, N2-етил-дезоксигуанозин (N2-Et-dG), N2-пропано-2'-дезоксигуанозин (N2-Et-dGTP), які змінюють цілісність ДНК. Крім того, ацетальдегід безпосередньо зв'язується з амінокислотами, а утворений білковий аддукт (з Об-метилгуанінметилтрансферазою) перешкоджає системі репарації ДНК, сприяючи канцерогенезу печінки [232]. Хоча ДНК-аддукти з альдегідами, що утворюються в результаті окислення етанолу, беруть участь у мутагенезі та канцерогенезі, цироз є основним фактором ризику розвитку гепатоцелюлярної карциноми. Механізми, які сприяють розвитку гепатоцелюлярної карциноми у пацієнтів з цирозом, є складними і включають вкорочення теломер, активацію шляхів, що сприяють виживанню пухлинних клітин, проліферацію, втрату контрольних точок клітинного циклу та активацію онкогенів [81].

Крім накопичення шкідливого ацетальдегіду, алкоголь може індукувати гепатокарциногенез, сприяючи оксидативному стресу в залежності від продукції АФК в результаті метаболізму алкоголю. Накопичені АФК генерують пероксиди ліпідів, такі як 4-гідроксиноненаль (4-HNE), і змінюють експресію генів, що призводить до підвищення регуляції прозапальних цитокінів та активації імунних клітин. АФК також підвищують регуляцію ангиогенезу та метастатичного процесу [81, 605].

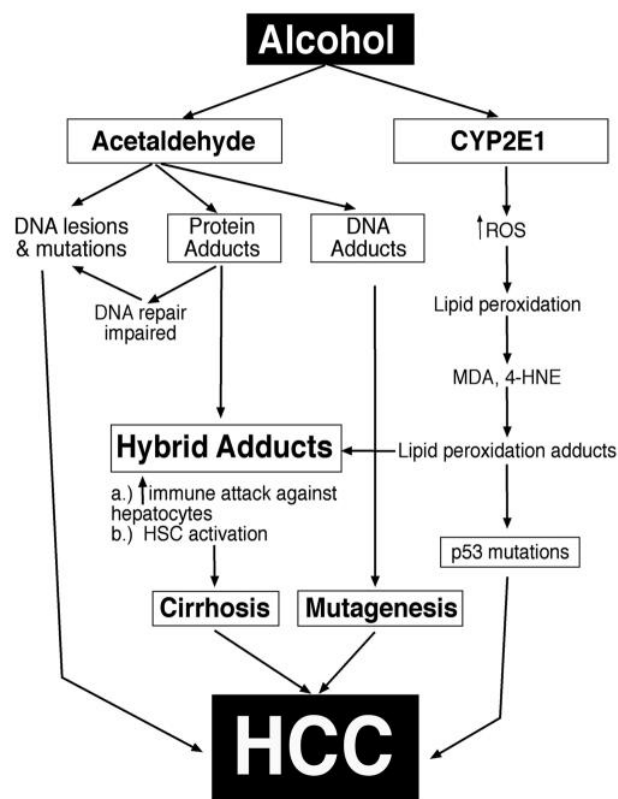


Рис. 1.1.4. Біохімічні механізми опосередкованих алкоголем шляхів, що призводять до гепатоцелюлярної карциноми (Setshedi M. et al., 2010)

Таким чином, дані експериментально-клінічних досліджень переконливо підтверджують концепцію про те, що хронічне та надмірне вживання алкоголю сприяє прогресуванню захворювань печінки та гепатоцелюлярної карциноми. Ці ефекти алкоголю в основному опосередковуються ацетальдегідом, який утворюється під час метаболізму алкоголю та накопичується внаслідок генетичних поліморфізмів ферментів, що метаболізують алкоголь, підвищеного оксидативного стресу, відкладення заліза в печінці та імунних атак на аддукти білків. Аддукти ацетальдегід-білок і ДНК сприяють оксидативному стресу,

утворенню продуктів перекисного окислення ліпідів (MDA і 4-HNE), активації зірчастих клітин печінки із супутнім запаленням, фіброзом і мутагенезом, і вони взаємодіють з іншими аддуктами альдегідів, утворюючи стабільні гібриди, які сприяють значно більшому ступеню ушкодження, включаючи пошкодження ДНК (Рис. 1.1.4).

1.2. Роль транскрипційного фактора NF-κB в розвитку патологічних змін в печінці за умов етанол-індукованого ушкодження

Вроджений імунітет відіграє важливу роль у патогенезі алкоголь-асоційованих хвороб печінки, і в останні десятиліття було досягнуто значного прогресу в розумінні молекулярного механізму, що сприяє алкоголь-залежній активації вродженого імунітету та запаленню. Надмірне часте споживання алкоголю може призвести до порушення функцій кишківника і розвитку алкогольної хвороби кишечника. Спричинені алкоголем кишкові дисфункції включають порушення всмоктування поживних речовин, зменшення співвідношення ворсинок до крипт у дванадцятипалій кишці, підвищення кишкової проникності, зниження виробництва антибактеріальних молекул, збільшення товщини слизу, разюче зменшення імунних клітин слизової оболонки (зокрема, макрофагів і Т-клітин) та зміни, пов'язані з мікробіомом кишечника (дисбактеріоз) [343]. Молекулярні механізми, що лежать в основі підвищення кишкової проникності, ще в процесі вивчення, відомо, що вживання алкоголю знижує мРНК кількох білків з'єднання, таких як оклюдин, zonula occludens-1 і клаудіни 3 і 4 [543], ацетальдегід може прямо чи опосередковано порушувати щільні з'єднання, ацетат також потенційно може змінювати кишкову проникність, впливаючи на ацетилювання білків [343]. Опосередковане алкоголем зменшення кількості імунних клітин кишківника призводить до кишкової імунної дисфункції і сприяє руйнуванню кишкового бар'єру. Втрата герметичності кишківника сприяє транслокації бактерій та/або їх продуктів у портальний та системний кровообіг.

Ліпополісахариди (LPS) транслоковані з кишківника в кров відіграють ключову роль у патогенезі алкоголь-асоційованих хвороб печінки. При алкогольному гепатиті по концентрації LPS в сироватці крові можна зробити прогноз поліорганної недостатності та смерті [374]. LPS зв'язується з Toll-подібним рецептором 4 (TLR4), який експресується на багатьох імунних і паренхіматозних клітин, включаючи клітини Купфера, гепатоцити, ендотеліальні клітини та зірчасті клітини печінки, ініціюючи один із первинних сигнальних каскадів, пов'язаних із пошкодженням печінки [561]. TLR4 є основним компонентом рецепторного комплексу розпізнавання LPS, який також включає ко-рецептори CD14 і MD-2, а також LPS-зв'язуючий білок (LBP). LBP — це розчинний човниковий білок, який безпосередньо зв'язує LPS і сприяє зв'язку між LPS і CD14. CD14 є глікозилфосфатидилінозитол-закріпленим білком, який також існує в розчинній формі. CD14 полегшує передачу сигналу від ЛПС до рецепторного комплексу TLR4/MD2 і модулює розпізнавання ЛПС та полегшує відповіді, індуковані TLR4, і необхідний для MyD88-незалежної сигналізації. MD2 — це розчинний білок, який нековалентно зв'язується з TLR4 і безпосередньо зв'язує LPS з утворенням комплексу з LPS за відсутності TLR. Немає доказів того, що TLR4 може зв'язувати LPS безпосередньо, TLR4 може посилити зв'язування LPS з MD2 [352]. LPS-опосередкована клітинна сигналізація призводить до транскрипції прозапальних генів через зв'язування з ДНК ядерного фактора κ B (NF- κ B) і регуляторного фактора інтерферону 3 (IRF-3) [307].

NF- κ B є одним із найважливіших транскрипційних факторів, які беруть участь у регуляції запалення. Цей білковий комплекс регулює експресію багатьох різноманітних генів, зокрема, прозапальних генів, які індукують вивільнення хемокінів і цитокінів, що призводить до запалення [327]. Крім того, NF- κ B бере участь у ко-регуляції проліферативних білків, таких як, циклін D і регулятора контрольної точки фази G1, таким чином контролюючи мітотичний цикл клітин. Він також відіграє важливу роль у опосередкуванні апоптозу через TNF α -опосередкований шлях, а також є докази його участі в нейрогенезі [444].

Є підтвердження, що NF-κB є регулятором c-тус, відомого онкогенного білка, що свідчить про його участь в онкогенезі [638, 226].

Сімейство транскрипційних факторів NF-κB складається з п'яти структурно консервативних білків: NF-κB1 (p50), NF-κB2 (p52), RelA (p65), RelB і c-Rel. Ці компоненти опосередковують транскрипцію шляхом взаємного зв'язування і утворення гомо- та гетеродимерів, що здійснюють активацію або репресію цільових генів [327]. Активація NF-κB включає два основні механізми: канонічний і неканонічний (або альтернативний) шляхи, які обидва важливі для регуляції імунної відповіді та запалення [444]. Канонічний шлях NF-κB активується лігандами різних цитокінових рецепторів, рецепторами розпізнавання патернів (PRR), рецепторами TNF (TNFR), а також рецепторами Т-лімфоцитів (TCR) та В-лімфоцитів (BCR). Основним механізмом канонічної активації NF-κB (TLR/MyD88; IL1R/IRAK; TNFR/TRAF2; TCR; BCR; GFR) є індукцйбельна деградація IκBα, викликана його сайт-специфічним фосфорилюванням комплексом кінази IκB (IKK). IKK складається з двох каталітичних субодиниць, IKKα і IKKβ, і регуляторної субодиниці, яка називається основним модулятором NF-κB (NEMO) або IKKγ. IKK може активуватися різними подразниками, включаючи цитокіни, фактори росту, мітогени, бактеріальні продукти та стресом. Активована IKK фосфорилює IκBα на двох N-кінцевих серинах, чим призводить до убіквітинзалежної деградації IκBα у протеасомі, що забезпечує швидку транслокацію до ядра канонічних членів NF-κB, переважно димерів p50/RelA та p50/c-Rel [327]. Білки p50 і p52 утворюються з неактивних білків-попередників p105 і p100 відповідно, що є частиною механізму активації NF-κB [444].

На відміну від канонічного шляху NF-κB, неканонічний шлях NF-κB вибірково реагує на певну групу стимулів, включаючи ліганди з надродини рецепторів фактора некрозу пухлин (TNFR), таких як LTβR, BAFFR, CD40 і RANK. На цьому шляху замість активації комплексу IKKαβγ відбувається активація NF-κB-індукуючої кінази (NIK), що призводить до фосфорилювання гомодимеру IKKα. NIK є центральною сигнальною молекулою для цього шляху,

яка активується та функціонально взаємодіє з IKK α для посередництва фосфорилювання p100, що, у свою чергу, індукує убіквітинацію та процесинг p100. Дозрівання p100 включає деградацію його С-кінцевої I κ B-подібної структури, що призводить до утворення зрілого NF- κ B2 (p52) та ядерної транслокації неканонічного комплексу NF- κ B p52/RelB. Функціонально канонічний NF- κ B бере участь майже у всіх аспектах імунної відповіді, тоді як неканонічний шлях NF- κ B є додатковим сигнальним шляхом, що взаємодіє з канонічним шляхом NF- κ B для регуляції специфічних функцій адаптивної імунної відповіді [327].

Активація канонічного шляху NF- κ B прозапальними цитокінами призводить до експресії цитокінів: IL-4, IL-5, IL-6, а також IL-1 β і TNF α ; і хемокінів: білок запалення макрофагів (MIP-1), IL-8 або ліганд хемокіну 5 (RANTES), які головним чином залучені до різних хронічних захворювань. Активація сигнального шляху NF- κ B також включає експресію ферментів: індукцибельної NO-синтази (iNOS) і циклооксигенази 2 (COX-2); молекул адгезії: молекули адгезії судинних клітин 1 і 2 (VCAM-1, VCAM-2); та інших прозапальних сполук, таких як С-реактивний білок. Усі ці фактори призводять до мультикоординації та посилення вродженої імунної відповіді та запалення [444].

Таким чином, ЛПС транслокований у кровообіг з кишківника, що зазнав ушкодження від хронічного споживання алкоголю взаємодіє з TLR4 для активації MyD88-залежних і -незалежних (TRIF/IRF-3) сигнальних шляхів та індукує клітини Купфера вивільняти АФК і ряд прозапальних цитокінів і хемокінів, включаючи IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, MCP-1 і RANTES. АФК, що продукуються клітинами Купфера у відповідь на ендотоксин, індукує в печінці експресію TLR4, посилюючи трансдукцію TLR4-опосередкованих сигналів через транскрипційний фактор NF- κ B та активує шляхи мітоген-активованої протеїнкінази (MAPK). TLR4 також експресується в зірчастих клітинах печінки та ендотеліальних клітинах і регулює алкоголь-індуковані проангіогенні та

профіброгенні реакції, тому його вважають основним фактором у розвитку та прогресуванні алкоголь-асоційованих хвороб печінки [81].

Поляризація клітин Купфера за умов алкогольного гепатиту до M1-фенотипу, викликана NF-κB, сприяє нейтрофільній інфільтрації печінки [554]. Ацетальдегід і ЛПС стимулюють паренхіматозні і непаренхіматозні клітини до вироблення IL-8, хемокінового ліганду CXCL1 (Gro-α) і IL-17, які прямо або опосередковано сприяють інфільтрації нейтрофілів і тяжкості алкогольного гепатиту [187]. Альтернативним шляхом, який сприяє експресії запальних цитокінів, є система комплементу. Окислення етанолу активує компоненти C1q, C3 і C5, які, в свою чергу, стимулюють клітини Купфера виробляти TNF-α [101, 506].

Сенсибілізацію до ЛПС, спричинену алкоголем, пов'язують з продукцією АФК. Взаємодія НАДФН-оксидази 4 (NOX4) з TLR4 бере участь у LPS-опосередкованій генерації АФК та активації NF-κB у нейтрофілах. Крім того, НАДФН-оксидаза індукує експресію TLR2 і TLR4 в моноцитах людини [352]. Після стимуляції LPS комплексу TLR4 NOX4 взаємодіє з C-кінцевою ділянкою TLR4, що призводить до утворення АФК у нейтрофілах і моноцитах, що безпосередньо активує NF-κB [462]. АФК-опосередкована активація та потенційна регуляція активності NF-κB відбувається за допомогою кількох механізмів: ІκBα фосфорилування; S-глутатіонілювання ІККβ; порушення убіквітування та деградації ІκB; активація NF-κB-індукуючої кінази (NIK), і стимуляція фосфоінозитид-3-кінази (PI3K)/протеїнкінази В (Akt) [680]. АФК як негативно, так і позитивно регулюють NF-κB, причому оксидативний стрес на ранній фазі є позитивним регулятором, а на пізній фазі – негативним регулятором. Дифенілідоній, інгібітор NOX, який використовували одночасно з введенням алкоголю щурам призводить до нормалізації виробництва АФК та інгібування синтезу TNF-α в клітинах Купфера [569].

LPS активує MAPK, включаючи p38 і N-кінцеву кіназу c-Jun (JNK), які беруть участь у виробництві TNF-α. p38 бере участь у підтримці стабільності мРНК TNF-α [352]. У відповідь на гострий вплив алкоголю шлях JNK був

пов'язаний із збільшенням виробництва АФК у мітохондріях печінки [629], збільшенням фосфорилювання JNK та зв'язування AP-1 у моноцитах [445]. АФК-опосередковане S-глутатіонілування призводить до зниження експресії антиоксидантів, таких як MnSOD, каталаза та Sestrin3 (Sestrin3 – інгібує активність mTORC1 через активацію АМФК [265]) через шлях PI3K/АКТ [440]. АКТ також бере участь у збільшенні споживання кисню, що призводить до підвищеної мітохондріальної генерації H_2O_2 , сприяючи подальшому окислювальному пошкодженню [685].

Кінцевим результатом цих індукованих алкоголем клітинних сигнальних шляхів є збільшення виробництва прозапальних цитокінів через регуляцію факторів транскрипції, таких як білок активатор 1 (AP-1) і NF- κ B. TNF α , ключовий прозапальний цитокін, що значно підвищується в пацієнти з алкогольною хворобою печінки та індукує апоптоз через взаємодію з рецептором TNF α 1 (TNFR1), ініціюючи каскад клітинної смерті через активацію каспаз. При алкоголь-асоційованих хворобах печінки TNF- α індукує мітохондріальне перекисне окислення, яке посилюється після виснаження глутатіону [561]. TNF α посилює окисне пошкодження та запалення через петлю позитивного зворотного зв'язку. Через асоціацію з TNFR1 TNF α стимулює асоціацію комплексу I, що завершується активацією MAPK (JNK, p38 і ERK). Комплекс I також безпосередньо сприяє накопиченню АФК через утворення супероксиду, здатного викликати подальше оксидативне ушкодження та продукцію TNF α продовжуючи цикл [275, 519].

АФК активують інфламмасому NLRP3, що призводить до процесингу та секреції прозапальних цитокінів IL-1 β та IL-18, які опосередковують запалення [579] та інгібування антиоксидантних молекул [680]. Збільшення виробництва IL-1 β має вирішальне значення для диференціювання Th17 [500], тоді як IL-18 активує природні Т-клітини-кілери (NK-клітини) для виробництва IFN- γ [557]. IL-1 β також був ідентифікований як активатор MAPK, включаючи p38, JNK, MEKK1 та IKK β , залучених до опосередкування регуляції самого себе та інших

прозапальних цитокінів [508], створюючи ще одну позитивну петлю зворотного зв'язку.

Сигнальний шлях Keap1-Nrf2-ARE відіграє важливу роль у підтримці клітинного окисно-відновного балансу та індукції адаптивної відповіді на оксидативний стрес спричинений метаболізмом етанолу [548]. Цей шлях складається з трьох основних клітинних компонентів: Kelch-подібного ECH-асоційованого білка 1 (Keap1), ядерного фактора 2 пов'язаного з ядерним еритроїдним фактором 2 (Nrf2) і елементами антиоксидантної відповіді (ARE). За нормальних фізіологічних умов Keap1, який також називають інгібітором Nrf2 (INrf2), зв'язується з Nrf2 (більшість якого знаходиться в цитоплазмі) і рекрутує та взаємодіє з кулін-3 E3-убіквітинлігазою (Cul3) [562]. Keap1 регулює деградацію Nrf2 і діє як датчик оксидативного стресу. У базовому стані Keap1 зв'язується з убіквітинлігазним комплексом Cullin3-Ring box1 E3, який зв'язується з амінокінцевим доменом Neh2 Nrf2 і опосередковує його поліубіквітування, що індукує постійну деградацію Nrf2 протеасомним шляхом у цитоплазмі і призводить до постійних низьких базальних рівнів Nrf2. Коли в клітині виникає оксидативний стрес, оксиданти та електрофіли реагують із залишками цистеїну в Keap1, що призводить до його модифікації та від'єднання від Nrf2, що призводить до накопичення Nrf2. Згодом Nrf2 транслокується в ядро та утворює гетеродимери з невеликими білками Maf (MafF, MafG і MafK) і зв'язується з елементами антиоксидантної відповіді (ARE), що призводить до транскрипції цільових генів [548]. Продукти більш ніж 250 генів-мішеней Nrf2 потім забезпечують детоксикацію ксенобіотиків. Продукти цільових генів Nrf2 включають антиоксидантні ферменти (наприклад, каталазу, супероксиддисмутазу, гем-оксигеназу 1, γ -глутамілцистеїнову синтетазу, глутатіонпероксидазу, глутатіонредуктазу, тіоредоксинредуктазу 1, пероксиредоксин 1 або сульфаредоксин), ферменти метаболізму та детоксикації ліків (наприклад, НАД(Ф)Н-хінондегідрогеназу 1, глутатіон-S-трансферазу, УДФ-глюкуронозилтрансферазу) та метаболічні ферменти і регулятори (глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу, транскетолазу, малік-ензим, PPAR γ -

коактиватор-1 β). Nrf2 також регулює експресію генів, що беруть участь у протеостазі, клітинному циклі та апоптозі [471]. Важливо відмітити, що Nrf2 також пригнічує експресію генів, що кодують комплекс синтетази жирних кислот (ЕС 2.3.1.85), ацетил-КоА-карбоксилази (ЕС 6.4.1.2) та АТФ-цитратліази (ЕС 2.3.3.8), ключових ферментів в анаболізмі жирних кислот [562], та прозапальних цитокінів IL-1 β і IL-6 [279]. Крім деградації, чисельність Nrf2 також регулюється на рівні транскрипції, наприклад, за допомогою рецептора арилових вуглеводнів (AhR), MYC, JUN або NOTCH, на посттранскрипційному рівні через змінену стабільність мРНК або ефективність трансляції або на епігенетичному рівні за допомогою метилювання ДНК, модифікації гістонів або мікроРНК. Крім того, посттрансляційні модифікації Nrf2, включаючи фосфорилювання, ацетилювання або сумоїлювання, точно налаштовують активність Nrf2 і роблять фактор транскрипції інтегративним центром для різних стимулів і сигнальних шляхів [471].

Попередня стимуляція Nrf2 у первинних перитонеальних макрофагах пригнічує вироблення ЦОГ-2, TNF α , iNOS та IL-1 β у відповідь на LPS. Цей ефект пояснюється активацією Nrf2, оскільки макрофаги Nrf2 $-/-$ не виявляють такої протизапальної здатності [322]. Таким чином, протизапальна роль Nrf2 добре встановлена; однак слід зазначити, що активність NF- κ B також регулює Nrf2-опосередковану експресію ARE. Модулююча дія активації NF- κ B є дещо складною і залежить від типу клітини. Існує кілька механізмів, за допомогою яких p65 (канонічна субодиниця NF- κ B) може мати супресивний вплив на експресію гена, пов'язаного з ARE. p65 сприяє збільшенню кількості ядерних рівнів Keap1, які локалізуються в основному в цитоплазмі, проте в клітинах із надмірною експресією p65 Keap1 зменшує передачу сигналів Nrf2–ARE шляхом транслокації до ядра [666]. Найбільш добре вивчений механізм інгібування Nrf2 активністю p65 є конкуренція обох білків за комплекс транскрипційного коактиватора CBP (CREB-зв'язувальний білок)–p300 [553]. Крім того, p65 може індукувати репресію транскрипції шляхом деацетилювання гістонів через асоціацію з гістондеацетилазою (HDAC) [323].

Модуляція Nrf2 у відповідь на активацію NF-κB може діяти як захисний механізм проти наслідків запалення. Експериментально встановлено, що мала GTP-аза RAC1 (Ras-споріднений субстрат C3 ботулотоксину 1) відіграє ключову роль у цьому процесі. Активація RAC1 LPS може активувати опосередковану Nrf2 експресію гем-оксигенази 1, яка, у свою чергу, пригнічує прозапальну активність NF-κB. RAC1 також може спричинити опосередковане NF-κB підвищення рівнів Nrf2, що є необхідним для усунення активності NF-κB, зміщуючи окисно-відновний баланс клітини в бік більш відновного середовища [105]. Взаємодія Keap1–IKKβ є негативним регулятором NF-κB через стабілізацію IKKα [270].

Щоб ефективно реагувати на гостре запалення, NF-κB також сприяє збільшенню мітохондріальної активності та експресії НАДФН-оксидази, які є основними джерелами ендогенних вільних радикалів [366]. Стійка активність NF-κB і Nrf2 є важливою для підтримки скоординованих клітинних відповідей для вирішення запального статусу клітини/тканини. Дисбаланс між шляхами Nrf2 і NF-κB пов'язаний із значною кількістю захворювань, починаючи від нейродегенерації, аутоімунних розладів і раку [53], в тому числі і алкоголь-асоційованих хвороб [548]. Добре відомо, що шляхи Nrf2 і NF-κB повинні взаємодіяти через численні молекулярні взаємодії, складність і наслідки яких в процесі вивчення.

Індукований канонічний шлях NF-κB посилює експресію вищезгаданих цитокінів і хемокінів у багатьох імунних клітинах, викликаючи важливі молекулярні ефекти. Основними ефекторами індукції NF-κB є нейтрофіли, які є першими гранулоцитами, які реагують у місці поточного запального процесу за хімічними сигналами — у печінці вони головним чином відповідають за пошкодження паренхіматозних клітин. Контакт між нейтрофілами та гепатоцитами через молекули міжклітинної адгезії (ICAM-1), присутні на поверхні останніх, завершується некротичною загибеллю гепатоцитів через респіраторний вибух АФК [444]. NF-κB призводить до активації дендритних клітин, які представляють антигени, отримані з PAMP і DAMP, іншим імунним

клітинам і сприяють постійному зростанню на цій стадії виробництва прозапальних медіаторів. В той же час, макрофаги M1-фенотипу, керовані NF- κ B через активацію PRR, гіперекспресують прозапальні цитокіни (головним чином IL-6 і TNF α) [135] і допомагають нейтрофілам в усуненні патогенів, мертвих або вмираючих клітин і клітинного сміття, які були заздалегідь позначені для фагоцитозу через триваюче запалення, наприклад, вищезгаданим С-реактивним білком [541]. Індукована експресія білків VCAM в ендотеліальних клітинах шляхом стимуляції цитокінами дозволяє лімфоцитам (NK-клітинам) адгезувати до ендотелію та знищувати ушкоджені клітини, тоді як iNOS у великій кількості виробляє прозапальний оксид азоту [444], сприяючи оксидативно-нітрозативному стресу. ЦОГ-2 відповідає за виробництво простагландинів з арахідонової кислоти, які діють як атрактанти для Т-клітин, тоді як кульмінація надекспресії цитокінів стимулює Т-клітини диференціюватися в хелпери, кілери або клітини пам'яті [515]. Прозапальні сигнали також трансдукуються через неканонічний шлях активації NF- κ B, який підтримує функції імунної системи поряд з основним канонічним шляхом активації. Неканонічний шлях, який запускається рецепторами вищезгаданих лігандів, сприяє відповіді шляхом вивільнення: фактора активації В-клітин (BAFF), хемоаттрактанта В-лімфоцитів (BLC), хемокіну вторинної лімфоїдної тканини (SLC), фактор 1, отриманого зі стромальних клітин (SDF-1) і хемокінового ліганду EBI1 (ELC) [550]. Всі ці фактори регулюють розвиток лімфоїдних вторинних органів разом із дозріванням імунних клітин і диференціюванням макрофагів [589]. Крім того, неканонічний шлях підтримує дозрівання дендритних клітин до антигенпрезентуючих клітин через підвищені рівні білка субодиниці RelB [520].

На відміну від підвищеної активації NF- κ B при хронічному впливі алкоголю, гострий вплив алкоголю зменшує ядерну транслокацію та активацію гетеродимеру NF κ B p65/p50, тоді як зв'язування гомодимеру NF- κ B p50 з ДНК посилювалося гострим впливом алкоголю у моноцитах людини [352]. З цих досліджень очевидно, що диференціальна регуляція NF- κ B базується на

тривалості впливу алкоголю та є ключовою в регуляції індукції TNF α в моноцитах і макрофагах при розвитку алкоголь-асоційованих хвороб людини.

Активация вродженого імунітету також індукує підвищення рівня протизапальних та гепатопротекторних цитокінів, таких як IL-10 та IL-6. Ці цитокіни активують сигнальний перетворювач і активатор транскрипції 3 (STAT3) у гепатоцитах та клітинах Купфера та ендотелію, запобігаючи алкогольному ушкодженню печінки та запаленню [185]. Вплив окисного метаболізму етанолу на STAT3 у печінці є комплексним. STAT3, який взаємодіє з NF- κ B і спільно регулює запалення, імунні відповіді та проліферацію клітин, є сигналом виживання клітин і захищає від гепатоцелюлярного пошкодження. У хронічних алкоголіків експресія STAT3 у печінці значно погіршується порівняно з іншими різними захворюваннями печінки, такими як хронічний гепатит С та аутоімунні захворювання.

Регуляція IL-6 та IL-1 β у печінці при алкогольній хворобі печінки призводить до диференціації наївних CD4⁺-клітин у Т-хелпери 17 (Th17), що продукують IL-17 [528], який має безліч прозапальних ефектів, включаючи індукцію залучення нейтрофілів до печінки; стимулювання вироблення IL-8 і CXCL1 зірчастими клітинами печінки і експресії CXCL4, 5 і 6 [561]. IL-6 та IFN- γ беруть участь в активації JAK/STAT, сприяючи регенерації печінки [264].

Янус-кіназа (JAK), асоційована з перетворювачем сигналу та активатором транскрипційного фактора (STAT), активується цитокінами та факторами росту та бере участь у функціях імунних та печінкових клітин [352]. Як відомо з експериментальних досліджень гострий вплив алкоголю активує STAT3 через LPS-індуковану Src-кіназу для модуляції продукції IL-10 в моноцитах [442]. В іншому дослідженні, IL-6-активованій STAT3 та IFN-індукований STAT1 були заблоковані гострим впливом алкоголю на моноцити [441] і щойно виділених, але не на культивованих гепатоцитах [87]. Ще в одному фундаментальному дослідженні встановлено, що STAT3 регулює запалення під час алкогольного ушкодження печінки залежно від типу клітин: STAT3 у гепатоцитах сприяє, тоді як STAT3 у макрофагах/клітинах Купфера пригнічує запалення. Крім того,

активація гепатоцелюлярного STAT3 покращує стан алкогольної жирової дистрофії печінки шляхом інгібування експресії SREBP1c [219]. Таким чином, про- або протизапальна роль STAT3 після хронічного вживання алкоголю залежить від типу клітин, задіяних у печінці. Хронічне вживання алкоголю послаблює індуковану IFN активацію STAT1 і призводить до втрати активності NK-клітин у печінці, що призводить до прискорення фіброзу печінки [243].

Таким чином, окислення етанолу корелює з пригніченням функції NK-клітин у печінці, які мають важливу антифіброзну функцію при хронічних захворюваннях печінки, і кілька досліджень встановили, що під час пошкодження печінки спостерігається підвищена експресія лігандів NK-клітин. Активний перехресний зв'язок між зірчастими клітинами печінки та NK-клітинами через взаємодію пов'язаного з TNF ліганда, що індукує апоптоз (TRAIL) з рецептором TRAIL і, як наслідок, вироблення IFN- γ в NK-клітинах призводить до їх цитотоксичності по відношенню до зірчастих клітин печінки, тим самим обмежуючи печінковий фіброгенез [242]. Оксидативний стрес при хронічному споживанні етанолу викликає підвищення рівня TGF- β і знижує передачу сигналів IFN- γ , блокуючи знищення NK-клітинами активованих зірчастих клітин печінки [430].

Таким чином, транскрипційний фактор NF- κ B здатний індукувати експресію цілого ряду різних прозапальних генів як у паренхіматозних, так і в імунних клітинах. Індуковані трансмітером сигнальні шляхи та активація імунних клітин завершуються нейтрофільною інфільтрацією та прогресуючою загибеллю гепатоцитів, що зрештою сприяє механізму ураження печінки.

1.3. Вплив АМФ-активованої протеїнкінази на розвиток патологічних змін в печінці за умов етанол-індукованого ушкодження

5'-аденозинмонофосфат-активована протеїнкіназа (АМФК) є головним регулятором енергетичного гомеостазу в еукаріот. Незважаючи на три десятиліття досліджень, біологічна роль АМФК та її потенціал як мішені для

ліків залишаються не до кінця вивченими, головним чином через відсутність оптимізованих фармакологічних засобів [396]. АМФ-активована протеїнкіназа (АМФК) є гетеротримерним комплексом, що складається з трьох субодиниць: α – 63 KDa, β – 38 KDa і γ – 38 KDa, де α є каталітичною субодиницею, а β і γ – регуляторними [628]. У ссавців ці три субодиниці містять 7 підтипів, а саме $\alpha1/\alpha2$, $\beta1/\beta2$, $\gamma1/\gamma2/\gamma3$ [505]. Субодиниці $\alpha1$, $\alpha2$, $\gamma1$ і $\gamma2$ в основному експресуються в печінці [315]. α субодиниця АМФК складається з трьох доменів: на N-кінці домен кінази (KD), аутоінгібіторний домен (AID), з'єднаний з лінкерною ділянкою, і на С-кінці домен зв'язування $\beta\gamma$ субодиниць (α -CTD) (рисунок 1.3.1) [578]. Для повної активації АМФК необхідне фосфорилювання в петлі активації консервативного залишку треоніну (Thr172) в домені KD за допомогою печінкової кінази B1 (LKB1) і Ca^{2+} /кальмодулін-залежною протеїнкіназою-

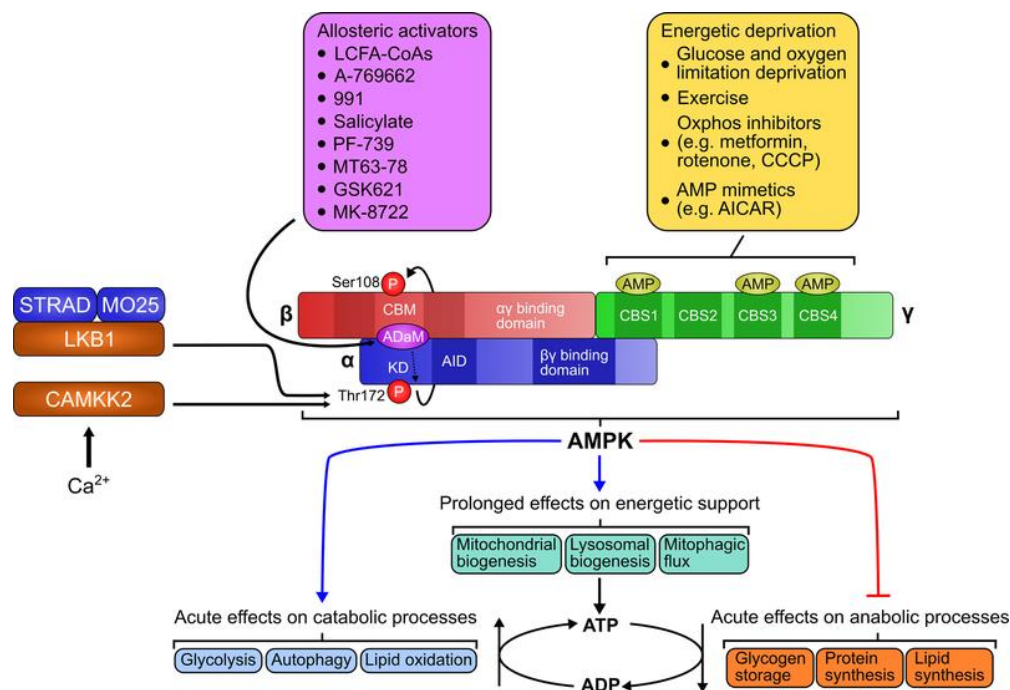


Рис. 1.3.1. Будова АМФ-активованої протеїнкінази, сигнальні шляхи її впливу та механізми регуляції (Trefts E., 2021)

кіназою 2 (CaMKK2). [578]. β субодиниця АМФК містить N-кінцевий сайт міристоїлювання, а також консервативний вуглеводний зв'язувальний модуль (CBM), який сприяє взаємодії з глікогеном, і на С-кінці $\alpha\gamma$ -зв'язуючий домен (β -CTD). Зв'язування глікогену відіграє вирішальну роль у стабілізації АМФК і

підтримці енергетичного гомеостазу клітин [216]. γ субодиниця АМФК забезпечує функцію визначення енергозабезпечення клітини АМФК через їхні домени цистатіонін- β -синтази (CBS), які зв'язують аденінові нуклеотиди. Хоча кожна γ субодиниця містить 4 домени CBS, здатні зв'язувати аденінові нуклеотиди, CBS1 і CBS3, за даними літератури, є основними сайтами, відповідальними за сприйняття АМФК енергодефіциту [205]. Таким чином, на активність АМФК значно впливає співвідношення внутрішньоклітинного АМФ/АТФ. Коли рівень АМФ/АТФ підвищується, АМФК активується, пригнічуючи синтез ліпідів та сприяючи окисленню жирних кислот [476].

Численні дослідження кристалічної структури АМФК, виявили ще деякі важливі аспекти активації АМФК на структурному рівні, включаючи залучення мотивів, що взаємодіють з регуляторними субодиницями (RIM), розташованих всередині α -лінкера α субодиниці, як структурних реле між α субодиницею та γ субодиницею доменів CBS. Таке розташування створює конформаційний зв'язок між зв'язуванням нуклеотидів і стимулюванням активації АМФК. Додаткова особливість четвертинної структури АМФК виникає на межі α субодиниці KD і β субодиниці CBM, де утворюється чітка інтерактивна кишеня, яку назвали – місце аллостеричного препарату та метаболіту (ADaM), оскільки ця кишеня є основним місцем для зв'язування низки малих молекул-активаторів АМФК [434]. Цей сайт викликав значний інтерес через його роль в активації АМФК синтетичними лігандами, такими як похідні тієнопіридону (A-769662) та бензimidазолу (сполука 911) [269]. Більшість робіт, що детально описують сайт ADaM, були зосереджені на його здатності опосередковувати активацію АМФК синтетичними лігандами. Нові дані досліджень встановили аллостеричну регуляцію ендегенними лігандами. Ефіри довголанцюгових жирних кислот з КоА (LCFA-CoA) аллостерично активують β 1 ізоформу субодиниці АМФК, для збільшення окислення жирних кислот шляхом фосфорилування ацетил-КоА-карбоксилази (КФ 6.4.1.2) [474]. Чи існує аналогічний ендегенний ліганд для комплексів, що містять АМФК β 2, чи цей сайт існує лише в комплексах β 2 як еволюційний залишок, залишається відкритим важливим питанням.

Печінкова кіназа B1 (LKB1) активує АМФК конститутивно та може утворювати гетеротример для фосфорилування та активації АМФК незалежно від внутрішньоклітинного співвідношення АМФ/АТФ шляхом з'єднання з допоміжними субодиницями STRAD і MO25 [213]. Потім активується сіртуїн1 (SIRT1), коактиватор рецептора-1 α (PGC-1 α), що активується проліфераційно-активованим пероксисомами рецептором α (PPAR α), і кілька факторів транскрипції, допомагаючи контролювати метаболізм ліпідів в організмі, запобігаючи синтезу ліпідів, сприяючи окисленню жирних кислот і, зрештою, зменшенню накопичення ліпідів, що пригнічує енергоємні процеси [527]. НАД⁺-залежна гістондеацетилаза III класу SIRT1, сприяє транслокації LKB1 з ядра у цитоплазму шляхом її деацетилювання, що призводить до збільшення активності АМФК шляхом фосфорилування LKB1 [572]. АМФК може збільшити активність SIRT1 шляхом збільшення внутрішньоклітинного співвідношення АМФ/АТФ, зокрема рівня НАД⁺ / НАДН+Н⁺ [335]. Сигнальний шлях LKB1-АМФК-SIRT1 може зменшувати накопичення ліпідів у печінці шляхом деацетилювання PGC-1 α , для пригнічення експресії генів, що кодують ключові ферменти синтезу ліпідів: комплекс синтетази жирних кислот (EC 2.3.1.85) та ацетил-КоА-карбоксилазу (EC 6.4.1.2) [154]. Активований LKB1 може блокувати експресію та транскрипцію гена адипогенезу SREBP-1c і стимулювати експресію та транскрипцію гена, що кодує карнітинацилтрансферазу1 [194]. Таким чином, активація сигнального шляху LKB1-АМФК-SIRT1 може запобігти розвитку жирової дистрофії печінки.

Збільшення внутрішньоклітинного кальцію активує CaMKK2 і призводить до активації АМФК незалежно від рівня LKB1 і нуклеотидів, таким чином пов'язуючи передачу сигналів кальцію з регуляцією енергетичного метаболізму АМФК. CaMKK2 активує АМФК за умов клітинного стресу, включаючи амінокислотне голодування, гіпоксію та від'єднання клітини від позаклітинного матриксу [213]. Є дані досліджень, що обидва ензими LKB1 і CaMKK2 також можуть діяти синергічно [206].

Поряд з печінковою кіназою B1 (LKB1) і Ca^{2+} /кальмодулін-залежною протеїнкіназою-кіназою 2 (CaMKK2), кіназа 1, що активується трансформуючим фактором росту- β (TAK1), розглядається як кіназа, що безпосередньо може фосфорилувати АМФК. Ряд досліджень свідчать про взаємозв'язок TAK1-AMPK, проте інтерпретація цих даних призвела до суперечливих висновків [433]. У 2006 році, після відкриття LKB1 і CaMKK2 як кіназ, що активують АМФК, TAK1 було визначено як третю кіназу, здатну активувати АМФК [386]. Проте, на відміну від LKB1 і CaMKK2, TAK1 на сьогодні залишається спірною кіназою, що активує АМФК. TAK1 — це серин/треонін-протеїнкіназа сімейства мітоген-активованих протеїнкіназ-кіназ-кіназ (MAP3K), що відіграє вирішальну роль у регуляції виживання клітин, диференціювання, апоптозу та запаленні. TAK1 утворює комплекси шляхом зв'язування зі своїми допоміжними субодиницями, TAK1-зв'язуючими білками (TAB1, TAB2, TAB3) і активується рецепторами IL-1 і TGF- β , TNF- α , Toll-подібними рецепторами (TLR), CD40 і рецептором В-лімфоцитів. TAK1 також бере участь в активації кількох внутрішньоклітинних кіназ, p38 мітоген-активованої протеїнкінази (p38MAPK), N-кінцевої кінази c-Jun (JNK) і I κ B кіназного комплексу (IKK). Таким чином, TAK1 був описаний як регулятор ядерного фактора κ -легкого ланцюга-енхансера активованих В-клітин (NF- κ B) і MAPK у прозапальній сигналізації. Відповідно до сучасних даних досліджень уявлення про роль TAK1 в метаболізмі клітин розширюється. У новітній літературі TAK1 інтерпретується як регулятор клітинної смерті та виживання, що добре відповідає відомим функціям лігандів TNF α і TRAIL. Індукована TRAIL передача сигналів TAK1-AMPK індукує цитопротекторну аутофагію в нетрансформованих клітинах, тоді як TRAIL у кількох типах ракових клітин індукує апоптоз [433]. Активатор рецептора ліганду NF- κ B (RANKL) активує АМФК у попередниках остеокластів, а нокдаун TAK1, опосередкований siRNA, блокує індуковану RANKL активацію АМФК [297]. RANKL є членом суперсімейства TNF, що підтверджує гіпотезу, що активація TAK1 може фізіологічно активувати АМФК. В ендотеліальних клітинах васкулярний ендотеліальний фактор росту (VEGF) стимулював TAK1 і

АМФК, тоді як пригнічення TAK1 за допомогою shRNA також пригнічувало VEGF-стимульоване фосфорилування кількох кіназ, включаючи АМФК [692].

В експерименті миші, які голодували з дефіцитом TAK1 у гепатоцитах, демонстрували важкий гепатостеатоз із підвищеною активністю mTORC1 і пригніченням аутофагії, що свідчить про зниження активації АМФК в печінці. TAK1-дефіцитні гепатоцити демонстрували аутофагію та пригнічували активність АМФК у відповідь на голодування або лікування метформіном; однак ектопічна активація АМФК відновила аутофагію в цих клітинах. Ці дані вказують на те, що TAK1 регулює метаболізм ліпідів у печінці та пухлиногенез через вісь АМФК/mTORC1 [236]. Таким чином, TAK1-опосередкована аутофагія в печінці відіграє важливу роль у запобіганні надмірного накопичення ліпідів, викликаного голодуванням і жировим перевантаженням. Підсумовуючи літературні дані можна зробити висновок, що TAK1-залежна активація АМФК може індукувати аутофагію, як можливий захисний механізм виживання клітин.

Велика кількість досліджень підтверджує, що АМФК і mTORC1 є двома ключовими факторами, які регулюють аутофагію і можуть сприяти та гальмувати аутофагію відповідно. У той же час АМФК може негативно регулювати активність mTORC1 шляхом безпосереднього фосфорилування кількох компонентів у шляху mTORC1, що сприяє клітинній аутофагії. Таким чином, АМФК контролює аутофагію на різних етапах: 1) АМФК безпосередньо фосфорилує регулятор TSC2 вище по сигнальному шляху за mTOR і субодиницю mTORC1 RAPTOR. Обидві ці події фосфорилування беруть участь у зниженні активності mTOR в умовах енергетичного стресу. mTOR відіграє протилежну роль АМФК: він стимулює анаболічні шляхи в умовах високого вмісту поживних речовин. АМФК і mTOR є компонентами стародавніх консервативних шляхів, які еволюціонували як антагоністичний механізм, що контролює катаболізм і анаболізм.

Прямий зв'язок між АМФК і основним шляхом аутофагії було встановлено, коли було показано, що АМФК безпосередньо фосфорилує ULK1 [268]. Використовуючи клітинні лінії з нокаутом ULK1 і реконституцією ULK1-

дефіцитних клітин за допомогою мутантного ULK1, який не може бути фосфорильований АМФК, встановлено, що фосфорилування необхідне для мітохондріального гомеостазу та виживання клітин під час голодування та метаболічного стресу, а сигнальний шлях АМФК-ULK1 важливий не лише для загальної аутофагії, але також спеціально для селективного видалення пошкоджених мітохондрій [144]. Подальші дослідження підтвердили істотну роль ULK1 у мітофагії за різних умов [540, 238]. Видалення пошкоджених мітохондрій після активації АМФК є важливим у макрофагах для активації антибактеріального захисту [649] і гепатоцитах як механізм протидії розвитку жирової дистрофії, фіброзу і канцерогенезу [236].

Сигнальний шлях АМФК-mTOR відіграє дуже важливу роль у регуляції ліпідного обміну. Дослідження з вивчення впливу аутофагії на ліпідний обмін підтвердили гіпотезу, що надмірне накопичення крапель ліпідів у гепатоцитах можна зменшити шляхом регулювання процесу аутофагії і, таким чином, діючи на сигнальний шлях АМФК-mTOR певною мірою зменшити стеатоз печінки [376, 674]. Подібним чином, інгібування mTORC1 шляхом активації АМФК на щурчій моделі алкогольної хвороби печінки, відновлює аутофагію, пригнічену алкоголем, і, таким чином, захищає печінку від алкогольної токсичності. Узагальнюючи дані літератури можна констатувати, що аутофагія, опосередкована сигнальним шляхом АМФК-mTOR, відіграє важливу роль у зменшенні жирової дистрофії печінки і алкогольної токсичності.

АМФК, як важливий метаболічний регуляторний компонент, може реагувати на оксидативний стрес та дефіцит енергії і згодом шляхом фосфорилування ключових ферментів впливати на ліпідний обмін. Так, АМФК шляхом фосфорилування інгібує активність регуляторного ферменту синтезу холестеролу 3-гідрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктази (КФ 1.1.1.88) [332], активує тригліцеридліпазу, тим самим сприяючи гідролізу ТАГ [271]. Важливо також, що АМФК зменшує накопичення ліпідів у печінці [154]: 1) Активована АМФК може інгібувати ацетил-КоА-карбоксилазу (КФ 6.4.1.2) шляхом фосфорилування запобігаючи її димеризації, і як наслідок, знижуючи синтез

жирних кислот; 2) Малоніл-КоА є не тільки попередником синтезу жирних кислот, але й потужним інгібітором карнітинацилтрансфери1. АМФК фосфорилюючи ацетил-КоА-карбоксилазу (КФ 6.4.1.2) зменшує синтез малоніл-КоА, що сприяє експресії карнітинацилтрансфери1, і таким чином збільшує окислення жирних кислот. У підсумку, активований АМФК може фосфорилювати регуляторні ферменти, зменшувати накопичення ліпідів, сприяти окисленню жирних кислот і пригнічувати синтез холестерину та жирних кислот.

Встановлено, що хронічний вплив етанолу знижує експресію та активність АМФК і карнітинацилтрансфери1 у гепатоцитах, що призводить до розвитку індукованого етанолом ожиріння печінки [177]. Етанол може впливати на активність ферментів печінки, що беруть участь у метаболізмі ліпідів, шляхом інгібування АМФК, який протидіє жировій дистрофії печінки інгібуючи ацетил-КоА-карбоксилазу, фермент, що обмежує швидкість синтезу жирних кислот. Інгібування ацетил-КоА-карбоксилази також знижує рівень малоніл-КоА, попередника в синтезі жирних кислот та інгібітора карнітинпальмітоїлтрансфери 1, ферменту, що обмежує швидкість окислення жирних кислот. Крім того, АМФК безпосередньо фосфорилює і пригнічує активність SREBP в гепатоцитах, тим самим попереджаючи розвиток стеатозу печінки [213, 598, 664]. Таким чином, вживання алкоголю пригнічує активність АМФК у печінці, що призводить до зниження фосфорилювання та підвищення активності ацетил-КоА-карбоксилази, а також зниження активності карнітинпальмітоїлтрансфери 1, які відіграють важливу роль у розвитку алкогольної жирової дистрофії печінки.

В експерименті, коли етанол додають до культивованих клітин гепатоми, які окислюють етанол, він індукує транскрипцію SREBP-регульованого промотора та підвищує рівні зрілої форми SREBP-1. Обидва ці ефекти блокуються включенням у культуральне середовище 5-аміноімідазол-4-карбоксамід-1- β -D-рибофуранозид (AICAR) або метформіну, обох активаторів АМФК. Надмірна експресія АМФК у цих клітинах блокує індуковане етанолом

підвищення активності промотора та білка SREBP. Вплив етанолу на клітини знижує активність АМФК. Дослідження *in vivo* підтверджують ці висновки. В експерименті на мишах етанол значно знижує активність АМФК печінки, збільшуючи активність ферменту ацетил-КоА-карбоксилази і знижуючи окислення жирних кислот [173]. Ці результати підтверджують вплив АМФК на активований етанолом SREBP-1c, а саме АМФК знижує експресію SREBP-1c, і розвиток стеатозу печінки. Вони також демонструють терапевтичну цінність AICAR і метформіну в запобіганні та/або лікуванні жирової дистрофії печінки, спричиненої етанолом. Таким чином, центральна роль АМФК у розвитку алкогольної жирової дистрофії добре задокументована.

Важливим регулятором внутрішньоклітинного метаболізму ліпідів є біфункціональний білок ліпін-1, що володіє ферментативними та транскрипційними регуляторними можливостями [153]. Як Mg^{2+} -залежна фосфогідролаза фосфатидної кислоти у цитоплазмі, ліпін-1 головним чином каталізує перетворення фосфатидної кислоти в диґліцериди на мембрані ендоплазматичного ретикулуму з подальшим синтезом триґліцеридів і фосфоліпідів [499]. Коли ліпін-1 переноситься до ядра, він діє як коактиватор транскрипції, впливаючи на активність метаболічних факторів транскрипції, таких як PPAR α , і коактиватор PGC-1 α [607]. Їх взаємодія сприяє окисленню жирних кислот і пригнічує активність SREBP-1, щоб зменшити синтез жирних кислот. Ліпін-1 в печінці має два підтипи: ліпін-1 α і ліпін-1 β . Ліпін-1 α переважно локалізується в ядрі гепатоцитів і сприяє експресії генів окислення жирних кислот, тоді як ліпін-1 β переважно локалізується в цитоплазмі та сприяє експресії генів синтезу жирних кислот. Експериментально встановлено, що тривалий вплив етанолу значно збільшує співвідношення ліпін-1 β / ліпін-1 α в печінці миші та збільшує синтез жирних кислот. Однак після лікування диґідроартемізиніном і рапаміцином співвідношення ліпін-1 β / ліпін-1 α було значно знижено [92]. Таким чином, співвідношення ліпін-1 β / ліпін-1 α в печінці має прямий вплив на гомеостаз метаболізму ліпідів.

Підсумовуючи вище наведені дані можна зазначити, що сигнальний шлях АМФК-SREBP-1с бере участь у регуляції порушень метаболізму ліпідів, спричинених етанолом. Активація АМФК може запобігти підвищенню експресії білка SREBP-1с при гострому та хронічному стеатозі печінки, спричиненому алкоголем, відновити фосфорилування ацетил-КоА-карбоксилази і зменшити активність і експресію генів адипогенезу. Етанол підвищує регуляцію ліпіну-1 в основному за рахунок інгібування АМФК і активації SREBP-1 і сприяє цитоплазматичній локалізації ліпіну-1, що, у свою чергу, може призвести до посиленого ліпогенезу, порушення окислення жирних кислот і розвитку стеатозу [222].

АМФК і SIRT1 можуть регулювати такі фактори транскрипції, як NRF2 і NF-κB, які беруть участь у регуляції експресії антиоксидантних генів для захисту від оксидативного пошкодження та пригнічення прозапальних цитокінів відповідно [419]. NRF2 може накопичуватися в цитозолі, транслокуватися в ядро, гетеродимеризуватися з малими білками м'язово-апоневротичної фібросаркоми (sMAF) і зв'язуватися з основними консенсусними послідовностями елементів антиоксидантної відповіді (ARE), що призведе до експресії антиоксидантних генів. Відомо, що оксидативний стрес, що виникає під час розвитку алкоголь-асоційованих хвороб печінки активує через Keap1 NRF2, який є важливим фактором транскрипції для експресії генів антиоксидантів, і є ще одним важливим модулятором внутрішньоклітинної адаптивної антиоксидантної відповіді на оксидативний стрес [548]. В експерименті на мишах і клітинах HepG2 доведено, що активація АМФК бере участь у активації NRF2 [419]. Ці результати свідчать про те, що передача сигналів АМФК/SIRT1 і NRF2 може бути залучена до захисних ефектів проти опосередкованого етанолом оксидативного стресу.

Підвищена експресія цитокінів підконтрольних фактору транскрипції NF-κB у печінці опосередковує прогресування алкогольного стеатозу печінки у моделі на мишах, які отримували етанол [229]. Активація АМФК/SIRT інгібує NF-κB-опосередкований шлях запалення, що призводить до зменшення експресії

генів цитокінів запалення [549]. Таким чином, активація АМФК/SIRT має важливе значення в прогресуванні стеатозу і попередженні розвитку алкогольного гепатиту.

Експериментальні та клінічні дослідження виявили тісний зв'язок між АМФК і фіброгенезом печінки. Активність АМФК виявилася низькою у 28 пацієнтів з прогресуючим фіброзом/цирозом печінки порівняно зі здоровими людьми [492]. В експерименті з моделюванням гепатиту CCl_4 , лікування агоністом АМФК AICAR пригнічувало проліферацію зірчастих клітин печінки та експресію колагену- α_1 і корелювало зі зменшенням фіброзу печінки та покращенням її функцій [111]. Ці дослідження вказують на те, що інактивація АМФК сприяє фіброзу печінки, тоді як її активація може стримувати цей процес.

TGF- β є важливим регулятором запалення в печінці, яке може пригнічуватися АМФК. Ці дані отримані експериментальним шляхом на лініях зірчастих клітин печінки людини (LX-2) та щурів (CFSC-2G), в ході яких виявили, що АМФК послаблює TGF- β -індуковану взаємодію Smad3 з транскрипційним коактиватором p300 та зменшує фіброз печінки, і свідчать, що АМФК може бути новою мішенню для лікування запалення та фіброзу алкоголь-асоційованих хвороб печінки [318]. Активація АМФК може протидіяти запаленню, що призводить до фіброзу шляхом зменшення активності NF- κ B, що підтверджують дослідження з посиленням експресії АМФК [654]. AICAR пригнічує як NF- κ B, так і TGF- β , активуючи АМФК. В експерименті отримано дані, що інгібування NF- κ B пов'язане з інгібуванням TGF- β ; TGF- β є висхідним індуктором NF- κ B під час запалення та фіброзу печінки [253]. Таким чином, АМФК – це молекула з потужними антипроліферативними ефектами проти зірчастих клітин печінки, що підтверджує стимуляція активності АМФК AICAR, яка в результаті пригнічує проліферацію зірчастих клітин печінки та експресію колагену- α_1 [610]. AICAR сприяє експресії АМФК і пригнічує проліферацію міофібробластів, що утворилися із зірчастих клітин печінки [610]. Адипонектин також індукує експресію АМФК і стримує проліферацію зірчастих клітин печінки, тим самим полегшуючи ступінь фіброзу в експерименті [492].

Трансформація зірчастих клітин печінки в міофібробласти є профіброгенним процесом, який підвищує експресію гладком'язового α -актину (α -SMA) і зменшує накопичені ліпіди. Індукована куркуміном активація АМФК сприяє експресії генів, які мають відношення до накопичення ліпідів, і збільшує внутрішньоклітинні ліпіди в зірчастих клітинах печінки, тим самим стримуючи їх трансформацію в міофібробласти [265]. Активовані зірчасті клітини печінки здатні мігрувати і тим самим сприяти фіброзу. Інгібіторний фактор міграції макрофагів (MIF) сприяє фосфорилуванню АМФК та стримує міграцію зірчастих клітин печінки, спричинену тромбоцитарним фактором росту (PDGF). Таким чином, АМФК має ще і антиміграційний вплив на зірчасті клітини печінки [210, 211]. АМФК індукує апоптоз зірчастих клітин печінки шляхом зниження співвідношення Bcl-2/Bax і, як наслідок, каспазного шляху [613]. Активація АМФК, спричинена адипонектином, сприяє апоптозу та пригнічує проліферацію зірчастих клітин печінки, сприяючи шляху iNOS/NO [131]. В результаті АМФК може сприяти апоптозу зірчастих клітин печінки, що призводить до зменшення фіброзу печінки.

Таким чином, АМФК протидіє фіброзу печінки, пригнічуючи первинне запалення печінки, секрецію позаклітинного матриксу та індукцію зірчастих клітин печінки. АМФК стримує проліферацію, трансформацію в міофібробласти та міграцію зірчастих клітин печінки, сприяючи їх апоптозу під час фіброзу печінки.

Метаболічне перепрограмування зірчастих клітин печінки є частиною їх звичного метаболізму. Найбільш поширеним перепрограмуванням є аеробний гліколіз, що дозволяє зірчастим клітинам печінки швидко отримувати енергію. АМФК пригнічує аеробний гліколіз та активацію зірчастих клітин печінки, що корелює зі зниженням вироблення лактату та АТФ, тим самим блокуючи нормальне енергопостачання зірчастих клітин печінки та ослаблюючи фіброгенез [93, 314]. Доведено, що є зв'язок між мітохондріальною дисфункцією та фіброзом печінки [200]. Під час корекції мелатоніном експериментального

фіброзу виявили, що АМФК захищає від фіброзу печінки, сприяючи мітофагії та біогенезу мітохондрій [259].

Все більше доказів вказує на специфічне регулювання різних аспектів мітохондріальної біології та гомеостазу АМФК. Ці аспекти включають контроль кількості мітохондрій через стимуляцію мітохондріального біогенезу, регуляцію форми мітохондріальної мережі в клітинах і контроль якості мітохондрій через регуляцію аутофагії та мітофагії.

Активація АМФК через прямі дрібномолекулярні активатори, за відсутності пошкодження мітохондрій, є достатньою для індукції поділу мітохондрій [276]. Це відкриття встановило АМФК як вирішальний і прямий регулятор мітохондріальної динаміки. АМФК фосфорилує два сайти Ser155 і Ser173 на факторі мітохондріального поділу (MFF), який є основним рецептором для білка DRP1 на зовнішній мембрані мітохондрій, що опосередковує звуження мітохондрій під час поділу [336]. Таким чином, АМФК регулює форму мітохондріальної мережі під час енергетичного стресу, фосфорилуючи MFF і контролюючи локалізацію DRP1.

Таким чином, здатність АМФК обмежувати фіброз частково пов'язана з пригніченням оксидативного стресу, запалення, аеробного гліколізу, а також сприянням мітофагії та біогенезу мітохондрій. На додаток до своєї антифіброзної ролі, АМФК покращує функції печінки та зменшує апоптоз гепатоцитів, що вказує на те, що він діє як гепатопротекторна, так і антифіброзна молекула. Вцілому, враховуючи вплив АМФК на розвиток стеатогепатиту, фіброзу і канцерогенезу в печінці, цю молекулу потенційно можна розглядати як нову терапевтичну стратегію для лікування алкоголь-асоційованих хвороб печінки. Проте є значні прогалини у розумінні впливу регуляції АМФК на метаболізм клітин печінки за умов хронічного впливу алкоголю, тому необхідні додаткові фундаментальні та клінічні дослідження для з'ясування потенціалу АМФК в лікуванні алкоголь-асоційованих хвороб печінки.

1.4. Зміни метаболізму H_2S в печінці за умов етанол-індукованого ушкодження

Сірководень є найновішим доповненням до сімейства газотрансмітерів: оксида азоту (NO) і монооксиду вуглецю (CO). Висока розчинність газотрансмітерів у ліпідах дозволяє їм проникати через клітинні мембрани, не потребуючи специфічного транспортера чи рецептора і вони модулюють багато клітинних функцій за допомогою низки внутрішньоклітинних сигнальних процесів без системи вторинних месенджерів, але можуть впливати на них. Газоподібні речовини швидко метаболізуються і практично не зберігаються у везикулярних структурах, тому їх необхідно повторно синтезувати за потреби. Відповідно ферменти їх біосинтезу повинні бути регульованими на кількох рівнях для адекватної зміни їх активності за умов впливу різних екзогенних та ендогенних чинників. Аномальна генерація та метаболізм цих газотрансмітерів призводить до порушення впливу на різноманітні біологічні процеси, такі як тонус судинної стінки, імунні процеси, виживання клітин, метаболізм, стійкість до стресу, реакції запалення, онкогенез тощо [102].

Печінка є центральним органом в продукції, метаболізмі та елімінації сірководню (H_2S). Численні експериментальні дослідження виявили ферментативні та неферментативні шляхи біосинтезу та катаболізму H_2S . У ферментативному біосинтезі ендогенне утворення H_2S з L-цистеїну в цитозолі клітин в основному опосередковано двома піридоксаль-5'-фосфат-залежними ферментами: цистатіонін β -синтазою (CBS, КФ 4.2.1.22) і цистатіонін γ -ліазою (CSE, КФ 4.4.1.1). H_2S також виробляється шляхом CAT/AAT і MPST у цитозолі та мітохондріях, де задіяні L-цистеїнамінотрансфераза (CAT, КФ 2.6.1.3), аспартатамінотрасфераза (AAT, КФ 2.6.1.1) та 3-меркаптопіруватсульфуртрансфераза (MPST, КФ 2.8.1.2.) (Рис. 1.4.1.) [294, 539]. Незважаючи на те, що в печінці можна виявити три ферменти, що генерують H_2S , їх роль в ендогенному утворенні H_2S різна. Встановлено, що експресія цистатіонін γ -ліази у печінці приблизно в 60 разів більша, ніж цистатіонін β -

синтази [257]. В дослідженнях з генетичним нокаутом гена цистатіонін γ -ліази зменшується більша частина виробництва H_2S у печінці, що додатково підтверджує той факт, що саме цистатіонін γ -ліаза є основним ферментом для біосинтезу H_2S у тканинах печінки [395]. Нокаут гену 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази в експериментальних дослідженнях стимулює вироблення H_2S , тоді як надмірна експресія цього гену пригнічує утворення H_2S [305], що може свідчити про негативну роль 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази в ендогенному утворенні H_2S печінкою, та можливо наявний регуляторний механізм негативного зворотного зв'язку. Важливо також зазначити, що рівні експресії генів ферментів біосинтезу H_2S відрізняються у різних типах клітин печінки. В зірчастих клітинах печінки експресується цистатіонін γ -ліаза, проте цистатіонін β -синтаза не виявлена, в цьому ж дослідженні в синусоїдних ендотеліальних клітинах печінки (LSECs) щурів не виявлена взагалі експресія цих генів [163]. В гепатоцитах визначається експресія генів всіх трьох ферментів (CBS, CSE і MPST) біосинтезу сірководню [681]. Кожен фермент біосинтезу H_2S використовує певну комбінацію субстратів і по-різному вносить свій внесок у загальний пул обміну H_2S . Так, наприклад, при фізіологічно значущих концентраціях субстрату понад 95% всього печінкового H_2S утворювався за допомогою CSE-опосередкованих реакцій, тоді як при високих концентраціях субстрату цистатіонін β -синтаза робить основний внесок у печінковий пул H_2S [257]. Таким чином, очевидно, що біосинтез сірководню в клітинах печінки пов'язаний з їхньою функцією, концентрацією субстратів та зовнішніми впливами і можливо визначає їх фенотип.

Клітини вродженого (нейтрофіли, макрофаги, дендритні клітини, природні клітини-кілери, тучні клітини, базофіли, еозинофіли) та адаптивного імунітету (Т- і В-лімфоцити) експресують усі три основні ферменти, що продукують H_2S , CBS, CSE та MPST. Клітини імунної системи «оточені хмарою» H_2S в результаті його ендогенного виробництва та екзогенної продукції з навколишніх паренхіматозних клітин. Таким чином, « H_2S середовище» цих клітин є результатом комбінації екзогенних і ендогенних джерел. Як правило,

фізіологічна хмара H_2S підтримує життєздатність і нормальну функцію цих клітин. Проте вона пригнічує адгезію до стінок кровоносних судин та інфільтрацію нейтрофілів в тканини. На відміну від обширних досліджень регуляції адгезії нейтрофілів і вплив на їх тканинну екстравазацію, інформація щодо впливу H_2S на рух моноцитів або макрофагів (хемотаксис) неоднозначний. Вплив H_2S на хемотаксис моноцитів і макрофагів, ймовірно, буде не тільки залежним від контексту (спонтанний чи індукований хемотаксис), але й залежним від концентрації та, можливо, залежним від часу та тривалості впливу [127].

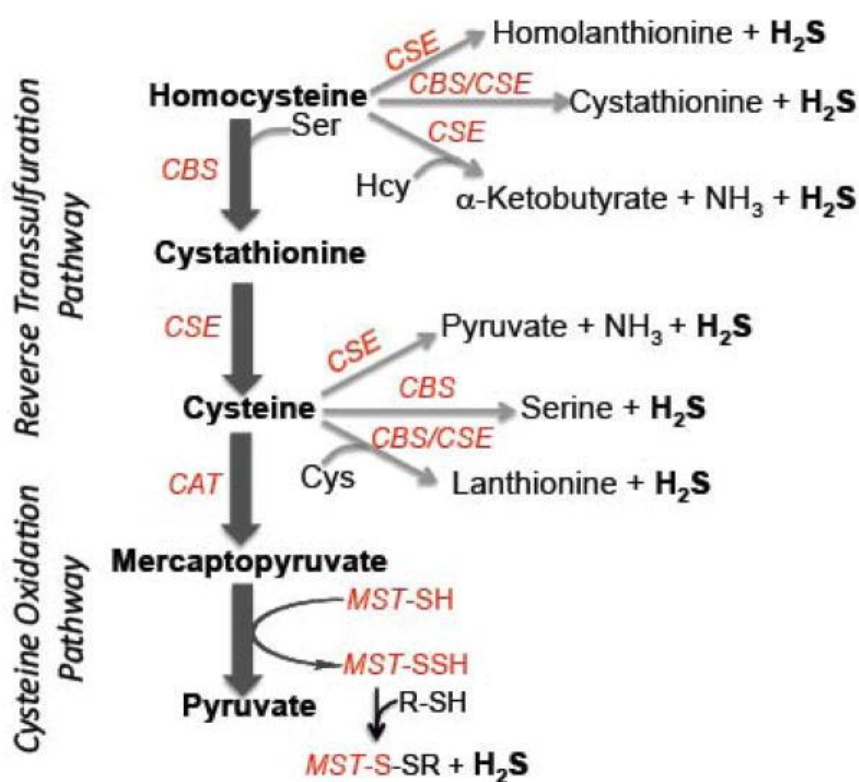


Рис. 1.4.1. Схема, що показує різні реакції утворення H_2S , які каталізуються ферментами в шляху зворотної транссульфурації (CBS і CSE) і катаболічному шляху цистеїну (CAT/AAT і MST) (Singh S., 2011).

Шлях зворотної транссульфурації відіграє центральну роль у метаболізмі сірки та окисно-відновній регуляції в клітинах (рисунок 1.4.1) [539]. Цей шлях призводить до утворення кількох метаболітів сульфуру, які включають L-цистеїн, глутатіон (GSH), таурин і H_2S (рисунок 1.4.2). У ссавців цей шлях включає перенесення сульфуру від гомоцистеїну до цистеїну через цистатіонін і є єдиним

шляхом для біосинтезу цистеїну. Гомоцистеїн, який синтезується з метіоніну, перетворюється на цистатіонін за допомогою цистатіонін- β -синтази (CBS), який під дією цистатіонін- γ -ліази (CTH) перетворюється на L-цистеїн [102].

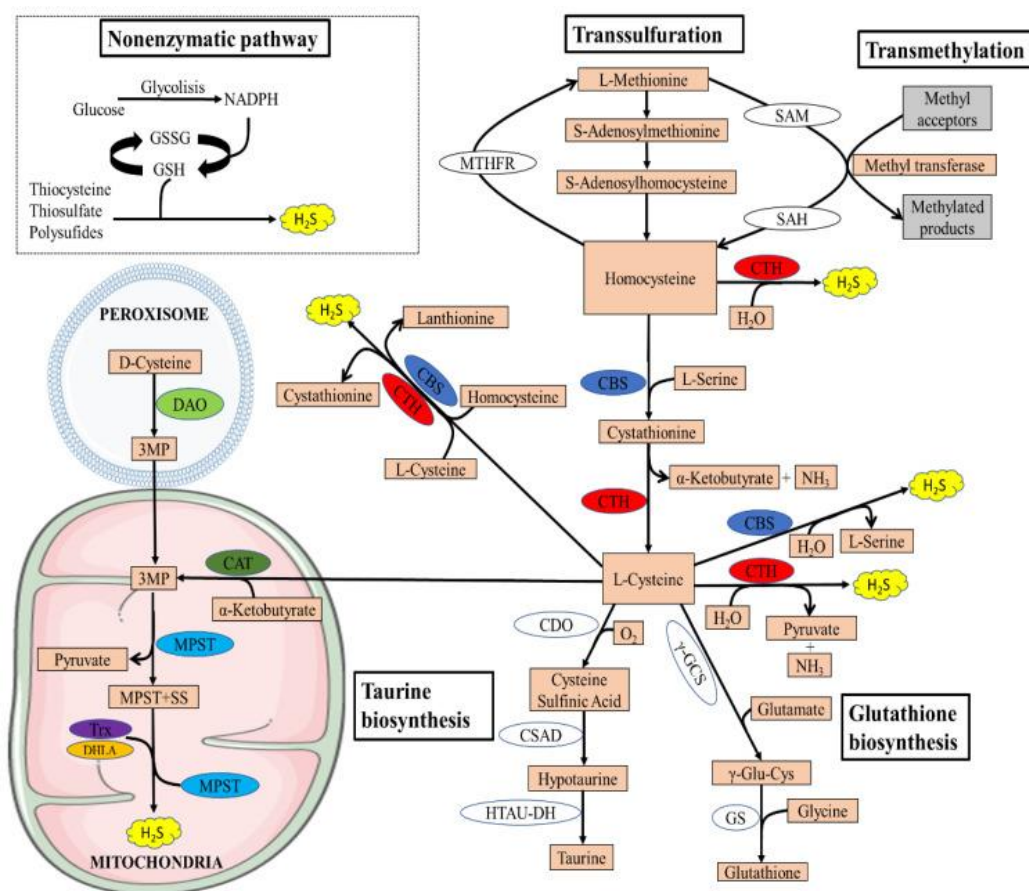


Рис. 1.4.2. Шляхи біосинтезу H_2S . (Comas F., 2021)

Приблизно 50 % цистеїну, утвореного шляхом зворотної транссульфурації, використовується для біосинтезу глутатіону у клітинах печінки [539]. На додаток до глутатіону і H_2S , цистеїн перетворюється на сірковмісну молекулу таурин під дією ферменту цистеїндіоксигенази (CDO, КФ 1.13.11.20) з утворенням цистеїнсультінової кислоти, яка потім може бути декарбоксильована до гіпоттаурину декарбоксилазою цистеїнсультінової кислоти (сультіноаланіндекарбоксилазою, CSAD, КФ 4.1.1.29), і утворений гіпоттаурин може бути окислений до таурину [392]. Іншим шляхом катаболізму цистеїнсультінової кислоти є дезамінування під дією глутаматоксалоацетаттрансамінази (GOT, КФ 2.6.1.1) з утворенням β -сультінілу пірувату, який спонтанно розкладається на піруват і сультіт. Глутаматоксалоацетаттрансаміназа (GOT) має дві ізоформи, одна локалізована в

цитозолі (GOT1), інша в мітохондріальному матриксі (GOT2) [373]. Таким чином, цистеїндіоксигеназа бере участь в модулюванні виробництва H_2S , впливаючи на доступність субстрату, що підтверджується дослідженням на мишах з нокаутом гену цистеїндіоксигенази, що призводить до підвищеної здатності до виробництва цистеїну та H_2S [254]. Шлях зворотної транссульфурації тісно пов'язаний із шляхом трансметилування через гомоцистеїн, який може бути повторно метильований з утворенням метіоніну або може бути необоротно перетворений на цистеїн (Рис. 1.4.2).

Два цитоплазматичних піридоксаль-5'-фосфат-залежних ферменти: цистатіонін β -синтаза і цистатіонін γ -ліазаю головним чином відповідають за біогенез H_2S у печінці. Третій (3-меркаптопіруватний шлях) піридоксаль-5'-фосфат-залежний шлях біосинтезу H_2S використовує аспартатамінотрансферазу (AAT), яка також має активність цистеїнамінотрансферази (CAT), у поєднанні з піридоксаль-5'-фосфат-незалежною 3-меркаптопіруватсульфуртрансферазою (MPST) для утворення сульфансульфуру, який у присутності відновника, може вивільняти H_2S . CAT/AAT і MPST присутні як в цитоплазматичному, так і в мітохондріальному компартментах клітини, проте більша частина MPST локалізована в мітохондріях, так як і концентрація L-цистеїну в мітохондріях в три рази вища, ніж в цитоплазмі [417]. В цьому альтернативному шляху зворотній транссульфурації 3-меркаптопіруват (3MP) утворений CAT з L-цистеїну та α -кетоглутарату під дією 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази переносить атом сірки з 3MP на себе, що призводить до утворення персульфіду MPST-SS. У присутності відновників, таких як тіоредоксин (TRX) і дигідроліпоева кислота (DHLA) H_2S і MPST вивільняються з персульфіду MPST-SS [102]. Субстрат для цього шляху 3MP може також утворюватися в пероксисомах з D-цистеїну за допомогою оксидази D-амінокислот (DAO) [227]. Обмін між пероксисомою та мітохондріями може імпортувати 3MP у мітохондрії, де він далі використовується для синтезу H_2S .

Ще одним ферментом опосередкованого ендогенного утворення H_2S є цистеїніл-тРНК-синтетаза (CARS), яка опосередковує трансляцію білків. Виявлено дві ізоформи цього ферменту в цитозолі CARS-1 і в мітохондріях CARS-2. CARS опосередковують полісульфідацію у процесі трансляції білків і сульфанова сірка в білковому полісульфіді може бути джерелом H_2S (рисунок 1.4.3) [32].

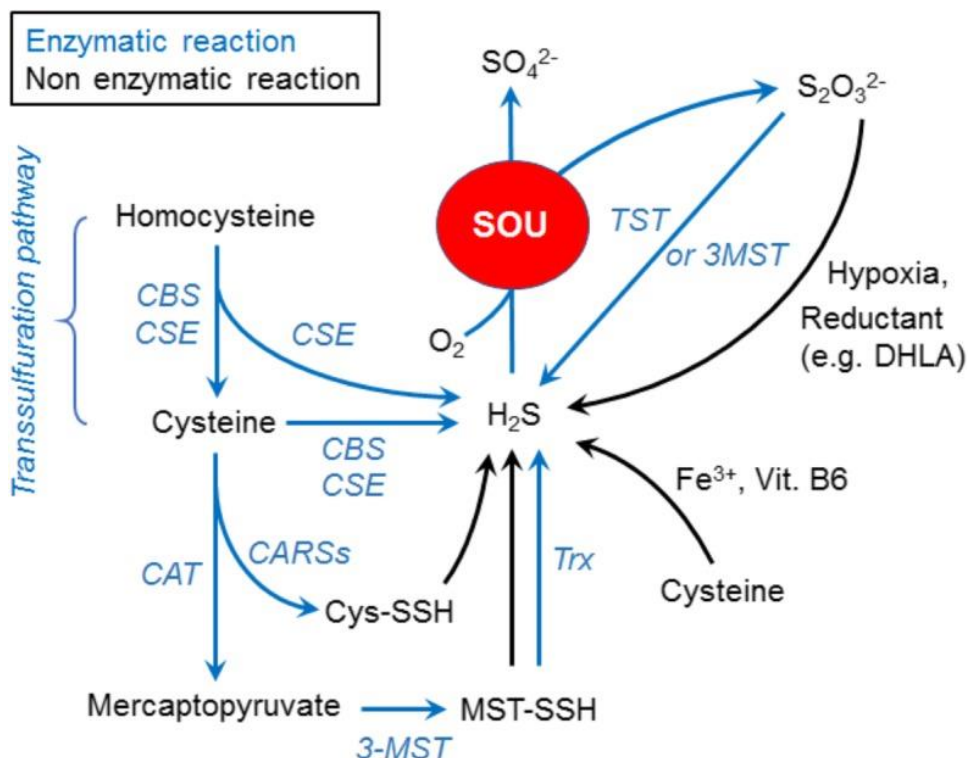


Рис. 1.4.3. Схема ферментативних і неферментативних шляхів біосинтезу і катаболізму H_2S . (Marutani E., 2020)

H_2S може утворюватися також неферментативним шляхом в присутності відновників, таких як глутатіон, $\text{НАДН}+\text{H}^+$ і $\text{НАДФН}+\text{H}^+$ з органічних або неорганічних полісульфідів, а також з персульфідів, тіосульфату, тіоцистину і цистеїну. H_2S може утворюватися з глюкози або шляхом гліколізу, або з фосфоглюконату за допомогою НАДФН-оксидази. Глюкоза реагує з метіоніном, гомоцистеїном або цистеїном з утворенням газоподібних сполук сірки – метанетіолу і сірководню. Відновлення елементарної сірки до H_2S опосередковується за рахунок відновних еквівалентів шляху окислення глюкози, таких як $\text{НАДН}+\text{H}^+$, або $\text{НАДФН}+\text{H}^+$ [282]. В експерименті з скоординованим каталізом цистеїну з двовалентним залізом і вітаміном B_6 відбувається дозозалежне внутрішньосудинне вивільнення великої кількості H_2S [650]. Таке

неферментативне утворення H_2S , ймовірно, відбувається в печінці, яка зазвичай містить запаси заліза. Існування та фізіологічне значення цих неферментативних шляхів утворення H_2S у печінці ще належить вивчити.

Для оцінки впливу сірководню на метаболізм печінки в нормі та за умов розвитку алкоголь-асоційованого ушкодження печінки важливо враховувати його надходження з портального кровообігу. В експерименті на щурах встановлено високу здатність печінки виводити H_2S із кровообігу та те, що перфузія H_2S у портальний кровообіг мала прямий вплив на біоенергетику печінки та доступність кисню [443]. Кишкова мікробіота також є основним регулятором системної біодоступності H_2S , оскільки безбактеріальні миші мають на 80% нижчий рівень вільного H_2S у плазмі, ніж звичайні миші [529]. Таким чином, сірководень, що потрапляє до печінки з системи портальної вени має вплив на фізіологію печінки з одного боку, а з іншого печінка забезпечує кліренс H_2S . Два класи мікроорганізмів виробляють значну кількість H_2S : бактерії, що розщеплюють цистеїн цистеїндисульфідразою з утворенням H_2S , пірувату і аміаку (наприклад, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Clostridia* та *Enterobacter*) та сульфатвідновлювальні бактерії, які виробляють H_2S шляхом відновлення неорганічного сульфату або через мікробний катаболізм сульфомуцинів (наприклад, *Desulfovibrio*, *Desulfobacter*, *Desulfobulbus* і *Desulfotomaculum*) [363]. Очевидно, що дисбактеріоз та порушення герметичності кишківника, які виникають при хронічному споживанні алкоголю також впливають на рівень сірководню в плазмі крові, а печінка як центральний регулятор має елімінувати надлишок, проте наразі дані таких досліджень невідомі. Відомо, що надмірне вживання алкоголю внаслідок дисбактеріозу змінює склад летких органічних сполук фекальних мас людини з поміж яких: зниження коротколанцюгових жирних кислот пропіонату та ізобутирату, важливих для підтримки цілісності бар'єру слизової оболонки кишківника, зниження рівня природного атенюатора стеатозу печінки камфена та зниження диметилдисульфіду та диметилтрисульфіду – мікробних продуктів розпаду [104].

Рівень H_2S у печінці за даними літератури коливається від низького наномолярного до середнього мікромолярного діапазону (17нМ-144мкМ) [363]. Швидкість елімінації сульфідів у печінці повинна бути високою, щоб підтримувати низькі фізіологічні концентрації H_2S . Печінка ссавців має високу здатність до окислення H_2S , яке відбувається в мітохондріях. До продуктів окислення відносяться персульфід, сульфід (SO_3^{2-}), тіосульфат ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) і сульфат (SO_4^{2-}). Сульфат становить ~90% від загального вмісту сірки в сечі [257].

Катаболізм H_2S у печінці також здійснюється як ферментативними, так і неферментативними шляхами (рис. 1.4.3). Ферментативний катаболізм H_2S здійснюється мультиензимним мембрано-асоційованим мітохондріальним комплексом окислення сульфідів (SOU), який складається з сульфідхіноноксидоредуктази (SQR або SQOR, КФ 1.8.5.8), персульфіддіоксигенази (SDO або ETHE1, КФ 1.13.11.18), тіосульфатсульфуртрансферази (TST, КФ 2.8.1.1) і сульфітоксидази (SO, КФ 1.8.3.1) [317]. Спочатку H_2S окислюється сульфідхіноноксидоредуктазою (SQR), флавопротеїном, який переносить два електрона на убіхінон через ФАД. Відновлена форма коензима Q в подальшому використовується в електронно-транспортному ланцюзі мітохондрій для утворення АТФ. Таким чином, H_2S окислюється SQR з утворенням сульфаної сірки (S^0), яка має шість валентних електронів і не утворює персульфід (SQRS-S). На наступному етапі SQR переносить сульфанову сірку до акцепторів сірки, таких як глутатіон (GSH), сульфід (SO_3^{2-}), цистеїн і гомоцистеїн, за фізіологічних умов SQR використовує глутатіон як основний акцептор сірки для виробництва персульфиду глутатіону (GSSH), який є основним продуктом окислення H_2S за допомогою SQR. В подальшому персульфіддіоксигеназа (SDO або ETHE1) окислює персульфід глутатіону до глутатіону і сульфіту. Сульфід катаболізується тіосульфатсульфуртрансферазою (TST) з утворенням тіосульфату ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) або сульфітоксидазою (SO) з утворенням сульфату (SO_4^{2-}). Тіосульфат може бути субстратом для утворення H_2S за допомогою 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази (MPST) або роданази (Rde) у присутності

інших відновних дисульфідів, таких як тіоредоксин (TRX) або дигідроліпоева кислота (DHAP), або тіосульфат може окислюватися до сульфату (SO_4^{2-}) шляхом послідовної дії тіоредоксинредуктази (TR, КФ 1.8.1.9) у поєднанні з глутатіоном (GSH) та сульфітоксидазою (SO) [448]. Дефіцит сульфітоксидази (SO) призводить до токсичного накопичення сульфіту. Клітинні ефекти сульфітної токсичності включають зниження внутрішньоклітинних концентрацій НАДН+ H^+ і АТФ, деполяризацію потенціалу мітохондріальної мембрани, порушення мітохондріального дихання та інгібування ферментів глутамат- і малатдегідрогенази. Сульфіт-залежне розщеплення дисульфідних містків призводить до утворення сульфіт-цистеїнових аддуктів – S-сульфоцистеїну (SSC), зменшення дисульфідних містків впливає на згортання білків, їх стабільність і активність [373].

Неферментативний катаболізм H_2S також відіграє певну роль. Сірководень автоокислюється як в аеробних, так і в анаеробних умовах. При високому співвідношенні сульфід/кисень утворюються полісульфіди, а при низькому – тіосульфати при фізіологічному рН [359]. H_2S також зв'язується з гемовим залізом метгемоглобіну (MetHb), перетворюючись на тіосульфат і полісульфід [599]. Еритроцити відіграють вирішальну роль у підтримці циркулюючого H_2S на фізіологічно низьких рівнях. Міоглобін також може виявляти подібну здатність до окислення H_2S , як MetHb, з утворенням тіосульфату та полісульфіду [359].

На молекулярному рівні токсичні властивості H_2S пов'язані з інгібуванням мітохондріального комплексу IV. Встановлено, що в кількох тканинах, включаючи печінку, при високих концентраціях (10–100 мкМ) H_2S конкурентно зв'язується з комплексом IV, тим самим пригнічуючи зв'язування кисню. Таке індуковане H_2S інгібування призводить до підвищення мітохондріальних рівнів активних форм кисню (АФК) в одних дослідженнях, а в інших навпаки до зниження рівня АФК за рахунок підвищення активності супероксиддисмутази (СОД) [127, 145, 310]. У ссавців основними місцями окислення сульфідів є печінка, нирки та товста кишка. Здатність печінки окислювати H_2S залежить від

виду, причому мітохондрії печінки людини мають найвищу швидкість окислення, за якими слідують мітохондрії печінки свині, щура і миші. З біоенергетичної точки зору, H_2S є дуже своєрідною молекулою, яка має різний вплив на тканинне дихання: вона служить неорганічним енергетичним субстратом у низьких концентраціях (наномолярних до 10 мкМ), оскільки окислення H_2S перевищує його надходження. Проте, незначне зниження інтенсивності тканинного дихання в мітохондріях може ініціювати «порочне коло» накопичення H_2S , що призводить до блокування тканинного дихання. Таким чином, H_2S сприяє біоенергетичним процесам за умов базальної активності циклу Кребса і достатніх (середніх) концентраціях сукцинату [383]. Проте концепція впливу H_2S в залежності від дози нещодавно була піддана сумніву, після встановлення факту, що високі концентрації гідросульфиду натрію (NaHS) (50–300 мкМ), молекули, що вивільняє H_2S , викликають персульфідацію α -субодиниці АТФ-синтази (ATP5A1) у HepG2 клітини, що робить фермент АТФ-синтазу більш активним [384].

Таким чином, H_2S в мітохондріях має наступні ефекти: (1) донор електронів для електронно-транспортного ланцюга мітохондрій, або через SQR, або також безпосередньо до комплексу IV; (2) захист мітохондрій від АФК за допомогою антиоксидантного впливу; (3) активація АТФ-синтази шляхом прямої посттрансляційної модифікації (сульфгідратації); та (4) інгібування активності мітохондріальної цАМФ-специфічної фосфодіестерази (КФ 3.1.4.53) і, як наслідок, підвищення рівня мітохондріального цАМФ, який, імовірно, через індукцію фосфорилування компонентів мітохондріального транспортного ланцюга електронів, може стимулювати мітохондріальний транспорт електронів і аеробну генерацію АТФ [98]. Отже, дія H_2S на мітохондрії залежить від його концентрації, але при цьому механізми впливу різнонаправлені і значно складніші, ніж дія простої отрути.

Дуже мало клінічних доказів впливу алкоголю на сигналізацію H_2S у людей. Suzuki N., et al. встановили, що рівень H_2S був підвищений у видихуваному повітрі людей, які хронічно споживають алкоголь, що дозволило зробити

припущення про підвищений рівень циркулюючого в крові H_2S під час вживання алкоголю [555]. Для з'ясування впливу метаболізму алкоголю на сигналізацію H_2S у людей потрібні додаткові клінічні дослідження.

В багатьох експериментальних дослідженнях було встановлено, що донори H_2S , пригнічують спричинене алкоголем пошкодження печінки. Введення продуктів метаболізму аліцину – діалілсульфіду (DAS), діалілдисульфід (DADS) і діалілтрисульфід (DATS), та дієтичних добавок часнику, таких як ефірна олія часнику, зневоднений порошок, олійний мацерат і екстракт часнику, або часникового полісахариду значно обмежувало накопичення ліпідів і зменшувало пошкодження тканин на мишачих і щурячих моделях впливу алкоголю [494, 619, 675, 689]. Ці донори H_2S також змогли зменшити маркери цитолізу в печінці, такі як аланінамінотрансфераза та аспартатамінотрансфераза [88, 619, 675, 676].

В дослідженнях *in vitro* було виявлено, що етанол пригнічує експресію ферментів CSE і CBS і знижує ендогенне утворення H_2S в гепатоцитах, тоді як DATS підвищує рівень H_2S і захищає від індукованого етанолом оксидативного стресу та апоптозу [89]. Після зменшення внутрішньоклітинного цистеїну під дією бутионінсульфоксиміну етанол збільшує апоптоз гепатоцитів людини, тоді як екзогенні добавки глутатіону призводять до підвищення рівня цистеїну та життєздатності клітин [288]. Також, в результаті досліджень *in vitro* встановлено, що активність альдегіддегідрогенази може регулюватися реактивними формами сірки (RSS), і в цьому випадку додавання атома сульфаної сірки до залишку Cys призвело до інгібування ферменту. RSS можуть утворюватися ендогенно під час метаболізму цистеїну і включати сірководень і продукти його окислення: неорганічні полісульфіди (H_2S_n) і гідроперсульфіди (RSSH), тобто сполуки, що містять реакційноздатну сульфанову сірку. В цих же дослідженнях було встановлено, що діалілтрисульфід (DATS) пригнічує активність альдегіддегідрогенази у печінці щурів, що свідчить про те, що ця модифікація також відбувається *in vivo* під впливом RSS [234]. Альдегіддегідрогеназа є ферментом, що обмежує швидкість метаболізму етанолу шляхом каталізу

високотоксичного ацетальдегіду на нетоксичний ацетат. Алілсульфіди як інгібітори альдегіддегідрогенази були запропоновані для лікування зловживання алкоголем і алкогольної залежності, сприяючи накопиченню ацетальдегіду в організмі, подібно дисульфіраму [496].

В іншому дослідженні використання DATS значно пригнічувало етанол-індуковане зниження рівня печінкового глутатіону і підвищувало рівень мітохондріального глутатіону. Значно підвищилася активність печінкових антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонредуктази) і мітохондріальних антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, глутатіонредуктази і глутатіонпероксидази). Таким чином, DATS попереджає гостре пошкодження печінки та мітохондріальну дисфункцію спричинених етанолом [677]. DATS в гепатоцитах інгібує піроптоз, спричинений алкоголем, знижуючи активацію газдерміну D (GSDMD), ефективно інгібуючи каспазо-1-залежний шлях, знижуючи експресію NLRP3, асоційований з апоптозом плямистий білок, що містить С-кінцевий домен рекрутування каспази (ASC) та каспазу-1, IL-1 β та IL-18 [689].

На даний час не має даних, щодо ролі ендogenous H₂S у метаболізмі ліпідів за умов розвитку алкоголь-асоційованих хвороб печінки. Проте є дані про значну роль H₂S у регуляції метаболізму ліпідів у печінці через модуляцію шляху SREBP-1, критичного фактора для синтезу ліпідів. Зокрема, екзогенний H₂S пригнічує експресію SREBP-1, активовану стимуляцією вільними жирними кислотами, тоді як подвійне інгібування MPST і CSE зменшувало виробництво H₂S і посилювало шлях SREBP-1. В дослідженнях *in vivo* та *in vitro* зміна концентрації H₂S, шляхом зміни активності MPST, не вплинула на експресію PPAR α -регульованих генів, залучених до β -окислення жирних кислот. Знижене виробництво H₂S через подвійне інгібування MPST/CSE, та введення екзогенного H₂S не змінили експресію генів, пов'язаних із шляхом β -окислення також [305]. Таким чином, вплив H₂S на стеатоз печінки значною мірою залежить від процесингу синтезу ліпідів, опосередкованого SREBP-1, і не залежить від шляху β -окислення жирних кислот.

Проте незважаючи на численні експериментальні дослідження з донорами H_2S роль ендogenous H_2S та його метаболітів в етанол-індукованих хворобах печінки не встановлена. Варто зазначити, що H_2S може проявляти протилежні ефекти в залежності від концентрації і тривалості дії на судинну систему печінки, оксидативний стрес і функцію мітохондрій, такі відмінності помічені також на різних стадіях алкогольної хвороби печінки та на різних експериментальних моделях. Очевидно, що алкоголь змінює продукцію і впливає на катаболізм сірководню і це має значний вплив на оксидативний стрес, мітохондріальну дисфункцію, стеатоз, запалення, фіброз, цироз і онкогенез у печінці.

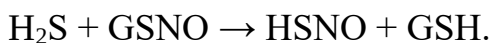
Посттрансляційна модифікація білка шляхом S-сульфгідратації опосередковує більшість клітинних функцій H_2S . S-сульфгідратація полягає в утворенні персульфідної групи (-SSH) або полісульфідних ланцюгів на активних залишках цистеїну в білку [496]. Зростаюча кількість даних досліджень свідчить про важливість персульфідації білка в передачі H_2S -опосередкованих сигналів. Персульфідація може відбуватися за допомогою одного з щонайменше трьох механізмів: (1) нуклеофільної атаки сульфід-аніону на окислений залишок цистеїну, наприклад сульфенової кислоти, S-нітрозилу або дисульфиду, (2) через транссульфірацію з існуючого персульфиду, що переносить невелика молекула, така як персульфід глутатіону (GSSH) або білок, або (3) шляхом атаки цистеїнового тіолу на H_2S_2 , або полісульфід [256]. Ці зміни призводять до структурних і конформаційних змін, що в кінцевому підсумку призведуть до зміни функції білка і каталітичної здатності [496].

H_2S може S-сульфгідрувати Keap1 за цистеїном-151, що викликає конформаційні зміни в Keap1 і, таким чином, призводить до дисоціації Nrf2 від Keap1, що призведе до транслокації Nrf2 до ядра, в якому Nrf2 зв'язується з промоторами, що містять послідовність елемента антиоксидантної відповіді (ARE) і індукують ARE-залежну експресію генів антиоксидантів. Крім збільшення транскрипції антиоксидантних ферментів, H_2S може безпосередньо знижувати рівень АФК шляхом відновлення рівня глутатіону та/або шляхом хімічного відновлення вільних радикалів [496, 641]. У відповідь на оксидативний

стрес H_2S посилює ендогенний антиоксидантний захист активуючи через речовину Р сигнальний шлях NF- κ B [57]. Крім того H_2S інгібує CYP2E1 в гепатоцитах зменшуючи продукцію АФК [689]. S-сульфгідратація NF- κ B за допомогою H_2S відповідає за його антиапоптозну дію [521]. H_2S може пригнічувати або активувати ядерну транслокацію NF- κ B, одночасно впливаючи на активність численних кіназ, включаючи p38 мітоген-активовану протеїнкіназу (p38 MAPK), регульовану позаклітинними сигналами кіназу (ERK) і Akt [304].

Нокаут гена CSE посилює фіброз печінки, викликаючи запальну відповідь і знижуючи продукцію H_2S , що вказує на потенційну роль H_2S у фіброзі печінки [97]. В дослідженні на моделі фіброзу печінки, індукованого CCl_4 , встановлено тенденцію до пригнічення експресії CSE, і зниження вмісту H_2S [151]. Припущення щодо захисної функції H_2S при фіброзі печінки підтверджуються дослідженнями, в яких встановлено, що дефіцит CBS прискорює фіброз, пов'язаний зі стеатозом печінки [503]. Встановлено, що при цирозі печінки зменшується продукція H_2S [478].

Фізіологічні концентрації H_2S усувають пошкодження клітин, спричинене пероксинітридом, що продемонстровано в дослідженні *in vitro* шляхом [160]: (1) інгібування апоптозу та некрозу, викликаного пероксинітридом; (2) запобігання нітрозилювання білків; та (3) інгібування активації полі(АДФ-рибоза)-полімерази 1 (КФ 2.4.2.30, PARP-1) у клітинних моделях. Таким чином, цитопротекторний вплив H_2S може бути опосередкований модуляцією вмісту пероксинітриду, зокрема при запаленні. Потенційний ключовий проміжний продукт у біологічних сигнальних шляхах, який би пов'язував NO та H_2S , тіонітоватиста кислота (тіонітна, HNO₂), але її існування та стабільність *in vivo* залишаються суперечливими. *In vivo* HSNO може утворюватися в результаті реакції між H_2S і S-нітрозотіолами [356]. Наприклад, HSNO швидко утворюється в результаті взаємодії сірководню з S-нітрозоглутатіоном (GSNO):



Теоретично HSNO також може утворюватися в результаті реакції:



Проте, N_2O_3 не утворюється у великій кількості в більшості фізіологічних систем [356]. На клітинному рівні HSNO може метаболізуватися з утворенням NO(+), NO та NO(-), кожен з яких відрізняється фізіологічним впливом. HSNO може вільно дифундувати через мембрани, сприяючи транснаїтрозації білків, таких як гемоглобін [161]. Таким чином, ці дані представляють нову сигнальну молекулу, HSNO, і припускають, що вона може відігравати ключову роль у регуляції клітинного редоксу. Взаємодія між сигнальними системами сірководню і оксиду азоту також продемонстрована в дослідженні з тадалафілом, інгібітором фосфодіестерази 5, який покращує експресію матриксних білків підвищенням глюкози в клітині шляхом утворення H_2S у подоцитах через вісь iNOS(NO)-cGMP-CSE(H_2S)-CaMKK2(AMФК), що призводить до пригнічення активності mTORC1 [293]. Проте в експерименті *in vitro* на гепатоцитах HepG2 було показано, що H_2S знижує поглинання глюкози та накопичення глікогену, опосередковане зниженням активації AMФ-активованої протеїнкінази (AMФК) [681]. Іншим аспектом дотику метаболізму H_2S та NO є регуляція шляхом сульфгідратації та нітрозилювання. У дослідженні з $\text{TNF}\alpha$ -індукованою транскрипційною активацією субодиниці p65 NF- κB , нітрозилювання p65 інактивує її транскрипційну активність, сульфгідратація p65 стимулює її активність [522]. H_2S може потенціювати активність ксантиноксидази (ХО), сприяючи відновленню нітритів до NO за умов гіпоксії, коли функція NOS порушується. Відомо, що NO або пероксинітрит пригнічує активність ХО дозозалежним чином і послаблює утворення супероксиду головним чином шляхом оксидативного ушкодження молібденового каталітичного центру. Проте сульфідгенеруюча система в анаеробних умовах може відновити активність NO, що свідчить про реципрокну регуляцію активністю NO і сульфідом активності ксантиноксидази за умов гіпоксії [282]. Таким чином, вплив NO та H_2S на активність ксантиноксидази може змінювати окислювально-відновний баланс клітин.

H_2S може проявляти протизапальну дію шляхом пригнічення виробництва NO в макрофагах [690]. Первинні макрофаги та макрофаги RAW 264.7 експресують CSE, але не CBS, і здатні продукувати H_2S через CSE. Встановлено, що під час запалення відбувається помітне підвищення рівня H_2S у плазмі крові та продукція H_2S у печінці. Бактеріальний LPS збільшує експресію CSE та супутню продукцію H_2S у макрофагах через активацію шляху p38-MAPK, NF- κB і ERK. Експресія CSE пригнічується гомоцистеїном і окисленим ліпопротеїном низької щільності; основний механізм, очевидно, включає гіперметилування промотору CSE. Підвищений рівень позаклітинної глюкози має тенденцію пригнічувати експресію CSE макрофагів також [98].

H_2S регулює внутрішньопечінкову мікроциркуляцію опосередковуючи свій вплив через продукцію NO різними біохімічними механізмами. Фактично він підсилює дію NO на судинну стінку на декількох рівнях регуляції. Перший рівень взаємодії пов'язаний з утворенням біологічно активних гібридних видів S/N і індукованої H_2S стимуляцією вивільнення NO з його різних стабільних «пулів» (наприклад, нітритів чи S-нітрозотіолів). Наступні взаємодії відбуваються на рівні мобілізації ендотеліального кальцію та сигналізації $\text{PI}_3\text{K}/\text{Akt}$, підвищуючи специфічну активність ендотеліальної NO-синтази (eNOS). Наступний рівень взаємодії відбувається шляхом сульфгідратації залишків цистеїну на eNOS, такий вплив стабілізує ізофермент в його фізіологічному, димерному стані, тим самим оптимізуючи виробництво NO, що походить від eNOS, і мінімізує утворення супероксиду. Ще один рівень взаємодії відбувається за рахунок впливу на розчинну гуанілатциклазу (sGC): H_2S стабілізує sGC у її чутливій до NO, фізіологічній, відновленій формі. H_2S , також, інгібує судинну цГМФ-специфічну фосфодіестеразу 5 типу (КФ 3.1.4.17), тим самим подовжуючи біологічний період напіврозпаду цГМФ. Ще один механізм впливу через полісульфіди, утворенні з H_2S , які безпосередньо активують цГМФ-залежну протеїнкіназу (PKG). У сукупності дія H_2S на судинну стінку полягає в суттєвому ендогенному підсиленні передачі сигналів NO, сприяючи вазодилатації та ангіогенезу [556].

Експресія CSE знаходиться під контролем транскрипційного фактору специфічного білка 1 (SP1). Шлях ядерного фактора активованих Т-клітин (NFAT) і сигнальний шлях Wnt/ β -катеніну діють як позитивні регулятори транскрипції CSE. У печінці експресія CSE регулюється рецептором фарнезоїда X (FXR). Зв'язування FXR з елементом IR1 на промоторі CSE збільшує його транскрипцію. CSE конститутивно експресується в багатьох типах клітин, проте його експресія посилюється різними стимулами. Такими як, різні форми клітинного стресу: стрес ендоплазматичного ретикулуму, обмеженням амінокислот та оксидативний стрес. Позбавлення поживних речовин і АФК посилюють експресію CSE шляхом активації фактора транскрипції, що активує транскрипційний фактор-4 (ATF4). За умов запалення, бактеріальний ліпополісахарид (LPS) і фактор некрозу пухлини- α (TNF- α), посилюють CSE; TNF- α індукує транскрипцію CSE через SP1, тоді як LPS-індукована експресія CSE відбувається через сайт зв'язування NF- κ B у промоторі CSE. Nrf2 також може посилювати експресію CSE. Важливо, що експресія CSE може посилюватися гіпоксією в різних експериментальних моделях. В основі лежить кілька механізмів. Один механізм пов'язаний із спричиненим гіпоксією підвищенням рівня білка фактора, індукованого гіпоксією (HIF)-1 α , який активує регульований геном Nox-4 шлях інгібіторної кінази-eIF2 α -ATF4 для індукції експресії CSE. Гормон щитоподібної залози послаблює транскрипцію CSE через TR β 1, тоді як естрадіол-17 β підвищує рівень CSE. Ангіогенні фактори, VEGF і PDGF, активують експресію CSE [98].

Вивчення транскрипційної регуляції гена CBS продемонстрували важливу трансаактивуючу роль специфічного білка (Sp)1/Sp3, ядерного транскрипційного фактора-Y та висхідного транскрипційного фактора-1 [179]. Глюкокортикоїди та естрадіол-17 β підвищує рівень CBS в ендотеліальних клітинах. З іншого боку, інсулін і трийодтиронін знижують активність промотора CBS і рівні експресії [98]. Гіпоксія індукує експресію CBS через HIF-1 α та HIF-2 α , Nrf2 також підвищує експресію CBS [325, 560]. Епігенетичний контроль експресії CBS здійснюється шляхом метилювання. Дефіцит фолієвої кислоти спричиняє

гіпометилування ДНК та підвищення регуляції CBS як *in vitro*, так і *in vivo*. І навпаки, гіперметилування промотору CBS в ендотеліальних клітинах-попередниках негативно корелює з рівнями мРНК CBS [51, 644].

Доступно дуже мало інформації щодо регуляції експресії генів MPST. Гіпоксія підвищує експресію MPST за допомогою транскрипційних і посттранскрипційних механізмів [304]. Також відомо, що вільні жирні кислоти впливаючи на гепатоцити збільшують експресію MPST через NF-κB/p65-залежний шлях [305]. MPST може знизити активність CSE шляхом сульфгідратації. На відміну від CSE та CBS, MPST здебільшого регулюється на посттрансляційному рівні за допомогою редокс-модифікацій. Його гомодимер утворюється через утворення окисно-відновного дисульфідного зв'язку між двома поверхневими цистеїнами (Cys154 і Cys263) двох молекул MPST. У багатьох дослідженнях встановлено, що оксидативний стрес знижує активність MPST [382, 418]. Це сприятиме збереженню клітинної концентрації цистеїну, щоб цистеїн міг діяти як попередник у синтезі відновників тіоредоксину та глутатіону. Отже, клітинний окисно-відновний стан регулює активність MPST, тоді як MPST сприяє окисно-відновному гомеостазу.

Таким чином, у багатьох дослідженнях показано, що екзогенний H₂S попереджає ушкодження печінки алкоголем і розвиток стеатозу, гепатиту та інших наслідків алкоголь-асоційованих хвороб, проте роль ендогенного H₂S та його метаболітів за умов розвитку алкоголь-асоційованих хвороб печінки не встановлена. Редокс-потенціал, активність NF-κB та АМФК впливають на продукцію ендогенного H₂S, водночас H₂S модулює окисно-відновний стан клітин та впливає на транскрипцію NF-κB та АМФК. Враховуючи важливість NF-κB та АМФК у розвитку алкоголь-асоційованих хвороб печінки та зміну редокс потенціалу за цих умов виникає питання, яка роль ендогенного H₂S та його метаболітів за умов модуляції NF-κB та АМФК при хронічному впливі алкоголю на печінку *in vivo*. І враховуючи роль гіпоксії у активації експресії ферментів H₂S та його вплив на мікроциркуляцію печінки виникає ще одне

питання, яким чином ендogenous H_2S та його метаболіти у печінці за умов хронічного споживання алкоголю впливають на кровотік.

1.5. Перспективи корекції нанокристалічним діоксидом церію етанол-індукованих патологічних змін в печінці

Хронічне вживання алкоголю (етанолу) змінює окисно-відновний потенціал у печінці і призводить до розвитку оксидативно-нітрозативного стресу, який є важливою ланкою у механізмі розвитку алкоголь-асоційованих хвороб печінки. Пошук окисно-відновного буфера з високою біодоступністю, низькою токсичністю та дією саме в печінці зупинив нашу увагу на нанокристалічному діоксиді церію (CeO_2 ; НДЦ) з розміром наночастинок 2-7 нм.

Здатність наночастинок оксиду церію ($\text{CeO}_2\text{НЧ}$) діяти як окисно-відновний буфер і підтримувати окислювально-відновний гомеостаз в умовах, коли оксидативний стрес відіграє ключову роль у розвитку хронічного запалення дає обґрунтування їх використання для лікування багатьох хвороб. $\text{CeO}_2\text{НЧ}$ прирівнюють до мультиензимних наноферментів, оскільки вони можуть брати участь у численних метаболічних реакціях, імітуючи активність ендogenous ферментів [77].

Найпоширеніший із рідкоземельних металів Церій (^{58}Ce) (електронна конфігурація $[\text{Xe}] 4f^1 5d^1 6s^2$), який належить до ряду лантаноїдів періодичної таблиці — унікальний тим, що він може існувати як у +3 ($\text{Ce}^{3+} = [\text{Xe}] 4f^1$), так і в +4 ($\text{Ce}^{4+} = [\text{Xe}]$) ступенях окислення, на відміну від більшості інших рідкоземельних металів, які переважно існують у тривалентному стані [390]. Основа як ферментоміметичної, так і АФК/АФА поглинаючої здатності $\text{CeO}_2\text{НЧ}$ залежить, до певної міри, від притаманних фізико-хімічних властивостей нанорозмірних матеріалів, специфічної здатності $\text{CeO}_2\text{НЧ}$ поглинати та вивільняти кисень і відносної термодинамічної ефективності окисно-відновного циклу між іонами Ce^{3+} та Ce^{4+} на поверхні $\text{CeO}_2\text{НЧ}$. При нанорозмірі оксид церію на поверхні наночастинок містить суміш як Ce^{4+} , так і Ce^{3+} [113]. Коли

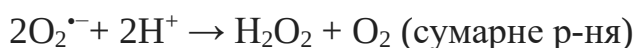
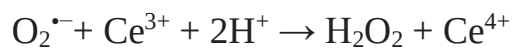
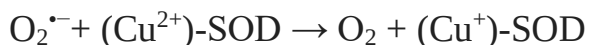
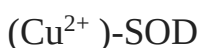
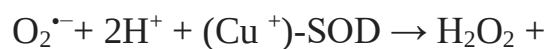
абсолютний діаметр $\text{CeO}_2\text{НЧ}$ зменшується (наприклад, від 20 нм до 2 нм), відбувається вимірна втрата атомів кисню та збільшення кількості центрів Ce^{3+} на поверхні наночастинки [497]. Таким чином, коли атоми кисню втрачаються з поверхні $\text{CeO}_2\text{НЧ}$, відбувається зниження ступеня окислення Ce ($\text{Ce}^{4+} \rightarrow \text{Ce}^{3+}$) і збільшення кількості вакансій кисню (дефектних місць) на поверхні CeO_2NP . Співвідношення сайтів $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ на поверхні сильно корелює з антиоксидантною/ферментоміметичною активністю $\text{CeO}_2\text{НЧ}$. Іони Ce здатні перемикаються між двома валентними станами (Ce^{4+} і Ce^{3+}) на поверхні CeO_2NP в умовах водного розчину. Кожна вакансія кисню повинна супроводжуватися відновленням двох поверхневих іонів Ce^{4+} для підтримки стабільності електричного заряду [429].

Іони Ce^{3+} можуть з'єднуватися з активними формами кисню або азоту, відновлюючи їх до пероксидів і нітратів, а самі окислюються до валентного стану Ce^{4+} , подібно до функцій ферменту супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.1). Подальше відновлення з Ce^{4+} назад до Ce^{3+} може окислити пероксид водню до молекулярного кисню, таким чином імітуючи дію ферменту каталази (КФ 1.11.1.6) [47].

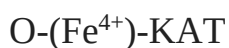
Фізіологічна антиоксидантна система

$\text{CeO}_2\text{НЧ}$

Супероксиддисмутаза

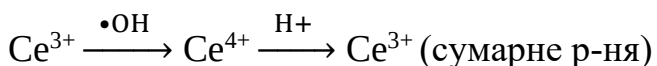
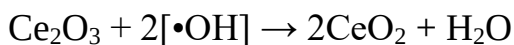


Каталаза

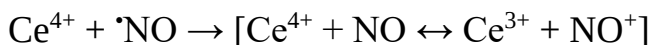




Завдяки своїй антиоксидантній SOD- і CAT-міметичній активності CeO_2NP ефективно знижують рівень $\text{O}_2^{\cdot-}$ і H_2O_2 , але вони також виявилися ефективними поглиначами АФК, таких як $\cdot\text{OH}$ [645, 646], а також для АФА, таких як радикал оксиду азоту ($\cdot\text{NO}$) [136, 137] і пероксинітрит (ONOO^-) [138]. На підставі експериментальних досліджень автори постулювали наступний двоетапний механізм поглинання $\cdot\text{OH}$ $\text{CeO}_2\text{HЧ}$, де перший етап вказує на окислення Ce^{3+} $\cdot\text{OH}$, а другий – на відновлення Ce^{4+} для відновлення Ce^{3+} [646]:



$\text{CeO}_2\text{HЧ}$, також, є ефективним поглиначем $\cdot\text{NO}$ [507, 137]. В обох дослідженнях $\text{CeO}_2\text{HЧ}$ виявився ефективнішим з низьким співвідношенням $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ на поверхні наночастинок. Автори постулювали наступний механізм поглинання $\cdot\text{NO}$ для $\text{CeO}_2\text{HЧ}$ [137]:



Встановлено, що с прискорює розкладання ONOO^- не залежно від співвідношення $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$. Проте механізм взаємодії $\text{CeO}_2\text{HЧ}$ з ONOO^- поки що невідомий. Відомо, що $\text{CeO}_2\text{HЧ}$ є поглиначем (розкладачем) ONOO^- або, принаймні, продуктів розпаду ONOO^- , таких як аніон карбонатного радикала ($\text{CO}_3^{\cdot-}$) [138].

Таким чином, такий окисно-відновний цикл ($\text{Ce}^{3+} \rightarrow \text{Ce}^{4+} \rightarrow \text{Ce}^{3+}$) призводить до зниження внутрішньоклітинних рівнів АФК/АФА та перекису водню. Окрім антиоксидантної SOD- і CAT-міметичної активності, CeO_2NP також виявляють інші типи ферментоміметичних ефектів *in vitro* та *in vivo* імітують активність фосфатаз [286], оксидаз [41], пероксидаз [247] та АТФ-аз [136]. І рівень

активності біологічного ферменту визначає співвідношення $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ на поверхні CeO_2HCl .

Збільшення АФК сприяє ушкодженню судин, сприяючи аномальному росту судинних клітин, порушення цілісності внутрішнього моношару ендотеліальних клітин і ремоделюванню позаклітинного матриксу [26]. Морфологічні зміни, що відбулися можна підсумувати як підвищену шорсткість ендотелію, втрату міжклітинних контактів та посилення адгезії клітин імунної системи до судинної стінки, на відміну від рівномірного ендотеліального шару інтими, характерного для ворітної вени контрольних щурів. Введення щурам із цирозом печінки HClCeO_2 призвело до корекції цих морфологічних змін. При цьому HClCeO_2 будуть переважно зберігатися на шорстких і пористих поверхнях, а не на гладких і щільних, сприяючи таким чином впливу HClCeO_2 на ділянку ушкодження судини [501]. На відміну від інших антиоксидантів, CeO_2HCl активні лише проти високих рівнів АФК, які призводять до розвитку оксидативного стресу, будучи інертними та нешкідливими для здорових клітин та не інгібуючи фізіологічні процеси окислення в мітохондріях і ЕПС для енергоутворення, детоксикації ксенобіотиків тощо. Надлишок АФК у щурів з цирозом впливає на ендотелій ворітної вени, що призводить до надмірної експресії IL-6 та індукції поляризації макрофагів M1. Ендотелій судин визначають як одну з найбільш чутливих мішеней для оксидативного стресу. Ендотеліальна активація, спричинена впливом АФК, є ознакою різних дисфункцій ішемії, запалення, гострого та хронічного пошкодження тканин і гіпертензії [367, 477, 575]. АФК модулюють синтез ендотеліну-1 [280], прозапальних медіаторів, таких як IL-6 [296], і факторів ремоделювання судин, таких як колаген 1 [345] ендотеліальними клітинами печінки. Сучасна модель поляризації макрофагів пропонує дві основні популяції макрофагів: макрофаги M1-фенотипу, які виробляють прозапальні цитокіни, АФК, які є прозапальними, і макрофаги M2-фенотипу, які сприяють відновленню тканин і стимулюють ріст судин. M1-поляризовані макрофаги експресують IL-1, TNF, IL-6, IL-12, IL-23 та iNOS у відповідь на INF- γ ; тоді як макрофаги M2 експресують IL-10, IL-1RII, IL-1ra та аргіназу у відповідь на IL-4.

У дослідженнях *in vitro* та *in vivo* встановлено, що ендотеліальні клітини попередньо оброблені $\text{CeO}_2\text{HЧ}$, втратили здатність потенціювати поляризацію макрофагів у М1-фенотип, одночасно сприяючи М2-фенотипу розвитку макрофагів [501]. Таким чином, результати цих досліджень обґрунтовують використання $\text{CeO}_2\text{HЧ}$ для лікування гепатиту і цирозу.

У більшості досліджень терапевтичний вплив HЧCeO_2 на хвороби печінки та інших органів пояснюють регуляцією АФК/АФА. Окрім загальної антиоксидантної функції, дуже мало розкрито механізмів унікальних ефектів HЧCeO_2 . Нещодавно в одному із досліджень було встановлено, що HЧCeO_2 імітують синтази оксиду азоту (NOS) шляхом каталізу L-аргініну для утворення оксиду азоту (NO) або похідних. NOS-подібна активність HЧCeO_2 залежить від концентрації субстрату, pH, температури та часу тощо, де співвідношення вакансій кисню відіграє більш важливу роль. В цьому дослідженні встановлено: (1) NOS-подібна активність HЧCeO_2 забезпечує підвищення секреції NO в ендотеліальних клітинах і макрофагах без збільшення експресії eNOS/iNOS; (2) NOS-подібна активність HЧCeO_2 спільно з ендогенним NO сприяють перерозподілу ліпідів крові та стабілізують експресію eNOS, але пригнічують iNOS, таким чином, разом протидіють утворенню судинних бляшок [552]. Таким чином, в наших дослідженнях ця нова властивість HЧCeO_2 може мати важливе значення з огляду на вплив алкоголю на NO-ергічну систему і розвиток нитрозативного стресу за умов алкоголь-асоційованих хвороб печінки.

Дієта з дефіцитом метіоніну та холіну (ДДМХ) є однією з найбільш часто використовуваних експериментальних методів для швидкого моделювання стеатозу печінки та інших характерних ознак неалкогольної жирової хвороби печінки (НАЖХП) [511]. Ця дієта з високим вмістом сахарози та 10% жиру, але з дефіцитом метіоніну та холіну, призводить до макровезикулярного стеатозу протягом 3–4 тижнів, прогресуючого до запалення та фіброзу [591]. Через три тижні після початку моделювання ДДМХ, коли НАЖХП була встановлена, розпочато внутрішньовенне введення HЧCeO_2 . Після двотижневого лікування CeO_2NPs зменшився вміст та розмір крапель ліпідів у печінці тварин з НАЖХП,

знижувалась концентрація МДА, що вказує на помітне зниження інтенсивності перекисного окислення ліпідів при НАЖХП. У цьому дослідженні було ідентифіковано 14 індукованих ДДМХ генів, залучених до шляхів β -окислення ВЖК, передачі сигналів адипокінів, запалення та метаболізму антиоксидантів і АФК, експресія яких була значно знижена або навіть нормалізована після введення CeO_2NP . Крім того, лікування CeO_2NP також призвело до значного збільшення докозагексаєнової кислоти, модулятора запалення, який розглядають як потенційний засіб лікування НАЖХП у дітей. З поміж іншого, введення HfCeO_2 щурам, яких годували ДДМХ, індукують зміни в експресії печінкових генів – маркерів жирової дистрофії печінки та оксидативного стресу, а саме: *Erx*, *Prdx4*, *Cpt1a*, *Il1 β* , *Il10*, *Ccl5* (RANTES), *Cd36*, *LepR* і *Cebpb*. У сукупності результати цього дослідження вказують на те, що основні сприятливі ефекти HfCeO_2 пов'язані з протизапальним впливом, вторинним по відношенню до загального порушення передачі сигналів цитокінів [76]. Таким чином, їх використання на різних експериментальних моделях захворювань печінки захищає від оксидативного стресу, протидіє запаленню і може зменшувати стеатоз [207, 451, 501].

Докази *in vivo* ефективності CeO_2Hf для лікування фіброзу печінки менш однозначні. Введення CeO_2Hf (сферичні, 4–20 нм) щурам з індукованим фіброзом печінки CCl_4 призвело до зниження стеатозу і портальної гіпертензії, зниження експресії гладком'язового актину α (α -SMA), тоді як експресія колагену-I (*Col-I*) залишилася незмінною [451]. У дослідженнях *in vitro* доведено, що CeO_2Hf зменшуючи оксидативний стрес в активованих зірчастих клітинах печінки протидіє розвитку фіброзу [66]. Латентний TGF- β вивільняється клітинами Купфера та іншими клітинами імунної системи у формі неактивного комплексу, що включає зрілий TGF- β , асоційований з латентністю білок (LAP) і латентний білок, що зв'язує TGF- β (LTBP). Після активації TGF- β вивільняється з цього комплексу, а потім вільно зв'язується з рецепторами TGF- β на поверхні неактивних зірчастих клітин печінки, ініціюючи каскад передачі сигналів Smad і починаючи їх активацію. Дисоціація TGF- β від його латентного

комплексу вимагає кількох факторів, включаючи передачу сигналу АФК [326]. Оксиданти можуть впливати на латентний комплекс TGF- β безпосередньо, окислюючи LAP, відокремлюючи його від комплексу та вивільняючи TGF- β , або опосередковано через активацію MMP, які потім розщеплюють комплекс і вивільняють TGF- β . Крім того, активна передача сигналів Smad пригнічує експресію антиоксидантів, таких як глутатіон і супероксиддисмутаза [326], і збільшує оксидативний стрес шляхом активації ферментів, що генерують АФК, таких як мітохондріальна НАДФН-оксидаза (NOX) [244]. Таким чином, оксидативний стрес частково активує зірчасті клітини печінки через вплив на передачу сигналів TGF- β , а зниження оксидативного стресу свідчить про прямий вплив на головний регулятор фіброзу печінки, тобто TGF- β .

Проте це далеко не весь потенціал $\text{CeO}_2\text{НЧ}$. У ряді досліджень було встановлено, що $\text{CeO}_2\text{НЧ}$ захищає печінку від ушкоджень спричинених такими ксенобіотиками, як: діетилнітрозамін, ацетамінофен і доксорубіцин [27, 103, 233]. Крім того, було встановлено, що НЧCeO_2 має терапевтичний ефект при гепатоцелюлярній карциномі, а саме, введення $\text{CeO}_2\text{НЧ}$ призводить до підвищеної апоптотичної активності в печінці та зниження рівнів P-ERK1/2, важливого компонента сигнального шляху Ras/Raf/MAPK-кінази/ERK, який є одним із основних шляхів контролю виживання клітин, диференціації, проліферації, росту, ангіогенезу, регуляції метаболізму глюкози та ліпідів і запалення [159].

Враховуючи, що печінка є основним місцем накопичення $\text{CeO}_2\text{НЧ}$ у дослідженнях *in vivo* з різними способами та дозами введення їх в організм щурів [301, 663, 385, 580]. Поєднання цього природного накопичення з сильним окисно-відновним потенціалом $\text{CeO}_2\text{НЧ}$ та безперервною регенерацією каталітичної активності НЧCeO_2 , що дозволяє уникнути вичерпання його антиоксидантних властивостей [642], обґрунтовує доцільність використання $\text{CeO}_2\text{НЧ}$ як терапевтичний засіб для лікування хвороб печінки.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Загальна характеристика досліджуваних груп лабораторних тварин в експерименті

Дослідження були проведені на 144 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-220 г, що знаходилися на стандартному харчовому раціоні та питному режимі згідно зі «Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)».

У приміщеннях віварію контролювали температуру повітря (20-22) °С, вологість (40-45) % та світловий цикл – 12 год світло / 12 год темрява. Коефіцієнт повітрообміну становив 12-14 змін свіжого повітря на годину. Щури мали необмежений доступ до стандартного раціону та водопровідної води. Тварин відлучали від корму за 12 год до введення у наркоз.

Тваринам моделювали хронічний алкогольний гепатит для вивчення біохімічних та морфологічних змін в динаміці з метою визначення оптимальної тривалості моделювання для вивчення впливу модуляторів хронічного етанол-індукованого ушкодження печінки з вилученням із експерименту щурів під тіопенталовим наркозом шляхом забору крові з правого шлуночка серця на 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 57, 63 добу по 6 тварин в групі.

Контрольній групі тварин проводили ті ж маніпуляції, що і дослідним використовуючи фізіологічний розчин для ін'єкцій та дистильовану воду для перорального введення.

Розподіл щурів за групами для вивчення впливу модуляторів NF-κB та АМФ-активованої протеїнкінази, і нанокристалічного діоксиду церію наведений у таблиці 2.1.1.

Таблиця 2.1.1

**Розподіл піддослідних тварин за групами для вивчення впливу
модуляторів NF-κB та АМФ-активованої протеїнкінази, і
нанокристалічного діоксиду церію**

№ групи	Умови експерименту	Кількість тварин
1	2	3
1-ша	Контроль	6
2-га	Тварини, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит 63 доби	6
3-тя	Тварини, яким вводили амоній піролідиндітіокарбамат	6
4-та	Тварини, яким вводили бактеріальний ліпополісахарид <i>S. Typhi</i>	6
5-та	Тварини, яким вводили доксорубіцину гідрохлорид	6
6-та	Тварини, яким вводили фенформіну гідрохлорид	6
7-ма	Тварини, яким вводили нанокристалічний діоксид церію	6
8-ма	Тварини, яким вводили амоній піролідиндітіокарбамат за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту	6
9-та	Тварини, яким вводили бактеріальний ліпополісахарид <i>S. Typhi</i> за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту	6
10-та	Тварини, яким вводили доксорубіцину гідрохлорид за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту	6

1	2	3
11-та	Тварини, яким вводили фенформіну гідрохлорид за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту	6
12-та	Тварини, яким вводили нанокристалічний діоксид церію за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту	6

2.2. Біоетичні, правові та метрологічні аспекти дослідження

Дослідження на тваринах проводилися відповідно до рекомендацій ARRIVE (Дослідження на тваринах: звіт про експерименти *in vivo*) 2.0 Percie du Sert та ін., 2020) і Посібника з догляду та використання лабораторних тварин (2011). Дослідження проводилися відповідно до стандартів Конвенції Ради Європи з біоетики, «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (1997), загальних етичних принципів експериментів на тваринах, затверджених Першим національним конгресом з біоетики України (вересень 2001 р.) та іншими міжнародними договорами та національним законодавством у цій сфері. Тварини утримувалися у віварії, акредитованому за «Типовими правилами розпорядку, обладнання та утримання експериментальних біологічних клінік (віварію)».

Комісією з питань біомедичної етики Полтавського державного медичного університету (протокол № 232 від 21.11.2024р) встановлено, що проведені наукові дослідження відповідають етичним вимогам, порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Метрологія та стандартизація дослідження забезпечена дотриманням вимог до використаного обладнання та засобів вимірювальної техніки з їхньою метрологічною повіркою, що забезпечує належний рівень метрологічного контролю та стандартизації використаного обладнання.

2.3. Методика відтворення хронічного алкогольного гепатиту

У тварин II групи моделювали хронічний алкогольний гепатит методом примусової переривистої алкоголізації протягом 5 діб, з повтором через дві доби шляхом внутрішньочеревного введення 16,5 % розчину етанолу на 5 % розчині глюкози, з розрахунку 4 мл/кг маси тіла. Після чого їх переводили на 10 % етанол в якості єдиного джерела пиття [23].

2.4. Протоколи введення модуляторів NF-κB та АМФ-активованої протеїнкінази, і нанокристалічного діоксиду церію

2.4.1. Протокол введення інгібітора NF-κB

Тваринам вводили внутрішньочеревинно інгібітор NF-κB, а саме амоній піролідіндітіокарбамат (ПДТК, *Sigma-Aldrich*, США) у дозі 76 мг/кг 3 рази на тиждень протягом 63 днів [485].

2.4.2. Протокол введення активатора NF-κB

Тваринам вводили внутрішньочеревинно як активатор NF-κB бактеріальний ліпополісахарид (ЛПС) із *S. Typhi* в дозі 0,4 мкг/кг у перший тиждень 3 рази на тиждень, у подальшому 1 раз на тиждень протягом 63 днів [660].

2.4.3. Протокол введення інгібітора АМФ-активованої протеїнкінази

В якості інгібітора АМФ-активованої протеїнкінази використовували доксорубіцину гідрохлорид (*S.C. Sindan-Pharma S.R.L.*, Румунія), який вводили внутрішньоочеревинно в дозі 1,25 мг/кг 4 рази на тиждень протягом 63 днів [659].

2.4.4. Протокол введення активатора АМФ-активованої протеїнкінази

Фенформіну гідрохлорид (Sigma-Aldrich, USA) як активатор АМФ-активованої протеїнкінази вводили перорально в дозі 10 мг/кг щоденно протягом 63 днів [128].

2.4.5. Протокол введення нанокристалічного діоксиду церію

Нанокристалічний діоксид церію (CeO_2 ; НДЦ) з розміром частинок 2-7 нм був люб'язно наданий академіком Миколою Співаком (Інститут мікробіології і вірусології ім. Заболотного НАН України) нам у вигляді стабілізованого розчину цитрату натрію з концентрацією 140 мкг/мл CeO_2 , який ми вводили за допомогою ендogaстрального зонда у дозі 1 мг/кг щоденно протягом 63 днів [54].

2.5. Біохімічні методи дослідження крові експериментальних тварин

У сироватці крові щурів визначали активність аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази та γ -глутамілтранспептидази (γ -ГГТ) за допомогою діагностичних комплектів (виробник НПП «Філісіт-Діагностика»).

Визначення активності аспартатамінотрансферази базувалося на вимірюванні оптичної щільності 2,4-дінітрофенілгідразонів 2-оксоглутарової та піровиноградної кислот в лужному середовищі, остання утворюється шляхом самовільного декарбоксилювання щавлевооцтової кислоти, що утворилась під дією аспартатамінотрансферази із 2-оксоглутарової та L-аспарагінової кислот. Оскільки гідразон піровиноградної кислоти має більш високий коефіцієнт молярної екстинції, то спостерігається прямо пропорційна залежність оптичної щільності реакційного розчину від активності фермента [168].

Визначення активності аланінамінотрансферази базувалося на вимірюванні оптичної щільності 2,4-дінітрофенілгідразонів 2-оксоглутарової та

піровиноградної кислот в лужному середовищі, остання утворюється внаслідок амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аланіном під дією аланінамінотрансферази [168].

За даними активностей аспартатамінотрансферази (АсАТ) і аланінамінотрансферази (АлАТ) проводили розрахунок коефіцієнта де Рітіса за формулою: коефіцієнт де Рітіса = АсАТ/АлАТ.

Визначення активності γ -глутамілтранспептидази (γ -ГГТ) базується на вимірюванні оптичної щільності продукту реакції – п-нітроанілін, який утворюється під дією γ -ГГТ, коли глутаміновий залишок з γ -L-(+)-глутаміл-4-нітроаніліда переходить на дипептидний акцептор – гліцилгліцин [168].

2.6. Біохімічні методи дослідження в гомогенаті печінки щурів

Для біохімічного аналізу використовували 10 % гомогенат печінки. Для біохімічних досліджень використовували 10 % гомогенат печінки. Печінку щурів поміщали у чашку Петрі та подрібнювали. Робили наважку. Тканину гомогенізували у 10 мМ трис (2-аміно-2-гідроксиметил-пропан-1,3-діол)-HCl буфері, із рН 7,4 (1г тканини на 9 мл середовища) протягом (30-40) сек. Надосадову рідину використовували для біохімічних досліджень. Усі маніпуляції проводились при температурі від 0° до +4° С (на льодяній бані).

Перелік біохімічних методів дослідження, що виконувались у 10 % гомогенаті тканин печінки наведено в таблиці 2.6.1.

Таблиця 2.6.1

Біохімічні методи дослідження

№	Параметр, що вивчається	Літературні джерела
1	2	3
1.	Активність каталази (КФ 1.11.1.6)	Кайдашев І.П. та співавт. (2003) [1]

1	2	3
2.	Активність супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.1)	Кайдашев І.П. та співавт. (2003) [1]
3.	Продукція супероксидного аніон-радикала	Костенко В.О., Цебржинський О.І. (2000) [284]
4.	Концентрація малонового діальдегіду	Gérard-Monnier D. (1998) [183]
5.	Концентрація окисно-модифікованих білків	Кайдашев І.П. та співавт. (2003) [1]
6.	Концентрація NO ₂	Akimov O.Ye., Kostenko V.O. (2016) [33]
7.	Загальна активність NO-синтаз (КФ 1.14.13.39) та їх ізоформ (індуцибельної та конститутивних)	Akimov O.Ye., Kostenko V.O. (2016) [33]
8.	Концентрація пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів	Akimov O.Ye., Kostenko V.O. (2016) [33]
9.	Концентрація нітрозотіолів	Gaston B. (1993) [178]
10.	Активність нітритредуктаз (КФ 1.7.2.1) і нітратредуктаз (КФ 1.7.99.4)	Akimov O.Ye., Kostenko V.O. (2016) [33]
11.	Активність аргіназ (КФ 3.5.3.1)	Akimov O.Ye., Kostenko V.O. (2016) [33]
12.	Загальна концентрація глікозаміногліканів	Moschos M.M. (2008) [391]

1	2	3
13.	Концентрація окремих фракції глікозаміногліканів (гепарин-гепаранова, кератан-дерматанова і хондроїтинова)	Volpi N. (1996) [600]
14.	Концентрація вільного L-оксипроліну	Кайдашев І.П. та співавт. (2003) [1]
15.	Концентрація сіалових кислот	Кайдашев І.П. та співавт. (2003) [1]
16.	Концентрація сульфід аніонів (S^{2-})	Sugahara S. (2016) [546]
17.	Концентрація сульфит аніонів (SO_3^{2-})	Monzir S. (1994) [388]
18.	Концентрація біотіолів (R-SH)	Xu Y.Y. (2016) [643]

Активність каталази визначали по забарвленню продуктів, що утворюються в результаті реакції гідроген пероксиду з молібдатом амонію. Розрахунок проводили за кількістю гідроген пероксиду, що розпався в присутності 0,1 мл 10 % гомогенату тканин печінки, що містить каталазу, за одиницю часу [1].

Для визначення активності СОД використовували реакцію автоокислення адреналіну в лужному середовищі з утворенням супероксиду, шляхом порівняння швидкості автоокислення адреналіну в присутності 0,1 мл 10 % гомогенату тканин печінки та без нього. Активність СОД розраховували в умовних одиницях (у.о., 1 одиниця вказує на зменшення швидкості реакції на 50%) [1].

Продукцію супероксидного аніон-радикалу визначали за реакцією взаємодії останнього з дигідрохлоридом нітросинім тетразолієм (ДНСТ), яка призводить до перетворення ДНСТ, жовтого кольору, на диформазан, синього кольору. Максимум поглинання диформазану в хлороформі при довжині хвилі 500-570 нм [284].

Вільний малоновий діальдегід оцінювали по специфічній реакції з 1-метил-2-феніл-індолом у суміші метанолу та ацетонітрилу з утворенням хромогену (карбоціанінового барвника) з максимальним поглинанням світла при довжині хвилі 586 нм [183].

Концентрацію окисно-модифікованих білків визначали за реакцією карбонільних груп окислених білків з 2,4-динітрофенілгідразином продуктом якої є динітрофенілгідрозон, який потім детектується спектрофотометрично [1].

Концентрацію нітритів визначали шляхом визначення діазосполук, що утворилися у реакції з сульфаніловою кислотою, а потім проводили реакцію з α -нафтиламином (реактив Грісса-Ілосвая). У результаті якої утворюються похідні червоного кольору (азобарвники). Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації нітритів [33].

Загальну активність NO-синтаз (gNOS) визначали по приросту нітритів після інкубації 10 % гомогенату печінки (0,2 мл) протягом 30 хв в інкубаційному розчині (2,5 мл 0,1 М трисбуфера, 0,3 мл 320 мМ водного розчину L-аргініну та 0,1 мл 1 мМ розчину НАДФН+H⁺). Для визначення активності конститутивних ізоформ NO-синтаз (cNOS) використовували 1% розчин аміногуанідину гідрохлориду і час інкубації подовжували до 60 хв. Активність індукцбельної ізоформи NO-синтази (iNOS) розраховували за формулою: $iNOS = gNOS - cNOS$ [33].

Концентрацію пероксинітриту лужних та лужно-земельних металів вимірювали за допомогою його реакції з йодидом калію при pH 7,0 в 0,2 М фосфатному буфері з таким самим pH, що дає продукт I₃ з максимальним поглинанням при довжині хвилі 355 нм [33].

Концентрацію нітрозотіолів визначали за різницею концентрації нітритів (NO₂⁻) за допомогою реактиву Грісса (з модифікацією Ілосвая) до та після окислення нітрозотіолових комплексів (S-NO) до нітритів розчином хлориду ртуті (HgCl₂) [178].

Активність нітрит- і нітратредуктаз вимірювали за зниженням концентрації нітратів і нітритів після інкубації 0,2 мл 10% гомогенату тканин печінки в присутності 0,1 мл 1% розчину донора електронів ($\text{NADH} + \text{H}^+$) [33].

Активність аргіназ визначали за збільшенням концентрації L-орнітину після інкубації 0,2 мл 10% гомогенату тканин печінки з 0,3 мл 24 мМ розчину L-аргініну [33].

Для визначення загальної концентрації глікозаміногліканів застосовували карбазоловий метод, який базується на визначенні вмісту уронових кислот після кислотного гідролізу глікозаміногліканів за кольоровою реакцією уронової кислоти з карбазолом [391].

Для визначення концентрації різних фракцій (гепарин-гепаран, кератан-дерматан і хондроїтин) глікозаміногліканів у тканинному гомогенаті використовували метод послідовного осадження, запропонований Volpi (1996). Після послідовного осадження за допомогою трихлороцтової кислоти і пропанолу ми використовували карбазольний метод для визначення концентрацій різних фракцій [600].

Концентрацію вільного оксипроліну вимірювали за продуктом реакції піррол-2-карбонової кислоти, яка утворюється при окисненні оксипроліну, з парадиметиламінобензальдегідом [1].

Сіалові кислоти, які представляють собою ацильовані похідні нейрамінової кислоти, після вивільнення з глікопротеїнів шляхом гідролізу оцінювали по кількості кольорового продукту що утворився при нагріванні з оцтово-сірчанокислим реактивом (реакція Гесса) [1].

Концентрацію сульфід-аніону розраховували як концентрацію H_2S . H_2S специфічно реагує з N-N-диметил-пара-фенілендіаміном у присутності іонів Fe^{3+} і надлишку соляної кислоти з утворенням червоно-рожевого хромогену з максимальним поглинанням світла при довжині хвилі 667 нм [546].

Концентрацію сульфідів (SO_3^{2-}) визначали по реакції взаємодії SO_3^{2-} з о-фталальдегідом у присутності хлориду амонію при довжині хвилі 667 нм [388].

Визначення концентрації біологічних тіолів ґрунтується на визначенні концентрації забарвленого продукту реакції, що утворюється при взаємодії біологічних тіолових груп (-SH) цистеїну і відновленого глутатіону з 3,3',5,5'-тетраметилбензидином у присутності іонів срібла (Ag^+) [643].

2.7. Морфологічні та морфометричні методи дослідження печінки щурів

Фрагменти печінки видаляли і фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну відразу після виведення тварин з експерименту протягом трьох діб. Матеріал промивали та готували до ущільнення у парафін за стандартною методикою (Багрій та ін., 2016), зрізи виготовляли з попередньо ущільнених шматочків, товщиною (5-7) мкм на мікротомі Histo-Line Laboratories (Італія) на базі міжкафедральної науково-дослідно-навчальної морфологічної лабораторії (МНДНМЛ) Полтавського державного медичного університету (науковий керівник МНДНМЛ – д.мед.н., професор Г.А. Єрошенко).

Гістологічні зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином. Серії мікрофотографій отримували за допомогою об'єктивів 4x і 10x цифровою камерою 5.0 Мрх MICROmed MDC-500 (Ningbo Zhanjing Optical Instruments Co., Ltd, Китай, 2019) та мікроскопу MICROmed Fusion FS-7630 (Ningbo Zhanjing Optical Instruments Co., Ltd, Китай, 2019). Фотофіксацію проводили в програмному забезпеченні Vividia Ablescope (Oasis Scientific Inc., USA).

Для морфометричних досліджень на світлооптичному рівні судинного русла печінки щурів користувалися окремими вибірками серійних напівтонких зрізів. Для цього з ущільнених шматочків печінки виготовляли серійні зрізи, які монтували на предметні скельця за трафаретною методикою для закріплення послідовності розподілу. З даної кількості зрізів, у свою чергу, були сформовані вибірки за методом випадкових чисел.

Після цього в кожній групі зрізів визначали:

середній діаметр просвіту синусоїдних капілярів центральної та периферичної зон печінкових часточок та

середній діаметр просвіту центральних вен, міжчасточкових вен та артерій і часточкових венул і артеріол щурів

за допомогою мікроскопу MICROmed Fusion FS-7630 (Ningbo Zhanjing Optical Instruments Co., Ltd, Китай, 2019) з цифровою мікрофотонасадкою MICROmed Fusion FS-7630 (Ningbo Zhanjing Optical Instruments Co., Ltd, Китай, 2019) за допомогою програмного забезпечення Vividia Ablescope (Oasis Scientific Inc., USA) при збільшенні $\times 400$ мікроскопу (серійний номер 49394).

Кількісний аналіз результатів морфометричного дослідження і статистичну обробку морфометричних даних проводили за загально прийнятими статистичними методами за допомогою програми Exel (Microsoft, USA).

2.8. Методи статистичної обробки результатів експерименту

Статистичну обробку результатів біохімічних досліджень проводили за допомогою одностороннього дисперсійного аналізу Крускала–Уолліса з подальшим попарним порівнянням за U-критерієм Манна–Уїтні. Щоб уникнути багаторазових помилок порівняння, ми використали корекцію методом Бонферроні. Обробка результатів морфометричного дослідження проводилась з використанням однофакторного дисперсійного аналізу за методом Хрускала–Уолліса із послідуочим використанням попарного порівняння за точним тестом Мана–Вітні та враховуючи поправку на множинність порівнянь за Бонферроні. Для проведення кореляційного аналізу статистичну обробку результатів біохімічних досліджень здійснювали використовуючи непараметричний метод Спірмена для встановлення кореляційних зв'язків (за виключенням груп де досліджувані параметри відповідали нормальному розподілу з дуже малими величинами стандартного відхилення, де використовувався метод Пірсона). Всі статистичні обрахунки проводились в програмі Microsoft office Excel та її розширення Real Statistics 2019. Кореляційний зв'язок вважали статистично значущим при $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3. МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН В ПЕЧІНЦІ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ ХРОНІЧНОГО АЛКОГОЛЬНОГО ГЕПАТИТУ

3.1. Біохімічні маркери цитолітичного синдрому гепатоцитів у крові за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту

Біохімічний аналіз сироватки крові щурів, яким моделювали алкогольний гепатит виявив підвищення активності АсАТ на 3 і 5 добу експерименту відповідно в 1,19 та 1,22 рази, а на 7 добу зниження в 1,73 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$) (рис. 3.1.1). На 3 добу експерименту активність АсАТ в сироватці крові підвищена в 1,2 рази порівняно з 1 добою експерименту, а на 7-му добу зменшувалась в 2,1 рази порівняно з активністю АсАТ на 5 добу експерименту ($p < 0,05$).

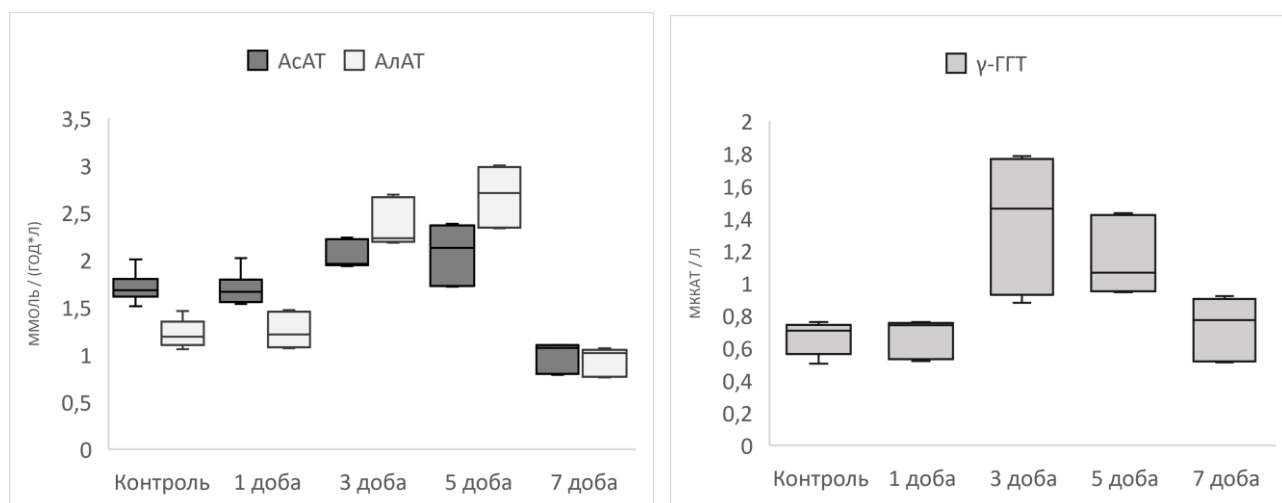


Рис. 3.1.1. Маркери цитолітичного синдрому в сироватці крові за умов моделювання алкогольного гепатиту.

Активність АлАТ в сироватці крові щурів, яким моделювали алкогольний гепатит на 3 та 5 добу експерименту підвищена відповідно в 1,94 та 2,2 рази, а на 7 добу знижена в 1,28 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 3 добу експерименту активність АлАТ в сироватці крові щурів підвищилась в 1,9 рази

порівняно з активністю АлАТ на 1 добу експерименту ($p < 0,05$). На 5 добу експерименту активність АлАТ підвищилась в 1,13 рази порівняно з активністю АлАТ на 3 добу експерименту ($p < 0,05$). На 7 добу експерименту активність АлАТ в сироватці крові щурів знизилась в 2,82 рази порівняно з активністю АлАТ на 5 добу експерименту ($p < 0,05$).

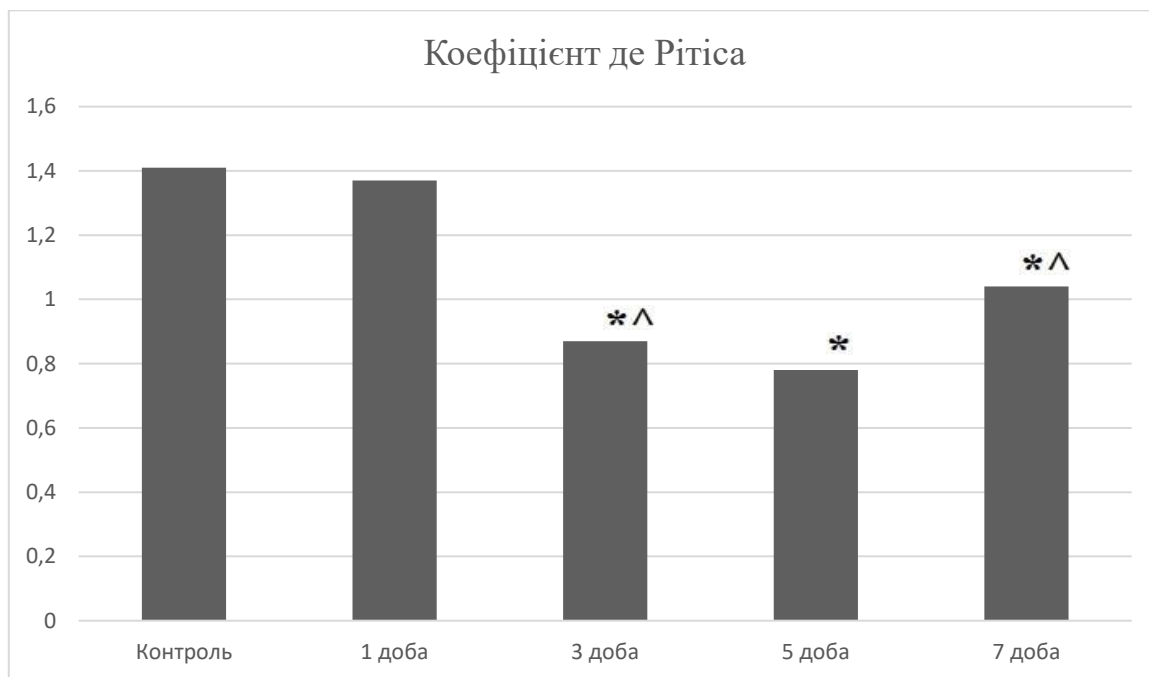


Рис. 3.1.2. Коефіцієнт де Рітиса за умов моделювання алкогольного гепатиту. Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном експерименту.

Коефіцієнт де Рітиса на 3, 5 та 7 добу експерименту знижений відповідно в 1,62, 1,81 та 1,36 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$), що свідчить про цитоліз гепатоцитів (рис. 3.1.2). На 3 добу експерименту коефіцієнт де Рітиса знизився в 1,57 рази порівняно з показником на 1 добу експерименту ($p < 0,05$). На 7 добу експерименту коефіцієнт де Рітиса підвищився в 1,33 рази порівняно з показником на 5 добу експерименту ($p < 0,05$).

Біохімічний аналіз сироватки крові щурів, яким моделювали алкогольний гепатит, виявив підвищення активності γ -ГТП на 3 та 5 добу експерименту відповідно в 2,06 та 1,72 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$) і в 2,06 рази на 3 добу порівняно з активністю γ -ГТП на 1 добу експерименту ($p < 0,05$) (рисунок

3.1). На 7 добу експерименту активність γ -ГТП в сироватці крові щурів знизилась в 1,58 рази порівняно з активністю γ -ГТП на 5 добу експерименту ($p < 0,05$).

Активність АсАТ в сироватці крові щурів на 10, 14 і 21 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту зростає відповідно в 1,5, 1,78 та 1,19 рази, а на 28 добу знижується в 1,6 рази у порівнянні з показником контрольної групи щурів ($p < 0,05$) (рис. 3.1.3). На 21 і 28 добу експерименту активність АсАТ в сироватці крові знижується по відношенню до показника попереднього терміну експерименту відповідно 14 і 21 добу в 1,5 та 1,91 рази ($p < 0,05$).

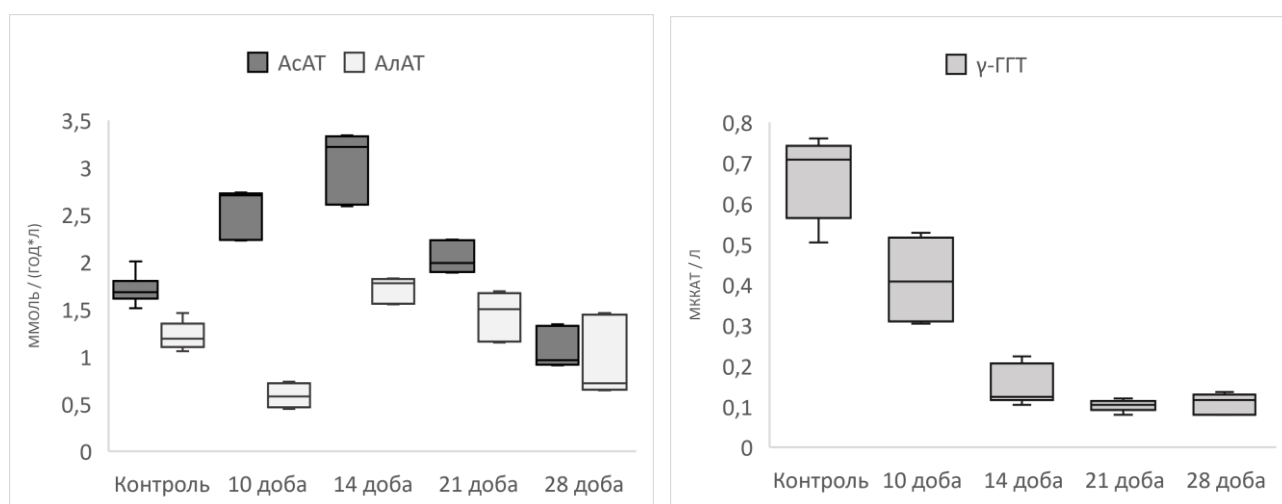


Рис. 3.1.3. Маркери цитолітичного синдрому в сироватці крові за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту.

Активність АЛАТ в сироватці крові щурів на 10 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту знижувалась в 2,07 рази, а на 14 добу підвищувалась в 1,41 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$) (рис. 3.1.3). На 14 добу експерименту активність АЛАТ в сироватці крові щурів підвищилась в 2,92 рази порівняно з активністю АЛАТ на 10 добу експерименту ($p < 0,05$). На 21 і 28 добу експерименту активність АЛАТ знижується у порівнянні з попереднім терміном експерименту відповідно з 14 та 21 добою в 1,19 та 1,83 рази ($p < 0,05$).

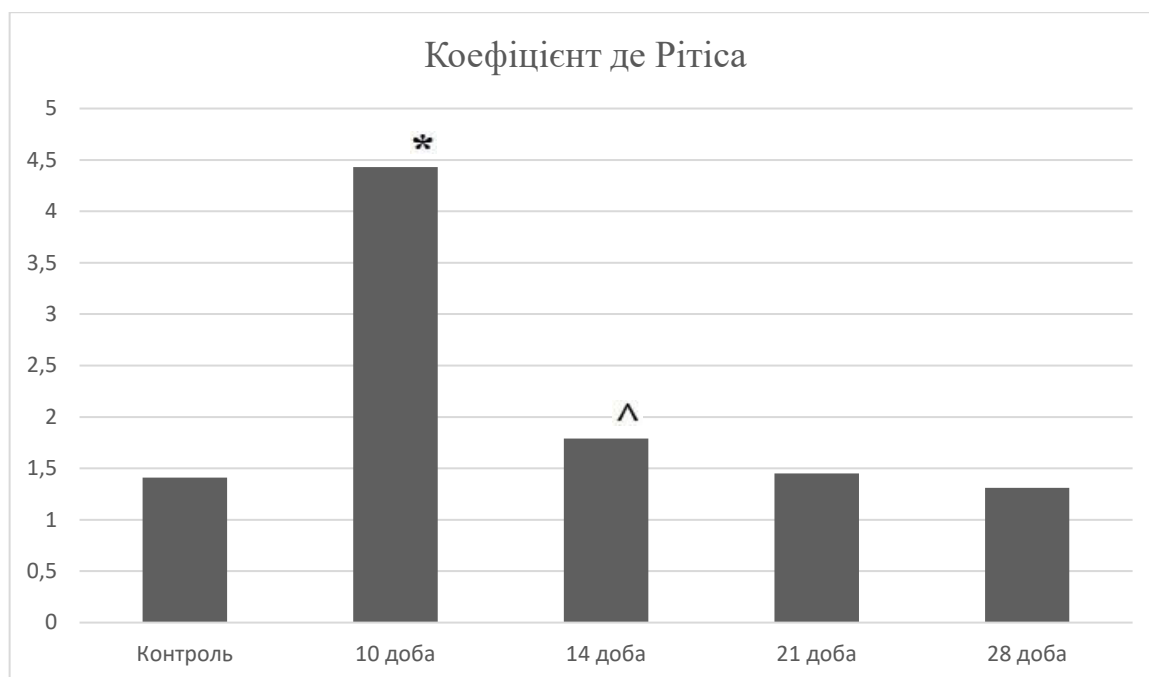


Рис. 3.1.4. Коефіцієнт де Рітиса за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту. Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном експерименту.

Коефіцієнт де Рітиса на 10 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту підвищується в 3,14 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$) (рис. 3.1.4). На 14 добу експерименту коефіцієнт де Рітиса знижується в 2,47 рази порівняно з показником на 10 добу експерименту ($p < 0,05$).

Біохімічний аналіз сироватки крові щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит, виявив зниження активності γ -ГТП на 10, 14, 21 та 28 добу експерименту відповідно в 1,63, 4,47, 6,7 та 6,09 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$) (рис. 3.1.3). На 14 і 21 добу експерименту активність γ -ГТП в сироватці крові знижується по відношенню до показника попереднього терміну експерименту відповідно 10 і 14 добу в 2,73 та 1,5 рази ($p < 0,05$).

Активність АсАТ в сироватці крові щурів на 35, 49 і 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту зростає відповідно в 1,64, 3,32 та 2,49 рази, а на 42 добу знижується в 2,22 рази у порівнянні з показником контрольної групи щурів ($p < 0,05$) (рис. 3.1.5). На 42 і 56 добу експерименту активність АсАТ в

сироватці крові знижується по відношенню до показника попереднього терміну експерименту відповідно 35 і 49 добу в 3,65 та 1,33 рази ($p < 0,05$). На 49 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність АсАТ підвищується в 7,38 рази по відношенню до показника на 42 добу експерименту ($p < 0,05$).

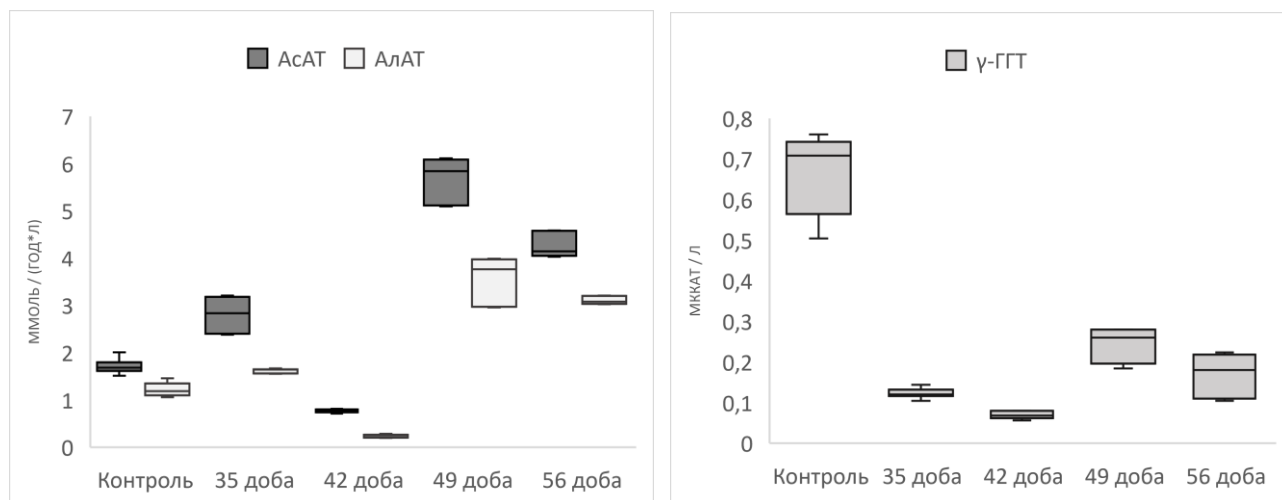


Рис. 3.1.5. Маркери цитолітичного синдрому в сироватці крові за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту у віддалені строки.

Активність АЛАТ в сироватці крові щурів на 35, 49 і 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту зростає відповідно в 1,33, 2,93 та 2,54 рази, а на 42 добу знижується в 5,3 рази у порівнянні з показником контрольної групи щурів ($p < 0,05$) (рис. 3.1.5). На 42 добу експерименту активність АЛАТ в сироватці крові знижується в 7,04 рази у порівнянні з активністю АЛАТ на 35 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту ($p < 0,05$). На 49 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність АЛАТ підвищується в 15,52 рази по відношенню до показника на 42 добу експерименту ($p < 0,05$).

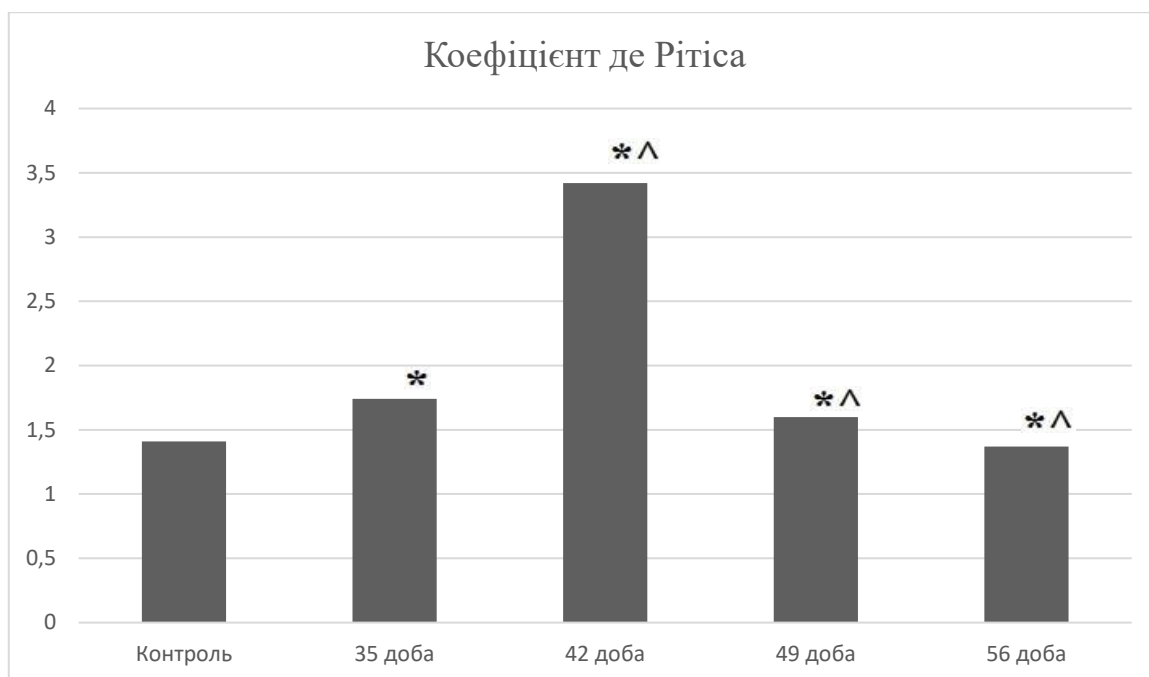


Рис. 3.1.6. Коефіцієнт де Рітиса за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту у віддалені строки.

Коефіцієнт де Рітиса на 42 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту підвищується в 2,43 рази порівняно з контрольною групою щурів і в 1,97 рази у порівнянні з показником на 35 добу експерименту ($p < 0,05$) (рис. 3.1.6). На 49 і 56 добу експерименту коефіцієнт де Рітиса знижується по відношенню до показника попереднього терміну експерименту відповідно 42 і 49 доби в 2,14 та 2,5 рази ($p < 0,05$).

Тенденція зниженої активності γ -ГТП в сироватці крові по відношенню до контрольної групи щурів зберігається на 35, 42, 49 і 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту відповідно в 5,58, 9,57, 2,79 та 3,94 рази ($p < 0,05$) (рисунок 3.1.5). На 42 і 56 добу експерименту активність γ -ГТП в сироватці крові знижується по відношенню до показника попереднього терміну експерименту відповідно 35 і 49 добу в 1,71 та 1,41 рази ($p < 0,05$). На 49 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність γ -ГТП в сироватці крові підвищується в 3,43 рази по відношенню до 42 доби експерименту ($p < 0,05$).

3.2. Розвиток оксидативно-нітрозативного стресу та концентрація S^{2-} в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту

Ми отримали наступні результати, активність каталази в печінці щурів за умов моделювання алкогольного гепатиту знижувалась на 3, 5 та 7 добу відповідно в 1,36, 1,65 і 1,19 рази відносно контролю ($p < 0,05$) (таблиця 3.2.1.). На 3 добу експерименту відбулося зниження активності каталази в 1,36 рази по відношенню до активності на 1 добу, а на 7 добу – підвищення в 1,39 рази по відношенню до активності на 5 добу ($p < 0,05$). Активність СОД в печінці щурів за умов моделювання алкогольного гепатиту зменшувалась на 1, 3 та 7 добу відповідно в 8,75, 1,81 і 2,29 рази відносно контролю ($p < 0,05$). На 3 добу експерименту відбулося підвищення активності СОД в печінці щурів у 4,84 рази по відношенню до активності на 1 добу, на 5 добу – підвищення в 1,92 рази по відношенню до активності на 3 добу і на 7 добу – зниження в 2,42 рази по відношенню до активності на 5 добу моделювання алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

Продукція супероксидного аніон-радикалу ($O_2^{\cdot-}$) в печінці щурів за умов моделювання алкогольного гепатиту збільшувалась на 1, 3 та 7 добу відповідно в 2,35, 4,43 і 3,71 рази, а на 5 добу зменшується в 1,69 рази відносно до контролю ($p < 0,05$). На 3 добу експерименту спостерігаємо підвищення продукції $O_2^{\cdot-}$ в печінці щурів у 1,88 рази по відношенню до показника на 1 добу, на 5 добу – зниження в 7,48 рази по відношенню до цього показника на 3 добу і на 7 добу – підвищення в 6,27 рази по відношенню до активності на 5 добу моделювання алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

Таблиця 3.2.1

**Біохімічні параметри оксидативного ушкодження, прооксидантів,
антиоксидантів та концентрації S²⁻ в печінці щурів за умов моделювання
алкогольного гепатиту, M±m**

Біохімічні параметри	Групи				
	Контроль	1 доба	3 доба	5 доба	7 доба
Активність каталази, мккат / г	0,38±0,008	0,38±0,008	0,28±0,02*^	0,23±0,01*	0,32±0,002*^
Активність супероксид-дисмутази, ум.од.	12,34±0,55	1,41±0,09*	6,82±1,33*^	13,07±0,5^	5,39±0,4*^
Супероксидний аніон-радикал, нмоль / с*г білка	1,84±0,004	4,33±0,57*	8,15±0,03*^	1,09±0,02*^	6,83±0,07*^
Концентрація малонового діальдегіду, мкмоль / г	12,32±0,11	20,32±0,71*	32,68±4,11*^	20,93±0,98*^	32,49±1,59*^
Вміст окисно-модифікованих білків, ум.од.	0,04±0,002	0,06±0,01	0,4±0,01*^	0,32±0,001*^	0,41±0,007*^
Концентрація сульфід аніону, мкмоль / г	7,23±0,17	5,27±0,03*	3,69±0,03*^	1,1±0,03*^	6,52±0,03*^

Примітки: * - p<0,05 порівняно з контрольною групою щурів;

^ - p<0,05 порівняно з попереднім терміном експерименту.

Концентрація малонового діальдегіду (МДА) в печінці щурів за умов моделювання алкогольного гепатиту збільшувалась на 1, 3, 5 та 7 добу відповідно в 1,65, 2,65, 1,7 і 2,64 рази по відношенню до контролю ($p < 0,05$). При цьому на 3 і 7 добу спостерігаємо підвищення МДА в печінці щурів у 1,61 та 1,55 рази по відношенню з попередніми термінами експерименту відповідно з 1 та 5 добою ($p < 0,05$). На 5 добу моделювання алкогольного гепатиту відбувається зниження МДА в печінці щурів у 1,56 рази по відношенню з показником на 3 добу експерименту ($p < 0,05$). Вміст окисно-модифікованих білків (ОМБ) в печінці щурів за умов моделювання алкогольного гепатиту збільшувався на 1, 3, 5 та 7 добу відповідно в 1,5, 10, 8, і 10,25 рази по відношенню до контролю ($p < 0,05$). За цих умов на 3 і 7 добу спостерігаємо підвищення ОМБ в печінці щурів у 6,67 та 1,28 рази по відношенню з попередніми термінами експерименту відповідно з 1 та 5 добою ($p < 0,05$). На 5 добу моделювання алкогольного гепатиту відбувається зниження ОМБ в печінці щурів у 1,25 рази по відношенню з показником на 3 добу експерименту ($p < 0,05$).

За умов моделювання алкогольного гепатиту в печінці щурів концентрація сульфід аніону (S^{2-}) знижується на 1, 3, 5 та 7 добу відповідно в 1,37, 1,96, 6,57 і 1,11 рази по відношенню до контролю ($p < 0,05$). За цих умов на 3 та 5 добу моделювання алкогольного гепатиту в печінці щурів спостерігаємо зниження S^{2-} в 1,43 і 3,35 рази у порівнянні з попередніми термінами експерименту відповідно з 1 та 3 добою, а на 7 добу – підвищення S^{2-} в 5,93 рази порівняно з показником на 5 добу моделювання алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

При біохімічних дослідженнях печінки щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит шляхом примусової переривистої алкоголізації встановлено, що загальна активність NO-синтаз в печінці щурів на 1, 3 та 7 добу експерименту була підвищена відповідно в 5,89, 4,05 та 4,74 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$) (таблиця 3.2.2). На 5 добу експерименту загальна активність NO-синтаз в печінці щурів знизилась в 4,53 рази порівняно з загальною активністю NO-синтаз на 3 добу експерименту ($p < 0,05$). На 7 добу експерименту

загальна активність NO-синтаз в печінці щурів підвищилась в 5,29 разів порівняно з загальною активністю NO-синтаз на 5 добу експерименту ($p<0,05$).

Активність iNOS в печінці щурів, яким моделювали алкогольний гепатит, на 1, 3 та 7 добу експерименту була підвищена відповідно в 6,69, 4,5 та 5,31 рази порівняно з контролем ($p<0,05$). На 5 добу експерименту активність iNOS в печінці щурів знизилась в 5,14 рази порівняно з активністю iNOS на 3 добу експерименту ($p<0,05$). На 7 добу експерименту активність iNOS в печінці щурів підвищилась в 6,07 рази порівняно з активністю iNOS на 5 добу експерименту ($p<0,05$).

Активність cNOS в печінки щурів, яким моделювали алкогольний гепатит, на 3, 5 та 7 добу експерименту була підвищена відповідно в 1,93, 1,15 та 1,67 рази порівняно з контролем ($p<0,05$). На 5 добу експерименту активність cNOS в печінки щурів знизилась в 1,68 рази порівняно з активністю cNOS на 3 добу експерименту ($p<0,05$). На 7 добу експерименту активність cNOS в печінки щурів підвищилась в 1,45 рази порівняно з активністю cNOS на 5 добу експерименту ($p<0,05$).

Таблиця 3.2.2

Біохімічні параметри метаболізму оксиду азоту в печінці щурів за умов моделювання алкогольного гепатиту, $M\pm m$

Біохімічні параметри	Групи				
	Контроль	1 доба	3 доба	5 доба	7 доба
1	2	3	4	5	6
Загальна активність NO-синтаз, мкмоль / хв на г білка	$0,19\pm0,02$	$1,12\pm0,16^*$	$0,77\pm0,07^*$	$0,17\pm0,02^{\wedge}$	$0,9\pm0,05^{*^{\wedge}}$

1	2	3	4	5	6
Активність індуцибельної NO-синтази, мкмоль / хв на г білка	0,16±0,02	1,07±0,15*	0,72±0,07*	0,14±0,02^	0,85±0,05*^
Активність конститутивних NO-синтаз, мкмоль / хв на г білка	0,027±0,0003	0,052±0,0070	0,052±0,004*	0,031±0,001*^	0,045±0,001*^
Активність нітритредуктаз, мкмоль / хв на г білка	3,11±0,51	3,4±0,42	2,54±0,48	1,23±0,13*	4,98±0,62^
Активність нітратредуктаз, мкмоль / хв на г білка	3,71±0,81	3,76±0,59	4,52±0,69	1,32±0,2*^	6,07±1,36^
Концентрація пероксинітриту, мкмоль / г	0,45±0,01	0,31±0,03*	8,63±1,17*^	6,96±0,33*	11,87±1,07*^
Концентрація нітрозотіолів, мкмоль / г	0,36±0,02	0,97±0,2*	0,87±0,1*	2,71±0,1*^	1,64±0,07*^
Концентрація NO ₂ , нмоль / г	7,14±0,17	4,56±0,66*	10,84±0,43*^	17,28±0,76*^	12,92±0,19*^

1	2	3	4	5	6
Активність аргіназ, мкмоль / хв на г білка	1,8±0,1	1,69±0,53	0,22±0,01*	0,18±0,01*^	0,53±0,01*^

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів;

^ - $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном експерименту.

Активність нітритредуктаз в печінці щурів, яким моделювали алкогольний гепатит, на 5 добу експерименту була знижена в 2,53 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 7 добу експерименту активність нітритредуктаз в печінці щурів підвищилась в 4,04 рази порівняно з активністю нітритредуктаз на 5 добу експерименту ($p < 0,05$).

Активність нітратредуктаз в печінці щурів, яким моделювали алкогольний гепатит, на 5 добу експерименту була знижена в 2,81 рази порівняно з контролем і в 3,42 рази порівняно з активністю нітратредуктаз на 3 добу експерименту ($p < 0,05$). На 7 добу моделювання алкогольного гепатиту активність нітратредуктаз зростала в 4,6 рази порівнюючи з показником на 5 добу ($p < 0,05$).

Концентрація пероксинітриту в печінці щурів на 1 добу експерименту була знижена в 1,45 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$), на 3, 5 та 7 добу експерименту підвищена відповідно в 19,18, 15,47 та 26,38 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 3 добу експерименту концентрація пероксинітриту в печінці щурів підвищилась в 27,84 рази порівняно з концентрацією пероксинітриту на 1 добу експерименту ($p < 0,05$). На 7 добу експерименту концентрація пероксинітриту в печінці щурів підвищилась в 1,71 рази порівняно з концентрацією пероксинітриту на 5 добу моделювання алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

Концентрація нітрозотіолів в печінці щурів за умов моделювання алкогольного гепатиту на 1, 3, 5 та 7 добу була підвищена в 2,69, 2,42, 7,53 та 4,56 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 5 добу експерименту концентрація нітрозотіолів в печінці щурів підвищилась в 3,11 рази порівняно з концентрацією нітрозотіолів на 3 добу експерименту ($p < 0,05$). На 7 добу експерименту

концентрація нітрозотіолів в печінці щурів знизилась в 1,65 рази порівняно з концентрацією нітрозотіолів на 5 добу моделювання алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

Концентрація нітритів в печінці щурів на 1 добу експерименту була знижена в 1,57 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$), на 3, 5 та 7 добу експерименту підвищена відповідно в 1,52, 2,42 та 1,81 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 3 добу експерименту концентрація нітритів в печінці щурів підвищилась в 2,38 рази порівняно з концентрацією нітритів на 1 добу експерименту ($p < 0,05$). На 5 добу експерименту концентрація нітритів в печінці щурів підвищилась в 1,59 рази порівняно з концентрацією нітритів на 3 добу експерименту ($p < 0,05$). На 7 добу експерименту концентрація нітритів в печінці щурів знизилась в 1,34 рази порівняно з концентрацією нітритів на 5 добу експерименту ($p < 0,05$).

Активність аргіназ в печінці щурів, яким моделювали алкогольний гепатит, на 3, 5 та 7 добу експерименту була знижена відповідно в 8,18, 10 та 3,4 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 5 добу експерименту активність аргіназ в печінці щурів знизилась в 1,22 рази порівняно з активністю аргіназ на 3 добу, а на 7 добу експерименту активність аргіназ підвищилась в 2,94 рази порівняно з активністю аргіназ на 5 добу експерименту ($p < 0,05$).

Активність каталази в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту на 14 добу експерименту була підвищена в 1,16 рази, а на 21 та 28 добу знизилась відповідно в 1,52 та 1,81 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$) (таблиця 3.2.3). На 14 добу експерименту активність каталази в печінці щурів підвищилась в 1,22 рази порівняно з 10 добою експерименту, на 21 добу активність каталази знизилась в 1,76 рази порівняно з 14 добою експерименту, на 28 добу експерименту активність каталази знизилась в 2,1 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Активність СОД в печінці щурів на 10 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту знизилась в 1,77 рази, а на 14 та 21 добу підвищилась відповідно в 1,71 та 1,21 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 14 добу експерименту активність СОД в печінці щурів підвищилась в 3,02 рази порівняно

з 10 добою експерименту ($p < 0,05$). На 21 добу активність СОД в печінці щурів знизилась в 1,41 рази порівняно з 14 добою експерименту ($p < 0,05$).

Продукція супероксид-аніон радикалу в печінці щурів на 14, 21 і 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена відповідно в 1,17, 2,15 і 2,33 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 14 добу експерименту продукція супероксид-аніон радикалу в печінці щурів підвищилась в 1,34 рази порівняно з 10 добою експерименту, на 21 добу продукція супероксид-аніон радикалу підвищилась в 1,83 рази порівняно з 14 добою експерименту, на 28 добу експерименту продукція супероксид-аніон радикалу підвищилась в 1,08 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Концентрація МДА в печінці щурів на 10, 14, 21 і 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена відповідно в 1,85, 2,14, 2,39 і 2,1 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 14 добу експерименту концентрація МДА в печінці щурів підвищилась в 1,16 рази порівняно з 10 добою експерименту, на 21 добу концентрація МДА підвищилась в 1,12 рази порівняно з 14 добою експерименту, на 28 добу експерименту концентрація МДА знизилась в 1,14 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Таблиця 3.2.3

Біохімічні параметри оксидативного ушкодження, прооксидантів, антиоксидантів та концентрації S^{2-} в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи				
	Контроль	10 доба	14 доба	21 доба	28 доба
1	2	3	4	5	6
Активність каталази, мккат / г	$0,38 \pm 0,008$	$0,36 \pm 0,005$	$0,44 \pm 0,01^{*^{\wedge}}$	$0,25 \pm 0,001^{*^{\wedge}}$	$0,21 \pm 0,0007^{*^{\wedge}}$

1	2	3	4	5	6
Активність супероксид- дисмутази, ум.од.	12,34±0,55	6,99±0,26*	21,12±2,76*^	14,93±0,78*^	14,27±0,47
Супероксидний аніон-радикал, нмоль / с*Г білка	1,84±0,004	1,61±0,17	2,16±0,03*^	3,95±0,05*^	4,28±0,02*^
Концентрація малонового діальдегіду, мкмоль / Г	12,32±0,11	22,75±0,36*	26,35±1,13*^	29,42±0,21*^	25,84±0,87*^
Вміст окисно- модифікованих білків, ум.од.	0,04±0,002	0,37±0,02*	0,35±0,002*	0,28±0,003*^	0,29±0,001*^
Концентрація сульфід аніону, мкмоль / Г	7,23±0,17	2,17±0,04*	2,78±0,04*^	1,49±0,05*^	5,42±0,05*^

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів;

^ - $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном експерименту.

Концентрація ОМБ в печінці щурів на 10, 14, 21 і 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена відповідно в 9,25, 8,75, 7 і 7,25 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 21 добу концентрація ОМБ в печінці щурів знизилась в 1,25 рази порівняно з 14 добою експерименту ($p < 0,05$). На 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація ОМБ в печінці щурів підвищилась в 1,04 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Концентрація сульфідного аніону в печінці щурів на 10, 14, 21 і 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту знизилась відповідно в 3,33, 2,6,

4,85 і 1,33 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 14 добу експерименту концентрація сульфідного аніону в печінці щурів підвищилась в 1,28 рази порівняно з 10 добою експерименту, на 21 добу концентрація сульфідного аніону знизилась в 1,87 рази порівняно з 14 добою експерименту, на 28 добу експерименту концентрація сульфідного аніону підвищилась в 3,64 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Загальна активність NOS в печінці щурів на 21 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена в 3,26 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$) (таблиця 3.2.4.). На 21 добу експерименту загальна активність NOS в печінці щурів підвищилась в 2,95 рази порівняно з 14 добою експерименту, на 28 добу загальна активність NOS знизилась в 2,48 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Активність iNOS в печінці щурів на 21 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена в 3,69 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 21 добу експерименту активність iNOS в печінці щурів підвищилась в 3,28 рази порівняно з 14 добою експерименту, на 28 добу активність iNOS знизилась в 2,68 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Активність cNOS в печінці щурів на 10 добу була підвищена в 1,37 рази, а на 14 добу – знижена в 1,13 рази по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). На 14 добу експерименту активність cNOS в печінці щурів знизилась в 1,54 рази порівняно з 10 добою експерименту, на 21 добу активність cNOS в печінці щурів підвищилась в 1,13 рази порівняно з 14 добою експерименту ($p < 0,05$). На 28 добу активність cNOS в печінці щурів знизилась в 1,04 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Активність нітритредуктаз в печінці щурів на 10 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту підвищена в 2,49 рази, а на 28 добу – в 2,6 рази порівняно з групою контролю ($p < 0,05$). На 14 добу експерименту активність нітритредуктаз в печінці щурів знизилась в 2,62 рази порівняно з 10 добою експерименту, на 28 добу активність нітритредуктаз підвищилась в 3,53 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Таблиця 3.2.4

Біохімічні параметри метаболізму оксиду азоту в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи				
	Контроль	10 доба	14 доба	21 доба	28 доба
1	2	3	4	5	6
Загальна активність NO-синтаз, мкмоль / хв на г білка	0,19±0,02	0,48±0,11	0,21±0,009	0,62±0,099*^	0,25±0,031^
Активність індукцибельної NO-синтази, мкмоль / хв на г білка	0,16±0,02	0,44±0,11	0,18±0,009	0,59±0,1*^	0,22±0,03^
Активність конститутивних NO-синтаз, мкмоль / хв на г білка	0,027±0,0003	0,037±0,0004*	0,024±0,0001*^	0,027±0,0001^	0,026±0,0003^
Активність нітритредуктаз, мкмоль / хв на г білка	3,11±0,51	7,73±1,51*	2,95±0,44^	2,29±0,32	8,08±0,03*^
Активність нітратредуктаз, мкмоль / хв на г білка	3,71±0,81	6,84±1,28	2,09±0,28^	2,15±0,56	4,53±0,09^

1	2	3	4	5	6
Концентрація пероксинітриту, мкмоль / г	0,45±0,01	9,03±0,1*	7,18±0,2*^	5,57±0,03*^	6,57±0,03*^
Концентрація нітрозотіолів, мкмоль / г	0,36±0,02	3,41±0,21*	0,76±0,06*^	0,64±0,04*	0,55±0,006*^
Концентрація NO ₂ , нмоль / г	7,14±0,17	5,27±0,56*	8,21±0,11*^	10,84±0,78*^	7,8±0,17*^
Активність аргіназ, мкмоль / хв на г білка	1,8±0,1	0,77±0,03*	0,26±0,04*^	0,2±0,006*	0,69±0,03*^

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів;

^ - $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном експерименту.

Активність нітратредуктаз в печінці щурів на 14 добу експерименту знижувалась в 3,27 рази порівняно з даними 10 доби експерименту ($p < 0,05$). На 28 добу активність нітратредуктаз в печінці щурів підвищилась в 2,11 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Концентрація пероксинітриту в печінці щурів на 10, 14, 21 і 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена відповідно в 20,07, 15,96, 12,38 і 14,6 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 14 добу експерименту концентрація пероксинітриту в печінці щурів знизилась в 1,26 рази порівняно з 10 добою експерименту, на 21 добу концентрація пероксинітриту знизилась в 1,29 рази порівняно з 14 добою експерименту, на 28 добу експерименту концентрація пероксинітриту підвищилась в 1,18 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Концентрація нітрозотіолів в печінці щурів на 10, 14, 21 і 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена відповідно в 9,47, 2,11, 1,78 і 1,53 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 14 добу експерименту концентрація нітрозотіолів в печінці щурів знизилась в 4,49 рази

порівняно з 10 добою експерименту, на 28 добу концентрація нітрозотіолів знизилась в 1,16 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Концентрація нітритів в печінці щурів на 10 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була знижена в 1,35 рази і на 14, 21 та 28 добу експерименту була підвищена відповідно в 1,15, 1,52 і 1,09 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 14 добу експерименту концентрація нітритів в печінці щурів підвищилась в 1,56 рази порівняно з 10 добою експерименту, на 21 добу концентрація нітритів підвищилась в 1,32 рази порівняно з 14 добою експерименту, на 28 добу експерименту концентрація нітритів у печінці щурів знизилась в 1,39 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Активність аргіназ в печінці щурів на 10, 14, 21 і 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була знижена відповідно в 2,34, 6,92, 9 і 2,61 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 14 добу експерименту активність аргіназ в печінці щурів знизилась в 2,96 рази порівняно з 10 добою експерименту ($p < 0,05$). На 28 добу активність аргіназ в печінці щурів підвищилась в 3,45 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

У віддалені строки моделювання хронічного алкогольного гепатиту шляхом примусової переривистої алкоголізації встановлено, що активність каталази в печінці щурів знижувалась на 35, 42, 49 і 56 добу відповідно в 1,73, 1,09, 1,15 і 1,12 рази по відношенню до групи контролю ($p < 0,05$) (таблиця 3.2.5). На 42 добу експерименту активність каталази в печінці щурів підвищилась в 1,59 рази порівняно з 35 добою експерименту, на 49 добу активність каталази знизилась в 1,06 рази порівняно з 42 добою експерименту, на 56 добу експерименту активність каталази підвищилась в 1,03 рази порівняно з 49 добою експерименту ($p < 0,05$).

Активність СОД за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту в печінці щурів також знижувалась на 35, 42, 49 і 56 добу моделювання відповідно в 1,46, 2,07, 1,35 і 1,92 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 42 добу експерименту активність СОД в печінці щурів знизилась в 1,41 рази порівняно з 35 добою експерименту, на 49 добу активність СОД підвищилась в

1,54 рази порівняно з 42 добою експерименту, на 56 добу експерименту активність СОД знизилась в 1,43 рази порівняно з 49 добою моделювання хронічного алкогольного гепатиту ($p<0,05$).

Продукція супероксид-аніон радикалу в печінці щурів на 35, 42, 49 і 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена відповідно в 2,55, 2,53, 3,79 і 2,28 рази порівняно з контролем ($p<0,05$). На 49 добу експерименту продукція супероксид-аніон радикалу в печінці щурів підвищилась в 1,5 рази порівняно з 42 добою експерименту, на 56 добу продукція супероксид-аніон радикалу знизилась в 1,67 рази порівняно з 49 добою експерименту ($p<0,05$).

Концентрація МДА в печінці щурів на 35, 42, 49 і 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена відповідно в 1,57, 2,01, 2,15 і 2,19 рази порівняно з контролем ($p<0,05$). На 42 добу експерименту концентрація МДА в печінці щурів підвищилась в 1,28 рази порівняно з 35 добою експерименту ($p<0,05$).

Таблиця 3.2.5

Біохімічні параметри оксидативного ушкодження, прооксидантів, антиоксидантів та концентрації S^{2-} в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту у віддалені строки, $M\pm m$

Біохімічні параметри	Групи				
	Контроль	35 доба	42 доба	49 доба	56 доба
1	2	3	4	5	6
Активність каталази, мккат / г	$0,38\pm0,008$	$0,22\pm0,003^*$	$0,35\pm0,005^{*\wedge}$	$0,33\pm0,002^{*\wedge}$	$0,34\pm0,001^{*\wedge}$
Активність супероксид-дисмутази, ум.од.	$12,34\pm0,55$	$8,43\pm0,43^*$	$5,96\pm0,23^{*\wedge}$	$9,17\pm0,26^{*\wedge}$	$6,43\pm0,16^{*\wedge}$

1	2	3	4	5	6
Супероксидний аніон-радикал, нмоль / с*г білка	1,84±0,004	4,69±0,05*	4,65±0,02*	6,98±0,03*^	4,19±0,03*^
Концентрація малонового діальдегіду, мкмоль / г	12,32±0,11	19,3±1,45*	24,78±1,02*^	26,48±0,58*	26,94±0,07*
Вміст окисно- модифікованих білків, ум.од.	0,04±0,002	0,31±0,001*	0,33±0,003*^	0,42±0,005*^	0,43±0,004*
Концентрація сульфід аніону, мкмоль / г	7,23±0,17	5,32±0,04*	7,87±0,05*^	4,87±0,43*^	1,66±0,02*^

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів;

^ - $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном експерименту.

Концентрація ОМБ в печінці щурів на 35, 42, 49 і 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена відповідно в 7,75, 8,25, 10,5 і 10,75 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 42 добу експерименту концентрація ОМБ в печінці щурів підвищилась в 1,06 рази порівняно з 35 добою експерименту, на 49 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація ОМБ підвищилась в 1,27 рази порівняно з 42 добою експерименту ($p < 0,05$).

Концентрація сульфідного аніону в печінці щурів на 35, 49 і 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту знизилась відповідно в 1,36, 1,48, і 4,36 рази, а на 42 добу підвищилась в 1,09 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 42 добу експерименту концентрація сульфідного аніону в печінці щурів підвищилась в 1,48 рази порівняно з 35 добою експерименту, на 49 і 56 добу концентрація сульфідного аніону знизилась відповідно в 1,62 і 2,93 рази

порівняно з попередніми термінами експерименту відповідно 42 і 49 добою ($p < 0,05$).

Загальна активність NOS в печінці щурів на 35, 42 і 49 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена відповідно в 1,89, 3,16 і 1,53 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$) (таблиця 3.2.6). На 42 добу експерименту загальна активність NOS в печінці щурів підвищилась в 1,67 рази порівняно з 35 добою експерименту, на 49 добу загальна активність NOS знизилась в 2,07 рази порівняно з 42 добою моделювання хронічного алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

Активність iNOS в печінці щурів на 35 і 42 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена відповідно в 2,06 і 3,5 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 42 добу експерименту активність iNOS в печінці щурів підвищилась в 1,7 рази порівняно з 35 добою експерименту, на 49 добу активність iNOS знизилась в 2,43 рази порівняно з 42 добою моделювання хронічного алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

Активність cNOS в печінці щурів на 35 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту знижувалась в 1,17 рази, а на 42, 49 і 56 добу підвищувалась відповідно в 1,41, 2 і 1,15 рази по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). На 42 і 49 добу експерименту активність cNOS в печінці щурів підвищувалась відповідно в 1,65 і 1,42 рази порівняно з попередніми термінами експерименту відповідно з 35 і 42 добою, на 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність cNOS знижувалась в 1,74 рази порівняно з 49 добою експерименту ($p < 0,05$).

Активність нітритредуктаз в печінці щурів на 35 і 42 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту підвищувалась відповідно в 1,61 і 5,86 рази, а на 49 добу знижувалась в 2,13 рази порівняно з групою контролю ($p < 0,05$). На 42 добу експерименту активність нітритредуктаз в печінці щурів підвищувалась в 3,63 рази порівняно з 35 добою експерименту, на 49 добу активність нітритредуктаз знижувалась в 12,49 рази порівняно з 42 добою експерименту, на 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність

нітритредуктаз підвищується в 2,44 рази порівняно з показниками на 49 добу експерименту ($p < 0,05$).

Таблиця 3.2.6

Біохімічні параметри метаболізму оксиду азоту в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту у віддалені строки,

$M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи				
	Контроль	35 доба	42 доба	49 доба	56 доба
1	2	3	4	5	6
Загальна активність NO-синтаз, мкмоль / хв на г білка	0,19±0,02	0,36±0,04*	0,6±0,01*^	0,29±0,02*^	0,22±0,01
Активність індукцибельної NO-синтази, мкмоль / хв на г білка	0,16±0,02	0,33±0,04*	0,56±0,02*^	0,23±0,02^	0,19±0,01
Активність конститутивних NO-синтаз, мкмоль / хв на г білка	0,027±0,0003	0,023±0,0002*	0,038±0,001*^	0,054±0,001*^	0,031±0,0005*^
Активність нітритредуктаз, мкмоль / хв на г білка	3,11±0,51	5,02±0,43*	18,24±0,8*^	1,46±0,21*^	3,56±0,44^

1	2	3	4	5	6
Активність нітратредуктаз, мкмоль / хв на г білка	3,71±0,81	3,34±0,61	12,3±0,49*^	0,78±0,03*^	3,65±0,6^
Концентрація пероксинітриту, мкмоль / г	0,45±0,01	10,06±0,01*	6,29±0,07*^	10,5±0,36*^	7,55±0,28*^
Концентрація нітрозотіолів, мкмоль / г	0,36±0,02	0,58±0,01*	0,37±0,004^	0,13±0,01*^	1,38±0,02*^
Концентрація NO ₂ , нмоль / г	7,14±0,17	7,3±0,69	7,9±0,11*	4,56±0,11*^	11,35±0,17*^
Активність аргіназ, мкмоль / хв на г білка	1,8±0,1	0,24±0,01*	0,33±0,06*	0,63±0,05*^	0,5±0,03*^

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів;

^ - $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном експерименту.

Активність нітратредуктаз в печінці щурів на 42 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту підвищується в 3,32 рази, а на 49 добу експерименту знижується в 4,76 рази порівняно з показниками групи контролю ($p < 0,05$). На 42 добу експерименту активність нітратредуктаз в печінці щурів підвищувалась в 3,68 рази порівняно з 35 добою експерименту, на 49 добу активність нітратредуктаз знижувалась в 15,77 рази порівняно з 42 добою експерименту, на 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність нітратредуктаз підвищується в 4,68 рази порівняно з показниками на 49 добу експерименту ($p < 0,05$).

Концентрація пероксинітриту в печінці щурів на 35, 42, 49 і 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена відповідно в 22,36, 13,98, 23,33 і 16,78 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 42 добу

моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація пероксинітриту в печінці щурів знизилась в 1,6 рази порівняно з 35 добою експерименту, на 49 добу концентрація пероксинітриту підвищилась в 1,67 рази порівняно з 42 добою експерименту, на 56 добу експерименту концентрація пероксинітриту знизилась в 1,39 рази порівняно з 49 добою експерименту ($p < 0,05$).

Концентрація нітрозотіолів в печінці щурів на 35 і 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена відповідно в 1,61 і 3,83 рази, а на 49 добу знижена в 2,77 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 42 і 49 добу експерименту концентрація нітрозотіолів в печінці щурів знижувалась в 1,57 і 2,85 рази у порівнянні з попередніми термінами експерименту відповідно з 35 і 42 добою, а на 56 добу концентрація нітрозотіолів підвищилась в 10,62 рази порівняно з 49 добою експерименту ($p < 0,05$).

Концентрація нітритів в печінці щурів на 42 і 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена відповідно в 1,11 і 1,59 рази, а на 49 добу знижена в 1,57 рази по відношенню до показників у контрольної групи тварин ($p < 0,05$). На 49 добу експерименту концентрація нітритів в печінці щурів знижувалась в 1,73 рази порівняно з 42 добою експерименту, на 56 добу концентрація нітритів була підвищена в 2,49 рази порівняно з 49 добою експерименту ($p < 0,05$).

Активність аргіназ в печінці щурів на 35, 42, 49 і 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була знижена відповідно в 7,5, 5,45, 2,86 і 3,6 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 49 добу експерименту активність аргіназ в печінці щурів підвищувалась в 1,91 рази порівняно з 42 добою експерименту, на 56 добу активність аргіназ знижувалась в 1,26 рази порівняно з 49 добою експерименту ($p < 0,05$).

3.3. Показники метаболізму екстрацелюлярного матриксу печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту

За умов моделювання алкогольного гепатиту встановлено, що на 1, 3 і 7 добу в печінці щурів підвищується загальна концентрація ГАГ відповідно в 1,89, 1,75 та 1,95 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$) (таблиця 3.3.1.). На 5 добу експерименту загальна концентрація ГАГ в печінці щурів зменшувалась в 1,63 рази по відношенню до показника на 3 добу моделювання алкогольного гепатиту, а на 7 добу експерименту загальна концентрація ГАГ підвищувалась в 1,82 рази по відношенню до показника на 5 добу експерименту ($p < 0,05$). Концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ на 1 і 3 добу моделювання алкогольного гепатиту в печінці щурів зростає відповідно в 1,33 і 1,28 рази, і знижується на 5 та 7 добу експерименту відповідно в 1,27 і 2,59 рази у порівнянні з контрольними тваринами ($p < 0,05$). На 5 і 7 добу моделювання алкогольного гепатиту в печінці щурів спостерігали зниження концентрації гепарин-гепаранової фракції ГАГ відповідно в 1,63 і 2,03 рази по відношенню до попереднього терміну експерименту відповідно до 3 і 5 доби ($p < 0,05$). Концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ на 1, 3, 5 і 7 добу моделювання алкогольного гепатиту в печінці щурів зростає відповідно в 3,74, 6,48, 1,56 і 6,63 рази по відношенню до контролю ($p < 0,05$). На 3 і 7 добу моделювання алкогольного гепатиту в печінці щурів підвищується концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ відповідно в 1,73 і 4,26 рази по відношенню до попереднього терміну експерименту відповідно до 1 і 5 доби, а на 5 добу експерименту знижується в 4,17 рази по відношенню до показника на 3 добу моделювання алкогольного гепатиту ($p < 0,05$). Концентрація хондроїтинової фракції ГАГ на 1, 5 і 7 добу моделювання алкогольного гепатиту в печінці щурів зростає відповідно в 3,37, 1,2 і 4,71 рази, а на 3 добу зменшується в 3,93 рази по відношенню до контролю ($p < 0,05$). На 3 добу моделювання алкогольного гепатиту концентрація хондроїтинової фракції ГАГ в печінці щурів знижується в 13,27 рази по відношенню до показника на 1 добу експерименту, а на 5 і 7 добу

підвищується відповідно в 4,73 і 3,92 рази по відношенню до попереднього терміну експерименту відповідно до показників на 3 і 5 добу моделювання алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

Таблиця 3.3.1

**Біохімічні параметри метаболізму екстрацелюлярного матриксу
печінки щурів за умов моделювання алкогольного гепатиту, $M \pm m$**

Біохімічні параметри	Групи				
	Контроль	1 доба	3 доба	5 доба	7 доба
1	2	3	4	5	6
Загальна концентрація глікозаміно- гліканів, мкмоль/л	2,62 $\pm$ 0,02	4,95 $\pm$ 0,09*	4,58 $\pm$ 0,2*	2,81 $\pm$ 0,1^	5,12 $\pm$ 0,08*^
Концентрація гепарин- гепаранової фракції ГАГ, мкмоль/л	1,81 $\pm$ 0,02	2,41 $\pm$ 0,1*	2,32 $\pm$ 0,14*	1,42 $\pm$ 0,03*^	0,7 $\pm$ 0,11*^
Концентрація кератан- дерматанової фракції ГАГ, мкмоль/л	0,27 $\pm$ 0,004	1,01 $\pm$ 0,04*	1,75 $\pm$ 0,08*^	0,42 $\pm$ 0,01*^	1,79 $\pm$ 0,04*^
Концентрація хондроїтинової фракції ГАГ, мкмоль/л	0,59 $\pm$ 0,01	1,99 $\pm$ 0,08*	0,15 $\pm$ 0,01*^	0,71 $\pm$ 0,01*^	2,78 $\pm$ 0,13*^

1	2	3	4	5	6
Концентрація вільного оксипроліну, мкмоль/г	1,28±0,02	1,81±0,01*	1,46±0,04*^	1,78±0,04*^	1,32±0,08^
Концентрація сіалових кислот, мг/г	1,26±0,04	2,18±0,42	0,55±0,03*^	2,77±0,13*^	0,23±0,02*^

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів;

^ - $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном експерименту.

Концентрація вільного оксипроліну в печінці щурів на 1, 3 і 5 добу моделювання алкогольного гепатиту підвищилась відповідно в 1,41, 1,14 і 1,39 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 3 і 7 добу моделювання алкогольного гепатиту в печінці щурів знижується концентрація вільного оксипроліну відповідно в 1,24 і 1,35 рази по відношенню до попереднього терміну експерименту відповідно до 1 і 5 доби, а на 5 добу експерименту підвищується в 1,22 рази по відношенню до показника на 3 добу моделювання алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

Концентрація сіалових кислот в печінці щурів на 3 і 7 добу моделювання алкогольного гепатиту знизилась відповідно в 1,26 і 5,48 рази, а на 5 добу підвищилась в 2,2 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 3 і 7 добу моделювання алкогольного гепатиту в печінці щурів знижується концентрація сіалових кислот відповідно в 3,96 і 12,04 рази по відношенню до попереднього терміну експерименту відповідно до 1 і 5 доби, а на 5 добу експерименту підвищується в 5,04 рази по відношенню до показника на 3 добу моделювання алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

При біохімічних дослідженнях печінки щурів у строки з 10 по 28 добу встановлено, що загальна концентрація ГАГ на 10, 21 та 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена відповідно в 1,16, 1,36 та 1,32 рази, а на 14 добу знижена в 1,12 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$) (таблиця

3.3.2.). На 14 добу експерименту загальна концентрація ГАГ в печінці щурів знизилась в 1,3 рази порівняно з 10 добою експерименту ($p < 0,05$). На 21 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту загальна концентрація ГАГ в печінці щурів підвищилась в 1,53 рази порівняно з 14 добою експерименту. На 28 добу експерименту загальна концентрація ГАГ в печінці щурів знизилась в 1,03 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Таблиця 3.3.2

Біохімічні параметри метаболізму екстрацелюлярного матриксу печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту,

$M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи				
	Контроль	10 доба	14 доба	21 доба	28 доба
1	2	3	4	5	6
Загальна концентрація глікозаміно-гліканів, мкмоль/л	2,62±0,02	3,04±0,03*	2,34±0,05*^	3,57±0,02*^	3,45±0,03*^
Концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ, мкмоль/л	1,81±0,02	0,9±0,06*	1,47±0,09*^	1,32±0,02*	1,7±0,06^
Концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ, мкмоль/л	0,27±0,004	1,21±0,707*	0,34±0,079	0,28±0,007	0,69±0,013*^

1	2	3	4	5	6
Концентрація хондроїтинової фракції ГАГ, мкмоль/л	0,59±0,009	1,42±0,03*	0,42±0,1^	1,61±0,05*^	0,77±0,017*^
Концентрація вільного оксипроліну, мкмоль/г	1,28±0,02	2,82±0,32*	3,001±0,03*	2,63±0,04*^	2,94±0,07*^
Концентрація сіалових кислот, мг/г	1,26±0,04	4,4±0,07*	5,54±0,11*^	5,76±0,45*	6,48±0,03*

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів;

^ - $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном експерименту.

Концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ в печінці щурів на 10, 14 та 21 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була знижена відповідно в 2,01, 1,23 та 1,37 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 14 добу експерименту концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ в печінці щурів підвищилась в 1,63 рази порівняно з 10 добою експерименту ($p < 0,05$). На 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ в печінці щурів підвищилась в 1,29 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці щурів на 10 та 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту підвищилась відповідно в 4,48 та 2,56 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 28 добу експерименту концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці щурів підвищилась в 2,46 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Концентрація хондроїтинової фракції ГАГ в печінці щурів на 10, 21 та 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту підвищилась відповідно в

2,41, 2,73 та 1,31 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 14 добу експерименту концентрація хондроїтинової фракції ГАГ в печінці щурів знизилась в 3,38 рази порівняно з 10 добою експерименту ($p < 0,05$). На 21 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація хондроїтинової фракції ГАГ в печінці щурів підвищилась в 3,83 рази порівняно з 14 добою експерименту. На 28 добу експерименту концентрація хондроїтинової фракції ГАГ в печінці щурів знизилась в 2,09 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Концентрація вільного оксипроліну в печінці щурів на 10, 14, 21 та 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту підвищилась відповідно в 2,2, 2,34, 2,05 та 2,3 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 21 добу експерименту концентрація вільного оксипроліну в печінці щурів знизилась в 1,14 рази порівняно з 14 добою експерименту ($p < 0,05$). На 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація вільного оксипроліну в печінці щурів підвищилась в 1,12 рази порівняно з 21 добою експерименту ($p < 0,05$).

Концентрація сілових кислот в печінці щурів на 10, 14, 21 та 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту підвищилась відповідно в 3,49, 4,4, 4,57 та 5,14 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 14 добу експерименту концентрація сілових кислот в печінці щурів підвищилась в 1,26 рази порівняно з 10 добою експерименту ($p < 0,05$).

Аналіз біохімічних досліджень печінки щурів на більш пізніх термінах експерименту встановив, що загальна концентрація ГАГ на 35, 42 та 49 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена відповідно в 1,45, 1,26 та 1,08 рази, а на 56 добу експерименту знижена в 1,26 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$) (таблиця 3.3.3.). На 42 добу експерименту загальна концентрація ГАГ в печінці щурів знизилась в 1,15 рази порівняно з 35 добою експерименту ($p < 0,05$). На 49 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту загальна концентрація ГАГ в печінці щурів знизилась в 1,17 рази порівняно з 42 добою експерименту ($p < 0,05$). На 56 добу експерименту загальна концентрація ГАГ в печінці щурів знизилась в 1,36 рази порівняно з 49 добою експерименту ($p < 0,05$).

Таблиця 3.3.3

**Біохімічні параметри метаболізму екстрацелюлярного матриксу
печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту у
віддалені строки, $M \pm m$**

Біохімічні параметри	Групи				
	Контроль	35 доба	42 доба	49 доба	56 доба
1	2	3	4	5	6
Загальна концентрація глікозаміно- гліканів, мкмоль/л	2,62±0,02	3,79±0,01*	3,29±0,03*^	2,82±0,06*^	2,08±0,02*^
Концентрація гепарин- гепаранової фракції ГАГ, мкмоль/л	1,81±0,02	1,99±0,01*	0,82±0,01*^	0,67±0,01*^	0,65±0,02*
Концентрація кератан- дерматанової фракції ГАГ, мкмоль/л	0,27±0,004	0,42±0,003*	0,66±0,008*^	1,03±0,02*^	0,9±0,004*^
Концентрація хондроїтинової фракції ГАГ, мкмоль/л	0,59±0,009	1,31±0,02*	1,95±0,03*^	1,06±0,03*^	0,98±0,004*

1	2	3	4	5	6
Концентрація вільного оксипроліну, мкмоль/г	1,28±0,02	2,91±0,02*	3,26±0,1*^	3,03±0,05*	2,95±0,08*
Концентрація сіалових кислот, мг/г	1,26±0,04	6,95±0,05*	8,19±0,06*^	8,94±0,07*^	9,52±0,11*^

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів;

^ - $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном експерименту.

Ми встановили, що концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ в печінці щурів на 35 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту була підвищена в 1,1 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). В подальшому концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ знижувалась на 42, 49 та 56 добу експерименту відповідно в 2,21, 2,7 та 2,78 рази порівняно з контрольною групою щурів ($p < 0,05$). На 42 добу експерименту концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ в печінці щурів знизилась в 2,43 рази порівняно з 35 добою ($p < 0,05$). На 49 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ в печінці щурів знизилась в 1,22 рази порівняно з 42 добою експерименту ($p < 0,05$).

Концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці щурів на 35, 42, 49 та 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту підвищилась відповідно в 1,56, 2,44, 3,81 та 3,33 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 42 добу експерименту концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці щурів підвищилась в 1,57 рази порівняно з 35 добою експерименту, на 49 добу – підвищилась в 1,56 рази порівняно з 42 добою та на 56 добу – знизилась в 1,14 рази порівняно з 49 добою моделювання хронічного алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

Концентрація хондроїтинової фракції ГАГ в печінці щурів на 35, 42, 49 та 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту підвищилась відповідно

в 2,22, 3,31, 1,8 та 1,66 рази порівняно з контролем ($p<0,05$). На 42 добу експерименту концентрація хондроїтинової фракції ГАГ в печінці щурів підвищилась в 1,49 рази порівняно з 35 добою експерименту ($p<0,05$). На 49 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація хондроїтинової фракції ГАГ в печінці щурів знизилась в 1,84 рази порівняно з 42 добою експерименту ($p<0,05$).

Концентрація вільного оксипроліну в печінці щурів на 35, 42, 49 та 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту підвищилась відповідно в 2,27, 2,55, 2,37 та 2,3 рази порівняно з контролем ($p<0,05$). На 42 добу експерименту концентрація вільного оксипроліну в печінці щурів підвищилась в 1,12 рази порівняно з 35 добою експерименту ($p<0,05$).

Концентрація сіалових кислот в печінці щурів на 35, 42, 49 та 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту підвищилась відповідно в 5,52, 6,5, 7,1 та 7,56 рази порівняно з контролем ($p<0,05$). На 42 добу експерименту концентрація сіалових кислот в печінці щурів підвищилась в 1,18 рази порівняно з 35 добою експерименту, на 49 добу – підвищилась в 1,09 рази порівняно з 42 добою та на 56 добу – підвищилась в 1,06 рази порівняно з 49 добою моделювання хронічного алкогольного гепатиту ($p<0,05$).

3.4. Морфометричні та патоморфологічні зміни судин печінкової часточки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту

Патоморфологічні зміни в печінковій часточці щурів на 63 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту відображені на рис. 3.4.1 та рис. 3.4.2.

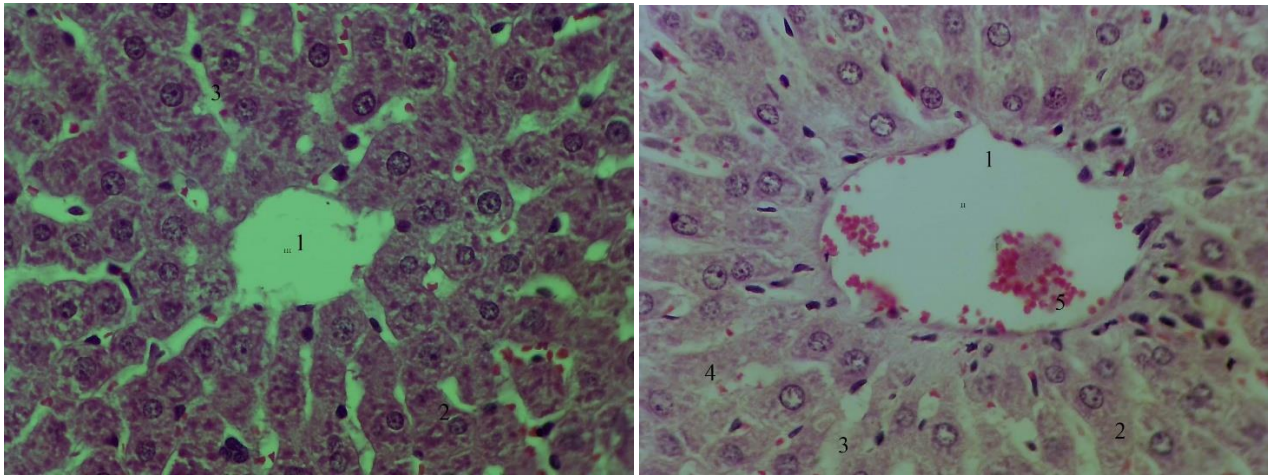


Рис. 3.4.1. Центральна зона печінкової часточки щурів контрольної групи (А) та на 63 добу експериментальної моделі хронічного алкогольного гепатиту (Б). Мікрофото. Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення $\times 400$.

1 – центральна вена. 2 – печінкові балки. 3 – синусоїдні капіляри. 4 – зменшення оптичної щільності цитоплазми гепатоцитів. 5 – складж еритроцитів у просвіті центральної вени.

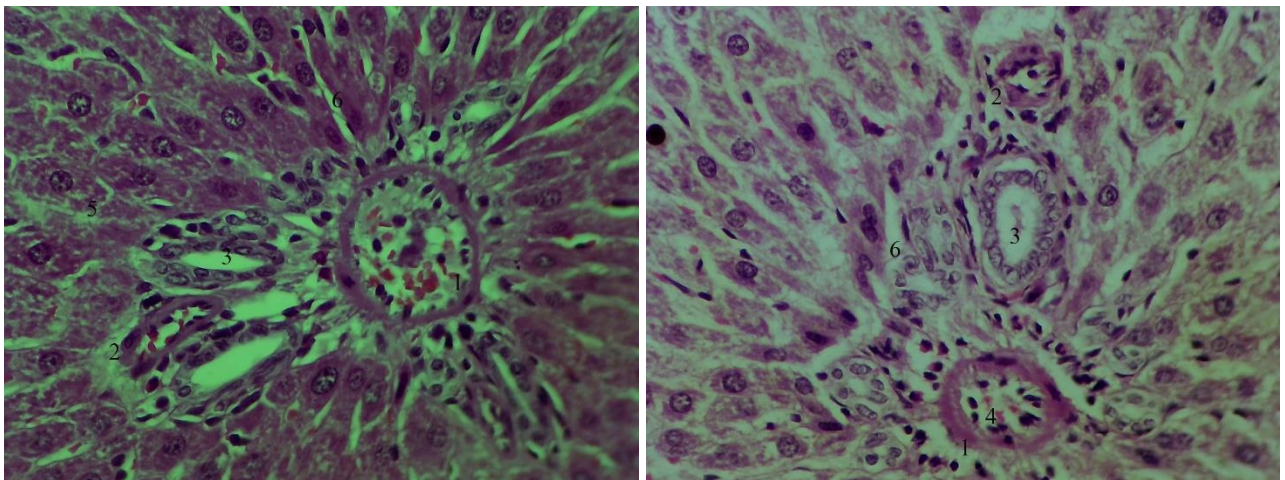


Рис. 3.4.2. Периферична зона печінкової часточки щурів контрольної групи (А) та на 63 добу експериментальної моделі хронічного алкогольного гепатиту (Б). Мікрофото. Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення $\times 400$.

1 – міжчасточкова артерія. 2 – міжчасточкова артеріола. 3 – жовчна протока. 4 – спазм міжчасточкової артерії і явища запустіння. 5 – вакуолізація цитоплазми гепатоцитів. 6 – «темні» гепатоцити.

За результатами морфометричних досліджень судинного русла печінки щурів встановлено, що діаметр синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки щурів збільшується на 1 добу експерименту – в 1,24 рази, на 3 добу – в 1,12 рази, на 5 добу – в 1,25 рази, на 7 добу – в 1,26 рази порівняно з контролем ($p<0,05$) (таблиця 3.4.1). На 3 добу експерименту діаметр синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки щурів зменшується в 1,11 рази порівняно з діаметром на 1 добу, на 5 добу збільшується в 1,12 рази порівняно з діаметром на 3 добу експерименту ($p<0,05$).

Діаметр синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки щурів збільшується на 1 добу експерименту – в 1,16 рази, на 3 добу – в 1,12 рази, на 5 добу – в 1,1 рази, на 7 добу – в 1,16 рази порівняно з контролем ($p<0,05$).

Таблиця 3.4.1

Морфометричні показники судинного русла печінки щурів за умов моделювання алкогольного гепатиту, $M\pm m$

Параметри	Групи				
	Контроль	1 доба	3 доба	5 доба	7 доба
1	2	3	4	5	6
Просвіт синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки, мкм	6,8 $\pm$ 0,25	8,46 $\pm$ 0,18*	7,61 $\pm$ 0,19*^	8,53 $\pm$ 0,2*^	8,54 $\pm$ 0,17*
Просвіт синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки, мкм	5,86 $\pm$ 0,15	6,81 $\pm$ 0,21*	6,58 $\pm$ 0,15*	6,46 $\pm$ 0,12*	6,8 $\pm$ 0,18*

1	2	3	4	5	6
Внутрішній діаметр центральных вен, мкм	57,39±1,35	63,67±1,48*	61,13±1,51	62,89±1,35*	79,43±1,37*^
Внутрішній діаметр міжчасточкових артерій, мкм	34,81±1,61	17,68±0,21*	21,65±1,13*	14,07±0,42*^	20,56±0,7*^
Внутрішній діаметр часточкових артеріол, мкм	9,97±0,49	9,53±0,33*	11,2±0,3*^	10,25±0,29*^	10,72±0,35*
Внутрішній діаметр часточкових венул, мкм	18,2±0,61	15,76±0,26*	18,61±0,61^	19,22±0,65	19,26±0,79
Внутрішній діаметр міжчасточкових вен, мкм	42,35±1,66	63,97±1,82*	52,56±1,81*^	56,47±1,29*^	49,24±1,13*^

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів;

^ - $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном експерименту.

Результати морфометричного дослідження судинного русла печінки за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту наступні: діаметр просвіту центральных вен печінкової часточки щурів збільшується на 1, 5 та 7 добу експерименту відповідно в 1,11, 1,1 та 1,38 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 7 добу експерименту діаметр просвіту центральных вен печінкової часточки щурів збільшується в 1,26 рази порівняно з діаметром просвіту на 5 добу експерименту ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту міжчасточкових артерій щурів зменшився на 1 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту в 1,97 рази, на 3 добу – в 1,61 рази, на 5 добу – в 2,47 рази та на 7 добу – в 1,69 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 5 добу експерименту діаметр просвіту міжчасточкових артерій щурів зменшився в 1,54 рази порівняно з діаметром просвіту артерій на 3 добу, а на 7 добу експерименту діаметр просвіту міжчасточкових артерій збільшився в 1,46 рази порівняно з діаметром просвіту на 5 добу експерименту ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів зменшився на 1 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту в 1,05 рази, на 3 добу – збільшився в 1,12 рази, на 5 добу – збільшився в 1,03 рази та на 7 добу – збільшився в 1,08 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 3 добу експерименту діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів збільшився в 1,18 рази порівняно з діаметром просвіту на 1 добу експерименту, на 5 добу експерименту діаметр просвіту артеріол зменшився в 1,09 рази порівняно з діаметром просвіту на 3 добу експерименту ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів зменшився на 1 добу експерименту в 1,15 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 3 добу експерименту діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів збільшився в 1,18 рази порівняно з діаметром просвіту венул на 1 добу експерименту ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту міжчасточкових вен щурів збільшився на 1, 3, 5 та 7 добу експерименту відповідно в 1,51, 1,24, 1,33 та 1,16 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 3 добу експерименту діаметр просвіту міжчасточкових вен щурів зменшився в 1,22 рази порівняно з діаметром просвіту на 1 добу експерименту ($p < 0,05$). На 5 добу – збільшився в 1,07 рази порівняно з діаметром просвіту міжчасточкових вен на 3 добу експерименту, а на 7 добу експерименту діаметр просвіту міжчасточкових вен щурів зменшився в 1,15 рази порівняно з діаметром просвіту на 5 добу ($p < 0,05$).

За результатами морфометричних досліджень судинного русла печінки щурів у строки з 10 по 28 добу встановлено, що діаметр синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки щурів зменшується на 10 добу

моделювання хронічного алкогольного гепатиту – в 1,18 рази, на 14 добу – збільшується в 1,09 рази, на 21 добу – збільшується в 1,09 рази, на 28 добу – збільшується в 1,14 рази порівняно з контролем ($p<0,05$) (таблиця 3.4.2.). На 14 добу експерименту діаметр синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки щурів збільшується в 1,28 рази порівняно з діаметром на 10 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту ($p<0,05$).

Діаметр синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту збільшується на 10 добу – в 1,2 рази, на 14 добу – зменшується в 1,1 рази, на 21 добу – збільшується в 1,34 рази, на 28 добу – збільшується в 1,21 рази порівняно з контролем ($p<0,05$). На 14 добу експерименту діаметр синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки щурів зменшується в 1,2 рази по відношенню до показника на 10 добу експеримента, на 28 добу – в 1,11 рази по відношенню до показника на 21 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту ($p<0,05$). На 21 добу експеримента діаметр синусоїдних капілярів навколо печінкової тріади щурів збільшується в 1,48 рази по відношенню до показника на 14 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту ($p<0,05$).

Діаметр просвіту центральних вен печінкової часточки щурів збільшується на 10, 14, 21 та 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту відповідно в 1,17, 1,4, 1,29 та 1,13 рази порівняно з контролем ($p<0,05$). На 14 добу експерименту діаметр просвіту центральних вен печінкової часточки щурів збільшується в 1,2 рази порівняно з діаметром просвіту на 10 добу експерименту ($p<0,05$). На 28 добу експерименту діаметр просвіту центральних вен печінкової часточки щурів зменшується в 1,14 рази порівняно з діаметром просвіту на 10 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту ($p<0,05$).

Діаметр просвіту міжчасточкових артерій щурів зменшився на 10, 21 та 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту відповідно в 1,46, 1,75 і 1,62 рази порівняно з контролем ($p<0,05$). На 14 добу експерименту діаметр просвіту міжчасточкових артерій щурів збільшився в 1,41 рази порівняно з діаметром просвіту артерій на 10 добу, а на 21 добу експерименту діаметр

просвіту міжчасточкових артерій зменшився в 1,7 рази порівняно з діаметром просвіту на 14 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

Таблиця 3.4.2

Морфометричні показники судинного русла печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Параметри	Групи				
	Контроль	10 доба	14 доба	21 доба	28 доба
1	2	3	4	5	6
Просвіт синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки, мкм	$6,8 \pm 0,25$	$5,78 \pm 0,12^*$	$7,41 \pm 0,19^{*\wedge}$	$7,4 \pm 0,19^*$	$7,74 \pm 0,22^*$
Просвіт синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки, мкм	$5,86 \pm 0,15$	$7,05 \pm 0,2^*$	$5,31 \pm 0,13^{*\wedge}$	$7,85 \pm 0,18^{*\wedge}$	$7,08 \pm 0,21^{*\wedge}$
Внутрішній діаметр центральних вен, мкм	$57,39 \pm 1,35$	$67,15 \pm 2,27^*$	$80,52 \pm 2,2^{*\wedge}$	$73,9 \pm 1,26^*$	$65,01 \pm 2,24^{*\wedge}$
Внутрішній діаметр міжчасточкових артерій, мкм	$34,81 \pm 1,61$	$23,9 \pm 1,25^*$	$33,77 \pm 1,45^{\wedge}$	$19,84 \pm 0,7^{*\wedge}$	$21,48 \pm 0,68^*$

1	2	3	4	5	6
Внутрішній діаметр часточкових артеріол, мкм	9,97±0,49	11,09±0,35*	14,05±0,48*^	11,99±0,25*^	12,14±0,31*
Внутрішній діаметр часточкових венул, мкм	18,2±0,61	22,59±0,86*	17,5±0,69^	19,44±0,74	23,3±0,49*^
Внутрішній діаметр міжчасточкових вен, мкм	42,35±1,66	50,66±1,13*	53,12±1,77*	68,81±2,35*^	60,37±2,36*^

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів;

^ - $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном експерименту.

Діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів збільшився на 10, 14, 21 і 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту відповідно в 1,11, 1,41, 1,2 та 1,22 рази у порівнянні з діаметром артеріол у контрольної групи тварин ($p < 0,05$). На 14 добу експерименту діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів збільшився в 1,27 рази порівняно з діаметром просвіту на 10 добу експерименту, а на 21 добу експерименту діаметр просвіту артеріол зменшився в 1,17 рази порівняно з діаметром просвіту на 14 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів зменшився на 10 і 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту відповідно в 1,24 і 1,28 рази у порівнянні з діаметром венул контрольної групи тварин ($p < 0,05$). На 14 добу експерименту діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів зменшується в 1,29 рази порівняно з діаметром просвіту венул на 10 добу експерименту, а на 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту

діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів збільшується в 1,2 рази у порівнянні з діаметром венул на 21 добу експерименту ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту міжчасточкових вен щурів збільшився на 10, 14, 21 та 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту відповідно в 1,2, 1,25, 1,62 та 1,43 рази порівняно з діаметром вен контрольної групи тварин ($p < 0,05$). На 21 добу експерименту діаметр просвіту міжчасточкових вен щурів збільшився в 1,3 рази порівняно з діаметром просвіту вен на 14 добу експерименту, а на 28 добу – зменшився в 1,14 рази порівняно з діаметром просвіту міжчасточкових вен на 21 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

Морфометричні дослідження на більш пізніх строках моделювання хронічного алкогольного гепатиту дають нам наступні результати: діаметр синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки щурів збільшується на 35, 42, 49 і 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту відповідно в 1,41, 1,1, 1,2 та 1,43 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$) (таблиця 3.4.3.). На 42 добу експерименту діаметр синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки щурів зменшується в 1,28 рази порівняно з діаметром на 35 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту, а на 49 добу – збільшується в 1,09 рази у порівнянні з показниками на 42 добу і на 56 добу – збільшується в 1,19 рази по відношенню до показників на 49 добу експерименту ($p < 0,05$).

Діаметр синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки щурів збільшується на 35, 42, 49 і 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту відповідно в 1,17, 1,09, 1,22 і 1,45 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). На 42 добу експерименту діаметр синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки щурів зменшується в 1,07 рази порівняно з діаметром на 35 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту, а на 49 добу – збільшується в 1,12 рази у порівнянні з показниками на 42 добу і на 56 добу – збільшується в 1,19 рази по відношенню до показників на 49 добу експерименту ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту центральних вен печінкової часточки щурів збільшується на 35, 42, 49 та 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту відповідно в 1,27, 1,17, 1,12 та 1,32 рази порівняно з контролем ($p<0,05$). На 42 добу експерименту діаметр просвіту центральних вен печінкової часточки щурів зменшується в 1,08 рази порівняно з діаметром просвіту на 35 добу експерименту, а на 56 добу – збільшується в 1,18 рази у порівнянні з діаметром просвіту центральних вен на 49 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту ($p<0,05$).

Таблиця 3.4.3

Морфометричні показники судинного русла печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту у віддалені строки, $M\pm m$

Параметри	Групи				
	Контроль	35 доба	42 доба	49 доба	56 доба
1	2	3	4	5	6
Просвіт синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки, мкм	$6,8\pm0,25$	$9,58\pm0,22^*$	$7,5\pm0,15^{*\wedge}$	$8,18\pm0,2^{*\wedge}$	$9,73\pm0,18^{*\wedge}$
Просвіт синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки, мкм	$5,86\pm0,15$	$6,85\pm0,11^*$	$6,39\pm0,12^{*\wedge}$	$7,13\pm0,2^{*\wedge}$	$8,5\pm0,13^{*\wedge}$

1	2	3	4	5	6
Внутрішній діаметр центральных вен, мкм	57,39±1,35	72,63±1,21*	67,34±1,34*^	64,49±1,45*	75,8±1,83*^
Внутрішній діаметр міжчасточкових артерій, мкм	34,81±1,61	18,63±0,28*	18,1±0,39*	26,32±1,65*^	22,45±0,62*
Внутрішній діаметр часточкових артеріол, мкм	9,97±0,49	12,62±0,24*	10,57±0,22*^	12,41±0,28*^	12,57±0,19*
Внутрішній діаметр часточкових венул, мкм	18,2±0,61	16,44±0,36*	18,21±0,87	16,87±0,39	13,95±0,44*^
Внутрішній діаметр міжчасточкових вен, мкм	42,35±1,66	57,41±1,55*	47,41±1,5*^	50,8±1,3*	38,23±1,27^

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів;

^ - $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном експерименту.

Діаметр просвіту міжчасточкових артерій щурів зменшився на 35, 42, 49 та 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту відповідно в 1,87, 1,92, 1,32 і 1,55 рази порівняно з діаметром артерій контрольної групи тварин ($p < 0,05$). На 49 добу експерименту діаметр просвіту міжчасточкових артерій щурів збільшився в 1,45 рази порівняно з діаметром просвіту артерій на 42 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів збільшився на 35, 42, 49 і 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту відповідно в 1,27, 1,06, 1,24 та 1,26 рази у порівнянні з діаметром артеріол у контрольної групи тварин ($p < 0,05$). На 42 добу експерименту діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів зменшився в 1,19 рази порівняно з діаметром просвіту на 35 добу експерименту, а на 49 добу експерименту діаметр просвіту артеріол збільшився в 1,17 рази порівняно з діаметром просвіту на 42 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів зменшився на 35 і 56 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту відповідно в 1,11 і 1,3 рази у порівнянні з діаметром венул контрольної групи тварин ($p < 0,05$). На 56 добу експерименту діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів зменшується в 1,21 рази порівняно з діаметром просвіту венул на 49 добу експерименту ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту міжчасточкових вен щурів збільшився на 35, 42 і 49 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту відповідно в 1,36, 1,12 і 1,2 рази порівняно з діаметром вен контрольної групи тварин ($p < 0,05$). На 42 добу експерименту діаметр просвіту міжчасточкових вен щурів зменшується в 1,21 рази порівняно з діаметром просвіту вен на 35 добу експерименту, і на 56 добу – зменшується в 1,33 рази порівняно з діаметром просвіту міжчасточкових вен на 49 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях [8, 9, 20, 21, 404, 405, 406, 415] і тезах [2, 3, 5, 6, 10, 19, 407].

РОЗДІЛ 4. ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ФАКТОРУ NF-κB НА МЕТАБОЛІЗМ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ ХРОНІЧНОГО АЛКОГОЛЬНОГО ГЕПАТИТУ

4.1. Вплив модуляторів транскрипційного фактору NF-κB на маркери цитолітичного синдрому гепатоцитів у крові за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту

Активність АсАТ в сироватці крові за умов введення амоній піролідіндітіокарбамату (ПДТК) зросла в 1,87 рази і активність АлАТ в 1,73 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). Біохімічний аналіз сироватки крові щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит виявив підвищення активності АсАТ на 63 добу експерименту в 2,32 рази, і активності АлАТ в 3,01 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$) (рисунок 4.1.1.). За цих же умов експерименту активність АсАТ зросла в 1,24 рази, а активність АлАТ в 1,74 рази по відношенню до групи щурів, яким вводили ПДТК ($p < 0,05$).

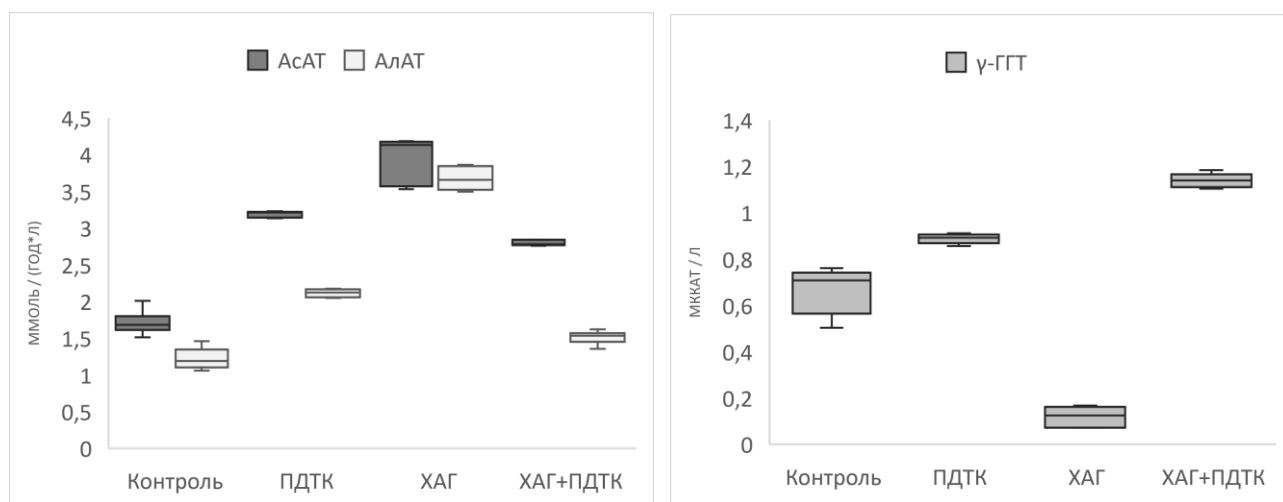


Рис. 4.1.1. Маркери цитолітичного синдрому в сироватці крові щурів за умов інгібування NF-κB на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту.

Введення ПДТК щурам на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення активності АсАТ в 1,64 рази і АлАТ в 1,24 раз по відношенню до контролю ($p < 0,05$). За цих же експериментальних умов активність АсАТ в сироватці крові знизилась в 1,14 рази і активність АлАТ в 1,4

раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ПДТК ($p < 0,05$). Також відмічаємо зниження активності АсАТ в 1,41 раза і активності АлаТ в 2,43 раза в групі введення ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту по відношенню до групи хронічного алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

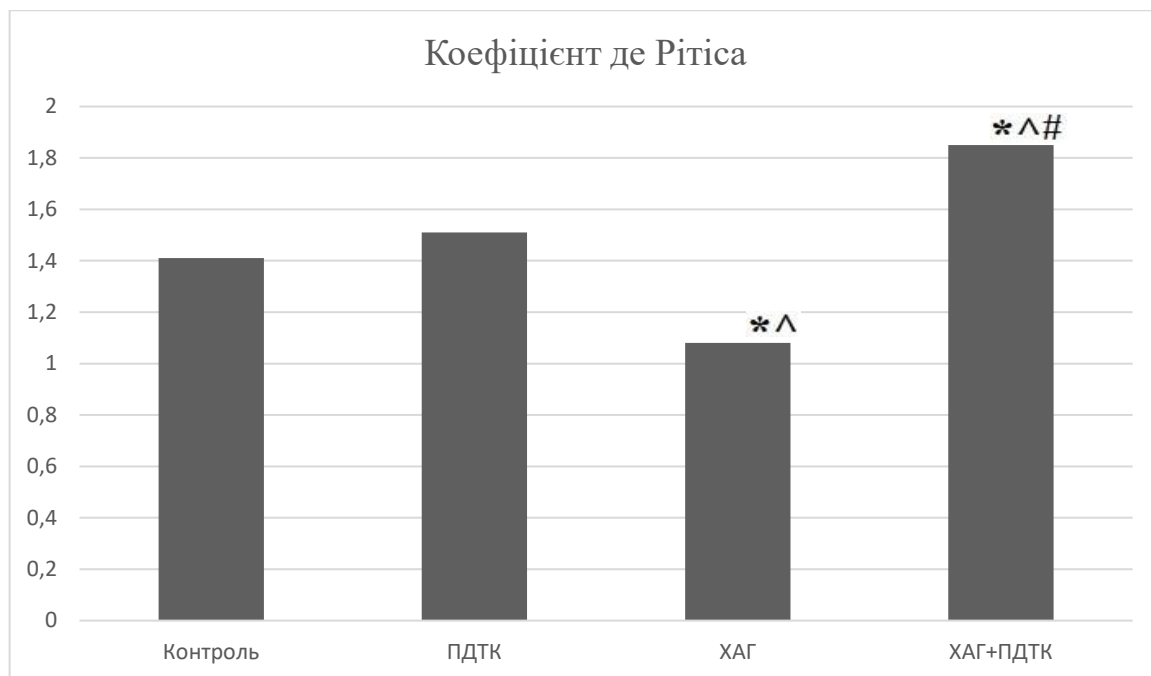


Рис. 4.1.2. Коефіцієнт де Рітиса за умов інгібування NF-κB на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту. Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили ПДТК; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. ПДТК – амоній піролідіндітіокарбамат, ХАГ – хронічний алкогольний гепатит.

Коефіцієнт де Рітиса в групі експериментального хронічного алкогольного гепатиту знижений в 1,31 раза по відношенню до контрольної групи тварин і в 1,41 раза по відношенню до щурів, яким вводили ПДТК ($p < 0,05$) (рисунк 4.1.2). За умов введення ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту коефіцієнт де Рітиса підвищився в 1,31 раза порівняно з контролем, в 1,23 раза порівняно з групою щурів, яким вводили ПДТК і в 1,71 раза порівняно з групою тварин з експериментальним хронічним алкогольним гепатитом ($p < 0,05$).

Активність γ -ГТП в сироватці крові щурів за умов введення ПДТК зросла в 1,33 раза у порівнянні з контролем ($p < 0,05$). Біохімічний аналіз сироватки крові щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит, виявив зниження активності γ -ГТП в 5,58 раза порівняно з контролем і в 7,42 раза порівняно з групою тварин, яким вводили ПДТК ($p < 0,05$) (рисунок 4.1.1). За умов введення ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність γ -ГТП в сироватці крові щурів зросла в 1,7 раза порівняно контролем, в 1,28 раза порівняно з групою тварин яким вводили ПДТК і в 9,5 раза порівняно з групою тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Активність АсАТ в сироватці крові за умов введення бактеріального ліпополісахариду (ЛПС) зросла в 1,47 раза і активність АлАТ в 1,24 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). Біохімічний аналіз сироватки крові щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит виявив підвищення активності АсАТ на 63 добу експерименту в 1,58 раза, і активності АлАТ в 2,43 раза по відношенню до групи щурів, яким вводили ЛПС ($p < 0,05$) (рисунок 4.1.3). Введення ЛПС щурам на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення активності АсАТ в 2,98 раза і АлАТ в 2,13 раза по відношенню до контролю ($p < 0,05$). За цих же експериментальних умов активність АсАТ в сироватці крові підвищилась в 2,03 раза і активність АлАТ в 1,72 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ЛПС ($p < 0,05$). Відмічаємо підвищення активності АлАТ в 1,29 раза і зниження активності АлАТ в 1,41 раза в групі введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту по відношенню до групи хронічного алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

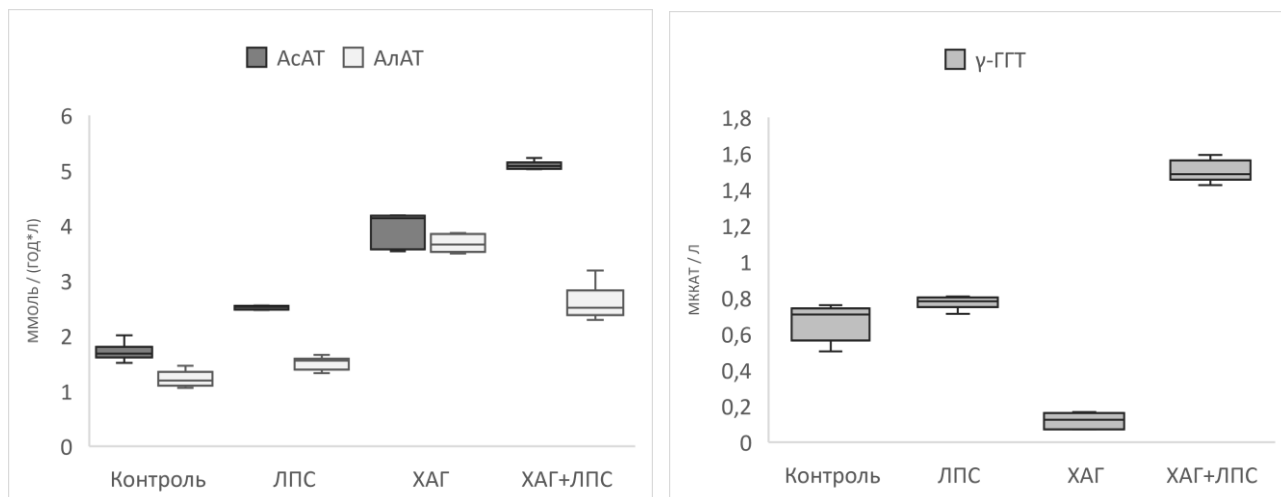


Рис. 4.1.3. Маркери цитолітичного синдрому в сироватці крові щурів за умов активації NF-κB на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту.

Активність γ -ГТП в сироватці крові щурів за умов введення LPS зросла в 1,15 раза у порівнянні з контролем ($p < 0,05$). Біохімічний аналіз сироватки крові щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит, виявив зниження активності γ -ГТП в 6,42 раза порівняно з групою тварин, яким вводили ЛПС ($p < 0,05$) (рисунок 4.1.3). За умов введення LPS на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність γ -ГТП в сироватці крові щурів зросла в 2,24 раза порівняно контролем, в 1,95 раза порівняно з групою тварин яким вводили ЛПС і в 12,5 раза порівняно з групою тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Коефіцієнт де Рітиса за умов введення ЛПС підвищився в 1,18 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). В групі експериментального хронічного алкогольного гепатиту коефіцієнт де Рітиса знижений в 1,55 раза по відношенню до щурів, яким вводили ЛПС ($p < 0,05$) (рисунок 4.1.4). За умов введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту коефіцієнт де Рітиса підвищився в 1,4 раза порівняно з контролем, в 1,19 раза порівняно з групою щурів, яким вводили ЛПС і в 1,83 раза порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

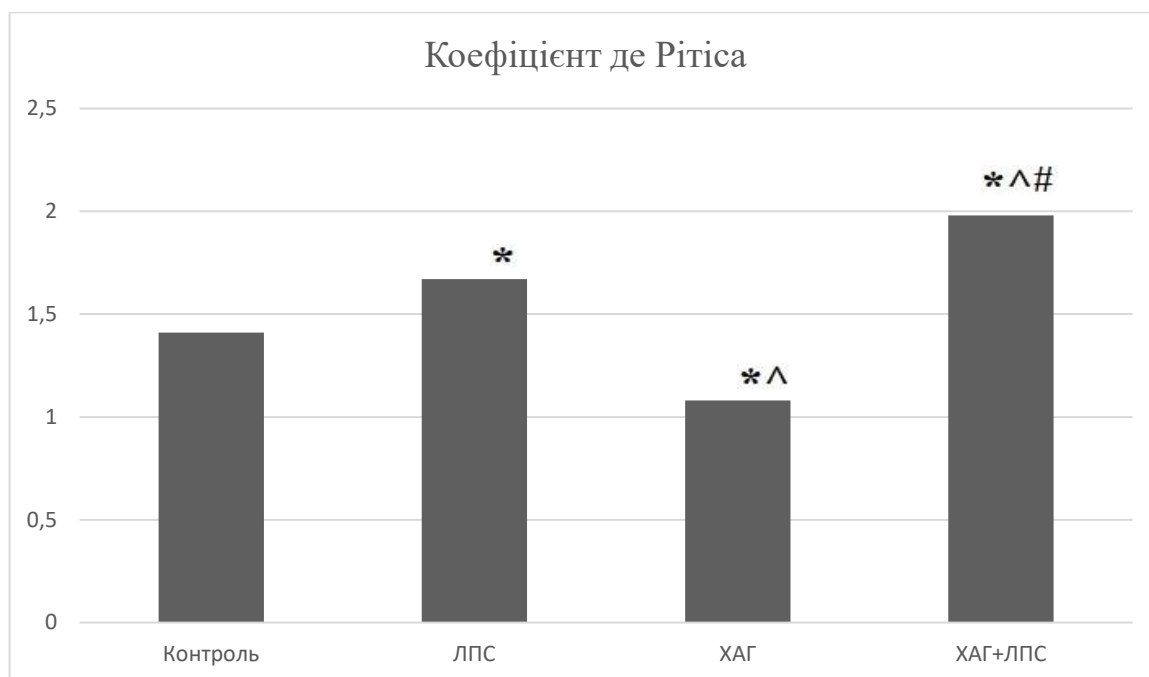


Рис. 4.1.4. Коефіцієнт де Рітиса за умов активації NF-κB на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту. Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили ЛПС; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. ЛПС – ліпополісахарид.

4.2. Показники оксидативно-нітрозативного стресу в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту та дії модуляторів NF-κB

Введення амонію піролідіндітіокарбамату щурам призводить до зниження активності каталази в 1,36 раза і активності СОД в 1,25 раза в печінці по відношенню до контрольної групи ($p < 0,05$) (таблиця 4.2.1.). За цих же умов продукція супероксид аніон-радикалу знижується в 1,56 раза, а концентрація МДА зростає в 2,35 раза і вміст ОМБ в 2,43 раза в печінці щурів порівняно з цими показниками у контрольній групі тварин ($p < 0,05$).

За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту в печінці щурів знижується активність каталази в 1,65 раза, а продукція супероксид аніон-радикалу зростає в 1,47 раза як і концентрація МДА – в 1,29 раза та вміст ОМБ – в 8,5 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). За цих же

експериментальних умов в печінці щурів підвищується продукція супероксид аніон-радикалу в 2,3 раза, вміст ОМБ в 3,51 раза і знижується концентрація МДА в 1,82 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили амоній піролідіндітіокарбамат ($p < 0,05$).

Інгібування NF-κB за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту призводить до зниження активності каталази в печінці щурів у 1,19 раза і продукції супероксид аніон-радикалу в 1,03 раза та підвищення активності СОД в 1,21 раза, концентрації МДА в 1,39 раза і вмісту ОМБ в 6 раз по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). За умов введення амоній піролідіндітіокарбамату щурам на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту відмічали підвищення активності СОД в 1,51 раза, продукції супероксид аніон-радикалу в 1,51 раза і вмісту ОМБ в 2,47 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили амоній піролідіндітіокарбамат ($p < 0,05$). За цих же умов експерименту в печінці щурів підвищилась активність каталази в 1,39 раза і концентрація МДА в 1,07 раза, а продукція супероксид аніон-радикалу знизилась в 1,52 раза і вміст ОМБ в 1,42 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Таблиця 4.2.1

Біохімічні параметри оксидативного ушкодження, прооксидантів та антиоксидантів в печінці щурів за умов інгібування NF-κB на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	ПДТК	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + ПДТК
1	2	3	4	5
Активність каталази, мккат / г	$0,38 \pm 0,008$	$0,28 \pm 0,022^*$	$0,23 \pm 0,01^*$	$0,32 \pm 0,002^{*#}$

1	2	3	4	5
Активність супероксид- дисмутази, ум.од.	12,34±0,55	9,87±0,08*	12,23±1,03	14,87±0,31*^
Супероксидний аніон-радикал, нмоль / с*г білка	1,84±0,004	1,18±0,008*	2,71±0,03*^	1,78±0,01*^#
Концентрація малонового діальдегіду, мкмоль / г	12,32±0,11	29,01±1,26*	15,91±0,32*^	17,1±0,2*^#
Вміст окисно- модифікованих білків, ум.од.	0,04±0,002	0,097±0,001*	0,34±0,007*^	0,24±0,001*^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили ПДТК; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. ПДТК – амоній піролідіндітіокарбамат.

Введення амонію піролідіндітіокарбамату щурам призводить до підвищення активності cNOS в 1,44 раза, нітритредуктаз в 1,51 раза, нітратредуктаз в 1,67 раза і концентрації пероксинітриту в 4,18 раза в печінці по відношенню до контрольної групи ($p < 0,05$) (таблиця 4.2.2.). За цих же умов концентрація нітрозотіолів знижується в 2,4 раза, концентрація нітритів в 3,2 раза, і активність аргіназ в 2,37 раза в печінці щурів порівняно з цими показниками у контрольній групі ($p < 0,05$).

За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту в печінці щурів підвищується активність gNOS в 4,0 раза, iNOS в 4,5 раза, cNOS в 1,63 раза,

нітритредуктаз в 1,68 раза, нітратредуктаз в 1,86 раза і концентрація пероксинітритів у 9,47 раза, а концентрація нітрозотіолів знижується в 2,0 раза, нітритів в 1,26 раза та активність аргіназ в 3,33 раза по відношенню до контролю ($p < 0,05$). За цих же умов експерименту в печінці щурів підвищується активність gNOS в 4,22 раза, iNOS в 5,14 раза, cNOS в 1,13 раза, концентрація пероксинітритів у 2,27 раза і концентрація нітритів в 2,54 раза, а активність аргіназ знижується в 1,41 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили амоній піролідиндітіокарбамат ($p < 0,05$).

Таблиця 4.2.2

Біохімічні параметри метаболізму оксиду азоту в печінці щурів за умов інгібування NF-κB на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту,

M±m

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	ПДТК	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + ПДТК
1	2	3	4	5
Загальна активність NO-синтаз, мкмоль / хв на г білка	0,19±0,02	0,18±0,02	0,76±0,07*^	0,69±0,18*^
Активність індукцибельної NO-синтази, мкмоль / хв на г білка	0,16±0,02	0,14±0,02	0,72±0,07*^	0,58±0,18*^

1	2	3	4	5
Активність конститутивних NO-синтаз, мкмоль / хв на г білка	0,027±0,0003	0,039±0,0007*	0,044±0,0009*^	0,109±0,0005*^#
Активність нітритредуктаз, мкмоль / хв на г білка	3,11±0,51	4,71±0,28*	5,24±0,26*	13,06±0,87*^#
Активність нітратредуктаз, мкмоль / хв на г білка	3,71±0,81	6,18±0,48*	6,91±0,55*	17,12±1,34*^#
Концентрація пероксинітриту, мкмоль / г	0,45±0,01	1,88±0,03*	4,26±0,03*^	2,15±0,02*^#
Концентрація нітрозотіолів, мкмоль / г	0,36±0,019	0,15±0,008*	0,18±0,034*	0,12±0,026*
Концентрація NO ₂ , нмоль / г	7,14±0,17	2,23±0,06*	5,67±0,34*^	3,45±0,17*^#
Активність аргіназ, мкмоль / хв на г білка	1,8±0,1	0,76±0,04*	0,54±0,02*^	2,64±0,39*^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили ПДТК; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. ПДТК – амоній піролідіндітіокарбамат.

Інгібування NF-κB за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту призводить до підвищення активності gNOS в печінці щурів у 3,63 раза, iNOS в 3,63 раза, cNOS в 4,04 раза, нітритредуктаз в 4,2 раза, нітратредуктаз в 4,61 раза, аргіназ в 1,47 раза і концентрації пероксинітритів у 4,78 раза, а концентрація нітрозотіолів знижується в 3,0 раза і нітритів в 2,07 раза по відношенню до контролю ($p < 0,05$). За цих же умов експерименту в печінці щурів зростає активність gNOS в 3,83 раза, iNOS в 4,14 раза, cNOS в 2,79 раза, нітритредуктаз в 2,77 раза, нітратредуктаз в 2,77 раза, аргіназ в 3,47 раза і концентрації пероксинітритів у 1,14 раза і нітритів в 1,55 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили амоній піролідіндітіокарбамат ($p < 0,05$). Корекція амонієм піролідіндітіокарбаматом хронічного алкогольного гепатиту в печінці щурів призвела до підвищення активності cNOS в 2,48 раза, нітритредуктаз в 2,49 раза, нітратредуктаз в 2,48 раза і аргіназ в 4,89 раза, і зниження концентрації пероксинітритів в 1,98 раза і нітритів в 1,64 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Введення бактеріального ліпополісахариду *S. Typhi* (ЛПС) щурам призводить до зниження активності СОД в 1,18 раза в печінці та підвищення продукції супероксид аніон-радикалу в 1,61 раза, концентрації МДА в 2,16 раза і вмісту ОМБ в 3,75 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$) (таблиця 4.2.3.).

За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту в печінці щурів знижується активність каталази в 1,63 раза, продукція супероксид аніон-радикалу в 1,09 раза і концентрація МДА в 1,67 раза, а вміст ОМБ зростає в 2,27 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ЛПС ($p < 0,05$).

Введення ЛПС за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту призводить до зниження активності каталази в печінці щурів у 1,16 раза і підвищення активності СОД в 1,72 раза, продукції супероксид аніон-радикалу в 2,21 раза, концентрації МДА в 2,25 раза і вмісту ОМБ в 9,5 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). За умов активації NF-κB шляхом введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність каталази

знижувалась в 1,16 раза, а активність СОД підвищувалась в 2,04 раза і вміст ОМБ в 2,53 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ЛПС ($p < 0,05$). За цих же умов експерименту в печінці щурів підвищилась активність каталази в 1,39 раза, СОД в 1,74 раза, продукція супероксид аніон-радикалу в 1,5 раза, концентрація МДА в 1,74 раза і вміст ОМБ в 1,12 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Таблиця 4.2.3

Біохімічні параметри оксидативного ушкодження, прооксидантів та антиоксидантів в печінці щурів за умов активації NF-κB на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	ЛПС	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + ЛПС
1	2	3	4	5
Активність каталази, мккат / г	0,376±0,008	0,376±0,008	0,23±0,01*^	0,32±0,002*^#
Активність супероксид-дисмутази, ум.од.	12,34±0,55	10,42±0,24*	12,23±1,03	21,22±1,61*^#
Супероксидний аніон-радикал, нмоль / с*г білка	1,84±0,004	2,96±0,04*	2,71±0,03*^	4,07±1,08*#

1	2	3	4	5
Концентрація малонового діальдегіду, мкмоль / г	12,32±0,11	26,58±1,56*	15,91±0,32*^	27,72±0,17*#
Вміст окисно- модифікованих білків, ум.од.	0,04±0,002	0,15±0,003*	0,34±0,007*^	0,38±0,003*^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили LPS; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. ЛПС – ліпополісахарид *S. Typhi*.

Введення ЛПС щурам призводить до підвищення активності gNOS в 1,79 раза, iNOS в 1,88 раза, cNOS в 1,44 раза, нітритредуктаз в 1,5 раза, нітратредуктаз в 1,65 раза і концентрації пероксинітриту в 9,6 раза в печінці по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$) (таблиця 4.2.4.). За цих же умов експерименту в печінці щурів концентрація нітрозотіолів знижується в 1,71 раза, концентрація нітритів в 1,85 раза і активність аргіназ в 4,19 раза порівняно з цими показниками у контрольній групі ($p < 0,05$).

За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту в печінці щурів підвищується активність gNOS в 2,24 раза, iNOS в 2,4 раза, cNOS в 1,13 раза, аргіназ в 1,26 раза і концентрація нітритів в 1,47 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ЛПС ($p < 0,05$).

Активация NF-κB за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту призводить до підвищення активності gNOS в печінці щурів у 3,42 раза, iNOS в 3,38 раза, cNOS в 4 раза, нітритредуктаз в 4,14 раза, нітратредуктаз в 4,56 раза і концентрації пероксинітритів в 9,64 раза, та зниження концентрації нітрозотіолів в 2,4 раза, нітритів в 1,33 раза і активності аргіназ в 1,41 раза по відношенню до контролю ($p < 0,05$).

Таблиця 4.2.4

Біохімічні параметри метаболізму оксиду азоту в печінці щурів за умов активації NF-κB на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	ЛПС	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + ЛПС
1	2	3	4	5
Загальна активність NO-синтаз, мкмоль / хв на г білка	0,19±0,02	0,34±0,02*	0,76±0,07*^	0,65±0,08*^
Активність індукцибельної NO-синтази, мкмоль / хв на г білка	0,16±0,02	0,3±0,02*	0,72±0,07*^	0,54±0,08*^
Активність конститутивних NO-синтаз, мкмоль / хв на г білка	0,027±0,0003	0,039±0,0005*	0,044±0,0009*^	0,108±0,0005*^#
Активність нітритредуктаз, мкмоль / хв на г білка	3,11±0,51	4,66±0,29*	5,24±0,26*	12,89±0,88*^#

1	2	3	4	5
Активність нітратредуктаз, мкмоль / хв на г білка	3,71±0,81	6,12±0,47*	6,91±0,55*	16,9±1,32*^#
Концентрація пероксинітриту, мкмоль / г	0,45±0,01	4,32±0,14*	4,26±0,03*	4,34±0,04*
Концентрація нітрозотіолів, мкмоль / г	0,36±0,019	0,21±0,007*	0,18±0,034*	0,15±0,013*^
Концентрація NO ₂ , нмоль / г	7,14±0,17	3,85±0,13*	5,67±0,34*^	5,37±0,17*^
Активність аргіназ, мкмоль / хв на г білка	1,8±0,1	0,43±0,04*	0,54±0,02*^	1,28±0,01*^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили ЛПС; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. ЛПС – ліпополісахарид *S. Typhi*.

За цих же умов експерименту в печінці щурів зростає активність gNOS в 1,91 раза, iNOS в 1,8 раза, cNOS в 2,77 раза, нітритредуктаз в 2,77 раза, нітратредуктаз в 2,76 раза, аргіназ в 2,98 раза і концентрації нітритів в 1,39 раза, а концентрація нітрозотіолів знижується в 1,4 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ЛПС ($p < 0,05$). Введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту в печінці щурів підвищило активність cNOS в 2,45 раза, нітритредуктаз в 2,46 раза, нітратредуктаз в 2,45 раза і аргіназ в 2,37 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

4.3. Екстрацелюлярний матрикс печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту та дії модуляторів NF-κB

Введення амонію піролідіндітіокарбамату (ПДТК) щурам призводить до зниження загальної концентрації глікозаміногліканів (ГАГ) в 1,67 раза в печінці по відношенню до контрольної групи ($p < 0,05$) (таблиця 4.3.1.). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до зниження ГАГ в 1,27 раза по відношенню до контролю і підвищення ГАГ в 1,32 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ПДТК ($p < 0,05$). Введення ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту знизило ГАГ в 1,81 раза по відношенню до групи контролю і в 1,43 раза по відношенню до групи хронічного алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

Концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ в печінці щурів за умов введення ПДТК знизилась в 3,35 рази по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до зниження концентрації гепарин-гепаранової фракції ГАГ в 2,32 раза по відношенню до контролю і підвищення концентрації гепарин-гепаранової фракції ГАГ в 1,44 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ПДТК ($p < 0,05$). Введення ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам знизило концентрацію гепарин-гепаранової фракції ГАГ в 2,97 раза по відношенню до групи контролю і підвищило в 1,28 раза по відношенню до групи хронічного алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

Концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці щурів за умов введення ПДТК знизилась в 3 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення концентрації кератан-дерматанової фракції ГАГ в 3,11 раза по відношенню до контролю і в 9,33 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ПДТК ($p < 0,05$). Введення ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці в 1,19 раза по відношенню до групи контролю, в 3,56 раза

по відношенню до групи тварин, яким вводили ПДТК і знизило концентрацію кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці щурів в 2,63 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Таблиця 4.3.1

Біохімічні параметри метаболізму екстрацелюлярного матриксу печінки щурів за умов інгібування NF- κ B на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	ПДТК	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + ПДТК
1	2	3	4	5
Загальна концентрація глікозаміно-гліканів, мкмоль/л	$2,62 \pm 0,02$	$1,57 \pm 0,07^*$	$2,07 \pm 0,02^{*\wedge}$	$1,45 \pm 0,06^{* \#}$
Концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ, мкмоль/л	$1,81 \pm 0,02$	$0,54 \pm 0,008^*$	$0,78 \pm 0,01^{*\wedge}$	$0,61 \pm 0,036^{* \#}$
Концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ, мкмоль/л	$0,27 \pm 0,004$	$0,09 \pm 0,004^*$	$0,84 \pm 0,009^{*\wedge}$	$0,32 \pm 0,007^{*\wedge \#}$

1	2	3	4	5
Концентрація хондроїтинової фракції ГАГ, мкмоль/л	0,59±0,009	0,38±0,04*	0,49±0,006*	0,67±0,028*^#
Концентрація вільного оксипроліну, мкмоль/г	1,28±0,02	1,72±0,05*	2,88±0,05*^	1,8±0,03*#
Концентрація сіалових кислот, мг/г	1,26±0,04	2,96±0,03*	7,67±0,02*^	6,74±0,08*^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили ПДТК; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. ПДТК – амоній піролідіндітіокарбамат.

Концентрація хондроїтинової фракції ГАГ в печінці щурів за умов введення ПДТК знизилась в 1,55 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до зниження концентрації хондроїтинової фракції ГАГ в 1,2 раза по відношенню до контролю ($p < 0,05$). Введення ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію хондроїтинової фракції ГАГ в печінці в 1,14 раза по відношенню до групи контролю, в 1,76 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ПДТК і в 1,37 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Концентрація вільного оксипроліну в печінці щурів за умов введення ПДТК підвищилась в 1,34 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення концентрація вільного оксипроліну в печінці щурів у 2,25 раза по відношенню

до контролю і в 1,67 рази по відношенню до групи тварин, яким вводили ПДТК ($p < 0,05$). Введення ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію вільного оксипроліну в печінці щурів у 1,41 рази по відношенню до групи контролю, і зниження в 1,6 рази по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Концентрація сіалових кислот в печінці щурів за умов введення ПДТК підвищилась в 2,35 рази по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення концентрація сіалових кислот в печінці щурів у 6,09 рази по відношенню до контролю і в 2,59 рази по відношенню до групи тварин, яким вводили ПДТК ($p < 0,05$). Введення ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію сіалових кислот в печінці щурів у 5,35 рази по відношенню до групи контролю, в 2,28 рази по відношенню до групи тварин, яким вводили ПДТК і знизило в 1,14 рази по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Введення бактеріального ліпополісахариду (ЛПС) щурам призводить до підвищення загальної концентрації глікозаміногліканів (ГАГ) в 1,03 рази в печінці по відношенню до контрольної групи ($p < 0,05$) (таблиця 4.3.2). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до зниження ГАГ в 1,3 рази по відношенню до групи тварин, яким вводили ЛПС ($p < 0,05$). Введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту знизило ГАГ в 1,38 рази по відношенню до групи контролю, в 1,42 рази по відношенню до групи тварин, яким вводили ЛПС і в 1,09 рази по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ в печінці щурів за умов введення ЛПС знизилась в 1,39 рази по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до зниження концентрації гепарин-гепаранової фракції ГАГ в 1,67 рази по відношенню до групи тварин, яким вводили ЛПС ($p < 0,05$). Введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам знизило концентрацію гепарин-

гепаранової фракції ГАГ в 6,96 раза по відношенню до групи контролю, в 5 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ЛПС і в 3 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p<0,05$).

Концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці щурів за умов введення ЛПС підвищилась в 1,3 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p<0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення концентрації кератан-дерматанової фракції ГАГ в 2,4 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ЛПС ($p<0,05$). Введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці в 1,11 раза по відношенню до групи контролю і знизило концентрацію кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці в 1,17 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ЛПС і в 2,8 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p<0,05$).

Таблиця 4.3.2

Біохімічні параметри метаболізму екстрацелюлярного матриксу печінки щурів за умов активації NF-κB на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	ЛПС	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + ЛПС
1	2	3	4	5
Загальна концентрація глікозаміно-гліканів, мкмоль/л	$2,62 \pm 0,02$	$2,69 \pm 0,02^*$	$2,07 \pm 0,02^{*\wedge}$	$1,9 \pm 0,02^{*\wedge\#}$

1	2	3	4	5
Концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ, мкмоль/л	1,81±0,02	1,3±0,02*	0,78±0,01*^	0,26±0,006*^#
Концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ, мкмоль/л	0,27±0,004	0,35±0,007*	0,84±0,009*^	0,3±0,009*^#
Концентрація хондроїтинової фракції ГАГ, мкмоль/л	0,59±0,009	1,01±0,02*	0,49±0,006*^	1,26±0,002*^#
Концентрація вільного оксипроліну, мкмоль/г	1,28±0,02	3,14±0,004*	2,88±0,05*^	3,1±0,03*#
Концентрація сіалових кислот, мг/г	1,26±0,04	4,99±0,09*	7,67±0,02*^	9,63±0,21*^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили ЛПС; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. ЛПС – ліпополісахарид *S. Typhi*.

Концентрація хондроїтинової фракції ГАГ в печінці щурів за умов введення ЛПС підвищилась в 1,71 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до зниження

концентрації хондроїтинової фракції ГАГ в 2,06 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ЛПС ($p<0,05$). Введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію хондроїтинової фракції ГАГ в печінці в 2,14 раза по відношенню до групи контролю, в 1,25 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ЛПС і в 2,57 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p<0,05$).

Концентрація вільного оксипроліну в печінці щурів за умов введення ЛПС підвищилась в 2,45 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p<0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до зниження концентрація вільного оксипроліну в печінці щурів у 1,09 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ЛПС ($p<0,05$). Введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію вільного оксипроліну в печінці щурів у 2,42 раза по відношенню до групи контролю і в 1,08 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p<0,05$).

Концентрація сіалових кислот в печінці щурів за умов введення ЛПС підвищилась в 3,96 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p<0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення концентрація сіалових кислот в печінці щурів у 1,54 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ЛПС ($p<0,05$). Введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію сіалових кислот в печінці щурів у 7,64 раза по відношенню до групи контролю, в 1,93 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили ЛПС і в 1,26 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p<0,05$).

4.4. Морфометричні та патоморфологічні зміни судин печінки щурів за умов впливу модуляторів транскрипційного фактору NF- κ B на тлі хронічної алкоголізації

Патоморфологічні зміни в печінковій часточці щурів за умов введення ПДТК на тлі хронічного алкогольного гепатиту на рис. 4.4.1 та рис. 4.4.2

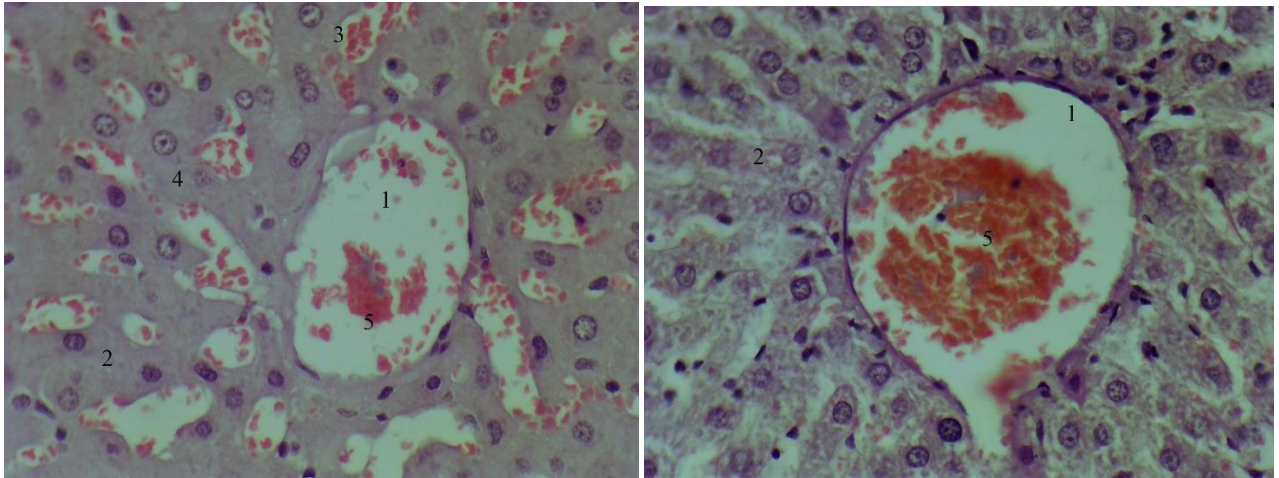


Рис. 4.4.1. Центральна зона печінкової часточки щурів за умов впливу ПДТК (А) та при хронічному алкогольному гепатиті та введенні ПДТК (Б). Мікрофото. Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення x 400.

1 – центральна вена. 2 – печінкові балки. 3 – повнокров'я у синусоїдних капілярах. 4 – гомогенізація цитоплазми гепатоцитів. 5 – складж еритроцитів у просвіті центральної вени.

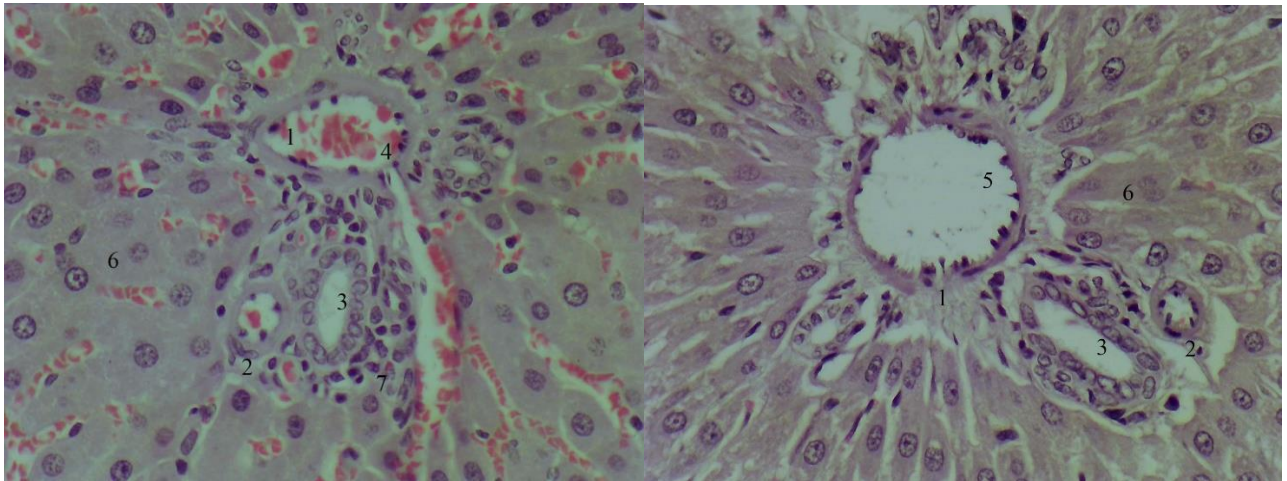


Рис. 4.4.2. Периферична зона печінкової часточки щурів за умов впливу ПДТК (А) та при хронічному алкогольному гепатиті та введенні ПДТК (Б). Мікрофото. Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення x 400.

1 – міжчасточкова артерія. 2 – міжчасточкова артеріола. 3 – жовчна протока. 4 – стаз еритроцитів у міжчасточковій артерії. 5 – явища запустіння у

міжчасточковій артерії. 6 – гомогенізація цитоплазми гепатоцитів. 7 – лейкоцитарний інфільтрат.

За результатами морфометричних досліджень встановлено, що за умов введення амонію піролідіндітіокарбамату (ПДТК) діаметр синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки щурів збільшився в 1,43 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$) (таблиця 4.4.1). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки щурів збільшився в 1,33 раза порівняно з групою щурів, яким вводили ПДТК ($p < 0,05$). За умов введення ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки щурів збільшився в 1,25 раза порівняно з контролем, зменшився в 1,14 раза порівняно з групою щурів, яким вводили ПДТК і збільшився в 1,16 раза порівняно з тваринами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки щурів збільшився за умов введення ПДТК в 1,31 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки щурів зменшився в 1,34 раза порівняно з групою щурів, яким вводили ПДТК ($p < 0,05$). За умов введення ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки щурів збільшився в 1,28 раза порівняно з контролем і в 1,31 раза порівняно з тваринами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту центральних вен печінкової часточки щурів збільшився за умов введення ПДТК в 1,26 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту центральних вен печінкової часточки щурів збільшився в 1,16 раза порівняно з контролем і зменшився в 1,09 раза порівняно з групою тарин, яким вводили ПДТК ($p < 0,05$). За умов введення ПДТК на тлі моделювання хронічного

алкогольного гепатиту діаметр центральних вен печінкової часточки щурів збільшився в 1,76 раза порівняно з контролем, в 1,4 раза порівняно з групою тварин, яким вводили ПДТК і в 1,52 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту міжчасточкових артерій печінки щурів зменшився за умов введення ПДТК в 1,44 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту міжчасточкових артерій печінки щурів зменшився в 2,19 раза порівняно з контролем і в 1,52 раза порівняно з групою тарин, яким вводили ПДТК ($p < 0,05$). За умов введення ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр міжчасточкових артерій печінки щурів зменшився в 1,16 раза порівняно з контролем, і збільшився в 1,24 раза порівняно з групою тварин, яким вводили ПДТК та в 1,88 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Таблиця 4.4.1

Морфометричні показники судинного русла печінки щурів за умов інгібування NF-κB на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту,

$M \pm m$

Параметри	Групи			
	Контроль	ПДТК	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + ПДТК
1	2	3	4	5
Просвіт синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки, мкм	6,8±0,25	9,69±0,31*	7,31±0,15^	8,51±0,26*^#

1	2	3	4	5
Просвіт синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки, мкм	5,86±0,15	7,7±0,17*	5,75±0,17^	7,52±0,21* [#]
Внутрішній діаметр центральных вен, мкм	57,39±1,35	72,14±1,56*	66,46±1,27*^	100,78±3,86* ^{^#}
Внутрішній діаметр міжчасточкових артерій, мкм	34,81±1,61	24,15±0,94*	15,87±0,79*^	29,9±1,12* ^{^#}
Внутрішній діаметр часточкових артеріол, мкм	9,97±0,49	14,05±0,54*	6,67±0,41*^	9,57±0,44 ^{^#}
Внутрішній діаметр часточкових венул, мкм	18,2±0,61	15,93±0,65*	8,37±0,2*^	10,63±0,48* ^{^#}
Внутрішній діаметр міжчасточкових вен, мкм	42,35±1,66	25,53±1,22*	25,66±2,42*^	36,56±1,48* ^{^#}

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили ПДТК; # - $p < 0,05$ порівняно з групою

щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. ПДТК – амоній піролідіндітіокарбамат.

Діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів збільшився за умов введення ПДТК в 1,41 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів зменшився в 1,49 раза порівняно з контролем і в 2,11 раза порівняно з групою тарин, яким вводили ПДТК ($p < 0,05$). За умов введення ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів зменшився в 1,47 раза порівняно з групою тварин, яким вводили ПДТК і збільшився в 1,43 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів зменшився за умов введення ПДТК в 1,14 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів зменшився в 2,17 раза порівняно з контролем і в 1,9 раза порівняно з групою тарин, яким вводили ПДТК ($p < 0,05$). За умов введення ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів зменшився в 1,71 раза порівняно з контролем і в 1,5 раза порівняно з групою тварин, яким вводили ПДТК та збільшився в 1,27 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту міжчасточкових вен печінки щурів зменшився за умов введення ПДТК в 1,66 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту міжчасточкових вен печінки щурів зменшився в 1,65 раза порівняно з контролем і збільшився в 1,01 раза порівняно з групою тарин, яким вводили ПДТК ($p < 0,05$). За умов введення ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр просвіту міжчасточкових вен печінки щурів зменшився в 1,16 раза порівняно з контролем і збільшився в 1,43 раза порівняно з групою тварин, яким

вводили ПДТК та в 1,42 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Патоморфологічні зміни в печінковій часточці щурів за умов введення бактеріального ліпополісахариду на тлі хронічного алкогольного гепатиту на рис. 4.4.3 та рис. 4.4.4.

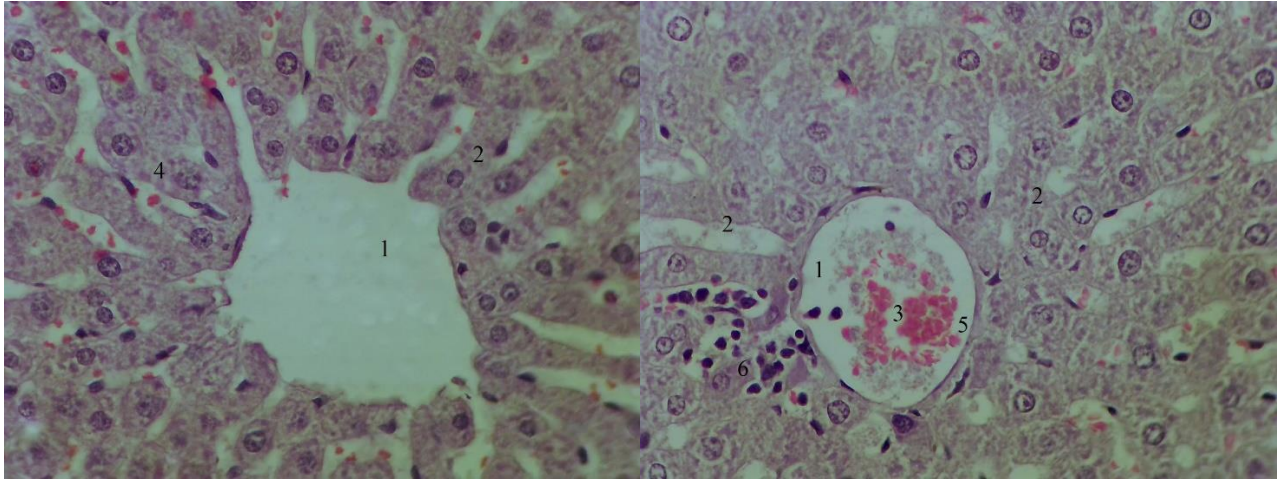


Рис. 4.4.3. Центральна зона печінкової часточки щурів за умов впливу ЛПС (А) та при хронічному алкогольному гепатиті та введенні ЛПС (Б). Мікрофото. Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення $\times 400$.

1 – центральна вена. 2 – печінкові балки. 3 – повнокров'я у центральній вені. 4 – порушення зернистості цитоплазми гепатоцитів. 5 – склад еритроцитів у просвіті центральної вени. 6 – лейкоцитарний інфільтрат.

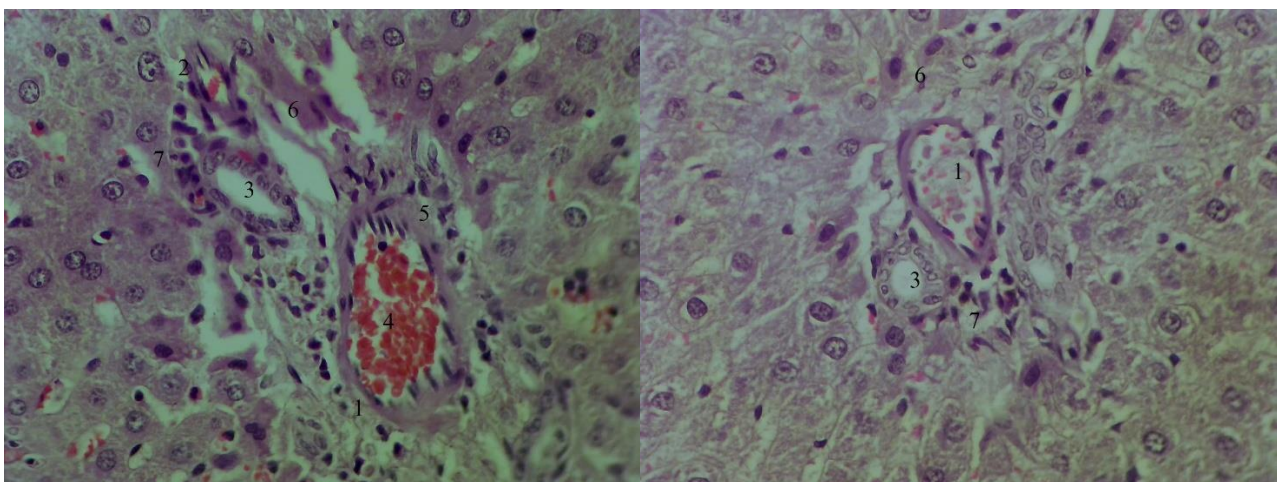


Рис. 4.4.4. Периферична зона печінкової часточки щурів за умов впливу ЛПС (А) та при хронічному алкогольному гепатиті та введенні ЛПС (Б).

1 – міжчасточкова артерія. 2 – міжчасточкова артеріола. 3 – жовчна протока. 4 – стаз еритроцитів у міжчасточковій артерії. 5 - спазм міжчасточкової артерії. 6 – «темні» гепатоцити. 7 – лейкоцитарний інфільтрат.

За результатами морфометричних досліджень встановлено, що за умов введення бактеріального ліпополісахариду (ЛПС) щурам діаметр синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки збільшився в 1,29 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$) (таблиця 4.4.2). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки щурів збільшився в 1,2 раза порівняно з групою щурів, яким вводили ЛПС ($p < 0,05$). За умов введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки щурів збільшився в 1,34 раза порівняно з контролем і в 1,25 раза порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки щурів збільшився за умов введення ЛПС в 1,2 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки щурів зменшився в 1,23 раза порівняно з групою щурів, яким вводили ЛПС ($p < 0,05$). За умов введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки щурів збільшився в 1,41 раза порівняно з контролем, в 1,17 раза зі щурами, яким вводили ЛПС і в 1,44 раза порівняно з тваринами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту центральних вен печінкової часточки щурів збільшився за умов введення ЛПС в 1,13 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр центральних вен печінкової часточки щурів збільшився в 1,15 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$).

Таблиця 4.4.2

**Морфометричні показники судинного русла печінки щурів за умов
активації NF-κB на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту,
M±m**

Параметри	Групи			
	Контроль	ЛПС	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + ЛПС
1	2	3	4	5
Просвіт синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки, мкм	6,8±0,25	8,8±0,24*	7,31±0,15^	9,13±0,15*^#
Просвіт синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки, мкм	5,86±0,15	7,05±0,14*	5,75±0,17^	8,26±0,17*^#
Внутрішній діаметр центральных вен, мкм	57,39±1,35	64,76±1,58*	66,46±1,27*	66,26±1,01*
Внутрішній діаметр міжчасточкових артерій, мкм	34,81±1,61	34,99±1,05	15,87±0,79*^	28,88±1,42*^#

1	2	3	4	5
Внутрішній діаметр часточкових артеріол, мкм	9,97±0,49	17,18±0,57*	6,67±0,41*^	18,34±0,66*#
Внутрішній діаметр часточкових венул, мкм	18,2±0,61	21,27±0,59*	8,37±0,2*^	24,56±0,67*^#
Внутрішній діаметр міжчасточкових вен, мкм	42,35±1,66	65,85±1,52*	25,66±2,42*^	65,72±1,77*#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили LPS; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. ЛПС – ліпополісахарид *S. Typhi*.

Діаметр просвіту міжчасточкових артерій печінки щурів зменшився за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) в 2,2 раза порівняно з групою тварин, яким вводили ЛПС ($p < 0,05$). За умов введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр міжчасточкових артерій печінки щурів зменшився в 1,21 раза порівняно з контролем, в 1,21 раза порівняно з групою тварин, яким вводили ЛПС і збільшився в 1,82 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів збільшився за умов введення ЛПС в 1,72 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів зменшився в 2,58 раза порівняно з групою тварин, яким вводили ЛПС ($p < 0,05$). За умов введення ЛПС на тлі моделювання хронічного

алкогольного гепатиту діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів збільшився в 1,84 раза порівняно контролем і в 2,75 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів збільшився за умов введення ЛПС в 1,17 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів зменшився 2,54 раза порівняно з групою тарин, яким вводили ЛПС ($p < 0,05$). За умов введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів збільшився в 1,35 раза порівняно з контролем, в 1,15 раза порівняно з групою тварин, яким вводили ЛПС і в 2,93 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту міжчасточкових вен печінки щурів збільшився за умов введення ЛПС в 1,55 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту міжчасточкових вен печінки щурів зменшився в 2,57 раза порівняно з групою тварин, яким вводили ЛПС ($p < 0,05$). За умов введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр просвіту міжчасточкових вен печінки щурів збільшився в 1,55 раза порівняно з контролем і в 2,56 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях [397, 401, 402, 403] і тезах [12, 13, 14, 398, 409].

РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ АМФ-АКТИВОВАНОЇ ПРОТЕЇНКІНАЗИ НА МЕТАБОЛІЗМ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ ХРОНІЧНОГО АЛКОГОЛЬНОГО ГЕПАТИТУ

5.1. Вплив модуляторів АМФ-активованої протеїнкінази на маркери цитолітичного синдрому гепатоцитів у крові за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту

Активність АсАТ в сироватці крові за умов введення доксорубіцину зросла в 2,46 раза і активність АлАТ в 2,15 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). Біохімічний аналіз сироватки крові щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит виявив підвищення активності АлАТ на 63 добу експерименту в 1,4 раза по відношенню до групи щурів, яким вводили доксорубіцин ($p < 0,05$) (рисунок 5.1.1.).

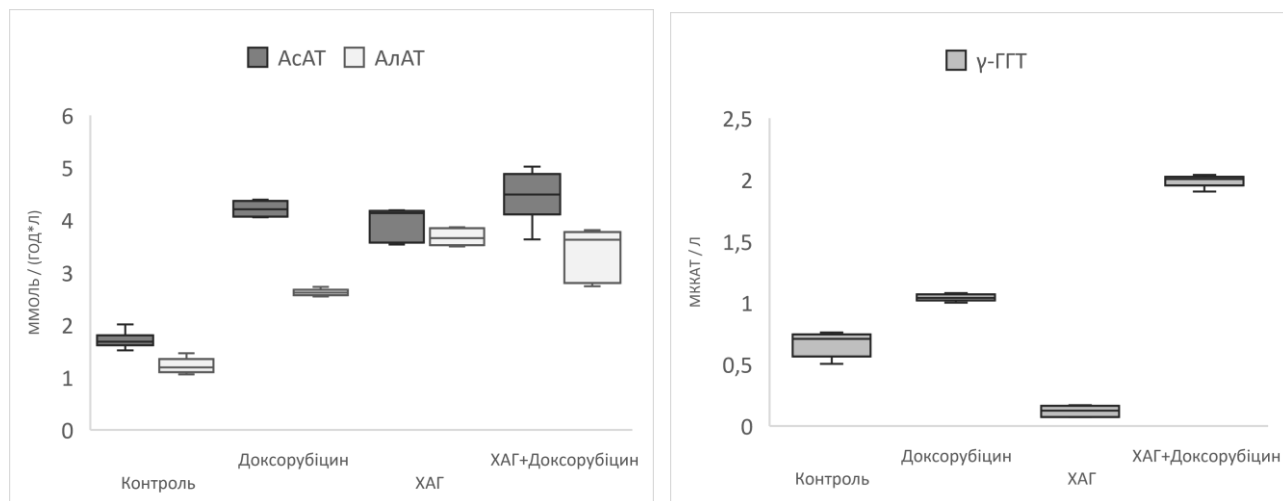


Рис. 5.1.1. Маркери цитолітичного синдрому в сироватці крові щурів за умов інгібування АМФ-активованої протеїнкінази на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту.

Введення доксорубіцину щурам на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення активності АсАТ в 2,6 раза і АлАТ в 2,78 раз по відношенню до контролю ($p < 0,05$). За цих же експериментальних умов активність АсАТ в сироватці крові підвищилась в 1,12

раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$). Також відмічаємо зниження активності АЛАТ в 1,08 раза по відношенню до групи щурів, яким вводили доксорубіцин ($p < 0,05$).

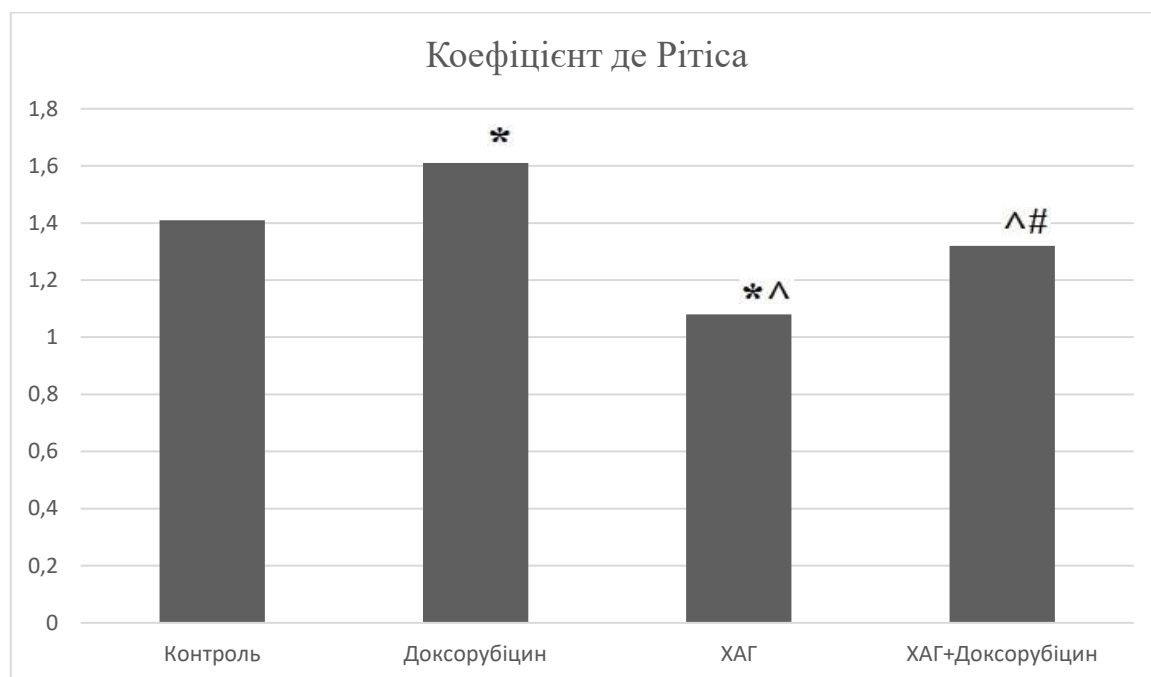


Рис. 5.1.2. Коефіцієнт де Рітиса за умов інгібування АМФ-активованої протеїнкінази на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту. Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили Доксорубіцин; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. ХАГ – хронічний алкогольний гепатит.

Коефіцієнт де Рітиса в групі експериментального хронічного алкогольного гепатиту знижений в 1,49 раза по відношенню до групи щурів, яким вводили доксорубіцин ($p < 0,05$) (рисунок 5.1.2). За умов введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту коефіцієнт де Рітиса знизився в 1,22 раза порівняно з групою щурів, яким вводили доксорубіцин і підвищився в 1,22 раза порівняно з групою тварин з експериментальним хронічним алкогольним гепатитом ($p < 0,05$).

Активність γ -ГТП в сироватці крові щурів за умов введення доксорубіцину зросла в 1,55 раза у порівнянні з контролем ($p < 0,05$). Біохімічний аналіз

сироватки крові щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит, виявив зниження активності γ -ГТП в 8,67 раза порівняно з групою тварин, яким вводили доксорубіцин ($p < 0,05$) (рисунок 5.1.1). За умов введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність γ -ГТП в сироватці крові щурів зросла в 2,97 раза порівняно контролем, в 1,91 раза порівняно з групою тварин яким вводили доксорубіцин і в 16,58 раза порівняно з групою тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Активність АсАТ в сироватці крові за умов введення фенформіну зросла в 2,16 раза і активність АлАТ в 1,87 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). Біохімічний аналіз сироватки крові щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит виявив підвищення активності АлАТ на 63 добу експерименту в 1,61 раза по відношенню до групи щурів, яким вводили фенфомін ($p < 0,05$) (рисунок 5.1.3). Введення фенформіну щурам на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення активності АсАТ в 2,27 раза і АлАТ в 1,7 раза по відношенню до контролю ($p < 0,05$). За цих же експериментальних умов активність АлАТ в сироватці крові знизилась в 1,76 раза по відношенню до групи хронічного алкогольного гепатиту ($p < 0,05$).

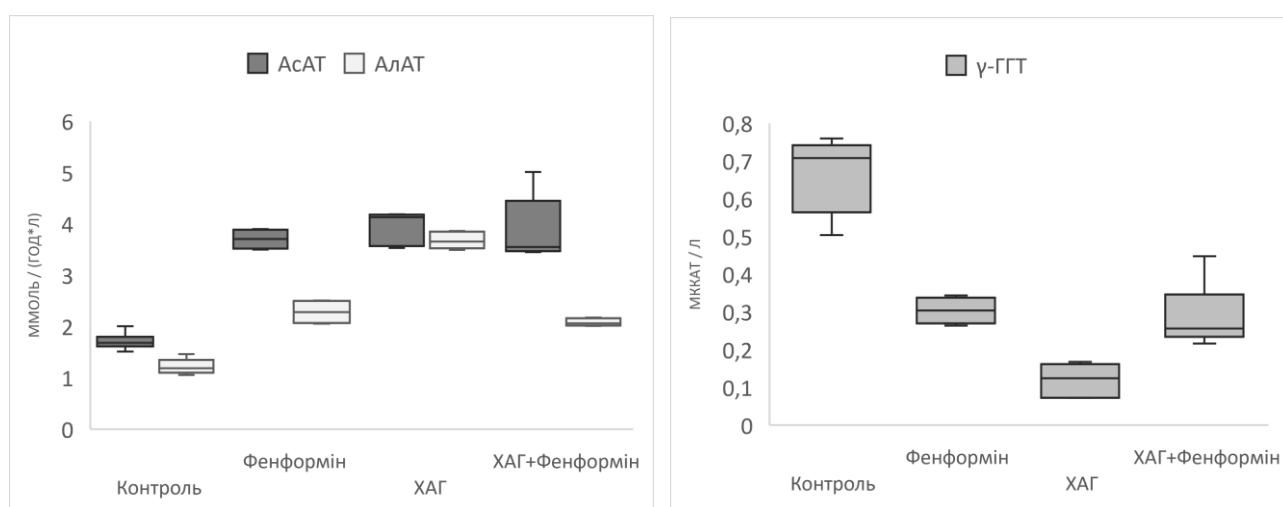


Рис. 5.1.3. Маркери цитолітичного синдрому в сироватці крові щурів за умов активації АМФ-активованої протеїнкінази на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту.

Активність γ -ГТП в сироватці крові щурів за умов введення фенформіну знизилась в 2,23 раза у порівнянні з контролем ($p < 0,05$). Біохімічний аналіз сироватки крові щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит, виявив зниження активності γ -ГТП в 2,5 раза порівняно з групою тварин, яким вводили фенформін ($p < 0,05$) (рисунок 5.1.3). За умов введення фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність γ -ГТП в сироватці крові щурів знизилась в 2,31 раза порівняно контролем і підвищилась в 2,42 раза порівняно з групою тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

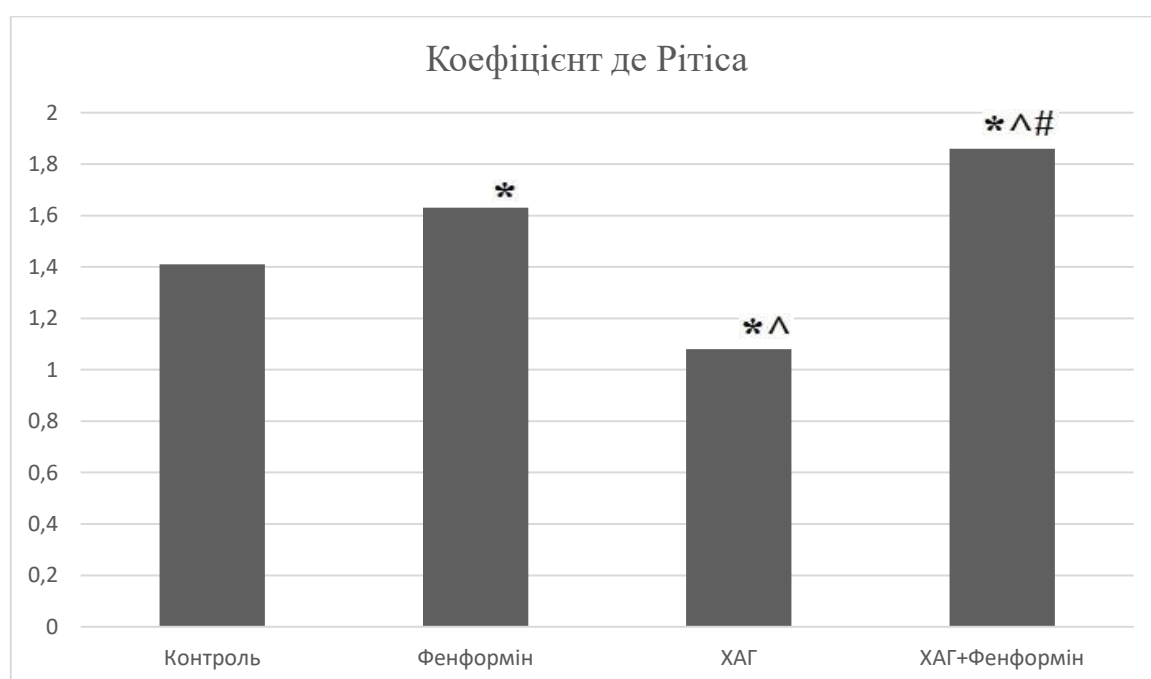


Рис. 5.1.4. Коефіцієнт де Рітиса за умов активації АМФ-активованої протеїнкінази на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту. Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили Фенформін; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. ХАГ – хронічний алкогольний гепатит.

Коефіцієнт де Рітиса за умов введення фенформіну підвищився в 1,16 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). В групі

експериментального хронічного алкогольного гепатиту коефіцієнт де Рітиса знижений в 1,51 раза по відношенню до щурів, яким вводили фенформін ($p < 0,05$) (рисунок 5.1.4). За умов введення фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту коефіцієнт де Рітиса підвищився в 1,32 раза порівняно з контролем, в 1,14 раза порівняно з групою щурів, яким вводили фенформін і в 1,72 раза порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

5.2. Показники оксидативно-нітрозативного стресу в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту та дії модуляторів АМФ-активованої протеїнкінази

Введення доксорубіцину щурам протягом 63 діб призводить до зниження активності каталази в 1,05 раза, підвищення продукції супероксидного аніон-радикалу в 1,17 раза, концентрації МДА в 1,93 раза і вмісту ОМБ в 3 раза в печінці щурів по відношенню до групи контролю ($p < 0,05$) (таблиця 5.2.1). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність каталази в печінці щурів знижується в 1,56 раза, концентрація МДА в 1,49 раза, а продукція супероксидного аніон-радикала зросла в 1,25 раза і вміст ОМБ в 2,83 раза по відношенню до групи щурів, яким вводили доксорубіцин протягом 63 діб ($p < 0,05$).

Введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту протягом 63 діб призвело до підвищення активності каталази в печінці щурів в 1,08 раза, продукції супероксид аніон-радикалу в 1,91 раза, концентрації МДА в 2,2 раза, вмісту ОМБ в 4,3 раза і зниження активності СОД в 1,96 раза по відношенню до контрольної групи щурів ($p < 0,05$). В цій же експериментальній групі спостерігаємо підвищення активності каталази в печінці щурів в 1,13 раза, продукції супероксид аніон-радикалу в 1,63 раза, вмісту ОМБ в 1,43 раза і

зниження активності СОД в 1,89 раза по відношенню до групи щурів, яким вводили доксорубіцин протягом 63 діб ($p<0,05$).

Таблиця 5.2.1

Біохімічні параметри оксидативного ушкодження, прооксидантів та антиоксидантів в печінці щурів за умов інгібування АМФ-активованої протейнінази на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту,

$M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	Доксорубіцин	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + Доксорубіцин
1	2	3	4	5
Активність каталази, мккат / г	0,376 $\pm$ 0,008	0,359 $\pm$ 0,001*	0,23 $\pm$ 0,01*^	0,406 $\pm$ 0,002*^#
Активність супероксид-дисмутази, ум.од.	12,34 $\pm$ 0,55	11,84 $\pm$ 0,36	12,23 $\pm$ 1,03	6,28 $\pm$ 0,05*^#
Супероксидний аніон-радикал, нмоль / с*г білка	1,84 $\pm$ 0,004	2,16 $\pm$ 0,03*	2,71 $\pm$ 0,03*^	3,51 $\pm$ 0,04*^#
Концентрація малонового діальдегіду, мкмоль / г	12,32 $\pm$ 0,11	23,75 $\pm$ 0,14*	15,91 $\pm$ 0,32*^	27,15 $\pm$ 1,92*#

1	2	3	4	5
Вміст окисно-модифікованих білків, ум.од.	0,04±0,002	0,12±0,001*	0,34±0,007*^	0,172±0,002*^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили Доксорубіцин; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит.

Порівнюючи показники прооксидантно-антиоксидантного балансу в групі інгібування АМФ-активованої протеїнкінази на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту з групою тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит відмічаємо підвищення активності каталази в печінці щурів в 1,77 раза, продукції супероксид аніон-радикалу в 1,3 раза, концентрації МДА в 1,71 раза, і зниження активності СОД в 1,95 раза та вмісту ОМБ в 1,98 раза ($p < 0,05$).

Введення доксорубіцину щурам протягом 63 діб призвело до підвищення в печінці щурів активності gNOS в 2,21 раза, iNOS в 2,31 раза, cNOS в 1,74 раза, нітритредуктаз в 4,01 раза, нітратредуктаз в 2,82 раза і концентрації пероксинітритів у 7,84 раза, а концентрація нітрозотіолів знизилась в 1,8 раза, нітритів у 1,76 раза та активність аргіназ в 1,64 раза по відношенню до контролю ($p < 0,05$) (таблиця 5.2.2). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення активності gNOS в печінці щурів у 1,81 раза, iNOS в 1,95 раза, концентрації пероксинітритів у 1,21 раза і нітритів у 1,4 раза та зниження активності нітритредуктаз в 2,38 раза та аргіназ в 2,04 по відношенню до групи тварин, яким вводили доксорубіцин протягом 63 діб ($p < 0,05$).

Введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту протягом 63 діб призвело до підвищення активності cNOS в печінці щурів в 1,48 раза, нітритредуктаз в 4,95 раза, нітратредуктаз в 2,63 раза, концентрації пероксинітритів у 18 разів і зниження концентрації нітрозотіолів у 3,27 раза, нітритів у 1,35 раза та активності аргіназ в 1,96 раза по відношенню до

контрольної групи тварин ($p < 0,05$). В цій же експериментальній групі спостерігаємо зниження активності gNOS в печінці щурів в 1,91 раза, iNOS в 2,06 раза, концентрації нітрозотіолів у 1,82 раза і підвищення концентрації пероксинітритів у 2,29 раза по відношенню до групи щурів, яким вводили доксорубіцин протягом 63 діб ($p < 0,05$).

Таблиця 5.2.2

Біохімічні параметри метаболізму оксиду азоту в печінці щурів за умов інгібування АМФ-активованої протейнінази на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	Доксорубіцин	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + Доксорубіцин
1	2	3	4	5
Загальна активність NO-синтаз, мкмоль / хв на г білка	$0,19 \pm 0,02$	$0,42 \pm 0,04^*$	$0,76 \pm 0,07^{*\wedge}$	$0,22 \pm 0,03^{\wedge\#}$
Активність індукцибельної NO-синтази, мкмоль / хв на г білка	$0,16 \pm 0,02$	$0,37 \pm 0,04^*$	$0,72 \pm 0,07^{*\wedge}$	$0,18 \pm 0,03^{\wedge\#}$
Активність конститутивних NO-синтаз, мкмоль / хв на г білка	$0,027 \pm 0,0003$	$0,047 \pm 0,002^*$	$0,044 \pm 0,0009^*$	$0,04 \pm 0,004^*$

1	2	3	4	5
Активність нітритредуктаз, мкмоль / хв на г білка	3,11±0,51	12,47±0,89*	5,24±0,26*^	15,38±1,22*#
Активність нітратредуктаз, мкмоль / хв на г білка	3,71±0,81	10,46±1,68*	6,91±0,55*	9,74±0,74*#
Концентрація пероксинітриту, мкмоль / г	0,45±0,01	3,53±0,03*	4,26±0,03*^	8,1±0,02*^#
Концентрація нітрозотіолів, мкмоль / г	0,36±0,019	0,2±0,03*	0,18±0,034*	0,11±0,02*^
Концентрація NO ₂ , нмоль / г	7,14±0,17	4,05±0,42*	5,67±0,34*^	5,27±0,56*
Активність аргіназ, мкмоль / хв на г білка	1,8±0,1	1,1±0,05*	0,54±0,02*^	0,92±0,04*#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили Доксорубіцин; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. Доксорубіцин – амоній піролідіндітіокарбамат.

За умов інгібування АМФ-активованої протеїнкінази доксорубіцином на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність gNOS в печінці щурів знижується в 3,45 раза, iNOS в 4 раза а активність нітритредуктаз зростає в 2,94 раза, нітратредуктаз в 1,41 раза, аргіназ в 1,7 раза і концентрації пероксинітритів у 1,9 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

За умов введення фенформіну щурам протягом 63 діб активність СОД в печінці щурів зросла в 1,12 раза, концентрація МДА в 1,53 раза і вміст ОМБ в 2,68 раза, а продукція супероксид аніон-радикалу зменшилась в 1,15 раза по відношенню до групи контролю ($p<0,05$) (таблиця 5.2.3). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність каталази в печінці щурів знижується в 1,59 раза, концентрація МДА в 1,19 раза, а продукція супероксидного аніон-радикала зросла в 1,69 раза і вміст ОМБ в 3,18 раза по відношенню до групи щурів, яким вводили фенформін протягом 63 діб ($p<0,05$).

Таблиця 5.2.3

Біохімічні параметри оксидативного ушкодження, прооксидантів та антиоксидантів в печінці щурів за умов активації АМФ-активованої протейнінази на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту,

$M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	Фенформін	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + Фенформін
1	2	3	4	5
Активність каталази, мккат / г	0,376 $\pm$ 0,008	0,365 $\pm$ 0,011	0,23 $\pm$ 0,01*^	0,41 $\pm$ 0,001*#
Активність супероксид-дисмутази, ум.од.	12,34 $\pm$ 0,55	13,83 $\pm$ 0,3*	12,23 $\pm$ 1,03	7,75 $\pm$ 0,32*^#
Супероксидний аніон-радикал, нмоль / с*г білка	1,84 $\pm$ 0,004	1,6 $\pm$ 0,06*	2,71 $\pm$ 0,03*^	3,02 $\pm$ 0,08*^#

1	2	3	4	5
Концентрація малонового діальдегіду, мкмоль / г	12,32±0,11	18,9±0,28*	15,91±0,32*^	33,04±0,19*^#
Вміст окисно- модифікованих білків, ум.од.	0,04±0,002	0,107±0,001*	0,34±0,007*^	0,131±0,001*^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили Фенформін; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит.

За умов введення фенформіну щурам на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність каталази в печінці щурів зросла в 1,09 раза, продукція супероксид аніон-радикалу в 1,64 раза, концентрація МДА в 2,68 раза і вміст ОМБ в 3,28 раза, а активність СОД знизилась в 1,59 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). За цих же експериментальних умов спостерігаємо зниження активності СОД в 1,78 раза і підвищення продукції супероксид аніон-радикалу в 1,89 раза, концентрації МДА в 1,75 раза і вмісту ОМБ в 1,22 раза по відношенню до групи щурів, яким вводили фенформін ($p < 0,05$). За умов активації АМФ-активованої протеїнкінази фенформіном на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність каталази в печінці щурів зросла в 1,78 раза, продукція супероксид аніон-радикалу в 1,11 раза, концентрація МДА в 2,08 раза, а вміст ОМБ знизився в 2,6 раза і активність СОД в 1,58 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Введення фенформіну щурам протягом 63 діб призвело до підвищення активності cNOS в печінці в 2,11 раза, нітритредуктаз в 6,34 раза, нітратредуктаз в 4,74 раза, концентрації пероксинітритів у 6,09 раза, а концентрація нітрозотіолів знизилась в 3,83 раза, нітритів у 2,61 раза і активність аргіназ в 1,23 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання

хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення активності gNOS в печінці щурів у 3,3 раза, iNOS в 4,24 раза, концентрації пероксинітритів у 1,55 раза, нітрозотіолів у 1,91 раза і нітритів у 2,07 раза та до зниження активності cNOS в 1,3 раза, нітритредуктаз в 3,76 раза, нітратредуктаз в 2,55 раза і аргіназ в 2,7 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили фенформін ($p < 0,05$).

Таблиця 5.2.4

Біохімічні параметри метаболізму оксиду азоту в печінці щурів за умов активації АМФ-активованої протеїнкінази на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	Фенформін	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + Фенформін
1	2	3	4	5
Загальна активність NO-синтаз, мкмоль / хв на г білка	0,19±0,02	0,23±0,009	0,76±0,07*^	0,85±0,09*^
Активність індукцибельної NO-синтази, мкмоль / хв на г білка	0,16±0,02	0,17±0,007	0,72±0,07*^	0,81±0,09*^
Активність конститутивних NO-синтаз, мкмоль / хв на г білка	0,027±0,0003	0,057±0,002*	0,044±0,0009*^	0,044±0,002*^

1	2	3	4	5
Активність нітритредуктаз, мкмоль / хв на г білка	3,11±0,51	19,72±0,54*	5,24±0,26*^	19,02±0,83*#
Активність нітратредуктаз, мкмоль / хв на г білка	3,71±0,81	17,6±0,33*	6,91±0,55*^	12,99±0,51*^#
Концентрація пероксинітриту, мкмоль / г	0,45±0,01	2,74±0,13*	4,26±0,03*^	3,6±0,03*^#
Концентрація нітрозотіолів, мкмоль / г	0,36±0,019	0,094±0,003*	0,18±0,034*^	0,101±0,004*#
Концентрація NO ₂ , нмоль / г	7,14±0,17	2,74±0,11*	5,67±0,34*^	6,18±0,56^
Активність аргіназ, мкмоль / хв на г білка	1,8±0,1	1,46±0,07*	0,54±0,02*^	0,999±0,031*^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили Фенформін; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит.

За умов введення фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту протягом 63 діб активність gNOS в печінці щурів зросла в 4,47 раза, iNOS в 5,06 раза, cNOS в 1,63 раза, нітритредуктаз в 6,12 раза, нітратредуктаз в 3,5 раза, концентрація пероксинітритів у 8 раз, а концентрація нітрозотіолів знизилась в 3,56 раза і активність аргіназ в 1,8 раза по відношенню до групи контролю ($p < 0,05$). За цих же експериментальних умов активність gNOS в печінці щурів зросла в 3,7 раза, iNOS в 4,76 раза, концентрація пероксинітритів у

1,31 раза, нітритів у 2,26 раза, а активність cNOS знизилась в 1,3 раза, нітратредуктаз в 1,35 раза і аргіназ в 1,46 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили фенформін ($p < 0,05$). За умов активації АМФ-активованої протеїнкінази фенформіном на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність нітритредуктаз в печінці щурів зросла в 3,63 раза, нітратредуктаз в 1,88 раза і аргіназ в 1,85 раза, а концентрація пероксинітритів знизилась в 1,18 раза і нітрозотіолів в 1,78 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

5.3. Екстрацелюлярний матрикс печінки щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту та дії модуляторів АМФ-активованої протеїнкінази

Введення доксорубіцину щурам призводить до підвищення загальної концентрації глікозаміногліканів (ГАГ) в 1,26 раза в печінці по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$) (таблиця 5.3.1.). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до зниження ГАГ в 1,51 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили доксорубіцин ($p < 0,05$). Введення інгібітора АМФ-активованої протеїнкінази доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту підвищило загальну концентрацію ГАГ в 1,12 раза по відношенню до групи контролю і в 1,42 раза по відношенню до групи хронічного алкогольного гепатиту та знизило загальну концентрацію ГАГ в 1,13 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили доксорубіцин ($p < 0,05$).

Концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ в печінці щурів за умов введення доксорубіцину підвищилась в 1,31 рази по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до зниження концентрації гепарин-гепаранової фракції ГАГ в 3,05 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили доксорубіцин ($p < 0,05$). Введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам знизило концентрацію гепарин-гепаранової фракції ГАГ в 1,29 раза по відношенню до групи контролю, в 1,7 раза по відношенню до групи тварин, яким

вводили доксорубіцин і підвищило концентрацію гепарин-гепаранової фракції ГАГ в 1,79 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p<0,05$).

Концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці щурів за умов введення доксорубіцину знизилась в 2,08 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p<0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення концентрації кератан-дерматанової фракції ГАГ в 6,46 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили доксорубіцин ($p<0,05$). Введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці в 2,15 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили доксорубіцин і знизило концентрацію кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці щурів в 3 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p<0,05$).

Таблиця 5.3.1

Біохімічні параметри метаболізму екстрацелюлярного матриксу печінки щурів за умов інгібування АМФ-активованої протеїнкінази на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	Доксорубіцин	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + Доксорубіцин
1	2	3	4	5
Загальна концентрація глікозаміно-гліканів, мкмоль/л	$2,62 \pm 0,02$	$3,31 \pm 0,01^*$	$2,07 \pm 0,02^{*\wedge}$	$2,94 \pm 0,01^{*\wedge\#}$

1	2	3	4	5
Концентрація гепарин- гепаранової фракції ГАГ, мкмоль/л	1,81±0,02	2,38±0,01*	0,78±0,01*^	1,4±0,02*^#
Концентрація кератан- дерматанової фракції ГАГ, мкмоль/л	0,27±0,004	0,13±0,005*	0,84±0,009*^	0,28±0,005^#
Концентрація хондроїтинової фракції ГАГ, мкмоль/л	0,59±0,009	0,68±0,008*	0,49±0,006*^	1,18±0,008*^#
Концентрація вільного оксипроліну, мкмоль/г	1,28±0,02	1,92±0,01*	2,88±0,05*^	2,3±0,02*^#
Концентрація сіалових кислот, мг/г	1,26±0,04	3,62±0,03*	7,67±0,02*^	5,64±0,09*^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили Доксوروبіцин; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит.

Концентрація хондроїтинової фракції ГАГ в печінці щурів за умов введення доксوروبіцину підвищилась в 1,15 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до зниження концентрації хондроїтинової фракції ГАГ в печінці в 1,39 раза по

відношенню до групи тварин, яким вводили доксорубіцин ($p < 0,05$). Введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію хондроїтинової фракції ГАГ в печінці в 2 рази по відношенню до групи контролю, в 1,74 рази по відношенню до групи тварин, яким вводили доксорубіцин і в 2,41 рази по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Концентрація вільного оксипроліну в печінці щурів за умов введення доксорубіцину підвищилась в 1,5 рази по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення концентрація вільного оксипроліну в печінці щурів у 1,5 рази по відношенню до групи тварин, яким вводили доксорубіцин ($p < 0,05$). Введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію вільного оксипроліну в печінці в 1,8 рази по відношенню до групи контролю, в 1,2 рази по відношенню до групи тварин, яким вводили доксорубіцин, і зниження в 1,25 рази по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Концентрація сіалових кислот в печінці щурів за умов введення доксорубіцину підвищилась в 2,87 рази по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення концентрація сіалових кислот в печінці щурів у 2,12 рази по відношенню до групи тварин, яким вводили доксорубіцин ($p < 0,05$). Введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію сіалових кислот в печінці щурів у 4,48 рази по відношенню до групи контролю, в 1,56 рази по відношенню до групи тварин, яким вводили доксорубіцин і знизило в 1,36 рази по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Введення фенформіну щурам призводить до підвищення загальної концентрації глікозаміногліканів (ГАГ) в 1,07 рази в печінці по відношенню до контрольної групи ($p < 0,05$) (таблиця 5.3.2). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до зниження ГАГ в 1,35 рази по відношенню до

групи тварин, яким вводили фенформін ($p < 0,05$). Введення активатора АМФ-активованої протеїнкінази фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту підвищило ГАГ в 1,21 раза по відношенню до групи контролю, в 1,13 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили фенформін і в 1,53 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ в печінці щурів за умов введення фенформіну знизилась в 1,33 рази по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до зниження концентрації гепарин-гепаранової фракції ГАГ в 1,74 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили фенформін ($p < 0,05$). Введення фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію гепарин-гепаранової фракції ГАГ в 1,12 раза по відношенню до групи контролю, в 1,49 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили фенформін і в 2,6 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці щурів за умов введення фенформіну підвищилась в 2,04 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення концентрації кератан-дерматанової фракції ГАГ в 1,53 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили фенформін ($p < 0,05$). Введення фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці в 1,52 раза по відношенню до групи контролю і знизило концентрацію кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці в 1,34 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили фенформін і в 2,05 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Таблиця 5.3.2

**Біохімічні параметри метаболізму екстрацелюлярного матриксу печінки
щурів за умов активації АМФ-активованої протеїнкінази на тлі
моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$**

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	Фенформін	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + Фенформін
1	2	3	4	5
Загальна концентрація глікозаміно-гліканів, мкмоль/л	$2,62 \pm 0,02$	$2,8 \pm 0,01^*$	$2,07 \pm 0,02^{*^{\wedge}}$	$3,17 \pm 0,01^{*^{\wedge}\#}$
Концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ, мкмоль/л	$1,81 \pm 0,02$	$1,36 \pm 0,01^*$	$0,78 \pm 0,01^{*^{\wedge}}$	$2,03 \pm 0,02^{*^{\wedge}\#}$
Концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ, мкмоль/л	$0,27 \pm 0,004$	$0,55 \pm 0,008^*$	$0,84 \pm 0,009^{*^{\wedge}}$	$0,41 \pm 0,008^{*^{\wedge}\#}$
Концентрація хондроїтинової фракції ГАГ, мкмоль/л	$0,59 \pm 0,009$	$0,68 \pm 0,007^*$	$0,49 \pm 0,006^{*^{\wedge}}$	$0,94 \pm 0,006^{*^{\wedge}\#}$

1	2	3	4	5
Концентрація вільного оксипроліну, мкмоль/г	1,28±0,02	0,9±0,01*	2,88±0,05*^	1,18±0,01*^#
Концентрація сіалових кислот, мг/г	1,26±0,04	2,36±0,07*	7,67±0,02*^	4,29±0,04*^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили Фенформін; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит.

Концентрація хондроїтинової фракції ГАГ в печінці щурів за умов введення фенформіну підвищилась в 1,15 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до зниження концентрації хондроїтинової фракції ГАГ в 1,39 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили фенформін ($p < 0,05$). Введення фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію хондроїтинової фракції ГАГ в печінці в 1,59 раза по відношенню до групи контролю, в 1,38 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили фенформін і в 1,92 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Концентрація вільного оксипроліну в печінці щурів за умов введення фенформіну знизилась в 1,42 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення концентрація вільного оксипроліну в печінці щурів у 3,2 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили фенформін ($p < 0,05$). Введення фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам знизило концентрацію вільного оксипроліну в печінці щурів у 1,08 раза по відношенню до групи контролю і в 2,44 раза по відношенню до групи тварин,

яким моделювали хронічний алкогольний гепатит та підвищило концентрацію вільного оксипроліну в печінці в 1,31 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили фенформін ($p < 0,05$).

Концентрація сіалових кислот в печінці щурів за умов введення фенформіну підвищилась в 1,87 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення концентрація сіалових кислот в печінці щурів у 3,25 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили фенформін ($p < 0,05$). Введення фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію сіалових кислот в печінці щурів у 3,4 раза по відношенню до групи контролю, в 1,82 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили фенформін і знизило концентрацію сіалових кислот в 1,79 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

5.4. Морфометричні та патоморфологічні зміни судин печінкової часточки за умов хронічного алкогольного гепатиту та дії модуляторів АМФ-активованої протеїнкінази

Патоморфологічні зміни в печінковій часточці щурів за умов введення доксорубіцину на тлі хронічного алкогольного гепатиту на рис. 5.4.1 та рис. 5.4.2.

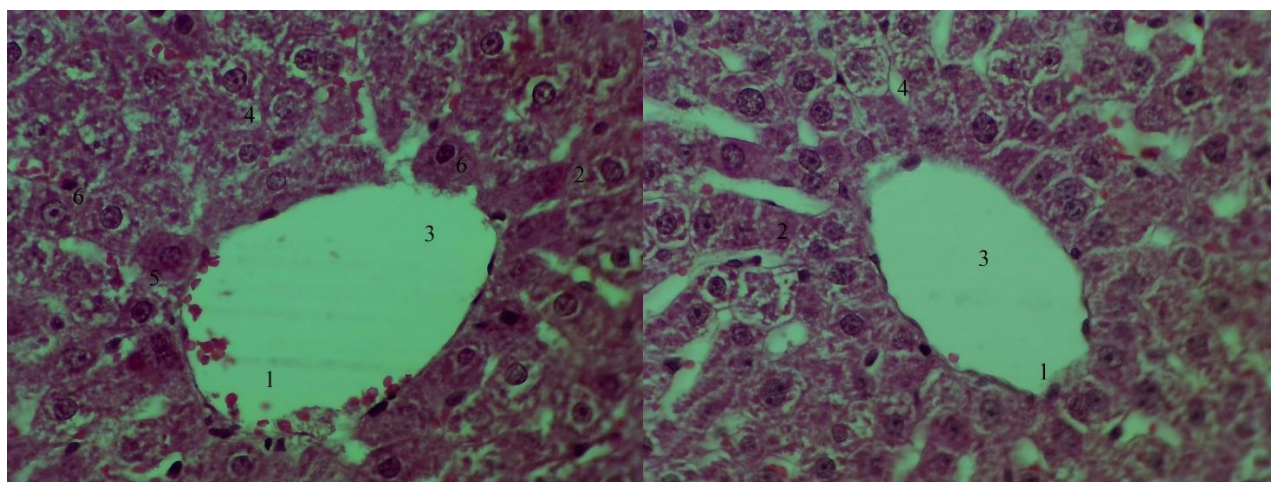


Рис. 5.4.1. Центральна зона печінкової часточки щурів за умов впливу доксирубіцину (А) та при хронічному алкогольному гепатиті та введенні доксирубіцину (Б). Мікрофото. Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення x 400.

1 – центральна вена. 2 – печінкові балки. 3 – запусиння у центральній вені. 4 – вакуолізація цитоплазми гепатоцитів. 5 – підвищення оптичної щільності цитоплазми гепатоцитів. 6 – зморщення ядер гепатоцитів.

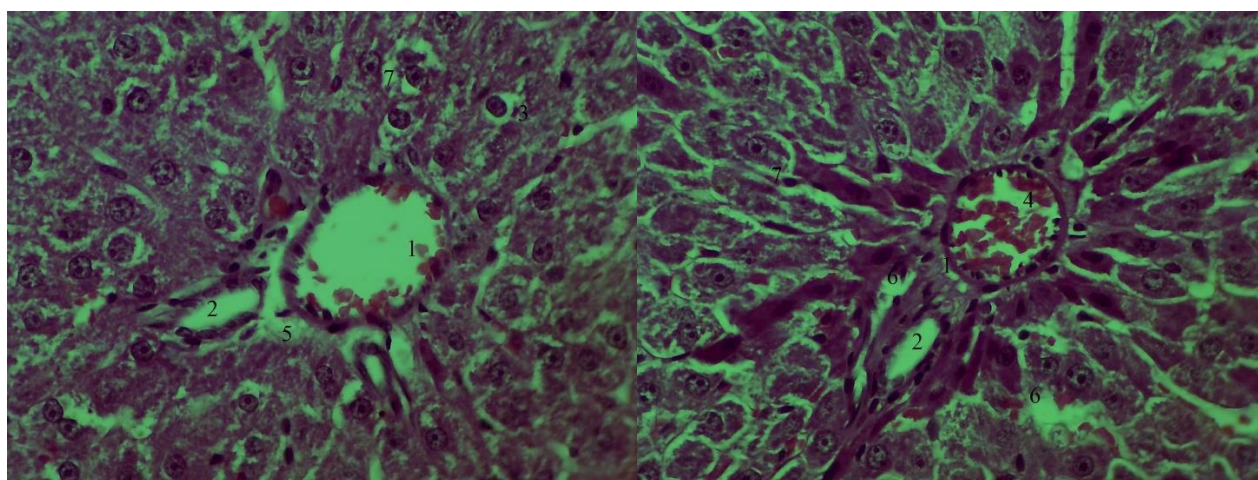


Рис. 5.4.2. Периферична зона печінкової часточки щурів за умов впливу доксирубіцину (А) та при хронічному алкогольному гепатиті та введенні доксирубіцину (Б). Мікрофото. Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення x 400.

1 – міжчасточкова артерія. 2 – жовчна протока. 3 – апоптоз гепатоцитів. 4 – стаз еритроцитів у міжчасточковій артерії. 5 – периаатеріальний набряк. 6 – «темні» гепатоцити. 7 – вакуолізація цитоплазми гепатоцитів.

За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки щурів зменшився в 1,1 раза порівняно з групою щурів, яким вводили доксорубіцин ($p < 0,05$). За умов введення інгібітора АМФ-активованої протеїнкінази доксорубіцину діаметр синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки щурів збільшився в 1,22 раза порівняно з контролем, в 1,13 раза порівняно з групою щурів, яким вводили доксорубіцин і в 1,24 раза порівняно з тваринами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$) (таблиця 5.4.1). За умов введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки щурів збільшився в 1,22 раза порівняно з контролем і в 1,24 раза порівняно з тваринами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту центральних вен печінкової часточки щурів збільшився за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) в 1,1 раза порівняно з групою тарин, яким вводили доксорубіцин ($p < 0,05$). За умов введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр центральних вен печінкової часточки щурів збільшився в 1,33 раза порівняно з контролем, в 1,27 раза порівняно з групою тварин, яким вводили доксорубіцин і в 1,15 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту міжчасточкових артерій печінки щурів зменшився за умов введення доксорубіцину в 1,79 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту міжчасточкових артерій печінки щурів зменшився в 1,23 раза порівняно з групою тарин, яким вводили доксорубіцин ($p < 0,05$). За умов введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр міжчасточкових артерій печінки щурів зменшився в 1,58 раза порівняно з контролем, і збільшився в 1,13 раза порівняно з групою тварин, яким вводили доксорубіцин та в 1,39 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Таблиця 5.4.1

**Морфометричні показники судинного русла печінки щурів за умов
інгібування АМФ-активованої протеїнкінази на тлі моделювання
хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$**

Параметри	Групи			
	Контроль	Доксорубіцин	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + Доксорубіцин
1	2	3	4	5
Просвіт синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки, мкм	6,8±0,25	7,01±0,16	7,31±0,15	7,14±0,19
Просвіт синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки, мкм	5,86±0,15	6,33±0,15	5,75±0,17 [^]	7,14±0,18 ^{*^#}
Внутрішній діаметр центральної вен, мкм	57,39±1,35	60,39±1,2	66,46±1,27 ^{*^}	76,53±1,76 ^{*^#}
Внутрішній діаметр міжчасточкових артерій, мкм	34,81±1,61	19,49±0,44 [*]	15,87±0,79 ^{*^}	22,02±0,72 ^{*^#}

1	2	3	4	5
Внутрішній діаметр часточкових артеріол, мкм	9,97±0,49	13,69±0,19*	6,67±0,41*^	13,56±0,23*#
Внутрішній діаметр часточкових венул, мкм	18,2±0,61	17,81±0,53	8,37±0,2*^	24,21±0,64*^#
Внутрішній діаметр міжчасточкових вен, мкм	42,35±1,66	52,41±1,02*	25,66±2,42*^	67,97±1,86*^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили Доксوروبіцин; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит.

Діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів збільшився за умов введення доксوروبіцину в 1,37 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів зменшився в 2,05 раза порівняно з групою тварин, яким вводили доксوروبіцин ($p < 0,05$). За умов введення доксوروبіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів збільшився в 1,36 раза порівняно з групою контролю і в 2,03 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів зменшився за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) в 2,13 раза порівняно з групою тарин, яким вводили доксوروبіцин ($p < 0,05$). За умов введення доксوروبіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів збільшився в 1,33 раза порівняно з

контролем, в 1,36 раза порівняно з групою тварин, яким вводили доксорубіцин і в 2,89 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту міжчасточкових вен печінки щурів збільшився за умов введення доксорубіцину в 1,24 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту міжчасточкових вен печінки щурів зменшився в 2,04 раза порівняно з групою тварин, яким вводили доксорубіцин ($p < 0,05$). За умов введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр просвіту міжчасточкових вен печінки щурів збільшився в 1,6 раза порівняно з контролем, в 1,3 раза порівняно з групою тварин, яким вводили доксорубіцин та в 2,65 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Патоморфологічні зміни в печінковій часточці щурів за умов введення фенформіну на тлі хронічного алкогольного гепатиту на рис. 5.4.3 та рис. 5.4.4.

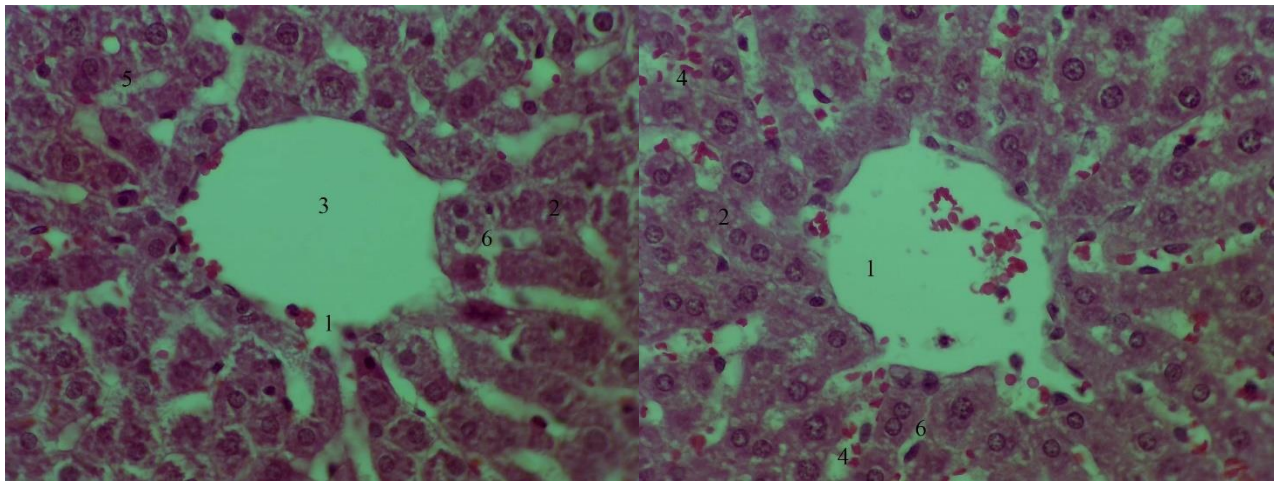


Рис. 5.4.3. Центральна зона печінкової часточки щурів за умов впливу фенформіну (А) та при хронічному алкогольному гепатиті та введенні фенформіну (Б). Мікрофото. Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення $\times 400$.

1 – центральна вена. 2 – печінкові балки. 3 – запусітіння у центральній вені. 4 – стаз крові у синусоїдних капілярах. 5 – підвищення оптичної щільності цитоплазми гепатоцитів. 6 – двоядерний гепатоцит.

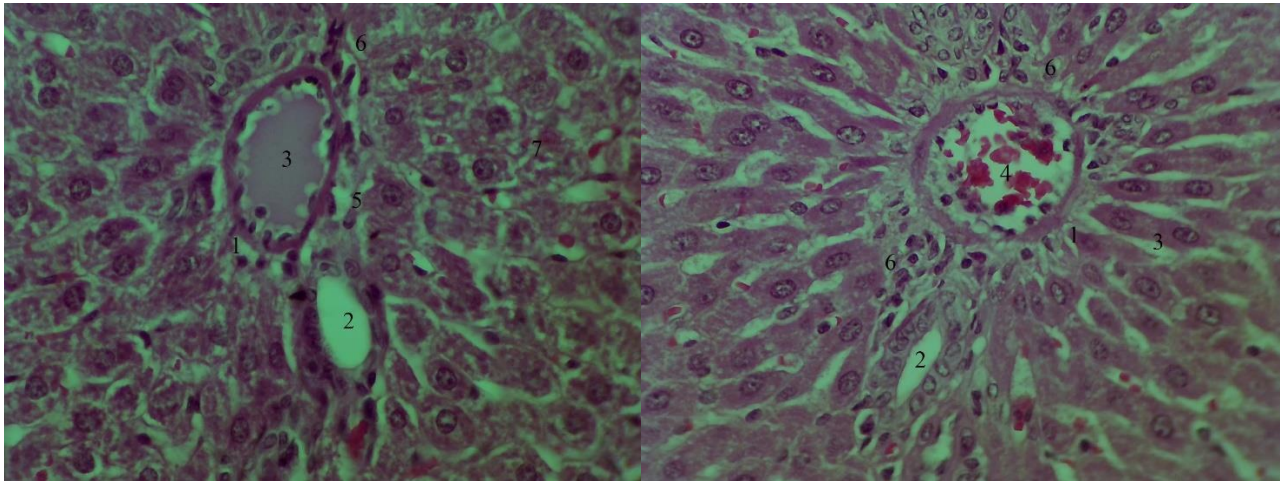


Рис. 5.4.4. Периферична зона печінкової часточки щурів за умов впливу фенформіну (А) та при хронічному алкогольному гепатиті та введенні фенформіну (Б). Мікрофото. Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення $\times 400$.

1 – міжчасточкова артерія. 2 – жовчна протока. 3 – підвищення оптичної щільності плазми крові. 4 – стаз еритроцитів у міжчасточковій артерії. 5 – периартеріальний набряк. 6 – лейкоцитарний інфільтрат. 7 – вакуолізація цитоплазми гепатоцитів.

За результатами морфометричних досліджень встановлено, що за умов введення фенформіну щурам діаметр синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки збільшився в 1,15 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$) (таблиця 5.4.2). За умов введення активатора АМФ-активованої протеїнкінази фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки щурів збільшився в 1,2 раза порівняно з контролем і в 1,12 раза порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки щурів зменшився за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) в 1,12 раза порівняно з групою щурів, яким вводили фенформін ($p < 0,05$). За умов введення фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки

щурів збільшився в 1,08 раза порівняно з тваринами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Таблиця 5.4.2

Морфометричні показники судинного русла печінки щурів за умов активації АМФ-активованої протеїнкінази на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Параметри	Групи			
	Контроль	Фенформін	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + Фенформін
1	2	3	4	5
Просвіт синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки, мкм	6,8±0,25	7,82±0,18*	7,31±0,15	8,17±0,18* [#]
Просвіт синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки, мкм	5,86±0,15	6,43±0,2	5,75±0,17 [^]	6,23±0,14 [#]
Внутрішній діаметр центральных вен, мкм	57,39±1,35	66,48±1,66*	66,46±1,27*	65,95±1,4*

1	2	3	4	5
Внутрішній діаметр міжчасточкових артерій, мкм	34,81±1,61	27,16±0,8*	15,87±0,79*^	28,08±0,79*#
Внутрішній діаметр часточкових артеріол, мкм	9,97±0,49	13,76±0,34*	6,67±0,41*^	13,79±0,28*#
Внутрішній діаметр часточкових венул, мкм	18,2±0,61	27,82±0,79*	8,37±0,2*^	22,83±0,46*^#
Внутрішній діаметр міжчасточкових вен, мкм	42,35±1,66	62,82±1,53*	25,66±2,42*^	60,44±1,69*#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили Фенформін; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит.

Діаметр просвіту центральних вен печінкової часточки щурів збільшився за умов введення фенформіну в 1,16 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов введення фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр центральних вен печінкової часточки щурів збільшився в 1,15 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту міжчасточкових артерій печінки щурів зменшився за умов введення фенформіну в 1,28 раза порівняно з тваринами групи контролю ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту міжчасточкових артерій печінки щурів зменшився в 1,71 раза порівняно з групою тварин, яким вводили фенформін ($p < 0,05$). За умов введення

фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр міжчасточкових артерій печінки щурів зменшився в 1,24 раза порівняно з контролем і збільшився в 1,77 раза порівняно з групою тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів збільшився за умов введення фенформіну в 1,38 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів зменшився в 2,06 раза порівняно з групою тварин, яким вводили фенформін ($p < 0,05$). За умов введення фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів збільшився в 1,38 раза порівняно контролем і в 2,07 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів збільшився за умов введення фенформіну в 1,53 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів зменшився в 3,32 раза порівняно з групою тарин, яким вводили фенформін ($p < 0,05$). За умов введення фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів збільшився в 1,25 раза порівняно з контролем, зменшився в 1,22 раза порівняно з групою тварин, яким вводили фенформін і збільшився в 2,73 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту міжчасточкових вен печінки щурів збільшився за умов введення фенформіну в 1,48 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту міжчасточкових вен печінки щурів зменшився в 2,45 раза порівняно з групою тварин, яким вводили фенформін ($p < 0,05$). За умов введення фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр просвіту міжчасточкових вен печінки щурів збільшився в 1,43 раза порівняно з контролем

і в 2,36 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях [399, 410, 412, 413, 414] і тезах [14, 16, 408].

РОЗДІЛ 6. ОБГРУНТУВАННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ НАНОКРИСТАЛІЧНОГО ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ЕТАНОЛ- ІНДУКОВАНОГО УШКОДЖЕННЯ ПЕЧІНКИ

6.1. Зміни біохімічних маркерів цитолітичного синдрому гепатоцитів у крові за умов експериментальної корекції нанокристалічним діоксидом церію хронічного алкогольного гепатиту

Активність АсАТ в сироватці крові за умов введення нанокристалічного діоксиду церію (НДЦ) зросла в 2,71 раза і активність АлАТ в 2,52 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). Біохімічний аналіз сироватки крові щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит виявив зниження активності АсАТ на 63 добу експерименту в 1,17 раза і підвищення активності АлАТ в 1,2 раза по відношенню до групи щурів, яким вводили НДЦ ($p < 0,05$) (рисунок 6.1.1.).

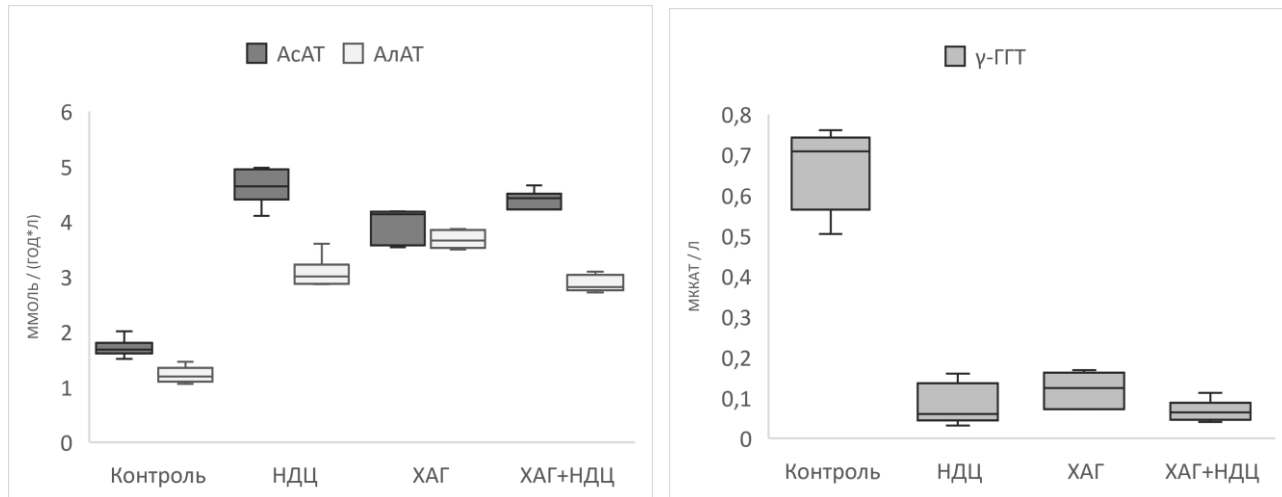


Рис. 6.1.1. Маркери цитолітичного синдрому в сироватці крові щурів за умов введення нанокристалічного діоксиду церію на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту.

Введення НДЦ щурам на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення активності АсАТ в 2,54 раза і АлАТ в 2,35 раза по відношенню до групи контролю ($p < 0,05$). За цих же експериментальних умов

активність АсАТ в сироватці крові підвищилась в 1,1 раза і активність АлАТ знизилась в 1,28 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

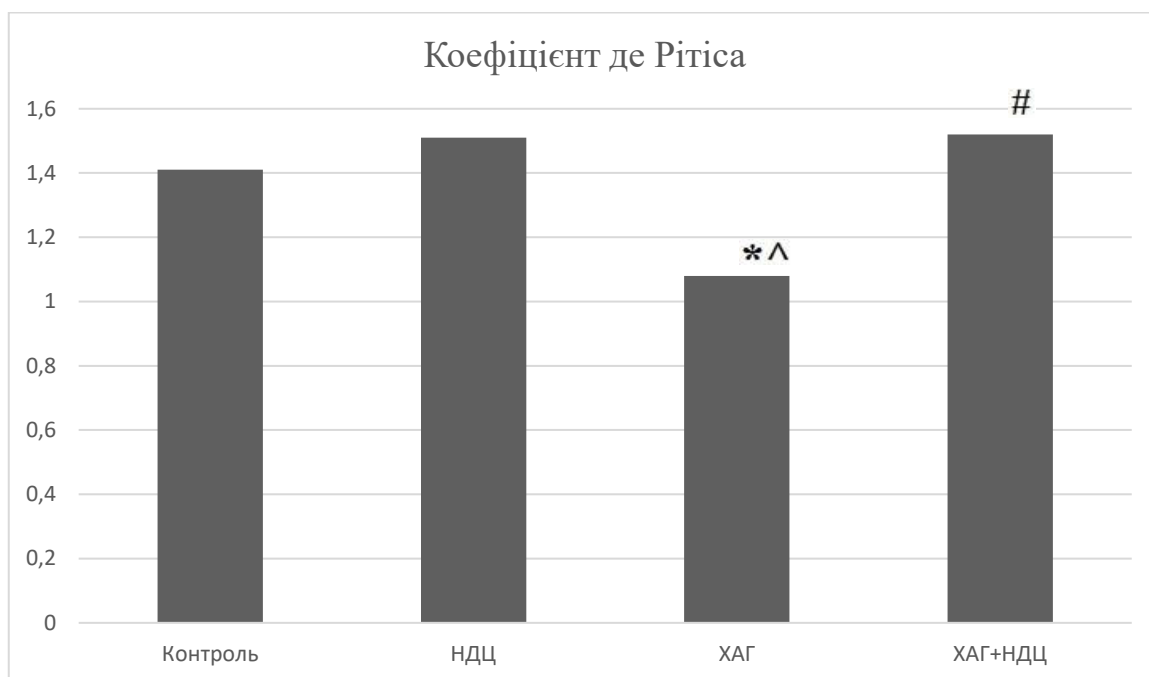


Рис. 6.1.2. Коефіцієнт де Рітиса за умов введення нанокристалічного діоксиду церію на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту. Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили НДЦ; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. НДЦ – нанокристалічний діоксид церію, ХАГ – хронічний алкогольний гепатит.

Коефіцієнт де Рітиса в групі експериментального хронічного алкогольного гепатиту знижений в 1,44 раза по відношенню до групи щурів, яким вводили НДЦ ($p < 0,05$) (рисунок 6.1.2). За умов введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту коефіцієнт де Рітиса підвищився в 1,41 раза порівняно з групою тварин з експериментальним хронічним алкогольним гепатитом ($p < 0,05$).

Активність γ -ГТП в сироватці крові щурів за умов введення НДЦ знизилась в 8,38 раза у порівнянні з контролем ($p < 0,05$) (рисунок 6.1.1). За умов введення

НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність γ -ГТП в сироватці крові щурів знизилась в 9,57 раза порівняно контролем, і в 1,71 раза порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

6.2. Зміни показників оксидативно-нітрозативного стресу в печінці щурів за умов експериментальної корекції нанокристалічним діоксидом церію хронічного алкогольного гепатиту

За умов введення НДЦ щурам протягом 63 діб активність каталази в печінці щурів знизилась в 1,9 раза, а продукція супероксид аніон-радикалу підвищилась в 2,66 раза, концентрація МДА в 2,03 раза і вміст ОМБ в 4,08 раза по відношенню до групи контролю ($p < 0,05$) (таблиця 6.2.1). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність каталази в печінці щурів підвищується в 1,15 раза, продукція супероксидного аніон-радикала зменшується в 1,8 раза, концентрація МДА в 1,57 раза по відношенню до групи щурів, яким вводили НДЦ протягом 63 діб ($p < 0,05$).

За умов введення НДЦ щурам на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність каталази в печінці знизилась в 1,41 раза, а активність СОД зросла в 1,21 раза, продукція супероксид аніон-радикалу в 2,96 раза, концентрація МДА в 1,88 раза і вміст ОМБ в 2,23 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). За цих же експериментальних умов спостерігаємо підвищення активності каталази в 1,35 раза по відношенню до групи щурів, яким вводили НДЦ ($p < 0,05$). За умов введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність каталази в печінці щурів зросла в 1,17 раза, продукція супероксид аніон-радикалу в 2,01 раза, концентрація МДА в 1,46 раза, а вміст ОМБ знизився в 3,82 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Таблиця 6.2.1

Біохімічні параметри оксидативного ушкодження, прооксидантів та антиоксидантів в печінці щурів за умов введення нанокристалічного діоксиду церію на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту,

$M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	НДЦ	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + НДЦ
Активність каталази, мккат / г	0,38±0,008	0,2±0,001*	0,23±0,01*^	0,27±0,0008*^#
Активність супероксид-дисмутази, ум.од.	12,34±0,55	13,91±0,81	12,23±1,03	14,98±0,25*
Супероксидний аніон-радикал, нмоль / с*г білка	1,84±0,004	4,89±0,23*	2,71±0,03*^	5,44±0,02*#
Концентрація малонового діальдегіду, мкмоль / г	12,32±0,11	25,04±1,02*	15,91±0,32*^	23,17±0,84*#
Вміст окисно-модифікованих білків, ум.од.	0,04±0,002	0,163±0,101*	0,34±0,007*	0,089±0,002*#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили НДЦ; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. НДЦ – нанокристалічний діоксид церію.

Введення НДЦ щурам протягом 63 діб призвело до підвищення активності gNOS в печінці щурів у 4,26 рази, iNOS в 4,75 рази, cNOS в 1,78 рази, нітритредуктаз в 6,69 рази, нітратредуктаз в 5,92 рази, концентрації пероксинітритів у 5,38 рази, а концентрація нітрозотіолів знизилась в 2,25 рази і активність аргіназ в 1,67 рази по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до зниження активності нітритредуктаз в 3,97 рази, нітратредуктаз в 3,18 рази, аргіназ в 2 рази та концентрації нітритів у 1,22 рази та підвищення концентрації пероксинітритів у 1,76 рази по відношенню до групи тварин, яким вводили НДЦ ($p < 0,05$).

Таблиця 6.2.2

Біохімічні параметри метаболізму оксиду азоту в печінці щурів за умов введення нанокристалічного діоксиду церію на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	НДЦ	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + НДЦ
1	2	3	4	5
Загальна активність NO-синтаз, мкмоль / хв на г білка	0,19 $\pm$ 0,02	0,81 $\pm$ 0,08*	0,76 $\pm$ 0,07*	0,53 $\pm$ 0,12*
Активність індукцибельної NO-синтази, мкмоль / хв на г білка	0,16 $\pm$ 0,02	0,76 $\pm$ 0,08*	0,72 $\pm$ 0,07*	0,49 $\pm$ 0,12*

1	2	3	4	5
Активність конститутивних NO-синтаз, мкмоль / хв на г білка	0,027±0,0003	0,048±0,002*	0,044±0,0009*	0,044±0,002*
Активність нітритредуктаз, мкмоль / хв на г білка	3,11±0,51	20,8±1,66*	5,24±0,26*^	28,19±1,35*^#
Активність нітратредуктаз, мкмоль / хв на г білка	3,71±0,81	21,97±1,57*	6,91±0,55*^	20,6±0,98*#
Концентрація пероксинітриту, мкмоль / г	0,45±0,01	2,42±0,21*	4,26±0,03*^	3,41±0,25*^#
Концентрація нітрозотіолів, мкмоль / г	0,36±0,019	0,16±0,03*	0,18±0,034*	0,12±0,02*
Концентрація NO ₂ , нмоль / г	7,14±0,17	6,89±0,06	5,67±0,34*^	5,67±0,28*^
Активність аргіназ, мкмоль / хв на г білка	1,8±0,1	1,08±0,08*	0,54±0,02*^	1,06±0,19*#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили НДЦ; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. НДЦ – нанокристалічний діоксид церію.

За умов введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту протягом 63 діб активність gNOS в печінці щурів зросла в 2,79 раза, iNOS в 3,06 раза, cNOS в 1,63 раза, нітритредуктаз в 9,06 раза, нітратредуктаз в 5,55 раза, концентрація пероксинітритів у 7,58 раза, а концентрація нітрозотіолів знизилась в 3 раза нітритів у 1,26 раза і активність аргіназ в 1,7 раза по відношенню до групи контролю ($p < 0,05$). За цих же експериментальних умов активність нітритредуктаз в печінці щурів зросла в 1,36 раза, концентрація пероксинітритів у 1,41 раза, а концентрація нітритів знизилась в 1,22 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили НДЦ ($p < 0,05$). За умов введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту активність нітритредуктаз в печінці щурів зросла в 5,38 раза, нітратредуктаз в 2,98 раза і аргіназ в 1,96 раза, а концентрація пероксинітритів знизилась в 1,25 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

6.3. Вплив нанокристалічного діоксиду церію на показники екстрацелюлярного матриксу печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту

Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до зниження загальної концентрації глікозаміногліканів (ГАГ) в 1,3 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили НДЦ ($p < 0,05$) (таблиця 6.3.1). Введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту знизило загальну концентрацію ГАГ в 1,2 раза по відношенню до групи контролю, в 1,23 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили НДЦ і підвищило в 1,53 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ в печінці щурів за умов введення НДЦ знизилась в 1,12 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до зниження концентрації гепарин-гепаранової фракції ГАГ в 2,06 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили НДЦ ($p < 0,05$). Введення НДЦ на тлі моделювання

хронічного алкогольного гепатиту щурам знизило концентрацію гепарин-гепаранової фракції ГАГ в 1,35 раза по відношенню до групи контролю, в 1,2 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили НДЦ і підвищило в 1,72 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці щурів за умов введення НДЦ підвищилась в 2,93 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці в 1,44 раза по відношенню до групи контролю і знизило концентрацію кератан-дерматанової фракції ГАГ в печінці в 2,03 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили НДЦ і в 2,15 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Таблиця 6.3.1

Біохімічні параметри метаболізму екстрацелюлярного матриксу печінки щурів за умов введення нанокристалічного діоксиду церію на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	НДЦ	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + НДЦ
Загальна концентрація глікозаміно-гліканів, мкмоль/л	$2,62 \pm 0,02$	$2,69 \pm 0,1$	$2,07 \pm 0,02^{*^{\wedge}}$	$2,18 \pm 0,01^{*^{\wedge}\#}$
Концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ, мкмоль/л	$1,81 \pm 0,02$	$1,61 \pm 0,03^{*}$	$0,78 \pm 0,01^{*^{\wedge}}$	$1,34 \pm 0,006^{*^{\wedge}\#}$

1	2	3	4	5
Концентрація кератан- дерматанової фракції ГАГ, мкмоль/л	0,27±0,004	0,79±0,045*	0,84±0,009*	0,39±0,005*^#
Концентрація хондроїтинової фракції ГАГ, мкмоль/л	0,59±0,009	0,34±0,06*	0,49±0,006*	0,22±0,009*#
Концентрація вільного оксипроліну, мкмоль/г	1,28±0,02	1,19±0,01*	2,88±0,05*^	1,83±0,02*^#
Концентрація сіалових кислот, мг/г	1,26±0,04	3,35±0,06*	7,67±0,02*^	4,13±0,2*^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили НДЦ; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. НДЦ – нанокристалічний діоксид церію.

Концентрація хондроїтинової фракції ГАГ в печінці щурів за умов введення НДЦ знизилась в 1,74 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам знизило концентрацію хондроїтинової фракції ГАГ в печінці в 2,68 раза по відношенню до групи контролю, в 2,23 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Концентрація вільного оксипроліну в печінці щурів за умов введення НДЦ знизилась в 1,08 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення

концентрація вільного оксипроліну в печінці щурів у 2,42 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили НДЦ ($p<0,05$). Введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію вільного оксипроліну в печінці щурів у 2,25 раза по відношенню до групи контролю, в 2,42 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили НДЦ і знизило в 1,57 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p<0,05$).

Концентрація сіалових кислот в печінці щурів за умов введення НДЦ підвищилась в 2,66 раза по відношенню до контрольної групи тварин ($p<0,05$). Моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до підвищення концентрація сіалових кислот в печінці щурів у 2,29 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили НДЦ ($p<0,05$). Введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту щурам підвищило концентрацію сіалових кислот в печінці щурів у 3,28 раза по відношенню до групи контролю, в 1,23 раза по відношенню до групи тварин, яким вводили НДЦ і знизило концентрацію сіалових кислот в 1,86 раза по відношенню до групи тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p<0,05$).

6.4. Морфометричні та патоморфологічні зміни судин печінкової часточки за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту та впливу нанокристалічного діоксиду церію

Патоморфологічні зміни в печінковій часточці щурів за умов введення нанокристалічного діоксиду церію на тлі хронічного алкогольного гепатиту на рис. 6.4.1 та рис. 6.4.2.

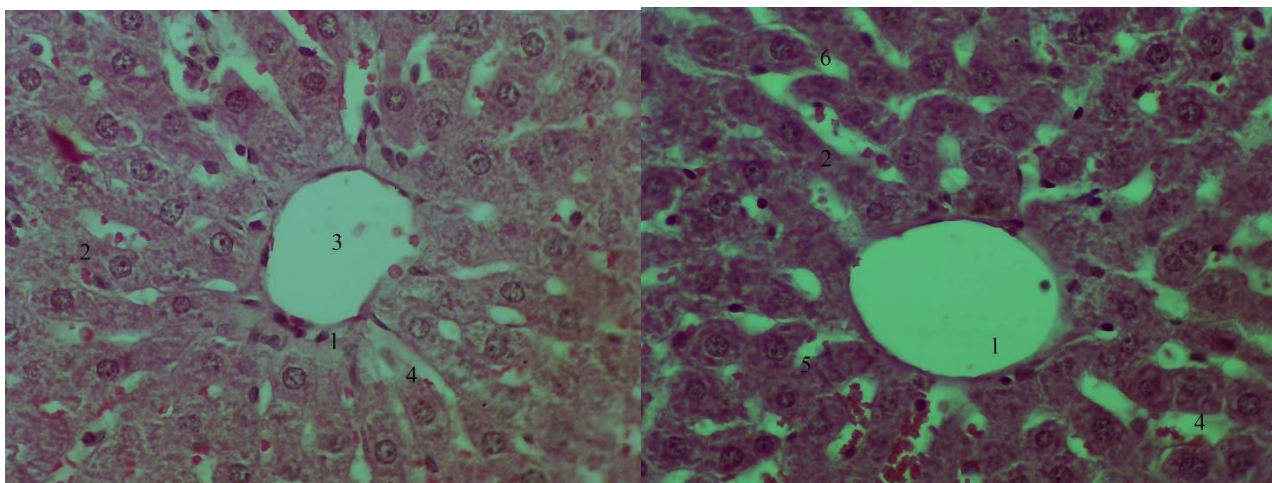


Рис. 6.4.1. Центральна зона печінкової часточки щурів за умов впливу НДЦ (А) та при хронічному алкогольному гепатиті та введенні НДЦ (Б). Мікрофото. Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення x 400.

1 – центральна вена. 2 – печінкові балки. 3 – запусніння у центральній вені. 4 – синусоїдний капіляр. 5 – гомогенізація цитоплазми гепатоцитів. 6 – підвищення оптичної щільності цитоплазми гепатоцитів.

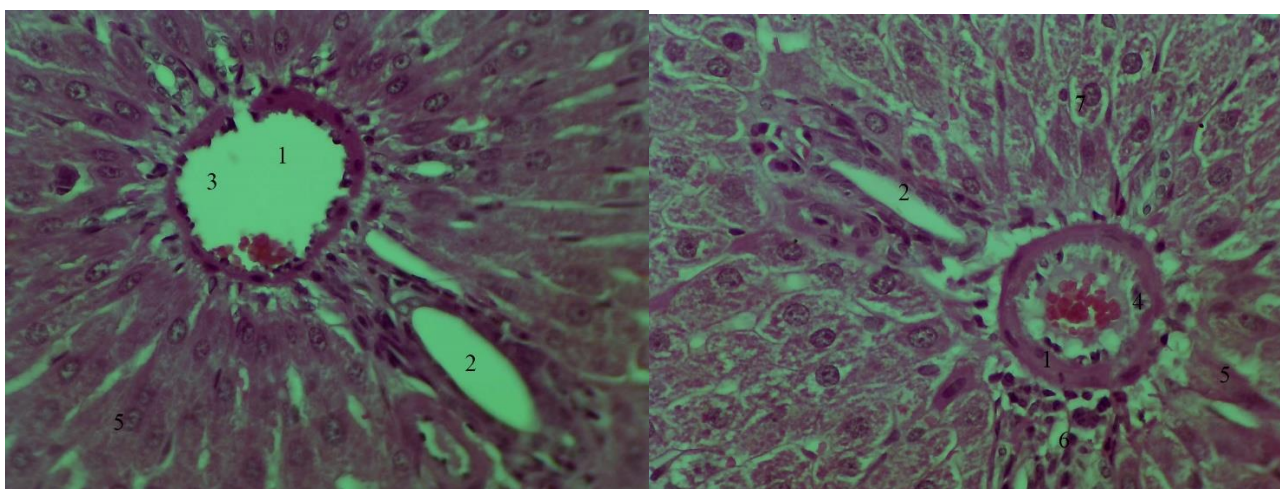


Рис. 6.4.2. Периферична зона печінкової часточки щурів за умов впливу НДЦ (А) та при хронічному алкогольному гепатиті та введенні НДЦ (Б). Мікрофото. Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення x 400.

1 – міжчасточкова артерія. 2 – жовчна протока. 3 – запусніння у міжчасточковій артерії. 4 – стаз еритроцитів у міжчасточковій артерії. 5 – гомогенізація цитоплазми гепатоцитів. 6 – лейкоцитарний інфільтрат. 7 – вакуолізація цитоплазми гепатоцитів.

За результатами морфометричних досліджень встановлено, що за умов введення НДЦ щурам діаметр синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки збільшився в 1,09 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$) (таблиця 6.4.1). Діаметр синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки щурів збільшився за умов введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) в 1,1 раза порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Таблиця 6.4.1

Морфометричні показники судинного русла печінки щурів за умов введення нанокристалічного діоксиду церію на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Параметри	Групи			
	Контроль	НДЦ	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + НДЦ
1	2	3	4	5
Просвіт синусоїдних капілярів центральної зони печінкової часточки, мкм	6,8±0,25	7,4±0,18*	7,31±0,15	7,23±0,16
Просвіт синусоїдних капілярів периферичної зони печінкової часточки, мкм	5,86±0,15	5,99±0,17	5,75±0,17	6,31±0,17 [#]

1	2	3	4	5
Внутрішній діаметр центральных вен, мкм	57,39±1,35	58,89±1,39	66,46±1,27*^	60,76±1,29 [#]
Внутрішній діаметр міжчасточкових артерій, мкм	34,81±1,61	23,38±0,42*	15,87±0,79*^	27,86±0,89*^ [#]
Внутрішній діаметр часточкових артеріол, мкм	9,97±0,49	15,0±0,24*	6,67±0,41*^	14,49±0,26* [#]
Внутрішній діаметр часточкових венул, мкм	18,2±0,61	16,44±0,51*	8,37±0,2*^	19,04±0,45^ [#]
Внутрішній діаметр міжчасточкових вен, мкм	42,35±1,66	62,53±2,22*	25,66±2,42*^	49,1±1,6*^ [#]

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили НДЦ; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. НДЦ – нанокристалічний діоксид церію.

За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр просвіту центральних вен печінкової часточки щурів збільшився в 1,13 раза порівняно з групою щурів, яким вводили НДЦ ($p < 0,05$). За умов введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр центральних вен

печінкової часточки щурів зменшився в 1,09 раза порівняно з групою тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту міжчасточкових артерій печінки щурів зменшився за умов введення НДЦ в 1,49 раза порівняно з тваринами групи контролю ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту міжчасточкових артерій печінки щурів зменшився в 1,47 раза порівняно з групою тварин, яким вводили НДЦ ($p < 0,05$). За умов введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр міжчасточкових артерій печінки щурів зменшився в 1,25 раза порівняно з контролем і збільшився в 1,19 раза порівняно з групою тварин, яким вводили НДЦ та в 1,76 раза порівняно з групою тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів збільшився за умов введення НДЦ в 1,5 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів зменшився в 2,25 раза порівняно з групою тварин, яким вводили НДЦ ($p < 0,05$). За умов введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр просвіту артеріол печінкової часточки щурів збільшився в 1,45 раза порівняно контролем і в 2,17 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів зменшився за умов введення НДЦ в 1,11 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів зменшився в 1,96 раза порівняно з групою тварин, яким вводили НДЦ ($p < 0,05$). За умов введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр просвіту венул печінкової часточки щурів збільшився в 1,16 раза порівняно з групою тварин, яким вводили НДЦ і в 2,27 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Діаметр просвіту міжчасточкових вен печінки щурів збільшився за умов введення НДЦ в 1,48 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За умов моделювання

хронічного алкогольного гепатиту (63 доба) діаметр просвіту міжчасточкових вен печінки щурів зменшився в 2,44 рази порівняно з групою тварин, яким вводили НДЦ ($p < 0,05$). За умов введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту діаметр просвіту міжчасточкових вен печінки щурів збільшився в 1,16 рази порівняно з контролем і в 1,91 рази порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит, та зменшився в 1,27 рази порівняно з групою тварин, яким вводили НДЦ ($p < 0,05$).

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях [411, 416] і тезах [4, 7, 11, 14].

РОЗДІЛ 7. МЕТАБОЛІЗМ H_2S ЗА УМОВ ДІЇ МОДУЛЯТОРІВ NF- κ B, АМФ-АКТИВОВАНОЇ ПРОТЕЇНКІНАЗИ ТА НАНОКРИСТАЛІЧНОГО ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ ЗА УМОВ АЛКОГОЛЬНОГО УШКОДЖЕННЯ ПЕЧІНКИ

7.1. Вплив модуляторів транскрипційного фактору NF- κ B на показники метаболізму H_2S в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту

Концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів за умов введення амоній піролідіндітіокарбамату (ПДТК) зросла в 1,43 раза, сульфат аніонів (SO_3^{2-}) в 1,3 раза і зменшилась концентрація біотіолів (R-SH) у 1,04 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$) (таблиця 7.1.1.). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів підвищилася в 2,08 раза, сульфат аніонів (SO_3^{2-}) в 1,69 раза і біотіолів (R-SH) у 1,06 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). У порівнянні з групою тварин, яким вводили ПДТК концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів у групі тварин з хронічним алкогольним гепатитом підвищилася в 1,45 раза, сульфат аніонів (SO_3^{2-}) в 1,31 раза і біотіолів (R-SH) у 1,1 раза ($p < 0,05$).

За умов інгібування NF- κ B ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів знизилась в 3,21 раза, а сульфат аніонів (SO_3^{2-}) підвищилась в 1,34 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За цих же умов концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів знизилась в 4,59 раза, а біотіолів (R-SH) підвищилась в 1,05 раза порівняно з тваринами, яким вводили ПДТК ($p < 0,05$). За умов введення ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів знизилась в 6,67 раза, сульфат аніонів (SO_3^{2-}) в 1,26 раза і біотіолів у 1,05 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Таблиця 7.1.1

Біохімічні параметри метаболізму H_2S в печінці щурів за умов інгібування NF- κ B на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	ПДТК	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + ПДТК
Концентрація сульфід аніонів (S^{2-}), мкмоль / г	7,23 $\pm$ 0,17	10,32 $\pm$ 0,24*	15,01 $\pm$ 0,32*^	2,25 $\pm$ 0,35*^#
Концентрація сульфід аніонів (SO_3^{2-}), мкмоль / г	0,237 $\pm$ 0,007	0,307 $\pm$ 0,004*	0,401 $\pm$ 0,007*^	0,318 $\pm$ 0,004**
Концентрація біотіолів (R-SH), мкмоль / г	22,92 $\pm$ 0,03	22,09 $\pm$ 0,03*	24,35 $\pm$ 0,04*^	23,15 $\pm$ 0,07^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили ПДТК; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. ПДТК – амоній піролідіндітіокарбамат.

Концентрація сульфід аніонів (SO_3^{2-}) в печінці щурів за умов введення ліпополісахариду *S. Typhi* (ЛПС) підвищилась в 1,48 раза, біотіолів (R-SH) у 1,02 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$) (таблиця 7.1.2.). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів підвищилася в 2,05 раза, сульфід аніонів (SO_3^{2-}) в 1,14 раза і біотіолів (R-SH) у 1,04 раза порівняно з групою тварин, яким вводили ЛПС ($p < 0,05$).

Таблиця 7.1.2

Біохімічні параметри метаболізму H_2S в печінці щурів за умов активації NF- κ B на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	ЛПС	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + ЛПС
Концентрація сульфід аніонів (S^{2-}), мкмоль / г	7,23 $\pm$ 0,17	7,31 $\pm$ 0,19	15,01 $\pm$ 0,32*^	5,03 $\pm$ 0,53*^#
Концентрація сульфід аніонів (SO_3^{2-}), мкмоль / г	0,237 $\pm$ 0,007	0,351 $\pm$ 0,004*	0,401 $\pm$ 0,007*^	0,437 $\pm$ 0,006*^#
Концентрація біотіолів (R-SH), мкмоль / г	22,92 $\pm$ 0,03	23,37 $\pm$ 0,03*	24,35 $\pm$ 0,04*^	25,32 $\pm$ 0,04*^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили ЛПС; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. ЛПС – ліпополісахарид *S. Typhi*.

За умов активації NF- κ B ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів знизилась в 1,44 раза, а сульфід аніонів (SO_3^{2-}) підвищилась в 1,84 раза і біотіолів (R-SH) у 1,1 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За цих же умов концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів знизилась в 1,45 раза, а сульфід аніонів (SO_3^{2-}) підвищилась в 1,25 раза і біотіолів (R-SH) у 1,08 раза порівняно з тваринами, яким вводили ЛПС

($p < 0,05$). За умов введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів знизилась в 2,98 рази, а сульфат аніонів (SO_3^{2-}) підвищилась в 1,09 рази і біотіолів (R-SH) у 1,04 рази порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

7.2. Показники обміну H_2S в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту та дії модуляторів АМФ-активованої протеїнкінази

Концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів за умов введення доксорубіцину підвищилась в 1,35 рази, сульфат аніонів (SO_3^{2-}) в 1,19 рази і біотіолів (R-SH) у 1,03 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$) (таблиця 7.2.1.). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів підвищилась в 1,54 рази, сульфат аніонів (SO_3^{2-}) в 1,42 рази і біотіолів (R-SH) у 1,03 рази порівняно з групою тварин, яким вводили доксорубіцин ($p < 0,05$).

За умов інгібування АМФ-активованої протеїнкінази доксорубіцином на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація сульфат аніонів (SO_3^{2-}) в печінці щурів підвищилась в 1,38 рази, а біотіолів (R-SH) знизилась в 1,07 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). За цих же умов концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів знизилась в 1,36 рази і біотіолів (R-SH) в 1,1 рази, а концентрація сульфат аніонів (SO_3^{2-}) підвищилась в 1,16 рази порівняно з тваринами, яким вводили доксорубіцин ($p < 0,05$). За умов введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів знизилась в 2,11 рази, сульфат аніонів (SO_3^{2-}) в 1,22 рази і біотіолів у 1,14 рази порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

Таблиця 7.2.1

Біохімічні параметри метаболізму H_2S в печінці щурів за умов інгібування АМФ-активованої протеїнкінази на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $\text{M} \pm \text{m}$

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	Доксорубіцин	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + Доксорубіцин
Концентрація сульфід аніонів (S^{2-}), мкмоль / г	7,23 $\pm$ 0,17	9,73 $\pm$ 0,34*	15,01 $\pm$ 0,32*^	7,13 $\pm$ 0,65^#
Концентрація сульфід аніонів (SO_3^{2-}), мкмоль / г	0,237 $\pm$ 0,007	0,282 $\pm$ 0,003*	0,401 $\pm$ 0,007*^	0,328 $\pm$ 0,003*^#
Концентрація біотіолів (R-SH), мкмоль / г	22,92 $\pm$ 0,03	23,56 $\pm$ 0,03*	24,35 $\pm$ 0,04*^	21,42 $\pm$ 0,06*^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили Доксорубіцин; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит.

Концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів за умов введення фенформіну підвищилась в 3,8 раза, сульфід аніонів (SO_3^{2-}) в 1,22 раза, біотіолів (R-SH) у 1,06 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$) (таблиця 7.2.2.). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів знизилась в 1,83 раза, а сульфід аніонів (SO_3^{2-}) підвищилась в 1,39 раза порівняно з групою тварин, яким вводили фенформін ($p < 0,05$).

Таблиця 7.2.2

**Біохімічні параметри метаболізму H_2S в печінці щурів за умов активації
АМФ-активованої протеїнкінази на тлі моделювання хронічного
алкогольного гепатиту, $M \pm m$**

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	Фенформін	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + Фенформін
Концентрація сульфід аніонів (S^{2-}), мкмоль / г	7,23±0,17	27,47±0,89*	15,01±0,32*^	38,38±1,15*^#
Концентрація сульфід аніонів (SO_3^{2-}), мкмоль / г	0,237±0,007	0,289±0,007*	0,401±0,007*^	0,217±0,006^#
Концентрація біотіолів (R-SH), мкмоль / г	22,92±0,03	24,24±0,06*	24,35±0,04*	23,42±0,02*^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили фенформін; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит.

За умов активації АМФ-активованої протеїнкінази фенформіном на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів підвищилась в 5,31 раза і біотіолів (R-SH) у 1,02 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За цих же умов концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів підвищилась в 1,4 раза, а сульфід аніонів (SO_3^{2-}) знизилась в 1,33 раза і біотіолів (R-SH) у 1,04 раза порівняно з тваринами, яким вводили

фенформін ($p < 0,05$). За умов введення фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів підвищилась в 2,56 раза, а сульфат аніонів (SO_3^{2-}) знизилась в 1,85 раза і біотіолів (R-SH) у 1,04 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

7.3. Вплив нанокристалічного діоксиду церію на метаболізм H_2S в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту

Концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів за умов введення нанокристалічного діоксиду церію (НДЦ) підвищилась в 1,37 раза, сульфат аніонів (SO_3^{2-}) в 1,27 раза і знизилась концентрація біотіолів (R-SH) у 1,02 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$) (таблиця 7.3.1.). За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів підвищилась в 1,51 раза, сульфат аніонів (SO_3^{2-}) в 1,33 раза і біотіолів (R-SH) у 1,09 раза порівняно з групою тварин, яким вводили НДЦ ($p < 0,05$).

Таблиця 7.3.1

Біохімічні параметри метаболізму H_2S в печінці щурів за умов введення нанокристалічного діоксиду церію на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, $M \pm m$

Біохімічні параметри	Групи			
	Контроль	НДЦ	Хронічний алкогольний гепатит	Хронічний алкогольний гепатит + НДЦ
1	2	3	4	5
Концентрація сульфід аніонів (S^{2-}), мкмоль / г	$7,23 \pm 0,17$	$9,94 \pm 0,1^*$	$15,01 \pm 0,32^{*^{\wedge}}$	$10,28 \pm 0,72^{*^{\#}}$

1	2	3	4	5
Концентрація сульфід аніонів (SO_3^{2-}), мкмоль / г	0,237±0,007	0,302±0,002*	0,401±0,007*^	0,36±0,001*^#
Концентрація біотіолів (R-SH), мкмоль / г	22,92±0,03	22,43±0,03*	24,35±0,04*^	23,27±0,07*^#

Примітки: * - $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою щурів; ^ - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким вводили НДЦ; # - $p < 0,05$ порівняно з групою щурів, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит. НДЦ – нанокристалічний діоксид церію.

За умов введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів підвищилась в 1,42 раза, сульфід аніонів (SO_3^{2-}) в 1,52 раза і біотіолів (R-SH) у 1,02 раза порівняно з контролем ($p < 0,05$). За цих же умов концентрація в печінці щурів сульфід аніонів (SO_3^{2-}) підвищилась в 1,19 раза і біотіолів (R-SH) у 1,04 раза порівняно з тваринами, яким вводили НДЦ ($p < 0,05$). За умов введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація сульфід аніонів (S^{2-}) в печінці щурів знизилась в 1,46 раза, сульфід аніонів (SO_3^{2-}) в 1,11 раза і біотіолів (R-SH) у 1,05 раза порівняно зі щурами, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит ($p < 0,05$).

7.4. Кореляційний аналіз концентрації сульфід аніонів (S^{2-}) відносно показників прооксидантно / антиоксидантної системи, параметрів метаболізму оксиду азота і маркерів обміну екстрацелюлярного матриксу печінки

В контрольній групі тварин статистично значущих кореляційних співвідношень між концентрацією сульфід аніону та іншими біохімічними

параметрами не виявлено. В групі введення ПДТК виявили, що сульфід аніон прямопропорційно сильно корелює з активністю аргіназ і обернено пропорційно сильно корелює з показником продукції супероксид аніон-радикалів і концентрацією хондроїтинової фракції глікозаміногліканів (таблиця 7.4.1).

В групі щурів з хронічним алкогольним гепатитом виявили, що сульфід аніон обернено пропорційно сильно корелює з концентрацією нітритів, вільного оксипроліну та активністю аргіназ.

За умов введення ПДТК на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту встановлено, що сульфід аніон прямопропорційно сильно корелює з концентрацією пероксинітритів і концентрацією хондроїтинової фракції глікозаміногліканів та обернено пропорційно сильно корелює з концентрацією МДА, вільного оксипроліну і сіалових кислот.

Таблиця 7.4.1

Кореляційний аналіз біохімічних показників печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту та інгібування транскрипційного фактора NF-κB амоній піролідіндітіокарбаматом

Біохімічні параметри	Групи							
	Контроль		ПДТК		Хронічний алкогольний гепатит		Хронічний алкогольний гепатит + ПДТК	
	Rho	P	Rho	P	Rho	P	Rho	P
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / активність каталази	0,739	0,09	-0,485	0,33	-0,243	0,64	0,254	0,63

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / активність СОД	-0,739	0,09	-0,77	0,07	-0,176	0,74	0,5	0,31
Концентрація сульфід аніонів / продукція супероксид аніон-радикалу	0	1	-0,985	0,0003	-0,179	0,73	0,5	0,31
Концентрація сульфід аніонів / концентрація МДА	-0,134	0,8	0,5	0,31	-0,7	0,12	$r^2 = -0,92^*$	0,0097
Концентрація сульфід аніонів / вміст ОМБ	0,618	0,19	-0,12	0,82	-0,582	0,23	-0,5	0,31
Концентрація сульфід аніонів / активність індукцибельних NO-синтаз	0,088	0,87	-0,485	0,33	-0,203	0,7	-0,728	0,1
Концентрація сульфід аніонів / активність конститутивних NO-синтаз	0,045	0,93	0,485	0,33	0,029	0,96	-0,485	0,33

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / активність нітритредуктаз	-0,265	0,61	-0,14	0,78	0,348	0,5	-0,478	0,34
Концентрація сульфід аніонів / активність нітратредуктаз	-0,618	0,19	-0,232	0,66	0,406	0,42	-0,359	0,49
Концентрація сульфід аніонів / концентрація пероксинітритів	0,091	0,86	0,552	0,26	-0,696	0,12	$r^2=0,9998^*$	$4,9 \cdot 10^{-8}$
Концентрація сульфід аніонів / концентрація нітрозотіолів	-0,088	0,87	-0,485	0,33	0,667	0,15	0,478	0,34
Концентрація сульфід аніонів / концентрація NO ₂	0,091	0,86	0	1	-0,882	0,02	0,5	0,31
Концентрація сульфід аніонів / активність аргіназ	0,177	0,74	0,986	0,0003	-0,812	0,0499	0,717	0,12

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ	-0,739	0,09	-0,412	0,42	-0,294	0,57	0,5	0,31
Концентрація сульфід аніонів / концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ	-0,739	0,09	0,708	0,12	-0,176	0,74	-0,5	0,31
Концентрація сульфід аніонів / концентрація хондроїтинової фракції ГАГ	-0,739	0,09	$r^2 = -0,86^*$	0,029	-0,35	0,49	$r^2 = 0,84^*$	0,038
Концентрація сульфід аніонів / Концентрація вільного оксипроліну	0,739	0,09	-0,044	0,93	-0,912	0,01	$r^2 = -0,94^*$	0,006
Концентрація сульфід аніонів / концентрація сіалових кислот	-0,582	0,23	-0,627	0,18	-0,09	0,87	-0,96	0,003

* - коефіцієнт кореляції рахували за Пірсоном (r^2)

В групі введення ЛПС статистично значущих кореляційних співвідношень між концентрацією сульфід аніону та іншими біохімічними параметрами не виявлено (таблиця 7.4.2).

За умов введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту встановлено, що сульфід аніон обернено пропорційно сильно корелює з показником продукції супероксид аніон-радикалів, концентрацією МДА, ОМБ, пероксинітриту, хондроїтиною фракцією глікозаміногліканів, вільного оксипроліну і активністю конститутивних ізоформ NO-синтаз.

Таблиця 7.4.2

Кореляційний аналіз біохімічних показників печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту та активації транскрипційного фактора NF-κB бактеріальним ліпополісахаридом *S. Typhi*

Біохімічні параметри	Групи							
	Контроль		ЛПС		Хронічний алкогольний гепатит		Хронічний алкогольний гепатит + ЛПС	
	Rho	P	Rho	P	Rho	P	Rho	P
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / активність каталази	0,739	0,09	-0,788	0,06	-0,243	0,64	-0,5	0,31

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / активність СОД	-0,739	0,09	-0,34	0,51	-0,176	0,74	0,64	0,18
Концентрація сульфід аніонів / продукція супероксид аніон-радикалу	0	1	-0,746	0,088	-0,179	0,73	-0,98	0,0003
Концентрація сульфід аніонів / концентрація МДА	-0,134	0,8	0,66	0,15	-0,7	0,12	$r^2 = -0,86^*$	0,027
Концентрація сульфід аніонів / вміст ОМБ	0,618	0,19	0,058	0,91	-0,582	0,23	$r^2 = -0,94^*$	0,005
Концентрація сульфід аніонів / активність індукцибельних NO-синтаз	0,088	0,87	0,788	0,06	-0,203	0,7	0,5	0,3
Концентрація сульфід аніонів / активність конститутивних NO-синтаз	0,045	0,93	0,788	0,06	0,029	0,96	$r^2 = -0,93^*$	0,007

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / активність нітритредуктаз	-0,265	0,61	-0,32	0,54	0,348	0,5	0,478	0,34
Концентрація сульфід аніонів / активність нітратредуктаз	-0,618	0,19	0,319	0,54	0,406	0,42	0,358	0,49
Концентрація сульфід аніонів / концентрація пероксинітритів	0,091	0,86	-0,783	0,07	-0,696	0,12	$r^2 =$ -0,97*	0,001
Концентрація сульфід аніонів / концентрація нітрозотіолів	-0,088	0,87	0,67	0,15	0,667	0,15	-0,5	0,31
Концентрація сульфід аніонів / концентрація NO ₂	0,091	0,86	0,32	0,54	-0,882	0,02	-0,5	0,31
Концентрація сульфід аніонів / активність аргіназ	0,177	0,74	0,029	0,96	-0,812	0,0499	0,5	0,31

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ	-0,739	0,09	0,412	0,42	-0,294	0,57	$r^2 = -0,75^*$	0,08
Концентрація сульфід аніонів / концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ	-0,739	0,09	-0,67	0,15	-0,176	0,74	-0,5	0,31
Концентрація сульфід аніонів / концентрація хондроїтинової фракції ГАГ	-0,739	0,09	-0,5	0,31	-0,35	0,49	$r^2 = -0,93^*$	0,008
Концентрація сульфід аніонів / Концентрація вільного оксипроліну	0,739	0,09	-0,63	0,18	-0,912	0,01	$r^2 = -0,999^*$	$3,07 \cdot 10^{-6}$
Концентрація сульфід аніонів / концентрація сіалових кислот	-0,582	0,23	0,058	0,91	-0,09	0,87	-0,75	0,086

* - коефіцієнт кореляції рахували за Пірсоном (r^2)

В групі тварин, яким вводили доксірубіцин виявили, що концентрація сульфід аніону прямопропорційно сильно корелює з концентрацією нітритів. В

групі щурів, яким вводили доксірубіцин на тлі хронічного алкогольного гепатиту виявили, що сульфід аніон обернено пропорційно сильно корелює з концентрацією нітрозотіолів, вільного оксипроліну та гепарин-гепаранової фракції глікозаміногліканів. В групі тварин, яким вводили доксірубіцин на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту також виявили, що сульфід аніон прямопропорційно сильно корелює з активністю конститутивних NO-синтаз, нітритредуктаз, нітратредуктаз та концентрацією кератан-дерматанової фракції глікозаміногліканів (таблиця 7.4.3).

Таблиця 7.4.3

Кореляційний аналіз біохімічних показників печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту та інгібування активації АМФ-активованої протеїнкінази доксорубіцином

Біохімічні параметри	Групи							
	Контроль		Доксорубіцин		Хронічний алкогольний гепатит		Хронічний алкогольний гепатит + Доксорубіцин	
	Rho	P	Rho	P	Rho	P	Rho	P
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / активність каталази	0,739	0,09	0,377	0,46	-0,243	0,64	0,543	0,27
Концентрація сульфід аніонів / активність СОД	-0,739	0,09	-0,478	0,34	-0,176	0,74	-0,478	0,34

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / продукція супероксид аніон-радикалу	0	1	0,478	0,34	-0,179	0,73	0,478	0,34
Концентрація сульфід аніонів / концентрація МДА	-0,134	0,8	0,377	0,46	-0,7	0,12	-0,714	0,11
Концентрація сульфід аніонів / вміст ОМБ	0,618	0,19	-0,429	0,4	-0,582	0,23	0,406	0,42
Концентрація сульфід аніонів / активність індуцибельних NO-синтаз	0,088	0,87	-0,486	0,33	-0,203	0,7	0,586	0,33
Концентрація сульфід аніонів / активність конститутивних NO-синтаз	0,045	0,93	-0,486	0,33	0,029	0,96	0,943	0,004
Концентрація сульфід аніонів / активність нітритредуктаз	-0,265	0,61	0,429	0,4	0,348	0,5	0,943	0,005

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / активність нітратредуктаз	-0,618	0,19	0,429	0,4	0,406	0,42	0,943	0,005
Концентрація сульфід аніонів / концентрація пероксинітритів	0,091	0,86	0,429	0,4	-0,696	0,12	-0,2	0,7
Концентрація сульфід аніонів / концентрація нітрозотіолів	-0,088	0,87	0,371	0,47	0,667	0,15	-0,986	0,0003
Концентрація сульфід аніонів / концентрація NO ₂	0,091	0,86	0,828	0,04	-0,882	0,02	-0,478	0,34
Концентрація сульфід аніонів / активність аргіназ	0,177	0,74	-0,429	0,4	-0,812	0,0499	0,486	0,33
Концентрація сульфід аніонів / концентрація гепарин- гепаранової фракції ГАГ	-0,739	0,09	-0,429	0,4	-0,294	0,57	-0,886	0,02

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ	-0,739	0,09	-0,319	0,54	-0,176	0,74	0,89	0,02
Концентрація сульфід аніонів / концентрація хондроїтинової фракції ГАГ	-0,739	0,09	-0,43	0,4	-0,35	0,49	-0,54	0,27
Концентрація сульфід аніонів / Концентрація вільного оксипроліну	0,739	0,09	0,429	0,4	-0,912	0,01	-0,943	0,005
Концентрація сульфід аніонів / концентрація сіалових кислот	-0,582	0,23	-0,088	0,87	-0,09	0,87	0,429	0,4

В групі тварин яким вводили фенформін виявили, що концентрація сульфід аніону обернено пропорційно сильно корелює з активністю супероксиддисмутази та концентрацією кератан-дерматанової фракції глікозаміногліканів (таблиця 7.4.4).

В групі тварин, яким вводили фенформін на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту виявили, що сульфід аніон обернено пропорційно сильно корелює з продукцією супероксид-аніон радикалу, концентрацією малонового

діальдегіду і хондроїтинової фракції глікозаміногліканів та активністю конститутивних NO-синтаз, нітрит-редуктаз, нітрат-редуктаз та аргіназ.

В групі щурів, яким вводили фенформін на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту також виявили, що сульфід аніон прямопропорційно сильно корелює з концентрацією пероксинітриту та кератан-дерматанової фракції глікозаміногліканів.

Таблиця 7.4.4

Кореляційний аналіз біохімічних показників печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту та активації АМФ-активованої протеїнкінази фенформіном

Біохімічні параметри	Групи							
	Контроль		Фенформін		Хронічний алкогольний гепатит		Хронічний алкогольний гепатит + Фенформін	
	Rho	P	Rho	P	Rho	P	Rho	P
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / активність каталази	0,739	0,09	-0,029	0,96	-0,243	0,64	-0,319	0,54
Концентрація сульфід аніонів / активність СОД	-0,739	0,09	-0,828	0,04	-0,176	0,74	-0,478	0,34

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / продукція супероксид аніон-радикалу	0	1	0,478	0,34	-0,179	0,73	-0,956	0,003
Концентрація сульфід аніонів / концентрація МДА	-0,134	0,8	-0,429	0,4	-0,7	0,12	-0,886	0,02
Концентрація сульфід аніонів / вміст ОМБ	0,618	0,19	0,696	0,12	-0,582	0,23	0,6	0,21
Концентрація сульфід аніонів / активність індуцибельних NO-синтаз	0,088	0,87	0,486	0,33	-0,203	0,7	-0,543	0,27
Концентрація сульфід аніонів / активність конститутивних NO-синтаз	0,045	0,93	0,486	0,33	0,029	0,96	-0,947*	0,004
Концентрація сульфід аніонів / активність нітритредуктаз	-0,265	0,61	0,6	0,21	0,348	0,5	-0,996*	0,001

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / активність нітратредуктаз	-0,618	0,19	0,486	0,33	0,406	0,42	-0,947*	0,004
Концентрація сульфід аніонів / концентрація пероксинітритів	0,091	0,86	-0,714	0,11	-0,696	0,12	0,943	0,005
Концентрація сульфід аніонів / концентрація нітрозотіолів	-0,088	0,87	-0,116	0,83	0,667	0,15	0,754	0,08
Концентрація сульфід аніонів / концентрація NO ₂	0,091	0,86	0	1	-0,882	0,02	-0,478	0,34
Концентрація сульфід аніонів / активність аргіназ	0,177	0,74	0,486	0,33	-0,812	0,0499	-0,83	0,04
Концентрація сульфід аніонів / концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ	-0,739	0,09	0,66	0,16	-0,294	0,57	0,543	0,27

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / концентрація кератан-дерматанової фракції ГАГ	-0,739	0,09	-0,986	0,0003	-0,176	0,74	0,94	0,005
Концентрація сульфід аніонів / концентрація хондроїтинової фракції ГАГ	-0,739	0,09	0,66	0,16	-0,35	0,49	-0,94	0,004
Концентрація сульфід аніонів / Концентрація вільного оксипроліну	0,739	0,09	0,657	0,16	-0,912	0,01	-0,486	0,33
Концентрація сульфід аніонів / концентрація сіалових кислот	-0,582	0,23	0,086	0,87	-0,09	0,87	-0,412	0,42

* - коефіцієнт кореляції рахували за Пірсоном (r^2)

В групі тварин яким вводили НДЦ виявили, що концентрація сульфід аніону обернено пропорційно сильно корелює з активністю супероксиддисмутази та аргінази і концентрацією нітрозотіолів та прямо пропорційно сильно корелює з концентрацією ОМБ та активністю конститутивних NO-синтази і нітрит- та нітратредуктази (таблиця 7.4.5).

Таблиця 7.4.5

**Кореляційний аналіз біохімічних показників печінки щурів за умов
моделювання хронічного алкогольного гепатиту та введення
нанокристалічного діоксиду церію**

Біохімічні параметри	Групи							
	Контроль		НДЦ		Хронічний алкогольний гепатит		Хронічний алкогольний гепатит + НДЦ	
	Rho	P	Rho	P	Rho	P	Rho	P
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / активність каталази	0,739	0,09	0,486	0,33	-0,243	0,64	0,319	0,54
Концентрація сульфід аніонів / активність СОД	-0,739	0,09	-0,96	0,003	-0,176	0,74	0,956	0,003
Концентрація сульфід аніонів / продукція супероксид аніон-радикалу	0	1	-0,956	0,003	-0,179	0,73	-0,956	0,003
Концентрація сульфід аніонів / концентрація МДА	-0,134	0,8	-0,486	0,33	-0,7	0,12	0,493	0,32

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / вміст ОМБ	0,618	0,19	0,886	0,019	-0,582	0,23	0,886	0,019
Концентрація сульфід аніонів / активність індуцибельних NO-синтаз	0,088	0,87	0,371	0,47	-0,203	0,7	-0,486	0,33
Концентрація сульфід аніонів / активність конститутивних NO-синтаз	0,045	0,93	0,829	0,04	0,029	0,96	-0,829	0,04
Концентрація сульфід аніонів / активність нітритредуктаз	-0,265	0,61	0,829	0,04	0,348	0,5	-0,6	0,21
Концентрація сульфід аніонів / активність нітратредуктаз	-0,618	0,19	0,829	0,04	0,406	0,42	-0,6	0,21
Концентрація сульфід аніонів / концентрація пероксинітритів	0,091	0,86	-0,486	0,33	-0,696	0,12	$r^2 =$ 0,908*	0,01

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / концентрація нітрозотіолів	-0,088	0,87	-0,886	0,02	0,667	0,15	0,143	0,79
Концентрація сульфід аніонів / концентрація NO ₂	0,091	0,86	0	1	-0,882	0,02	0,48	0,34
Концентрація сульфід аніонів / активність аргіназ	0,177	0,74	-0,943	0,005	-0,812	0,0499	0,429	0,397
Концентрація сульфід аніонів / концентрація гепарин- гепаранової фракції ГАГ	-0,739	0,09	0,486	0,33	-0,294	0,57	-0,371	0,47
Концентрація сульфід аніонів / концентрація кератан- дерматанової фракції ГАГ	-0,739	0,09	-0,429	0,397	-0,176	0,74	-0,58	0,23

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрація сульфід аніонів / концентрація хондроїтинової фракції ГАГ	-0,739	0,09	0,54	0,27	-0,35	0,49	0,49	0,32
Концентрація сульфід аніонів / Концентрація вільного оксипроліну	0,739	0,09	-0,029	0,96	-0,912	0,01	0,486	0,33
Концентрація сульфід аніонів / концентрація сіалових кислот	-0,582	0,23	-0,232	0,66	-0,09	0,87	-0,486	0,33

* - коефіцієнт кореляції рахували за Пірсоном (r^2)

В групі тварин, яким вводили НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту виявили, що сульфід аніон обернено пропорційно сильно корелює з продукцією супероксид-аніон радикалу та активністю конститутивних NO-синтаз. В групі щурів, яким вводили НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту також виявили, що сульфід аніон прямопропорційно сильно корелює з концентрацією пероксинітриту та ОМБ і активністю СОД.

Матеріали цього розділу оприлюдненні в статтях [397, 400, 402, 410, 414] і тезах [15, 17, 18].

РОЗДІЛ 8. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Етанол, одноатомний спирт з низьким ступенем полярності, тому він розчиняється у воді, але менш розчинний у ліпідах. Ця властивість сприяє швидкій дифузії етанолу через біологічні мембрани, дозволяючи в той же час змінювати їх властивості. Етанол може впливати на біліпідний шар фосфоліпідів мембран клітин або органел, таких як мітохондрії чи ендоплазматичний ретикулум. Є також докази прямої взаємодії алкоголю з мембранними білками [134, 235]. Таким чином за даними літератури, хронічне споживання алкоголю призводить до пошкодження органів і функціональних змін, які можна класифікувати як молекулярні, мембрано-ушкоджуючі захворювання, які об'єднують в алкогольну хворобу печінки [568]. В нашому дослідженні підвищення продукції супероксид аніон-радикалу за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту може бути пов'язано з активацією мікросомальної системи окислення етанолу (microsomal ethanol-oxidizing system, MEOS) печінки, основним продуцентом вільних радикалів якої є ізоформа цитохрому P450 2E1 [195, 360]. MEOS складається з цитохрому P450, НАДФН-цитохром P450-редуктази та фосфоліпідів [432]. Хронічне споживання алкоголю індукує MEOS прискорює метаболізм етанолу до ацетальдегіду, що сприяє пошкодженню органів, включаючи печінку, і виробляє через цитохром P450 2E1 багато активних форм кисню (АФК), таких як етокси-радикал, гідроксиетил-радикал, ацетильний радикал, супероксидний радикал, перекис водню, гідроксильний радикал, алкоксильний радикал і пероксильний радикал. Вони атакують гепатоцити, клітини Купфера, зірчасті клітини та синусоїдні ендотеліальні клітини печінки, які продукують у відповідь сигнальні медіатори, такі як інтерлейкіни, інтерферони та фактори росту, що сприяє ушкодженню печінки, розвитку фіброзу і виникненню цирозу [568]. Алкоголь не лише призводить до перекисного окислення ліпідів, але і модифікує мікробіом кишечника, тим самим стимулюючи дію ендотоксинів, що виробляються

кишковими бактеріями; пероксиди ліпідів і ендотоксини є потенційними причинами, які спричиняють алкогольне ураження печінки [431].

Експериментально встановлено, що блокада цитохрому P450 2E1 при надмірному прийомі великих доз етанолу запобігає розвитку алкогольного стеатогепатиту та нормалізує окисно-відновний баланс у печінці [568]. Крім зазначеного вище впливу алкоголю на MEOS, слід також відзначити можливість блокади цитохромів мітохондрій ацетальдегідом, який утворюється в результаті першої реакції розщеплення алкоголю в печінці алкогольдегідрогеназою, MEOS або каталазою. Алкогольдегідрогеназа 2 типу, яка локалізується в мітохондріях печінки, призводить до утворення ацетальдегіду всередині мітохондрій. Ця реакція супроводжується відновленням НАД⁺ і ФАД⁺ до НАДН+Н⁺ і ФАДН₂, що призводить до зміни співвідношення НАДН+Н⁺/НАД⁺ і ФАДН₂/ФАД⁺. Цей зсув окисно-відновного балансу спричиняє накопичення всередині мітохондрій іонів Fe²⁺, які ініціюють реакцію Фентона, утворюючи гідроксильний радикал [126]. В нашому дослідженні, підвищення активності СОД, зниження продукції супероксид аніон-радикалу та концентрації МДА на 5-ту добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту може бути пов'язано з активацією Nrf2 у відповідь на інтенсивне перекисне окислення ліпідів, яке спостерігалось на 3-тю добу експерименту. Відсутність підвищення активності каталази може бути пов'язано як з її здатністю перетворювати етанол в ацетальдегід, так і з можливим використанням гідроген пероксиду в реакції Фентона для утворення гідроксильного радикалу [126, 568]. Вірогідність такого розвитку подій підтверджується високою, відносно контрольної групи, концентрацією МДА на 3 добу експерименту. Очевидно, що активація транскрипції генів антиоксидантів через Nrf2 є недостатньою компенсаторною відповіддю, оскільки не впливає на процеси утворення ацетальдегіду. Більш тривале вживання алкоголю може призводити до активації NF-κB і посилення процесів оксидативного ушкодження гепатоцитів.

Етиловий спирт, при хронічному споживанні, має декілька патогенетичних шляхів збільшення продукції активних форм кисню у печінці. Найбільш

дослідженням та канонічним вважається збільшення продукції супероксидного аніон-радикалу від системи цитохрому P450 при біотрансформації етанолу, а також від MEOS [432]. Іншим шляхом, що призводить до надмірної продукції АФК у печінці, є утворення із етилового спирту ацетальдегіду, який порушує функціонування мітохондрій внаслідок надмірного накопичення відновлених НАДФН+H⁺ та НАДН+H⁺ [436]. Третім патогенетичним механізмом надмірної продукції АФК в печінці за умов хронічного алкогольного гепатиту є активація Купферовських клітин внаслідок транслокації бактерій із кишківника через ворітну вену до печінки [510]. Паралельно із активацією Купферовських клітин можлива активація в гепатоцитах транскрипційного фактору NF-κB, як реакція на бактеріальні ліпополісахариди [486].

Зниження активності каталази у віддалені строки моделювання хронічного алкогольного гепатиту може свідчити про значне збільшення субстрату і виснаження цієї ферментативної системи, так як за умов хронічної алкогольної інтоксикації окрім гідроген пероксиду каталаза знешкоджує етиловий спирт [595].

Зниження концентрації сульфідного аніону на тлі збільшення активності СОД в період з 14 по 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту можна пояснити впливом алкоголю на тіоредоксинову систему, а саме на збільшення експресії білку, що взаємодіє з тіоредоксином стимулюючи реакцію останнього із активними формами кисню [272]. Тому, за умов хронічної алкогольної інтоксикації тіоредоксини можуть брати на себе роль антиоксидантів, що зменшує навантаження на СОД. Нео MJ et al. довели, що алкоголь індукує піроптоз гепатоцитів через надмірну експресію тіоредоксин-взаємодіючого білку, який індукує запалення та сприяє розвитку алкогольного гепатиту [212]. Ендогенний сульфід аніон має виражені антиоксидантні властивості, проте надмірне утворення сульфід аніону з його донорів, таких як NaHS, може призвести до розвитку оксидативного стресу [632]. У нашому дослідженні ми не використовували донори сульфід аніонів, а вивчали пул ендогенних сульфід аніонів. Таким чином, зниження концентрації сульфідного

аніону за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту може бути пов'язано із його використанням в якості антиоксиданта для компенсації надлишкової продукції супероксид аніон-радикалу. Chen LY et al. довели, що H_2S -опосередкований механізм відіграє гепатопротективний вплив на збереження цілісності гепатоцитів за умов етанол-індукованого оксидативного стресу [89].

Таким чином, зростання концентрації МДА та ОМБ за умов розвитку хронічного алкогольного гепатиту, який в нашому дослідженні ми підтверджували маркерами цитолітичного синдрому печінки та характерологічними морфологічними змінами в гепатоцитах, свідчить про розвиток оксидативного ушкодження гепатоцитів причиною чого є збільшення продукції супероксидного аніон-радикалу та порушення в функціонуванні супероксиддисмутазно-каталазної системи.

Хронічне запалення в печінці викликане етанолом розпочинається інфільтрацією поліморфноядерними нейтрофілами її периваскулярних тканин, що супроводжуються підвищенням рівня цитокінів, хемокінів, АФК та посиленням експресії індукцибельної NO-синтази. Лімфоцити також рекрутуються через портальний тракт, синусоїди та печінкову вену. Клітини Купфера та лейкоцити здатні утворювати велику кількість оксиду азоту (NO) і цитокінів, особливо трансформуючий фактор росту- β (TGF- β) і фактор некрозу пухлин- α (TNF- α). Активація зірчастих клітин призводить до збільшення їх проліферації, рухливості, скоротливості та синтезу ЕСМ печінки [125].

Точний механізм активації зірчастих клітин нез'ясований, але ідентифіковано білки асоційовані з їх активацією. Цитокіни відіграють вирішальну роль у формуванні фіброзу. Роль NO у формуванні фіброзу не настільки чітко зрозуміла. У пацієнтів із цирозом печінки підвищений опір портального кровотоку асоціюється з порушенням біодоступності NO [125].

Експериментально було показано, що етанол впливає на продукцію оксиду азоту у щурів. Також, було припущено, що NO має можливий захисний ефект шляхом послаблення шкідливого впливу етанолу на мікроциркуляцію печінки.

Однак хронічне вживання етанолу, може призводить до ураження печінки, викликаного NO. Крім того, було виявлено, що тривале годування щурів етанолом знижує як продукцію оксиду азоту, так і протипухлинну активність клітин Купфера [446].

Більшість активних форм азоту (АФА), знайдених *in vivo*, походять від NO. Не зрозуміло, чи є утворення NO захисним чи ушкоджуючим механізмом за умов розвитку хронічного алкогольного гепатиту. Наприклад, звуження судин печінки, спричинене гострим гепатитом або цирозом печінки, принаймні частково, є наслідком низької продукції NO. Оксид азоту також є антиапоптичним фактором у гепатоцитах і необхідний для нормальної регенерації печінки, також, він може припинити ланцюгові реакції перекисного окислення ліпідів, атакуючи пероксидні радикали ліпідів. Дослідження на підтримку гіпотези, що NO відіграє захисну роль при алкогольних хворобах печінки, показали, що інгібітор NOS - метиловий ефір N(G)-нітро-L-аргініну (L-NAME) загострює експериментальну алкогольну хворобу печінки, і що добавки аргініну усувають пошкодження печінки, спричинене етанолом. Проте NO також відіграє потенційно шкідливу роль у розвитку хронічного алкогольного гепатиту, утворюючи високореакційноздатні речовини, зокрема, пероксинітрит. Ці АФА, отримані з NO, можуть викликати реакції нітрування (наприклад, утворення 3-нітротирозину) і реакції нітрузування (наприклад, утворення нітрозотіолу), а також реакції окислення під час впливу алкоголю. Реакційноздатні проміжні продукти, що утворюються під час пероксинітритної деградації також можуть викликати одноелектронні реакції окислення з етанолом, що призводить до утворення гідроксиетилових радикалів [52].

Таким чином, NO може відігравати подвійну роль при алкогольному ураженні печінки, опосередковуючи як захисні ефекти, так і пошкодження тканин через надмірну продукцію АФА. Ці події *in vivo* критично залежать від типу клітини, ізоформи NOS та стадії захворювання.

В нашому дослідженні на першу добу введення етанолу загальна активність NO-синтаз збільшується за рахунок індукцибельної ізоформи, що призводить до

збільшення концентрації нітрозотіолів на тлі зменшення концентрації нітритів і пероксинітритів без змін активності аргіназ, нітрит- і нітратредуктаз, що свідчить про збереження функції детоксикації аміаку. Такий перерозподіл оксиду азоту, а саме зменшення пероксинітриту на тлі збільшення нітрозотіолів, може свідчити про активацію регенерації печінки після ушкодження алкоголем. За даними Carnovale CE et al. оксид азоту може сприяти регенерації печінки після гепатектомії шляхом збільшення експресії iNOS, що призводить до збільшення оксиду азоту протягом 30 хвилин після гепатектомії, досягаючи свого максимального рівня через 5 годин (фаза прогресування клітинного циклу) і повертаючись до базальних рівнів через 18 годин після операції. Відносний внесок кожного типу клітин печінки (клітин Купфера, гепатоцитів і, можливо, ендотеліальних клітин) до загальної активності iNOS і синтезу NO відрізняються. Однак, оскільки NO може легко дифундувати через мембрани, походження цієї молекули не є важливим для здатності сприяти внутрішньоклітинним змінам у сусідніх клітинах [75]. Оксид азоту також може інгібувати апоптоз, що є результатом S-нітросилування активної каспази 9, таким чином, NO захищає від пошкодження печінки, викликаного Fas [273]. Отже, на першу добу введення етанолу в організм щура робота циклу оксида азоту направлена на гепатопротекцію.

Аналізуючи перший тиждень моделювання хронічного алкогольного гепатиту відмічаємо зменшення просвіту міжчасточкових артерій починаючи з першої доби, що імовірно активує конститутивні NO-синтази з піками активності на 3 і 7 добу, що призводить до вазодилатації міжчасточкових артерій у порівнянні зі змінами на першу добу експерименту, що ми розглядаємо як компенсаторну реакцію ендотелію на збільшення тиску під час вазоконстрикції. В цей період ендотеліальна дисфункція імовірно ще не виникає проте активний процес запалення підвищує активність індукцйбельної NO-синтази. В подальшому за результатами наших досліджень активність iNOS не відіграє важливої ролі в патогенезі порушення утворення та метаболізму оксиду азоту. Оскільки її активність статистично значуще підвищується лише на 21 день

моделювання хронічної алкогольної інтоксикації, що хронологічно співпадає з найнижчою активністю аргіназ та нітритредуктаз.

На 10 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту збільшується продукція оксиду азоту переважно від cNOS та нітрит-редуктаз, що призводить до підвищення концентрації пероксинітриту та нітрозотіолів і зниження нітритів. Такі зміни можуть свідчити про продукцію оксиду азоту від ендотеліальної NO-синтази для вазодилатації судин печінки. А продукція оксиду азоту від нітрит-редуктаз призводить до надлишкової продукції NO, який перетворюється в пероксинітрит та нітрозотіоли. В подальшому нітрозотіоли можуть виступати ендотеліальним буфером оксиду азоту, який буде використовуватися для вазодилатації [538]. Ріст концентрації пероксинітриту потенціює ушкодження білків, ліпідів та нуклеїнових кислот клітин печінки [48]. Слід зазначити, що концентрації пероксинітриту та нітрозотіолів залишаються вищими за контрольні значення протягом усіх досліджуваних термінів моделювання хронічного алкогольного гепатиту. Це може свідчити про розвиток ендотеліальної дисфункції у печінці, що супроводжується зниженням чутливості до оксиду азоту та його перерозподілом у більш токсичні форми [110]. Розвиток ендотеліальної дисфункції є характерним явищем, що супроводжує алкогольний гепатит [64, 653].

Збільшена активність нітрат-нітрит-редуктазного шляху утворення оксиду азоту у печінці щурів на 63 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту може бути пов'язано із стимулюючим впливом етанолу на активність ксантиноксидоредуктази, яка має здатність відновлювати нітрати до нітритів, а нітрити до оксиду азоту без використання L-аргініну [162]. Алкоголь має здатність інгібувати активність аргіназ, що вивільняє L-аргінін для NO-синтазного шляху його метаболізму та створює умови для субстратної індукції NO-синтаз, що пояснює збільшену загальну NO-синтазну активність та знижену активність аргіназ у нашому дослідженні [622]. Зниження активності аргіназ, що спостерігається на всіх термінах експерименту, починаючи з 3 доби, може призвести до гіпераргінінемії та супроводжуватись ушкодженням центральної

нервової системи [329], що є також однією з патогенетичних ланок розвитку алкогольної енцефалопатії.

Таким чином, моделювання хронічного алкогольного гепатиту призводить до порушення утворення та метаболізму оксиду азоту з переважним утворенням токсичних його продуктів пероксинітритів та нітритів, що призводить до розвитку нітрозативного стресу в печінці. Хронічний алкогольний гепатит супроводжується різким зниженням активності аргіназозалежного шляху метаболізму аргініну в печінці щурів, що свідчить про порушення процесів в циклі Кребса-Хенслайта.

Оксид азоту і його метаболіти за умов хронічного споживання алкоголю призводять до поліорганного ушкодження і порушення мікроциркуляції органів і тканин. Щодо впливу етанолу на мікроциркуляцію печінки, то невелика кількість етанолу збільшує печінковий кровотік і запобігає мікросудинній дисфункції печінки, спричиненій ішемією/реперфузією кишечника, і подальшому ушкодженню печінки. У той час як велика кількість етанолу сама по собі викликає мікросудинну дисфункцію в печінці та посилює мікросудинну дисфункцію печінки, спричинену ішемією/реперфузією кишечника, і подальше ураження печінки. Ці зміни обумовлені збільшенням вазоактивних молекул, таких як ендотелін і оксид азоту, і виникненням оксидативного стресу [218]. Гіперактивація ретикулоендотеліальних клітин, що вистилають синусоїди печінки - клітини Купфера і синусоїдні ендотеліальні клітини - може звужувати просвіт синусоїда, що погіршує перфузію в мікроциркуляторному руслі печінки, що є важливою ланкою патогенезу алкогольного гепатиту [592]. За даними літератури у тварин з ендотоксемією навіть невелика кількість етанолу викликає мікросудинну дисфункцію печінки. А хронічне споживання етанолу посилює мікросудинну дисфункцію печінки, спричинену ендотоксинами. Таким чином, хронічне вживання алкоголю змінює мікроциркуляцію печінки і в залежності від тривалості і дози може мати різні наслідки.

В нашому дослідженні діаметр центральних вен печінки щурів розширюється з першого дня моделювання хронічного алкогольного гепатиту і

залишається збільшеним протягом всього експерименту (за винятком 3 доби). Просвіт міжчасточкових артерій тріади зменшується з першої доби експерименту (за винятком 14 доби), а діаметр міжчасточкових вен тріади є розширеним. Враховуючи фізіологічний потік плазми крові, який прямує із центральної вени часточки до міжчасточкових вен тріади, прямуючи через печінкові балки, можна припустити, що моделювання хронічного алкогольного гепатиту супроводжується збільшенням току плазми крові у печінці з метою швидшого її очищення від токсинів. Зменшення просвіту міжчасточкових артерій тріади, які забезпечують трофіку гепатоцитів, може загрожувати розвитком гіпоксії в печінці. Збільшення просвіту синусоїдних капілярів центральної і периферичної зони печінкової часточки може свідчити про наявність у плазмі, що проходить через ці капіляри молекул, що мають вазодилатуючий вплив.

Для оцінки потенційних молекулярних механізмів, які призводять до описаних вище морфологічних та морфометричних змін необхідно врахувати особливості обраної нами моделі хронічного алкогольного гепатиту [23]. Перші 12 діб з перервою на 2 доби алкоголь вводився тваринам внутрішньоочеревинно, тому, окрім прямого впливу етанолу на тканини печінки, варто враховувати можливі зміни метаболізму жирової тканини очеревини. Етанол має прямий вплив на метаболізм адипоцитів, що було показано у дослідях *in vitro* проведених Patel D. et al. [464]. У дослідях Patel D. et al. було показано, що етанол призводить до зменшення виділення адипоцитами в кров адипонектину та посилює секрецію лептину, резистину, IL-6 та TNF- α , а безпосередньо в адипоцитах зростає експресія генів індукцибельної NO-синтази, PPAR- γ та CYP2E1 [464]. Також є повідомлення про те, що етанол та його метаболіти, що утворилися оксидативним та неоксидативним шляхом, незалежно від способу потрапляння до організму, здатні викликати апоптоз адипоцитів [463]. Індукована алкоголем загибель адипоцитів також супроводжується викидом значної кількості про-запальних цитокінів у кров [387].

Лептин може розширювати просвіт судин шляхом впливу на ендотеліоцити, які, у свою чергу, збільшують під впливом лептину експресію ендотеліальної

ізоформи NO-синтази, посилюючи, таким чином, продукцію такого потужного вазодилататора, як оксид азоту (NO) [661]. Що пояснює відсутність вазоконстрикторного ефекту алкоголю на судини, який пов'язаний із посиленням ацетилювання Hsp90 та зниженням активності ендотеліальної ізоформи NO-синтази [653]. Водночас, лептин може посилювати активність симпатичної нервової системи, що супроводжується розвитком «артеріальної жорсткості» [62]. Це пояснює зменшення діаметру просвіту міжчасточкових артерій тріади, що спостерігається у нашому дослідженні протягом усіх досліджуваних термінів. Розширення капілярів центральної і периферичної зон печінкової часточки у перші два тижні моделювання хронічного алкогольного гепатиту свідчить про переважання судинорозширюючої дії лептину над впливом симпатичної нервової системи на ці судини. Виходячи із вищенаведеного та особливостей обраної нами моделі хронічного алкогольного гепатиту цілком ймовірним є те, що зміни у мікроциркуляторному руслі печінки в перші два тижні експерименту більшою мірою обумовлені впливом ін'єкцій етанолу на адипоцити очеревини.

Таким чином, судинне і мікроциркуляторне русло печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту в перші два тижні демонструє посилення обміну метаболітами між центральною веною та міжчасточковою веною тріади, що супроводжується їх розширенням та загрожує розвитком венозної гіперемії.

В подальшому з 13 доби щурів переводили на 10 % етанол в якості єдиного джерела пиття [23]. І розширення просвіту центральних вен, яке ми спостерігали може бути пов'язано із збільшенням концентрації простагландинів у ендотелії судин, що індукується етанолом [277]. Етанол активує циклооксигеназу 2 [267]. Вживання алкоголю супроводжується розвитком оксидативного стресу в ендотелії судин [472]. Що також підтверджується нашими дослідженнями. Підчас алкоголь-індукованого оксидативного стресу ендотеліоцити продукують та виділяють речовини, що здатні знижувати тонус гладеньких м'язів судин (пероксид водню та оксид азоту). Одночасне збільшення просвітів центральних та

міжчасточкових вен може свідчити про зростання обміну метаболітами між басейнами портальної та нижньої порожнистої вен. Як ми вже підсумовували за даними наукової літератури, вживання алкоголю може призводити до різних функціональних та морфологічних змін в печінці, що залежить від тривалості вживання алкоголю та від дози. Вживання етанолу згідно нашої моделі хронічного алкогольного гепатиту є відносно невеликим по відношенню до дози. Згідно даних наукової літератури вживання помірних та низьких доз алкоголю протягом 30 діб супроводжується розвитком гострого запального процесу [34, 291]. Збільшення інтенсивності оксидативного метаболізму гепатоцитів за умов гострого запального процесу може пояснити зростання обміну метаболітами між басейнами портальної та нижньої порожнистої вен.

Розширення просвіту синусоїдних капілярів центральної та периферичної зон печінкових часточок може бути наслідком зростання гідростатичного тиску в цих капілярах внаслідок їхньої капіляризації [348]. Варто зазначити, що тривале зменшення просвіту міжчасточкових артерій під час моделювання хронічного алкогольного гепатиту з одночасною капіляризацією синусоїдних капілярів загрожує розвитком гіпоксії гепатоцитів. Активація Akt/HIF-1 α за умов надлишкового надходження етанолу може посилити алкоголь-індуковане ушкодження гепатоцитів [621]. Вживання алкоголю може призводити до розвитку «жорсткості артеріальної стінки», що зменшує чутливість ендотелію артерій до судинорозширюючих факторів [231]. Розвиток «жорсткості артеріальної стінки» у віддалені терміни моделювання хронічного алкогольного гепатиту може пояснити відсутність розширення та навпаки звуження просвіту міжчасточкових артерій у відповідь на надлишкову продукцію оксиду азоту ендотелієм цих судин у відповідь на надходження алкоголю [423]. Відсутність схожої динаміки змін просвіту часточкових артеріол можна пояснити різним впливом алкоголю на мікроциркуляторне русло, що представляє складну J-подібну асоціацію [590].

Таким чином, протягом першого місяця моделювання хронічного алкогольного гепатиту у щурів розширення внутрішнього просвіту центральних вен та діаметру міжчасточкових вен, що супроводжується зменшенням

внутрішнього просвіту міжчасточкових артерій, загрожує розвитком гіпоксичного ушкодження гепатоцитів.

Сучасна наукова література наводить дані щодо важливості гіпоксії у розвитку алкоголь-індукованого ураження печінки. Збільшена експресія фактора індукованого гіпоксією 1 (HIF-1) за умов надлишкового надходження алкоголю має захисне значення для тканин печінки [525]. Проте є дані досліджень, що за умов алкогольної інтоксикації спостерігається збільшення експресії фактора індукованого гіпоксією 2-альфа (HIF-2 α), який сприяє розвитку алкоголь-індукованого стеатозу в печінці [633].

Причиною звуження просвіту міжчасточкових артерій печінки протягом другого місяця моделювання хронічного алкогольного гепатиту може бути порушений синтез та утилізація оксиду азоту. Відомо, що алкогольна інтоксикація збільшує продукцію оксиду азоту декількома шляхами: за рахунок зростання активності індукцйбельної ізоформи NO-синтази (iNOS) та за рахунок підвищення активності ксантин-оксидоредуктазного комплексу [155, 285]. Фізіологічна роль оксиду азоту у підтриманні судинного тонуусу полягає у розширенні просвіту судин. Проте алкогольна інтоксикація створює специфічні умови за яких надмірна продукція оксиду азоту від iNOS та його відновлення із нітритів та нітратів під впливом ксантин-оксидоредуктазного комплексу також супроводжується гіперпродукцією супероксидного аніон-радикалу від цитохрому P-450 [42]. Надмірна продукція двох високореактивних сполук: супероксидного аніон-радикалу та оксиду азоту створює умови для утворення пероксинітриту, який може викликати спазм артерій внаслідок ушкодження ендотелію, розвитку ендотеліальної дисфункції за рахунок спотвореної реакції судин на вазоактивні сполуки [112, 455].

Таким чином, хронічне надлишкове надходження алкоголю до організму тварин протягом 2 місяців призводить до розвитку венозного застою в басейнах центральних та міжчасточкових вен із компенсаторним розширенням синусоїдних капілярів як центральної так і периферичної зон печінкової часточки. Розвиток хронічного алкогольного гепатиту супроводжується

недостатнім надходженням артеріальної крові до печінкових часточок, про що свідчить тенденція до зменшення просвітів міжчасточкових артерій протягом другого місяця моделювання хронічного алкогольного гепатиту.

Екстрацелюлярний матрикс (ЕСМ) печінки займає менше 3% об'єму печінки. За фізіологічних умов ЕСМ обмежений портальними трактами, стінками синусоїдів і центральними венами. Білки, які найчастіше зустрічаються в ЕСМ печінки, — це колагени (найбільш поширені I, III, V типи (у ворітній системі та стінці центральної вени) та IV (у стінках синусоїдних капілярів)). До складу ЕСМ печінки входять глікопротеїни, такі як ламінін I і II, фібронектин, остеопонтин, олігомерний білок хряща, фібромодулін, тенасцин, нідоген і SPARC (багатий цистеїном кислий секреторний білок). Серед протеогліканів зустрічаються, такі як перлекан, біглікан і декорин, тобто гепарансульфат-, дерматансульфат-, хондроїтинсульфат- і гіалуронанвмісні. Основна функція ЕСМ – це структурна, яка полягає в утворенні каркасу (опори) печінки, а також сприяє клітинній проліферації, міграції, диференціації та експресії генів [106].

Фіброз печінки є потенційно оборотною патофізіологічною подією, що призводить до надмірного відкладення компонентів ЕСМ і є динамічним та високоінтегрованим процесом, що відбувається під час хронічного ураження печінки [165]. Розвиток фіброзу печінки призводить до збільшення в 3-5 разів компонентів ЕСМ порівняно зі здоровою печінкою. На ранніх стадіях фіброзу печінки відбуваються значні зміни в перисинусоїдальному просторі та просторі Діссе. Колаген I та III типів накопичується та заміщує базальну мембрану мережею фібрилярного колагену. Крім того, синусоїдні ендотеліальні клітини печінки змінюють свій фенотип і втрачають свої фенестри, що погіршує взаємодію між клітинами печінки та частково блокує кровотік. Загалом, будь-яка модифікація мікрооточення ЕСМ вплине на функцію гепатоцитів і клітин Купфера та змінить фенотип зірчастих клітин. Таким чином, ЕСМ відіграє ключову сигнальну роль, сприяючи обміну медіаторами та зберігає фактори росту, ферменти і цитокіни, які змінюють мікрооточення. У цьому контексті перерозподіл компонентів ЕСМ відіграє важливу роль у патогенезі алкогольного

ушкодження печінки на різних стадіях розвитку алкогольної хвороби печінки [116].

Моделювання хронічного алкогольного гепатиту в нашому дослідженні призводить до ушкодження ЕСМ печінки протягом усього періоду експерименту, про що свідчить підвищення концентрації L-оксипроліну, як маркера інтенсивності процесів колагенолізу. Деструкція волокнистих елементів ЕСМ печінки за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту може бути пов'язана як зі здатністю етанолу підвищувати активність матриксної металопротеїнази-9 (ММР-9), так і з підвищенням продукції АФК [542]. Підвищення концентрації гепарин-гепаранової фракції ГАГ у печінці щурів на 1-у та 3-ю добу експерименту може бути пов'язане з протизапальними властивостями цього класу сульфатованих глікозаміногліканів [156]. Гепарин-гепаранова фракція ГАГ здатна перешкоджати руйнуванню ЕСМ, блокуючи нейтрофільну еластазу та ММР-9; тому підвищення концентрації гепарин-гепаранової фракції ГАГ може бути захисною реакцією на посилене пошкодження сполучнотканинної капсули в перші (1-й і 3-й) дні експерименту. Гепарин-гепаранова фракція ГАГ знаходиться в антагоністичному відношенні з прозапальним транскрипційним фактором NF-κB, що може пояснити зниження концентрації гепарин-гепаранової фракції ГАГ на 7 добу експерименту [36]. Обмеженням нашого дослідження є неможливість повного розділення кератан-дерматанової фракції ГАГ, що ускладнює інтерпретацію результатів. Підвищення концентрації кератансульфату може свідчити про дефіцит активності N-ацетилгалактозамін-6-сульфатсульфатази та бути ознакою дегенеративних змін на молекулярному рівні. Дані про динаміку змін концентрації хондроїтинсульфатної фракції ГАГ є більш показовими для оцінки ступеня деградації аморфної речовини ЕСМ та накопичення неметаболізованих продуктів. Підвищення концентрації дерматансульфату в тканинах печінки є небезпечним, оскільки дерматансульфат здатний посилювати активацію імунокомпетентних клітин, будучи потужним стимулятором імунної відповіді через CD5⁺ В-лімфоцитів [683].

Аналізуючи період з кінця першого тижня до кінця першого місяця моделювання хронічного алкогольного гепатиту відмічаємо, що найбільшій деградації протеоглікани зазнають на 21 день моделювання хронічного алкогольного гепатиту за рахунок збільшення концентрації хондроїтинової фракції ГАГ, на тлі відсутності змін у концентрації кератан-дерматанової фракції ГАГ та зменшення концентрації гепарин-гепаранової фракції ГАГ. Найвища інтенсивність колагенолізу спостерігається на 14 добу хронічної алкогольної інтоксикації, а глікопротеїни зазнають найбільшій деградації на 28 добу моделювання хронічного алкогольного гепатиту.

Протеоглікани є другими глікокон'югатами за важливістю та поширеністю серед біомолекул ЕСМ. Вони складаються з білків ковалентно з'єднаних принаймні з одним ГАГ. Протеоглікани відіграють важливу роль у стимулюванні проліферації та організації тканин. У здоровій печінці гепарансульфат є основним глікозаміногліканом, за яким слідують хондроїтинсульфат і дерматансульфат [574]. Гепарин та його сульфатована форма мають потужні антиоксидантні та протизапальні властивості за рахунок їх здатності зв'язувати $\alpha 1$ -мікроглобулін [55]. Тому різке зниження концентрації цієї фракції ГАГ на 10, 14 та 21 добу можуть бути пов'язані із використанням цих сполук у якості додаткових антиоксидантів. В наших дослідженнях було показано, що в ці строки експерименту спостерігається дефіцит активності каталази та збільшення інтенсивності оксидативного ушкодження білкових та ліпідних біополімерів печінки. Це також пояснює тенденцію до збільшення концентрації гепарин-гепаранової фракції ГАГ на 28 добу експерименту, оскільки в цей термін спостерігається збільшення активності ферментативних та неферментативних антиоксидантів.

На другому місяці моделювання хронічного алкогольного гепатиту ГАГ кератан-дерматанової та хондроїтинової фракцій в динаміці зростають на фоні зниження гепаран-гепаринової фракції ГАГ, що, можливо, і виступає важливою патогенетичною ланкою розвитку хронічного алкогольного гепатиту.

ЕСМ печінки є високодинамічним середовищем, яке підлягає постійному ремоделювані, в результаті чого синтез нових компонентів відбувається з одночасною деградацією інших. Патологічні стани, що загрожують життю, виникають, коли ремоделювання ЕСМ стає надмірним або неконтрольованим. Серед клітин, які беруть участь у деградації ЕСМ печінки, є зірчасті клітини, нейтрофіли та макрофаги. Матриксні металопротеїнази (ММР) є основними ферментами, відповідальними за деградацію ЕСМ, а тканинні інгібітори матриксних металопротеїназ (ТІМР) мають здатність інгібувати ММР. Таким чином, регуляція балансу ММР-ТІМР має вирішальне значення для ефективного ремоделювання ЕСМ [390]. Протягом другого місяця моделювання хронічного алкогольного гепатиту концентрація вільного оксипроліну підвищилась у порівнянні з показником контрольної групи щурів, що характеризує баланс ММР-ТІМР в печінці щурів.

В наших дослідженнях ми встановили, що концентрація сіалових кислот в печінці щурів на другому місяці моделювання хронічного алкогольного гепатиту підвищилась порівняно з контролем. Сіалові кислоти це кінцеві монози олігосахаридних ланцюгів глікопротеїнів і гліколіпідів, відіграють важливу роль у хімічному та біологічному різноманітті глікокон'югатів. Глікозилування та сіалілювання ліпідів і білків відбувається в печінці. Є докази того, що зміни глікозилування або сіалілювання білків і ліпідів відіграють важливу роль у патогенезі та прогресуванні різних захворювань печінки, в тому числі і алкогольного гепатиту [94, 95, 368]. При захворюваннях печінки змінюється концентрація сіалілюваних глікопротеїнів у печінці [193]. Десіалілювання є важливою зміною у структурі білкових молекул, які спостерігаються при ураженнях печінки, що широко використовується в діагностиці алкогольної хвороби печінки та впливає на функції білків та ліпопротеїнів. Хронічне вживання етанолу змінює нормальну мікрогетерогенність трансферину внаслідок зміни вмісту сіалової кислоти. Визначення трансферину з дефіцитом вуглеводів є найбільш інформативним маркером хронічного зловживання алкоголем. Окрім трансферину, багато інших білків десіалілюються при

алкогольній хворобі печінки, включаючи орозомукоїд, $\alpha 1$ -антитрипсин, церулоплазмін, тироксинзв'язаний глобулін [65]. Таким чином дані наукової літератури щодо можливості алкоголю при хронічному надмірному вживанні призводити до відщеплення сіалових кислот від глікопротеїнів підтверджують наші результати. Білки, що вивільняються при цьому можуть слугувати маркерами зловживання алкоголем [466].

Транскрипційний фактор NF- κ B бере активну участь у регуляції про- / антиоксидантного балансу в клітині. Ядерний транскрипційний фактор κ B контролює транскрипцію низки прооксидантних цитокінів (інтерлейкін 1- β , фактор некрозу пухлин- α , інтерлейкін-6, тощо) та антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутаза, ферменти глутатіонової системи, каталаза тощо), що дозволяє цьому транскрипційному фактору як посилювати, так і послаблювати інтенсивність оксидативно-нітрозативного стресу, що виникає за етанол-індукованого ушкодження печінки [620].

Зниження активності супероксиддисмутази та каталази в наших дослідженнях за умов інгібування активації транскрипційного фактора NF- κ B ПДТК обумовлене тим, що супероксиддисмутаза та каталаза знаходяться під прямим транскрипційним контролем NF- κ B [652]. Зниження продукції супероксидного аніон-радикалу пов'язане із його «перехопленням» оксидом азоту. Швидкість реакції між оксидом азоту та супероксидним аніон-радикалом з утворенням у результаті пероксинітриту є вищою за швидкість реакції супероксидного аніон-радикалу з супероксиддисмутазою, проте за фізіологічних умов низька концентрація оксиду азоту сприяє переважанню супероксиддисмутазного шляху метаболізму супероксид аніон-радикалу [488]. Ми встановили, що за умов інгібування активації NF- κ B ПДТК активність супероксиддисмутази знижується, що спрямовує супероксидний аніон-радикал на реакцію з оксидом азоту, продукція якого збільшується від конститутивних ізоформ NO-синтаз, з утворенням надлишку ONOO⁻. Про переважання цього шляху метаболізму супероксидного аніон-радикалу свідчить також зниження концентрації нітритів та нітрозотіолів. Зростання МДА свідчить про розвиток

оксидативного ушкодження гепатоцитів за умов інгібування активації транскрипційного фактору NF-κB. Під час розвитку оксидативного стресу активуються NF-κB та активаторний протеїн-1 (AP-1) як адаптивна відповідь на оксидативний стрес [208]. AP-1 може, незалежно від NF-κB, збільшувати експресію гену індукцибельної NO-синтази, проте інтенсивність AP-1-залежної експресії гену індукцибельної NO-синтази буде значно нижчою, ніж при NF-κB-контрольованій експресії [30]. Що пояснює відсутність статистично значущих змін активності індукцибельної NO-синтази в групі тварин, яким інгібували NF-κB ПДТК.

Таким чином, інгібування NF-κB у щурів загрожує розвитком оксидативно-нітрозативного ураження гепатоцитів. А збільшення концентрації сульфідного аніону можна розглядати як адаптивну відповідь на розвиток оксидативно-нітрозативного ушкодження гепатоцитів, оскільки H₂S має виражені антиоксидантні властивості та може слугувати «скевенджером» активних форм кисню та азоту [394].

Зростання активності аргіназ за умов стимуляції або інгібування NF-κB на тлі розвитку хронічного алкогольного гепатиту у щурів загрожує розвитком порушення фізіологічних регуляторних взаємодій в циклі оксиду азоту, що створить умови для посилення конкуренції між NO-синтазами та аргіназами за субстрат реакції, що може призвести до посилення ендотеліальної дисфункції індукованої алкоголем [653].

Збільшена активність індукцибельної NO-синтази за умов інгібування транскрипційного фактору NF-κB на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту може бути пов'язано з активацією транскрипційного фактора AP-1 у відповідь на етанол-індуковане ушкодження гепатоцитів [208]. За умов інгібування активації NF-κB можлива надмірна активація STAT-3 внаслідок алкоголь-індукованого оксидативного ушкодження клітин печінки [192]. Активований STAT-3 має здатність знижувати продукцію супероксидного аніон-радикалу та підвищувати експресію антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази та каталази) шляхом активації Nrf-2 [688]. Проте

підвищена концентрація ONOO^- та знижена концентрація сульфід аніонів імовірно призводить до підвищення концентрації МДА відносно контрольної групи тварин.

Таким чином, активація ядерного транскрипційного фактора NF- κ B в печінці щурів за фізіологічних умов призводить до посилення активності антиоксидантних ферментів, знижує інтенсивність перекисного окислення ліпідів, запобігаючи розвитку оксидативно-нітрозативного стресу. За умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту активація транскрипційного фактора NF- κ B призводить до зниження антиоксидантного потенціалу гепатоцитів та збільшує продукцію активних форм кисню та азоту, що загрожує розвитком оксидативно-нітрозативного ушкодження макромолекул мембран клітин.

З літературних джерел відомо, що реакція перекисного окислення ліпідів у печінці передуює початковим стадіям фіброзу і пов'язана зі збільшенням продукції профіброгенного TGF- β_1 клітинами Купфера. Перекисне окислення ліпідів, викликане етанолом, запускає активацію транскрипційного фактора NF- κ B, промотора гена колагену 2(I) у зірчастих клітинах печінки шляхом активації каскаду кіназ [655]. Таким чином, оксидативний стрес, що виникає за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту в наших дослідженнях безпосередньо сприяє фіброзу печінки шляхом активації NF- κ B. А гепарин, як відомо з літературних джерел, може перешкоджати розвитку фіброзу печінки шляхом впливу на сигнальний шлях, що ініціюється TGF- β [682].

Печінка в організмі ссавців за фізіологічних умов постійно знешкоджує ендогенні та екзогенні ксенобіотики, тому значна експресія генів цитохрому P-450 в гепатоцитах норма, проте цей процес може призводити до надмірного утворення вільних радикалів кисню. Тому за умов інгібування транскрипційного фактора NF- κ B можлива незалежна активація інших редокс-чутливих транскрипційних факторів про які ми вже згадували, наприклад, транскрипційного фактору AP-1, який має спільну з NF- κ B зону транскрипційного контролю. Так, AP-1 може незалежно від NF- κ B активувати

транскрипцію індукбельної ізоформи NO-синтази [30]. Таким чином, зниження концентрації гепарин-гепаранової фракції ГАГ за умов інгібування NF-κB можна пояснити впливом AP-1 на експресію матриксної металопротеїнази-7, яка відщеплює синдекан-1 (різновид гепаранової фракції ГАГ) від мембрани гепатоцитів [217]. Зменшення концентрації гепарин-гепаранової фракції ГАГ за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту можна пояснити етанол-індукованою активацією транскрипційного фактору NF-κB внаслідок збільшення продукції АФК. Зниження концентрації гепарин-гепаранової фракції ГАГ за умов інгібування транскрипційного фактору NF-κB на тлі хронічного алкогольного гепатиту ймовірно пов'язане із NF-κB-незалежною активацією інших редокс-чутливих транскрипційних факторів, таких як AP-1.

Враховуючи протизапальні властивості кератан-дерматанової фракції ГАГ збільшення концентрації цієї фракції за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту може бути адаптивною відповіддю на розвиток етанол-індукованого ушкодження гепатоцитів [379]. В науковій літературі наведено обмежену кількість даних щодо взаємозв'язку транскрипційного фактору NF-κB та кератан-дерматанової фракції ГАГ. Проте, виходячи із даних нашого дослідження, активація NF-κB є необхідною умовою для адаптивного зростання концентрації кератан-дерматанової фракції ГАГ.

Підвищення концентрації вільного оксипроліну у групі щурів, яким інгібували транскрипційний фактор NF-κB шляхом введення ПДТК може бути наслідком розвитку оксидативного ушкодження ЕСМ АФК, внаслідок активації транскрипційного фактору AP-1 [30]. Збільшення концентрації вільного оксипроліну за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту може бути пов'язане із збільшенням вмісту колагенових волокон у печінці внаслідок розвитку алкогольного цирозу та фіброзу печінки [362]. Введення ПДТК щурам для блокування активації транскрипційного фактору NF-κB зменшує концентрацію вільного оксипроліну у печінці, що може свідчити про зменшення вмісту колагенових волокон та певну ефективність ПДТК в якості антифіброзного засобу при алкогольних хворобах печінки.

Сіалові кислоти беруть участь в активації транскрипційного фактору Nrf-2, який контролює низку антиоксидантних генів [481]. Тому зростання концентрації сіалових кислот за умов інгібування активації транскрипційного фактору NF-κB може свідчити про розвиток оксидативного ураження паренхіми печінки. Зростання концентрації сіалових кислот за умов хронічного алкогольного гепатиту викликане розвитком етанол-індукованого оксидативного стресу, внаслідок накопичення ацетальдегіду, порушення функцій мітохондрій та стресу ендоплазматичного ретикулулу.

Таким чином, транскрипційний фактор NF-κB за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту відіграє провідну роль у зміні архітектурного ремоделювання ЕСМ за рахунок збільшення катаболізму колагенових білків та глікокон'югатів аморфної речовини ЕСМ печінки щурів. За умов інгібування транскрипційного фактору NF-κB на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту відбувається перерозподіл фракцій ГАГ печінки, в сторону збільшення хондроїтинової фракції на тлі зменшення гепарин-гепаранової та кератан-дерматанової фракцій ГАГ.

Загальновідомо з літературних джерел, що вживання алкоголю посилює транслокацію ендотоксинів мікробіоти кишечника в порталну циркуляцію [120, 465]. Активація клітин Купфера через ліпополісахарид/Toll-подібний рецептор 4 призводить до активації транскрипційного фактору NF-κB і зміни поляризації макрофагів печінки в сторону переважання M1 фенотипу [261, 447]. Активовані по M1 фенотипу макрофаги є джерелом АФК та оксиду азоту, що призводить до утворення пероксинітриту та розвитку оксидативно-нітрозативного стресу. Головним продуцентом оксиду азоту при його етанол-індукованій гіперпродукції є індукцибельна ізоформа NO-синтази [513], яка найчастіше експресується у тканинних макрофагах та є маркером їх прозапальної (M1) поляризації.

За результатами наших експериментальних досліджень ми встановили, що введення ЛПС щурам за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту потенціює продукцію супероксидного аніон-радикалу на тлі дисбалансу

антирадикального захисту, що супроводжується розвитком оксидативного стресу та сприяє підвищенню перекисного окислення ліпідів.

Ми виявили, що активність індукцибельної ізоформи NO-синтази більшою мірою залежить від надмірного надходження етанолу в організм тварин ніж від дії ЛПС, оскільки активність індукцибельної ізоформи NO-синтази в групі хронічного алкогольного гепатиту та групі введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту перевищує активність індукцибельної ізоформи NO-синтази в групі тварин, яким вводили тільки ЛПС. Отже, причиною гіперпродукції оксиду азоту за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту може бути активація транскрипційного фактора NF-κB внаслідок деструкції гепатоцитів, що викликана накопиченням ацетальдегіду після метаболічних перетворень етилового спирту [119].

Варто зазначити, що поєднанана дія ЛПС та етанолу в наших дослідженнях призводять до переважання перетворення оксиду азоту в печінці щурів у токсичний пероксинітрит над утворенням його стабільних буферних форм – нітрозотіолів. При цьому за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту відбувається накопичення нітритів у тканинах печінки, що може бути пов'язано із накопиченням відновлених донорів електронів (НАДН+H⁺ та НАДФН+H⁺), що пов'язано із перетворенням етилового спирту в ацетальдегід. Відновлені донори протонів можуть використовуватись нітрат-нітритредуктазами в якості коферментів для відновлення нітратів до нітритів. Відсутність змін у концентрації сульфідного аніону за умов введення ЛПС та її зниження за умов введення ЛПС на тлі хронічного алкогольного гепатиту можна пояснити тим, що сульфідний аніон призводить до посилення апоптозу за умов активації транскрипційного фактора NF-κB ЛПС [608].

Збільшення активності конститутивних ізоформ NO-синтази в групі хронічного алкогольного гепатиту та групі введення ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту може бути пов'язано із зниженням концентрації нітрозотіолів. Нітрозотіоли мають здатність регулювати активність ендотеліальної ізоформи NO-синтази шляхом нітрозилування цистеїнових

залишків в молекулі ферменту [637]. Тому зниження концентрації нітрозотіолів може призводити до посилення активності ферменту. В групі хронічного алкогольного гепатиту активація ендотеліальної ізоформи NO-синтази додатково відбувається за рахунок ацетату, що утворюється в результаті метаболізму етанолу. Доведено, що ацетат має сильний вплив на ендотеліальну ізоформу NO-синтази навіть при його мінімальних концентраціях. Хронічне вживання етанолу та підвищений вміст ацетату сприяють пошкодженню органів через індуковану етанолом дизрегуляцію сигналізації NO [82].

Таким чином, тривала стимуляція організму щурів бактеріальним ліпополісахаридом *S. Typhi*, хронічний алкогольний гепатит та їх поєднання призводять до збільшення продукції супероксидного аніон-радикалу та оксиду азоту, зниження ефективності антиоксидантного захисту та переважання шляху утворенням пероксинітриту з оксиду азоту та супероксидного аніон-радикалу призводять до розвитку оксидативно-нітрозативного стресу в печінці щурів.

Сучасні дослідження виявили тісний зв'язок між АМФ-активованою протеїнкіназою (АМФК) і фіброгенезом. У миші з нокаутом AMPK α 1 проліферація та міграція кардіофібробластів посилюються, тоді як міодиференціація пригнічується після ішемії міокарда. Ця реакція корелює з підвищеною експресією колагену та фіброзом міокарда [245]. Піоглітазони пригнічують фіброз печінки у щурів з неалкогольним стеатогепатитом шляхом активації сигналіngu АМФК/TGF- β ₁ [315]. Евгенол, похідне циннамату та активатор АМФК, полегшує фіброз шляхом зниження експресії гена SREBP1 через шлях АМФК/mTOR/p70S6K, що призводить до ослаблення фіброзу [251]. Ці дані літератури показують, що нокаут або інактивація АМФК сприяє фіброгенезу, тоді як активація АМФК може бути стратегією для створення протифіброзних засобів лікування.

Токсичність доксорубіцину в більшості випадків обумовлена його здатністю інгібувати активність АМФК [573]. Інгібування АМФК часто супроводжується посиленою продукцією АФК, що відповідає отриманим нами результатам в групі введення доксорубіцину та групі введення доксорубіцину на

тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, де було встановлено зростання продукції АФК [425]. З іншого боку, надмірна продукція АФК може стимулювати активацію АМФК у тих випадках, коли АФК є продуктами порушеного мітохондріального електронно-транспортного ланцюга [328]. Тому збільшена продукція АФК та посилення інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів в печінці в групах введення доксорубіцину та введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту не є наслідком його впливу на активність АМФК в гепатоцитах, а більшою мірою пов'язано з іншими механізмами впливу доксорубіцину на гепатоцити. Головними серед яких є здатність знижувати активність антиоксидантної системи тканин [31]. Також з літературних джерел відомо, що серед метаболітів, які супроводжують токсичний вплив доксорубіцину на печінку окреме місце займає сечовина, концентрація якої часто змінюється за умов застосування доксорубіцину [181]. Введення доксорубіцину супроводжується зниженням активності аргінази 2 та посиленням активності індукцйбельної ізоформи NO-синтази у серці, що частково підтверджується результатами нашого дослідження, які показують зростання активності індукцйбельної ізоформи NO-синтази в групі введення доксорубіцину [612]. Також встановлено, що доксорубіцин інгібує активність аргінази 1 [658]. За умов хронічного персистуючого запалення в тканинах печінки її макрофаги мають здатність формувати імуномодуючий фенотип, який супроводжується посиленням експресії генів аргінази 1, що може пояснити різке зниження активності індукцйбельної ізоформи NO-синтази в групі введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту [450]. Відсутність такого ефекту у групі хронічного алкогольного гепатиту може свідчити про значно меншу інтенсивність запального процесу в цій групі.

Різке зниження загальної активності NO-синтаз при поєднаному впливі етанолу та доксорубіцину пов'язано зі зниженням активності індукцйбельної ізоформи NO-синтази і окрім посилення експресії генів аргінази 1 в своїй основі може мати наступні молекулярні механізми:

1. Накопичення під впливом доксорубіцину у тканинах печінки інгібітора NO-синтаз - асиметричного диметиларгініну (asymmetric dimethylarginine, ADMA) [490];

2. Стимуляція редуктазного домену індукцйбельної ізоформи NO-синтази високими концентраціями НАДФН+Н⁺, що утворюється під впливом етанолу [189, 298, 342];

3. Роз'єднання індукцйбельної ізоформи NO-синтази із субстратом внаслідок стимуляції редуктазного домену НАДФН+Н⁺ в присутності ADMA, що супроводжується утворенням пероксинітриту [526].

4. Посилення роз'єднання індукцйбельної ізоформи NO-синтази із субстратом внаслідок пероксинітрит-індукованого виснаження тетрагідробіоптерину [240].

Таким чином, посилення активності аргіназного шляху метаболізму L-аргініну за умов поєднаного впливу етанолу та доксорубіцину може також бути пов'язано із вивільненням субстрату внаслідок зниження загальної активності NO-синтаз.

Посилене утворення активних форм азоту (пероксинітриту) за умов введення доксорубіцину та при його поєднанні з хронічним алкогольним гепатитом може бути обумовлене активацією ксантиноксидази [563]. Етанол також може посилювати активність ксантиноксидази шляхом збільшення концентрації її субстрату в тканинах печінки [594]. Поєднання субстратної активації ксантиноксидази під впливом етанолу та впливу на її активність доксорубіцину створює умови за яких основний пул оксиду азоту може утворюватися незалежно від NO-синтазного механізму, що також пояснює зниження активності індукцйбельної ізоформи NO-синтази в групі поєднання введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту.

Таким чином, введення доксорубіцину на тлі хронічного алкогольного гепатиту обмежує окисну модифікацію білків печінки та продукцію оксиду азоту від індукцйбельної ізоформи NO-синтази. Поєднання доксорубіцину та хронічного алкогольного гепатиту призводить до посилення перекисного

окислення ліпідів в печінці щурів внаслідок зниження антиоксидантного захисту та посилення утворення АФК, що є проявом токсичності доксорубіцину.

Збільшення концентрації гепарин-гепаранової фракції ГАГ у печінці при введенні доксорубіцину можна розглядати як адаптивно-приспосувальну відповідь на доксорубіцин-індуковане оксидативне ушкодження гепатоцитів [460]. Збільшена концентрація гепарин-гепаранової фракції ГАГ може активувати проліферацію гепатоцитів через Midkine-асоційований каскад, який активується внаслідок зниження експресії АМФК доксорубіцином [456, 615]. Імовірно це й же механізм забезпечує підвищення концентрації гепарин-гепаранової фракції в групі тварин, яким вводили доксорубіцин на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту по відношенню до групи щурів з хронічним алкогольним гепатитом.

За даними Shrikanth CB et al. інгібування АМФК в клітинах нирок не впливає на вміст кератан-дерматанової фракції ГАГ [535]. Отримані нами експериментальні результати відрізняються від отриманих даних Shrikanth CB et al. та свідчать про зменшення концентрації кератан-дерматанової фракції ГАГ за умов інгібування АМФК каскаду доксирубіцином, що може бути пов'язано з різними органами, що досліджували та різними фармакологічними речовинами, які використовували для інгібування АМФК.

Збільшення концентрації хондроїтинової фракції ГАГ за умов введення доксорубіцину можна вважати адаптивною відповіддю на доксорубіцин-індуковане зниження активності АМФК каскаду, оскільки хондроїтин-вмісний ГАГ декорин може сприяти активації АМФК каскаду через рецептор судинного ендотеліального фактора росту-2 (VEGFR-2) [428]. Зниження концентрації хондроїтинової фракції ГАГ в групі тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит може бути наслідком зниження вмісту декорину та ознакою запального процесу у печінці [312]. Збільшення концентрації хондроїтинової фракції ГАГ у печінці за умов введення доксорубіцину на фоні моделювання хронічного алкогольного гепатиту може бути ознакою поєднання токсичних впливів цих речовин та загрожувати розвитком фіброзу печінки [141, 517].

Зростання інтенсивності колагенолізу та десіалізації колагенових і неколагенових білків в печінці щурів, яким вводили доксорубіцин може бути пов'язано із розвитком оксидативного ушкодження гепатоцитів [31]. Зниження інтенсивності колагенолізу в печінці тварин, яким вводили доксорубіцин за умов хронічного алкогольного гепатиту може бути наслідком збільшення концентрації хондроїтинової фракції ГАГ в цій групі щурів. Декорин інгібує матриксну металопротеїназу 14 (MMP14), активність якої підвищується за умов розвитку алкогольного гепатиту [237, 502]. Проте за цих умов збільшується ризик розвитку фіброзу печінки через декорин-індуковане посилення впливу TGF- β [140].

За умов алкогольного гепатиту, за даними Gruszevska E et al., загальна концентрація сіалових кислот значно зростає, що може бути пов'язано із активацією нейрамінідаз у клітинах печінки, як це спостерігається при стеатозі за даними Pilling D et al. [193, 473]. Збільшена, внаслідок процесів десіалізації глікокон'югатів, концентрація сіалових кислот може призвести до сіалізації різних білкових та ліпідних молекул, що є не контрольованим ензимами процесом ковалентної модифікації. Зміни в галактозилюванні, фукозилюванні та сіалілюванні тепер є добре встановленими факторами, які керують диференціальною функцією IgG, починаючи від інгібуючої/протизапальної дії до активації комплементу та сприяння антитілозалежній клітинній цитотоксичності [100]. Chung AW et al. опублікували результати експериментальних досліджень, де підвищене галактозилювання та загальне сіалілювання індукує більш стійкий антитілозалежний клітинний фагоцитоз (ADCP) [96]. Проте в науковій літературі існує невідповідність щодо впливу сіалілювання IgG на активність ADCP. У статті Lin CY et al. виявлено, що IgG, який має біантенну N-гліканову структуру з двома кінцевими альфа-2,6-зв'язаними сіаловими кислотами, є оптимальною структурою, яка має високу активність проти раку, грипу та запальних захворювань і є оптимізованою для ADCP [319]. Проте у науковому дослідженні Quast I et al. було показано, що додаткове α 2,6-сіалілювання IgG знижує опосередковану комплементом

цитотоксичність [487], а в дослідженнях Thomann M et al. $\alpha 2,6$ -сіалілювання IgG₁ не мало істотного впливу на антитіло-залежну клітинну цитотоксичність [570]. Що загрожує залученням імунних механізмів у процеси ушкодження печінки за умов зловживання алкоголем. За результатами наших досліджень за умов інгібування АМФК каскаду доксирубцином знижується десіалізація неколагенових білків печінки порівняно із групою тварин з алкогольним гепатитом, що може мати значний вплив на перебіг запалення за умов хронічного алкогольного гепатиту. Незважаючи на значний прогрес у розумінні процесів сіалізації, наприклад, те, що $\alpha 2,6$ -сіалілюваний IgG/Fc може активно пригнічувати запалення, ця тема залишається до кінця не вичерпаною. Однією з причин є те, що сіалілювання не завжди пригнічує запалення. Ефект, ймовірно, залежить від умов, основних механізмів розвитку захворювання та інших метаболічних факторів і модулаторів, які ще потрібно вивчати.

Таким чином, введення доксорубіцину перешкоджає етанол-індукованому колагенолізу та розпаду глікопротеїнів, проте посилює розпад протеогліканів за рахунок збільшення вмісту хондроїтинової та гепарин-гепаранової фракцій.

За даними літератури в експериментах *in vivo* та *in vitro* з впливом алкоголю на гепатоцити активність АМФК була знижена як адаптивна відповідь на опосередковану алкоголем жирову хворобу печінки. При цьому чутливість печінки до змін у співвідношенні АМФ/АТФ знижується [154]. Активність АМФК може бути збільшена фосфорилуванням сайту Thr172 α -субодиниці АМФК за допомогою печінкової кінази B1 (LKB1; EC 2.7.11.1) чи Ca²⁺/кальмодулін-залежної протеїнкінази кінази- β (CaMKK β ; EC 2.7.11.17) або за допомогою фармакологічних активаторів (метформін, 5-аміноімідазол-4-карбоксамід рибонуклеотид (AICAR)) [170]. Крім того, на активність АМФК значно впливає співвідношення внутрішньоклітинного АМФ/АТФ: підвищення АМФ/АТФ сприяє активації АМФК, пригнічуючи синтез ліпідів та сприяючи окисленню жирних кислот [476]. АМФК шляхом фосфорилування за Ser871 пригнічує активність 3-гідрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктази (EC:1.1.1.34), яка відіграє ключову роль у регуляції синтезу холестерину [295]. Крім того,

відомі наступні основні шляхи, за допомогою яких АМФК зменшує накопичення ліпідів у печінці: 1) Активована АМФК інгібує ацетил-КоА-карбоксилазу (ЕС 6.4.1.2) шляхом фосфорилування, яке запобігає її димеризації і, як наслідок, знижуючи синтез жирних кислот [476]; 2) Малоніл-КоА є не тільки попередником синтезу жирних кислот, але й потужним інгібітором карнітинацилтрансферази 1 (ЕС 2.3.1.21). АМФК фосфорилує ацетил-КоА-карбоксилазу, щоб інактивувати її, зменшуючи синтез малоніл-КоА, що сприяє експресії карнітинацилтрансферази 1 і, як наслідок, збільшує окислення жирних кислот [154]. Таким чином, АМФК може зменшувати накопичення ліпідів, сприяти окисненню жирних кислот і пригнічувати синтез холестерину та жирних кислот. Тому фармакологічне модулювання активності АМФК шляху може бути багатообіцяючим варіантом у розробці препаратів для лікування хронічного алкогольного гепатиту.

В нашому дослідженні, розвиток оксидативного ушкодження ліпідів та білків печінки за умов активації АМФК фенформіном свідчить про токсичність препарату, що обумовлено його біотрансформацією в печінці. Фенформін (1-(діамінометиліден)-2-(2-фенілетил)гуанідин) є похідним гуанідину, що був вперше отриманий із *Galega officinalis*. Токсичність похідних гуанідину пов'язують із розвитком дефіциту вітаміну В₁₂, що розвивається при тривалому застосуванні препаратів цього ряду. Іншими негативними явищами, що розвиваються за умов тривалого надлишкового надходження гуанідинів до організму є розвиток метаболічного ацидозу внаслідок накопичення молочної кислоти. Також за умов ниркової недостатності можливе накопичення препаратів гуанідинового ряду навіть за умов їх застосування у нетоксичних (терапевтичних) дозах [606].

Основним механізмом впливу похідних гуанідину (бігуанідів) таких як фенформін та метформін на активність АМФК каскаду є інгібування І мітохондріального комплексу, що призводить до збільшення співвідношення АМФ/АТФ та субстрат-індукованої активації АМФК. Іншим механізмом впливу бігуанідів на АМФК є інгібування сигнального каскаду, який опосередковується

мішенню для рапаміцину у ссавців (mammalian target of rapamycin, mTOR), що, за даними наукової літератури, робить бігуаніди потенційними препаратами для комбінації із цитостатиками у протипухлинній терапії [684]. У дослідженнях Huang L et al. показано, що застосування фенформіну у комбінації із сорафенібом робить пухлинні клітини печінки особливо чутливими до дії сорафенібу [228].

Варто зазначити, що каскад mTOR у гепатоцитах виконує декілька функцій: активація mTORC1 сприяє розвитку інсулінорезистентності та утворенню ліпідів, у той час, як активація mTORC2 призводить до зменшення інсулінорезистентності [188]. Неселективність бігуанідів по відношенню до блокади mTOR каскаду у печінці може пояснити розвиток оксидативного ушкодження біологічних полімерів, яке спостерігається в групі введення фенформіну, оскільки активація mTORC2 супроводжується активацією Акт каскаду, який, у свою чергу, активує антиоксидантний транскрипційний фактор Nrf2 [302, 684].

Підвищення активності конститутивних NO-синтаз з одночасним збільшенням активності аргіназ у групі поєданого впливу фенформіну та етанолу створює умови для посилення ендотеліальної дисфункції, індукованої алкоголем [653]. Відсутність впливу введення фенформіну на активність індукцибельної ізоформи NO-синтази в печінці щурів може свідчити про те, що фенформін не має впливу на активність транскрипційних каскадів, які контролюють цей фермент, таких як AP-1 або NF-κB. У групі введення фенформіну спостерігається зниження вмісту депонованих форм оксиду азоту (нітрозотіолів та нітритів), що можливо пов'язано із розвитком ацидозу в печінці під впливом фенформіну, що створює умови для неферментативного відновлення депонованих форм оксиду азоту [606]. Варто зазначити, що надлишок оксиду азоту, який формується редуктазним шляхом ймовірно йде на утворення пероксинітриту, що обумовлює збільшення пероксинітритів у групі введення фенформіну.

Відсутність впливу фенформіну на транскрипційні каскади, що контролюють активність індукцибельної ізоформи NO-синтази в печінці

зберігається навіть за умов поєднання дії фенформіну та хронічного надходження етанолу. Тенденція до посилення редуктивного утворення оксиду азоту також зберігається при поєднанні хронічного алкогольного гепатиту із фенформіном, що пояснює низький рівень нітрозотіолів у цій групі. Збільшення концентрації нітритів у групі тварин, яким вводили фенформін на тлі хронічного алкогольного гепатиту може бути обумовлено збільшеною продукцією оксиду азоту від індукцибельної ізоформи NO-синтази внаслідок алкоголь-індукованої активації прозапальних транскрипційних факторів [678].

Збільшення інтенсивності перекисного окислення ліпідів у групі тварин, яким вводили фенформін на тлі хронічного алкогольного гепатиту до рівнів вищих за рівні в групі хронічного алкогольного гепатиту та тих, що спостерігались у групі введення фенформіну, можуть бути пов'язані із посиленням токсичності фенформіну внаслідок алкоголь-індукованого порушення функції нирок [668]. Менше ушкодження білкових структур печінки в групі щурів, яким вводили фенформін на тлі хронічного алкогольного гепатиту можна пояснити зменшеною інтенсивністю синтезу білка внаслідок активації АМФК та інгібування mTORC1 під впливом фенформіну [278]. Ймовірно зниження синтезу білка в печінці та зменшення оксидативного ушкодження білкових молекул під впливом фенформіну є позитивним явищем, оскільки зменшить ризик розвитку фіброзу за рахунок уповільнення колагеногенезу та інших екстрацелюлярних протеїнів. Здатність АМФК обмежувати фіброз може бути пов'язано з пригніченням оксидативного стресу, запалення, аеробного гліколізу, а також сприянням мітофагії та мітохондріальному біогенезу; окрім своєї антифіброзної ролі, АМФК покращує функцію печінки та послаблює апоптоз гепатоцитів, що вказує на те, що він володіє гепатопротекторними та антифіброзними властивостями [315].

Таким чином, активація АМФ-активованої протеїнкінази фенформіном призводить до збільшення продукції оксиду азоту від конститутивних ізоформ NO-синтази та посилює утворення пероксинітриту в печінці щурів. Введення фенформіну для активації АМФ-активованої протеїнкінази супроводжується

розвитком оксидативного стресу за рахунок посилення утворення АФК з компенсаторним зростанням активності супероксиддисмутази в печінці щурів. В той же час, активація АМФ-активованої протеїнкінази фенформіном за умов хронічного алкогольного гепатиту обмежує надлишкове утворення пероксинітриту і запобігає оксидативному ушкодженню білків печінки щурів.

Огляд результатів експериментальних та клінічних досліджень виявив, що АМФК послаблює TGF- β -сигналізацію в зірчастих клітинах печінки і захищає від TGF- β -індукованого запального пошкодження під час фіброзу печінки [230]. TGF- β є першим індуктором NF- κ B під час запального ураження при фіброзогенезі печінки. АМФК також протистоїть пов'язаному з NF- κ B запальному ушкодженню під час фіброзу печінки [571]. Загалом результати експериментальних досліджень показують, що інактивація АМФК сприяє фіброзу печінки, тоді як її активація може стримувати цей процес і, таким чином, АМФК захищає від запальних ушкоджень і затримує або послаблює фіброз печінки. Крім того, АМФК індукує апоптоз зірчастих клітин печінки і пригнічує їх проліферацію шляхом активації шляху iNOS/NO [131]. У сукупності ці дані показують, що активація АМФК може позитивно вплинути на функціональний стан зірчастих клітин печінки, що призведе до інгібування розвитку фіброзу печінки. АМФК також пригнічує секрецію ЕСМ і фіброз печінки [315].

Таким чином, підсумовуючи відомі факти про вплив АМФК на метаболізм ЕСМ печінки відомо, що АМФК послаблює інтенсивність розвитку фіброзу печінки шляхом зниження інтенсивності первинного запального ураження, секреції ЕСМ та активації зірчастих клітин печінки. Роль АМФК в ремоделюванні ЕСМ печінки за умов хронічного алкогольного гепатиту вивчена недостатньо. Відомо, що гепатоцити, на ранній стадії ушкодження печінки етанолом, захищають себе шляхом активації АМФК, тоді як тривале окислення етанолу може знищити систему відновлення (включаючи сигнальний шлях АМФК і аутофагію). В дослідженнях Lu X et al. доведено, що алкоголь може індукувати високий рівень p-AMPK на початковій стадії алкогольної хвороби

печінки, тоді як рівень p-AMPK може значно знижуватись в печінці мишей після 2 місяців введення алкоголю [337].

За результатами наших досліджень, зниження інтенсивності процесів розпаду колагену у печінці щурів, яким вводили фенформін перорально з метою активації АМФК, можна пов'язати із здатністю АМФК каскаду знижувати активність матриксних металопротеїназ (ММР), зокрема ММР-9 [551]. Надмірна активність ММР-9 є одним із патогенетичних механізмів, що призводять до розвитку фіброзних змін у печінці, тому ймовірне зниження її активності під впливом фенформіну є його позитивним ефектом [369, 581]. За результатами нашого дослідження активація АМФК шляхом введення фенформіну призвела до збільшення концентрації ГАГ за рахунок зростання кератан-дерматанової та хондроїтинової фракцій. Схожі результати були отримані Shrikanth CB et al., які встановили, що після впливу активатора АМФК на клітини лінії NRK-52E в умовах гіперглікемії відбувається збільшення концентрації кератан-дерматанової та хондроїтинової фракцій ГАГ у цих клітинах [535]. Ймовірно, ефект активатора АМФК залежить від типу клітин та умов, у яких ця клітина перебуває. Збільшення концентрації сіалових кислот в печінці щурів під впливом введення фенформіну може бути пов'язане із інгібуючим впливом фенформіну на синтез глікопротеїнів [117]. Також це може бути пов'язано із активацією АМФК каскаду, оскільки в літературі наведені дані, що активатор АМФК берберин має нейрамінідазну активність [587].

Таким чином, введення фенформіну призводить до зниження колагенолізу та посилення катаболізму глікопротеїнів та протеогліканів ЕСМ печінки, зі зміною співвідношення фракцій ГАГ: збільшення кератан-дерматанової і хондроїтинової фракцій на тлі зменшення концентрації гепарин-гепаранової фракції.

Відновлення концентрації гепаран-гепаринової фракції ГАГ в печінці щурів за умов активації АМФК фенформіном може бути пов'язано із зменшенням оксидативного ушкодження гепатоцитів внаслідок впливу етанолу на печінку [124]. Зменшення оксидативного ушкодження клітин під час введення

фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту може бути наслідком АМФК-залежної активації антиоксидантної системи, яка реалізується через вісь АМФК/SIRT1 [249]. Збільшення хондроїтинової фракції ГАГ у цій групі тварин може бути пов'язано із вищезазначеними ефектами фенформіну [535].

Аналізуючи метаболізм колагенових білків ЕСМ печінки щурів, яким вводили фенформін на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, нами встановлено, що концентрація вільного оксипроліну знизилась. Тривале надходження етанолу здатне викликати активацію ММП-2 та ММП-9, що лежить в основі розвитку алкоголь-індукованого фіброзу печінки та цирозу [480, 673]. Зниження концентрації вільного оксипроліну у печінці тварин при введенні фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту полягає в інгібуванні активності ММП-9 шляхом активації АМФК каскаду [551, 648].

В механізмі етанол-індукованого ушкодження печінки провідну роль відводять розвитку оксидативного стресу [129], що підтверджується нашими дослідженнями. Оксидативний стрес сприяє збільшенню активності нейрамінідази-1, що може пояснити десіалізацію глікокон'югатів у тварин за умов тривалого введення етанолу [197]. Зниження концентрації сіалових кислот за умов введення фенформіну на тлі хронічного алкогольного гепатиту може бути пов'язане із активізацією антиоксидантного захисту при стимуляції АМФК каскаду [223, 249].

Таким чином, активація АМФК шляхом введення фенформіну за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту призводить до збільшення концентрації глікозаміногліканів за рахунок зростання гепарин-гепаранової та хондроїтинової фракцій і зменшує інтенсивність десіалізації глікокон'югатів та колагенолізу в печінці щурів.

Печінкова мікроциркуляція є основою нормального біосинтезу, метаболізму та кліренсу речовин. Ефективна перфузія та належне напруження зсуву всередині мікросудин забезпечують обмін рідини та нормальний клітинний фенотип і збалансовують мікроциркуляцію печінки. Відомо, що

хронічні захворювання печінки, такі як алкогольна хвороба печінки, неалкогольна жирова хвороба печінки та хронічний вірусний гепатит можуть призвести до капіляризації синусів [348]. Капіляризація синусів печінки – це патологія, що пов'язана з хронічними захворюваннями печінки, і характеризується потовщенням ендотелію з втратою фенестрів (дефенестрацією) синусоїдних ендотеліальних клітин печінки, та утворенням базальної мембрани під ними, зрештою, виникає фенотипова трансформація синусоїдних ендотеліальних клітин в системний судинний тип ендотелію, що зазвичай локалізується в капілярах більшості органів і тканин людини. За даними Mak KM & Mei R капіляризація синусів відбувається за рахунок відкладення колагену I, III, V, VI та XVIII типів і неколагенових білків. Розширення просторів Діссе від нормальної ширини 0,5 мкм до кількох мкм відбувається за рахунок відкладення фібронектину і протеогліканів, що призводить до перисинусного фіброзу. Варто відзначити, що синусоїдні ендотеліальні клітини печінки можуть дефенеструватися ще до появи базальної мембрани [349]. Капіляризація синусів печінки призводить до порушення часточкової мікроциркуляції, що в свою чергу зменшить двонаправлений обмін речовин у просторі Діссе між кров'ю в синусах та паренхіматозними клітинами і призведе до гепатоцелюлярної дисфункції [358].

Фенестри синусоїдних ендотеліальних клітин печінки є динамічними структурами. Ряд досліджень свідчать, що такі речовини, як етанол, ліки, токсини, фактори росту, гормони, віруси та харчування, модулюють динаміку утворення та зникнення фенестрів у синусоїдних ендотеліальних клітин печінки і призводять до капіляризації синусів печінки. Патогенетичні механізми, що регулюють втрату фенестрів, не повністю встановлені, але на даний час ідентифіковано кілька важливих молекул і шляхів, які регулюють фенестрацію і відіграють важливу роль у забезпеченні мікроциркуляції печінки. Продукція гепатоцитами і зірчастими клітинами печінки фактора росту ендотелію судин (VEGF) забезпечує підтримку фенестрованого фенотипу синусоїдних ендотеліальних клітин печінки. VEGF є ключовим регулятором фенотипу

синусоїдних ендотеліальних клітин печінки [250]. У результаті експериментальних досліджень встановлено, що VEGF діє двома сигнальними шляхами: NO-залежним і NO-незалежним. У NO-залежному шляху продукція оксиду азота ендотеліальною ізоформою NO-синтази активує сигнальний шлях NO/цГМФ, який забезпечує утворення фенестр у синусоїдних ендотеліальних клітинах печінки [239, 618].

Таким чином, як ендотеліальні клітини так і синусоїдні ендотеліальні клітини печінки відіграють важливу роль у регуляції мікроциркуляції печінкової часточки. Оксид азоту та ендотелін-1, які в основному продукуються синусоїдними ендотеліальними клітинами печінки за фізіологічних умов, є двома найпотужнішими вазоактивними речовинами в печінці, які спричиняють різнонаправлені ефекти: розширення та звуження кровоносних судин відповідно [627]. За фізіологічних умов, реагуючи на напругу зсуву, яка є тертям між ендотелієм судин і кровотоком, синусоїдні ендотеліальні клітини печінки збільшують синтез NO та пригнічують експресію ендотеліну-1 [618]. Тим часом, як зазначалося раніше NO-залежні сигнальні шляхи забезпечують фізіологічне функціонування синусоїдних ендотеліальних клітинах печінки і підтримують стан спокою зірчастих клітин печінки та клітин Купфера [627]. Ці дані літератури вказують на те, що синусоїдні ендотеліальні клітини печінки можуть брати участь у запаленні та фіброзі за патологічних станів через сигналізацію NO. Крім того, монооксид вуглецю та метаболіти циклооксигеназного шляху, такі як простацикліни, також пов'язані з регуляцією кровотоку в печінкових синусах [377, 604]. Таким чином, процес регуляції мікроциркуляції в печінці, пов'язаний з синусоїдними ендотеліальними клітинами печінки, не тільки справляється з циркадними змінами печінкового кровотоку, головним чином викликаними травленням, але також бере участь у підтримці гомеостазу печінки, включаючи протидію виникнення запалення та фіброзу за патологічних умов.

АМФК експресується як в ендотеліальних, так і в гладком'язових клітинах судин печінки. Попередні дослідження встановили, що переважною ізоформою, яка експресується в ендотеліальних клітинах судин, є $\alpha 1$. Як $\alpha 1$, так і $\alpha 2$

каталітичні субодиниці експресуються в артеріальних гладком'язових клітинах, хоча їх відносна частка відрізняється між різними артеріями [186]. Вазодилатація є життєво важливим механізмом регуляції системного кровотоку, що відбувається в періоди підвищеної потреби в енергії. Як метаболічний датчик, судинний АМФК може брати участь у метаболічній регуляції кровотоку. Гіпоксія збільшує співвідношення АМФ/АТФ у гладком'язових клітинах легеневої артерії та індукує подвійне збільшення активності АМФК [149]. Дійсно, фармакологічна активація АМФК за допомогою AICAR призводить до розслаблення попередньо звуженої аорти миші [186], а лікування AICAR синдрому інсулінорезистентності знижує артеріальний тиск у щурів [597]. Мішенню АМФК є ендотеліальна NO-синтаза, важливий модулятор ангіогенезу та судинного тону. В ряді наукових досліджень було встановлено, що АМФК може асоціюватися з ендотеліальною NO-синтазою і фосфорилувати її в кардіоміоцитах і ендотеліальних клітинах, таким чином, збільшуючи її активність і синтез NO. Активація АМФК за допомогою AICAR стимулює синтез NO в ендотеліальних клітинах аорти людини [186, 597].

Активація АМФК може бути додатковим механізмом, за допомогою якого гіпоксія або метаболічні зміни можуть викликати вазорелаксацію великих судин, тим самим збільшуючи доступність кисню в периферичних тканинах. Таким чином, АМФК, на наш погляд, є перспективною мішенню для регуляції судинного тону.

Як вже зазначалося раніше, хронічне вживання алкоголю активує транскрипційний фактор NF- κ B в синусоїдних ендотеліальних клітинах печінки, макрофагах та інших клітинах паренхіми печінки [109, 324], якому підконтрольна регуляція експресії прозапальних цитокінів, що активують сигнальні шляхи імунної регуляції запалення печінки [616]. Синусоїдні ендотеліальні клітини печінки ідентифіковані як важливе джерело експресії CXCL у печінці людини, що регулюється передачею сигналів TNF α /NF- κ B [324]. АМФК є ключовим імунометаболічним регуляторним фактором у макрофагах. Активація АМФК необхідна для ефективної поляризації макрофагів M1 до

макрофагів M2. Протизапальна активність АМФК у макрофагах пов'язана зі зниженою деградацією ІкВ, посиленням активності Akt та інактивацією кінази глікогенсинтази 3- β (GSK3- β , EC:2.7.11.26). Інгібування GSK3- β дає змогу білку, що зв'язує елемент відповіді цАМФ (CREB), конкурувати за білок, що зв'язує ядерний коактиватор CREB (CBP), необхідний для функціонування NF- κ B, тим самим зменшуючи експресію прозапальних генів [109]. Таким чином, постає логічне питання як АМФК і NF- κ B змінюють резистентну, обмінну та ємнісну ланки мікроциркуляторного русла печінки та впливають на судини печінкової часточки за умов хронічного алкогольного гепатиту? І чи можуть АМФК і NF- κ B бути мішенями для лікування змін, що виникають в судинному і мікроциркуляторному руслі за умов етанол-індукованих хвороб печінки? Відповіді на ці питання потребують подальших досліджень.

Зменшення середнього діаметру центральних та міжчасточкових вен у групі моделювання хронічного алкогольного гепатиту може призвести до порушення детоксикаційної функції печінки, оскільки фізіологічний рух крові із центральної вени печінкової часточки (басейн портальної вени) до міжчасточкової вени (басейн нижньої порожнистої вени) через синусоїдні капіляри часточок зменшився. Тому, за умов хронічного алкогольного гепатиту відбувається порушення обміну метаболітами між центральною та міжчасточною венами. За даними наукових досліджень тривале вживання алкоголю призводить до посилення експресії циклооксигенази-2 (ЦОГ-2), що супроводжується зростанням рівня простагландину E2 у тканинах печінки, що має створювати судинорозширюючий вплив на венозну ділянку судинного русла [277]. За даними наших досліджень діаметр венозних судин судинного русла печінки за умов тривалого вживання алкоголю зменшується, що може бути наслідком надмірного впливу ендотеліну-1 на стінку судин, що також зростає при тривалому впливі етанолу на тканини печінки [277]. Також за даними літератури відомо, що за умов надмірного надходження алкоголю збільшення активності ЦОГ-2 в печінці має захисний вплив [91].

Зменшення середнього діаметру міжчасточкових артерій та часточкових артеріол за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту може призвести до розвитку гіпоксії та дистрофії в тканині печінки внаслідок зменшення надходження кисню та субстратів для окислення. Зниження тону артерій судинного русла печінки може бути пов'язано із роз'єднанням ендотеліальної ізоформи NO-синтази зі своїм субстратом за умов хронічного надлишкового надходження алкоголю [657]. Що також підтверджують і дані наших досліджень, оскільки активність конститутивних ізоформ NO-синтази в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту значно зростає на тлі зростання конкуренції із індукцибельною ізоформою NO-синтази за субстрат реакції.

Збільшення середнього діаметру міжчасточкових вен за умов введення ЛПС, що як відомо з літературних джерел активує через TLR-4 транскрипційний фактор NF-κB може бути пов'язано з підвищеною експресією ЦОГ-2 під впливом ЛПС [582]. Збільшення діаметру міжчасточкових вен за умов інгібування активації транскрипційного фактора NF-κB шляхом введення ПДТК може бути пов'язано із здатністю ПДТК зменшувати експресію генів ендотеліну-1 [636].

Збільшення середніх діаметрів міжчасточкових артерій та часточкових артеріол в групах ПДТК та ЛПС, інгібування та активації транскрипційного фактора NF-κB відповідно, можна пояснити зменшенням конкуренції між ендотеліальною та індукцибельною ізоформами NO-синтаз за субстрат. Що має своє підтвердження у результатах наших досліджень: введення бактеріального ЛПС на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту призводить до посилення активності конститутивних ізоформ NO-синтази та знижує активність індукцибельної NO-синтази. Введення ПДТК, інгібітора активації транскрипційного фактора NF-κB, за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту підвищує активність конститутивних ізоформ NO-синтази та знижує активність індукцибельної NO-синтази в печінці щурів.

Зміни, що спостерігаються в судинному руслі печінки щурів за умов введення фенформіну на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту

можна пояснити здатністю фенформіну активувати АМФК, що призводить до збільшення експресії генів ендотеліальної NO-синтази, сприяючи зменшенню гіпоксії гепатоцитів через розширення артеріальної (резистентної) ланки мікроциркуляторного русла, та знижує експресію ендотеліну-1, що сприяє розширенню венозної (ємнісної) ланки мікроциркуляторного русла печінки [248].

Одночасне збільшення об'єму резистентної та ємнісної ланок мікроциркуляторного русла печінки щурів за умов введення доксорубіцину на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту може бути пов'язано зі здатністю доксорубіцину зменшувати чутливість ендотелію до ендотеліну-1 [68]. Іншим механізмом розширення просвітів центральних вен, міжчасточкових вен та часточкових венул може бути посилена експресія ЦОГ-2, яка обумовлена токсичністю доксорубіцину по відношенню до гепатоцитів [146].

Таким чином, інгібування транскрипційного фактору NF- κ B шляхом введення ПДТК та його активація бактеріальним ліпополісахаридом за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту покращує мікроциркуляцію шляхом відновлення обміну метаболітами між центральними та міжчасточковими венами, про що свідчить збільшення просвітів часточкових артеріол та венул. Проте враховуючи морфометричні показники діаметрів часточкових артеріол та венул (збільшення майже в 3 рази) за умов стимуляції організму бактеріальним ліпополісахаридом призводить до надмірного розширення судин мікроциркуляторного русла, що сприяє стазу і ексудації.

Введення інгібітора АМФК доксорубіцину та її активатора фенформіну за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту попереджає розвиток гіпоксії печінки, про що свідчить збільшення діаметрів часточкових артеріол та венул, та призводить до інтенсифікації мікроциркуляції.

З літературних джерел відомо про здатність НДЦ як поглинати електрони і вільні радикали, так і продукувати їх але з меншою інтенсивністю за рахунок зміни ступеня окислення з Ce^{3+} на Ce^{4+} та навпаки [147]. Анти- або прооксидантні властивості також залежать від дози наночерію та хімічної природи неметалічної

частини нанокристалічної решітки, розміру наночастинок і ζ -потенціалу. НДЦ у дозах від 300 мкг/мл та вище виявляє цитотоксичну дію по відношенню до культури клітин печінки [276]. В той же час дози від 10 до 60 мкг/мл нітрату наноцерію мають гепатопротекторний вплив на культуру клітин печінки та ефективно поглинають АФК, при моделюванні ішемічно-реперфузійної травми печінки [435]. Враховуючи зафіксовану нами збільшену продукцію супероксид аніон-радикалу в групі щурів, яким вводили НДЦ можна вважати, що введення здоровим тваринам НДЦ проявляє його як прооксидант, що призводить до порушення функціонування антиоксидантних ферментів та спричиняє оксидативні ушкодження мембран та білків гепатоцитів. Одним із механізмів цитотоксичного впливу наноцерію може бути порушення мембранного потенціалу мітохондрій із подальшим збільшенням продукції активних форм кисню від мітохондріальних електроно-транспортних ланцюгів [43].

Оксидативне ушкодження клітин печінки призведе до NF- κ B опосередкованого збільшення активності індукцйбельної NO-синтази та зниження активності аргіназ внаслідок збільшення конкуренції за субстрат реакції, що може пояснити зміни активності цих ферментів, які ми спостерігаємо в групі тварин, яким вводили НДЦ [365]. Збільшення активності нітрат- та нітритредуктаз пов'язано з надмірною активацією редуктазного домену ксантиноксидоредуктазної системи [180]. Посилення активності редуктазного домену ксантиноксидоредуктазної системи забезпечується НДЦ оскільки він здатен зміщувати співвідношення ксантиноксидази/дегідрогенази в бік переважання активності ксантиндегідрогенази [484].

Збільшення концентрації пероксинітриту прямопропорційно залежить від збільшенням продукції його основних компонентів: супероксидного аніон-радикалу та оксиду азоту (як від NO-синтазного, так і від редуктазного шляхів його утворення). Збільшення активності нітрит- та нітратредуктаз призводить до зниження накопичення оксиду азоту у вигляді нітрозотіолових груп. Накопичення сульфідного аніону за цих умов у печінці може бути адаптивною

відповіддю на оксидативне ушкодження гепатоцитів та порушення функціонування супероксиддисмутазно-каталазної системи.

Збільшення інтенсивності колагенолізу, та концентрації сіалових кислот в печінці щурів - це наслідок оксидативно-нітрозативного ушкодження ЕСМ печінки щурів в групі введення НДЦ. Незважаючи на відсутність кількісних змін ГАГ динаміка змін в групі щурів, яким вводили НДЦ у співвідношеннях фракцій ГАГ відповідає змінам при хронічній алкогольній інтоксикації, що свідчить про неспецифічність даних змін.

Незважаючи на збільшену продукцію супероксид аніон-радикалу в групі корекції хронічного алкогольного гепатиту НДЦ порівняно з групою хронічного алкогольного гепатиту і відсутність статистично значущих змін у порівнянні з групою введення НДЦ тваринам дозволяє зробити висновок, що збільшена продукція супероксид аніон-радикалу більшою мірою пов'язана з НДЦ. Схожі зміни в концентрації МДА в групі корекції хронічного алкогольного гепатиту НДЦ наводять на думку, що цей результат також пов'язаний з дією НДЦ. Проте звертає на себе увагу статистично значуще зниження вмісту ОМБ в групі корекції хронічного алкогольного гепатиту НДЦ порівняно з групою хронічного алкогольного гепатиту до рівня значень у групі введення НДЦ щурам. Отже, НДЦ обмежує алкоголь-індуковане ушкодження білків. Таким чином, зниження індукцйбельної NO-синтази як фермента, що експресується у відповідь на ушкодження тканин може бути пов'язане із зменшенням інтенсивності ушкодження білкових компонентів гепатоцитів.

Підвищення активності нітратредуктаз в групі введення НДЦ на тлі хронічного алкогольного гепатиту порівняно з групою хронічного алкогольного гепатиту та відсутність статистично значущих змін при порівнянні з групою тварин, яким вводили НДЦ дозволяє зробити висновок, що збільшення активності нітратредуктаз більшою мірою пов'язана з НДЦ. Збільшену активність нітритредуктаз в групі корекції хронічного алкогольного гепатиту НДЦ порівняно з групою введення НДЦ тваринам та групою хронічного алкогольного гепатиту можна пояснити додатковою нітритредуктазною

активністю альдегідоксидази, яка обумовлюється субстратною індукцією надмірної концентрації ацетальдегіду, що утворюється під дією алкогольдегідрогенази [300]. Збільшення активності аргіназ в групі введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту порівняно з групою хронічного алкогольного гепатиту відбувається за рахунок зменшення конкуренції за субстрат реакції, оскільки активність індукцибельної NO-синтази зменшується.

Зменшення продукції пероксинітриту в групі корекції хронічного алкогольного гепатиту НДЦ порівняно з групою тварин, яким моделювали хронічний алкогольний гепатит пов'язано із зменшенням надходження NO від індукцибельної NO-синтази. Підвищення продукції пероксинітриту в групі щурів, яким вводили НДЦ на тлі хронічного алкогольного гепатиту порівняно з групою введення НДЦ тваринам обумовлено підвищенням активності альдегідоксидази, яка може одночасно продукувати супероксид-аніон радикал і оксид азоту, що створює передумови для утворення пероксинітриту [346]. Проаналізувавши зміни продукції пероксинітриту потрібно зауважити, що НДЦ обмежує його продукцію за умов хронічної алкогольної інтоксикації, чим попереджає розвиток нітрозативного стресу.

НДЦ за умов хронічного алкогольного гепатиту зменшує колагеноліз та катаболізм неколагенових білків ЕСМ печінки. Важливо, що за умов корекції хронічного алкогольного гепатиту НДЦ збільшує концентрацію протизапальної гепарин-гепаранової фракції ГАГ.

Таким чином, внутрішньошлункове введення нанокристалічного діоксиду церію в дозі 1 мг/кг для корекції метаболічних змін в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту обмежує етанол-індуковане ушкодження білків, продукцію пероксинітриту та зменшує колагеноліз і катаболізм неколагенових білків ЕСМ печінки, що обумовлює перспективу його використання для профілактики і лікування хронічного алкогольного гепатиту і необхідність подальших клінічних досліджень лікування алкоголь-асоційованих хвороб печінки (рис. 8.1.).

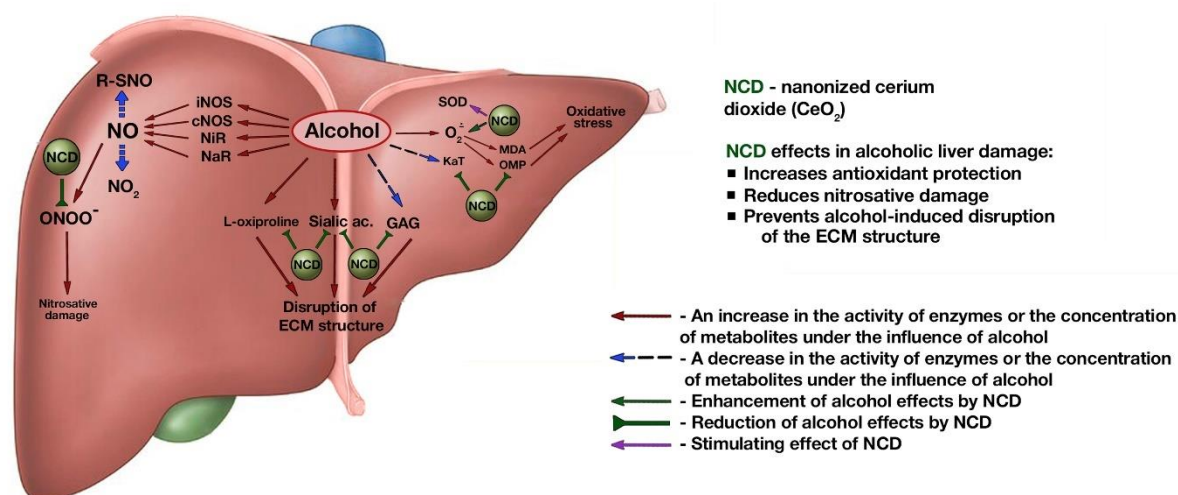


Рис. 8.1. Схематичне зображення впливу нанорозмірного діоксиду церію (NCD) на досліджувані патогенетичні ланки розвитку хронічного алкогольного гепатиту (Mykytenko A.O. et al. 2024): при хронічному алкогольному гепатиті збільшується продукція оксиду азота з L-аргінін-залежних і L-аргінін-незалежних шляхів, а переважаючим шляхом утилізації оксиду азоту є утворення пероксинітриту; застосування NCD запобігає утворенню пероксинітриту в умовах хронічного алкогольного гепатиту; надмірне вживання алкоголю призводить до збільшення вироблення супероксид аніон-радикалу і знижує антиоксидантний захист печінки, що проявляється посиленням пошкодження білкових і ліпідних структур клітин печінки; введення NCD на тлі хронічного алкогольного гепатиту знижує інтенсивність ушкодження білкових структур печінки; при хронічному алкогольному гепатиті підвищується інтенсивність колагенолізу та розпаду глікопротеїнів; введення NCD на тлі хронічного алкогольного гепатиту знижує інтенсивність колагенолізу та стабілізує глікопротеїни печінки. Примітка: iNOS – індукційна NO-синтаза, cNOS – конститутивні NO-синтази, NiR – активність нітритредуктаз, NaR – активність нітратредуктаз, R-SNO – нітрозотіоли, NO – оксид азоту, NO_2 – нітрити, ONOO^- – пероксинітрит, O_2^- – супероксид-аніон радикал, СОД – супероксиддисмутаза, Кат – каталаза, ОМВ – окисно-модифіковані білки, MDA – малоновий діальдегід, GAG – глікозаміноглікани.

За умов введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту в мікроциркуляторному руслі печінки спостерігається розширення часточкових артеріол та венул, що свідчити про покращення мікроциркуляції, а, отже, і посилення метаболічного обміну між гепатоцитом та судинним руслом. Розширення за цих умов міжчасточкових вен та артерій на фоні зменшення відносно групи моделювання хронічного алкогольного гепатиту просвіту центральної вени може бути ознакою відновлення під впливом НДЦ мікроциркуляції між центральною та міжчасточковою венами. Такі позитивні зміни в мікроциркуляторному руслі печінки при введенні НДЦ на тлі хронічного алкогольного гепатиту можуть бути обумовлені посиленням антиоксидантного захисту в тканинах печінки після введення НДЦ [514].

Окрім антиоксидантних ефектів НДЦ може впливати на судини та змінювати їх реакцію у відповідь на розслаблюючі та скорочувальні агоністи. НДЦ підвищує біодоступність NO та посилює чутливість судин до нітропрусиду натрію. Разом із тим, НДЦ знижує вазодилатацію викликану брадикініном та знижує скорочення гладких м'язів судин від ангіотензину II [196]. Зниженням чутливості судин до ангіотензину II під впливом НДЦ пояснює розширення міжчасточкових артерій та часточкових артеріол в групі введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту, оскільки алкоголь може посилювати вплив ангіотензину II на судини [531]. Незважаючи на високий рівень продукції оксиду азоту підчас надлишкового надходження етанолу, його біодоступність для ендотелію судин може знижуватись внаслідок утворення активних форм азоту (пероксинітриту) при взаємодії оксиду азоту із супероксидним аніон-радикалом, продукція якого за умов надлишкового надходження алкоголю також зростає [201]. Тому збільшення біодоступності оксиду азоту під впливом НДЦ також може бути причиною розширення міжчасточкових судин в групі введення НДЦ на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту.

Таким чином, введення нанодисперсного діоксиду церію на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту розширює звужені алкоголем

просвіти міжчасточкових артерій та вен і часточкових артеріол та венул, не впливаючи на діаметр центральної вени, чим покращує мікроциркуляцію в печінці.

Дані, які ми отримали щодо метаболізму сірководню в печінці за умов хронічного алкогольного гепатиту заслуговують на окрему оцінку і дозволяють зробити метаболічні схеми перерозподілу метаболітів сірководню (рис. 8.2, рис. 8.3). В нашому дослідженні моделювання хронічного алкогольного гепатиту призвело до збільшення концентрації сульфід аніонів у печінці. Це протирічить даним Chen LY et al., які спостерігали зменшення концентрації HS^- у тканинах печінки за умов хронічного вживання алкоголю (протягом 8 тижнів) [89]. Це може бути пов'язано із меншою концентрацією алкоголю (10% у нашій роботі проти 56% у роботі Chen LY et al.), який застосовувався для моделювання хронічного алкогольного гепатиту.

Збільшення концентрації сульфід аніонів у печінці за умов хронічного впливу невисоких концентрацій алкоголю може бути пов'язано із накопиченням відновлених донорів електронів ($\text{НАДН}+\text{H}^+$ та $\text{НАДФН}+\text{H}^+$). Накопичення $\text{НАДН}+\text{H}^+$ безпосередньо пов'язано із метаболізмом етанолу, в результаті якого під впливом алкогольдегідрогенази та мітохондріальної ізоформи альдегіддегідрогенази відновлюється дві молекули НАД [189, 342]. Високі концентрації $\text{НАДН}+\text{H}^+$ можуть призвести до накопичення в клітині $\text{НАДФН}+\text{H}^+$ внаслідок переносу електронів із $\text{НАДН}+\text{H}^+$ на НАДФ^+ за допомогою $\text{НАД}^+/\text{НАДФ}^+$ -трансгідрогенази (КФ 1.6.1.2.) [298]. $\text{НАДФН}+\text{H}^+$ може слугувати донором електронів для відновлення сульфатів до сульфідів, а останніх до H_2S сульфат/сульфід редуктазами, аналогом яких в організмі ссавців є сульфідхіноноксидоредуктаза (SQR або SQOR, КФ 1.8.5.8) [255]. Кофактор сульфідхіноноксидоредуктази ФАДН_2 може отримувати електрони в результаті обміну із $\text{НАДФН}+\text{H}^+$ [204]. Таким чином, теоретично можливе алкоголь-індуковане посилення редукції сірковмісних сполук у ряді $\text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{SO}_3^{2-} \rightarrow \text{HS}^-$, що пояснює збільшення сульфідів та сульфідів у печінці щурів в групі хронічного алкогольного гепатиту. Варто зазначити, що накопичення сульфідів

є небажаним, оскільки вони мають високу гепатотоксичність та, за фізіологічних умов, мають знешкоджуватись сульфітоксидазою (КФ 1.8.3.1) [287, 449].

При високих концентраціях сульфід аніонів за аеробних умов у тканинах можливе утворення персульфідів ($R-S-S_nH$) при взаємодії HS^- з гемовим залізом [359]. Персульфіди мають високу електрофільність та можуть взаємодіяти із донором електронів, наприклад, із відновленим глутатіоном, у результаті чого утворюються тіолові групи в складі білкових молекул, що може пояснити збільшення концентрації біотіолів, яке спостерігається в нашому дослідженні за умов хронічного алкогольного гепатиту [107, 378].

Модуляція активності транскрипційного фактора NF- κ B призводить до зменшення концентрації сульфідів за умов інгібування його активації аммоній пірролідіндітіокарбаматом та збільшує їх концентрацію у печінці щурів при стимуляції організму бактеріальним ліпополісахаридом. Такі зміни можуть бути пов'язані із відсутністю прямого транскрипційного контролю NF- κ B над сульфат/сульфід редуктазами з одного боку, та зменшенням продукції H_2S з іншого. Активація NF- κ B може стимулювати продукцію H_2S від цистатіонін β -синтази (CBS, КФ 4.2.1.22), проте тривала стимуляція організму ЛПС може знижувати активність цистатіонін β -синтази внаслідок активації інфламмасоми NLRP3 [393, 667]. Зниження вмісту біотіолів за умов інгібування активації транскрипційного фактора NF- κ B на тлі хронічного алкогольного гепатиту може бути пов'язано із зниженням утворення персульфідів внаслідок низьких концентрацій сульфід аніонів в цій групі тварин. Збільшена концентрація біотіолів у групі стимуляції організму ЛПС за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту може бути обумовлено високою активністю антиоксидантних ферментів, яку ми спостерігали в нашому дослідженні.

Зниження вмісту всіх досліджуваних нами метаболітів сульфору при інгібуванні активації АМФК-каскаду доксорубіцином свідчить про посилене окислення біотіолів, H_2S та SO_3^{2-} внаслідок посилення утворення активних форм

кисню, що індукується введенням доксорубіцину [601].

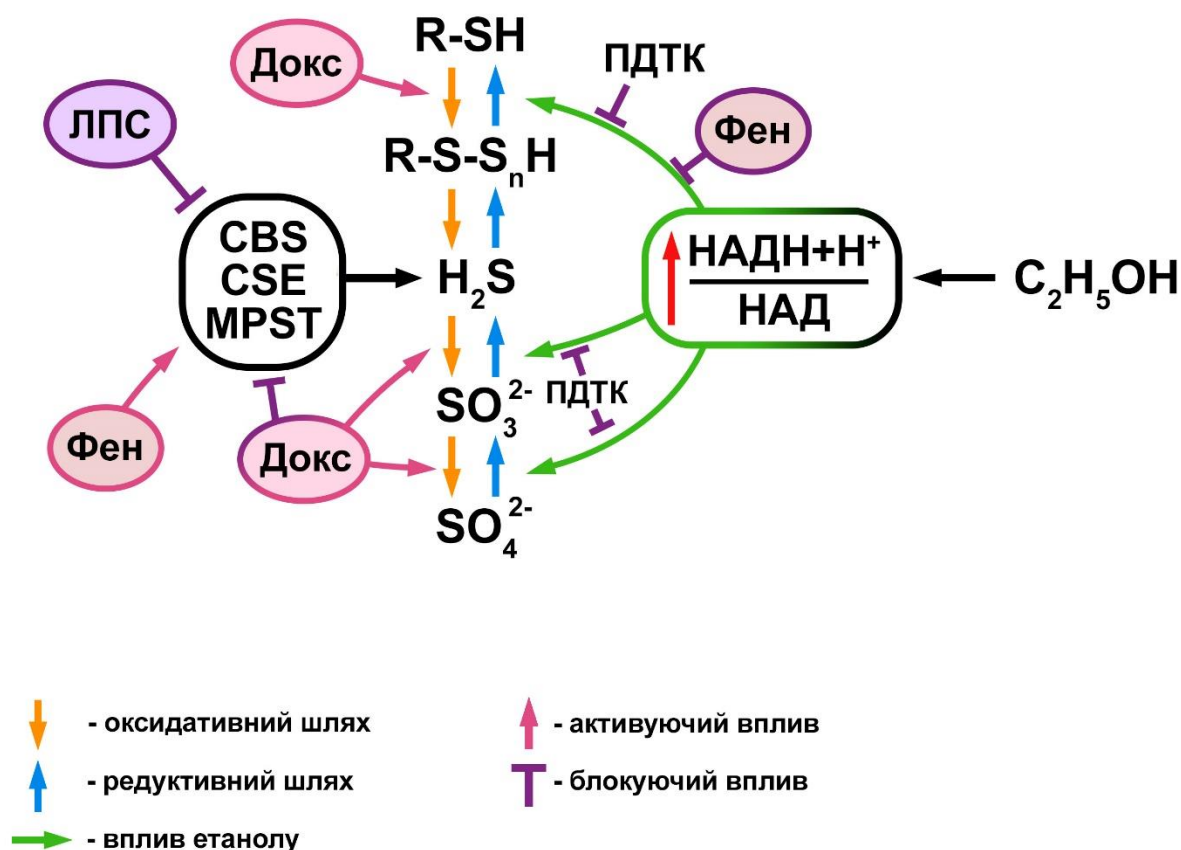


Рис. 8.2. Пермісивний вплив модуляторів транскрипційного фактора NF-κB та АМФ-активованої протеїнкінази (АМФК) за умов хронічного алкогольного гепатиту на метаболізм сірководню в печінці щурів. Примітка: ПДТК – амоній піролідиндітіокарбамат; ЛПС – бактеріальний ліпололісахарид; Докс – доксорубіцин; Фен – фенформін; CBS – цистатіонін β-синтаза (КФ 4.2.1.22); CSE – цистатіонін γ-ліаза (КФ 4.4.1.1); MPST – 3-меркаптопіруватсульфуртрансфераза (КФ 2.8.1.2.).

Збільшена концентрація S_2^- та зниження SO_3^{2-} за умов поєднаного впливу етанолу та фенформіну може бути пов'язано із етанол-індукованою редукцією сульфатів до сульфідів та посиленням синтезу H_2S внаслідок фенформін-індукованої активації АМФК [157]. Зниження концентрації біотіолів в групі

активації АМФК фенформіном на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту можна пояснити регуляторним впливом АМФК на концентрацію НАДФН+Н⁺ у клітині [623].

Таким чином, моделювання хронічного алкогольного гепатиту призводить до накопиченням недоокислених метаболітів сірководню та збільшенням концентрації біологічних тіолів (рис. 8.2). Інгібування активації транскрипційного фактора NF-κB шляхом введення ПДТК за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту зменшує накопичення сульфідів та сульфітів у печінці, та супроводжується зниженням концентрації біологічних тіолів. Введення бактеріального ліпополісахариду тваринам за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту призводить до накопичення токсичних сульфітів у печінці, знижує концентрацію сульфідів, проте збільшує концентрацію біологічних тіолів. Активація АМФ-активованої протеїнкінази фенформіном за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту сприяє зниженню концентрації токсичних сульфітів, проте призводить до виснаження запасів біологічних тіолів та накопичення сульфідів у печінці щурів. Введення доксорубіцину за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту призводить до посилення окислення біологічних тіолів, сульфідів та сульфітів у печінці щурів.

Вплив нанодисперсного діоксиду церію (НДЦ) на тлі хронічного алкогольного гепатиту полягав у зменшенні концентрацій біотіолів, сульфід та сульфід аніонів по відношенню до групи хронічного алкогольного гепатиту, що має тенденцію наближення до цих параметрів у контрольній групі (рис. 8.3.). Такі зміни, на нашу думку обумовлені активацією окислення біотіолів, інгібуванням окислення сірководню та сульфід аніонів і блокуванням активації їх редоксного відновлення за умов впливу етанолу, що сприяє відновленню метаболізму сірководню в печінці. Таким чином, гепатопротекторний вплив НДЦ реалізується також і за рахунок відновлення метаболізму сірководню.

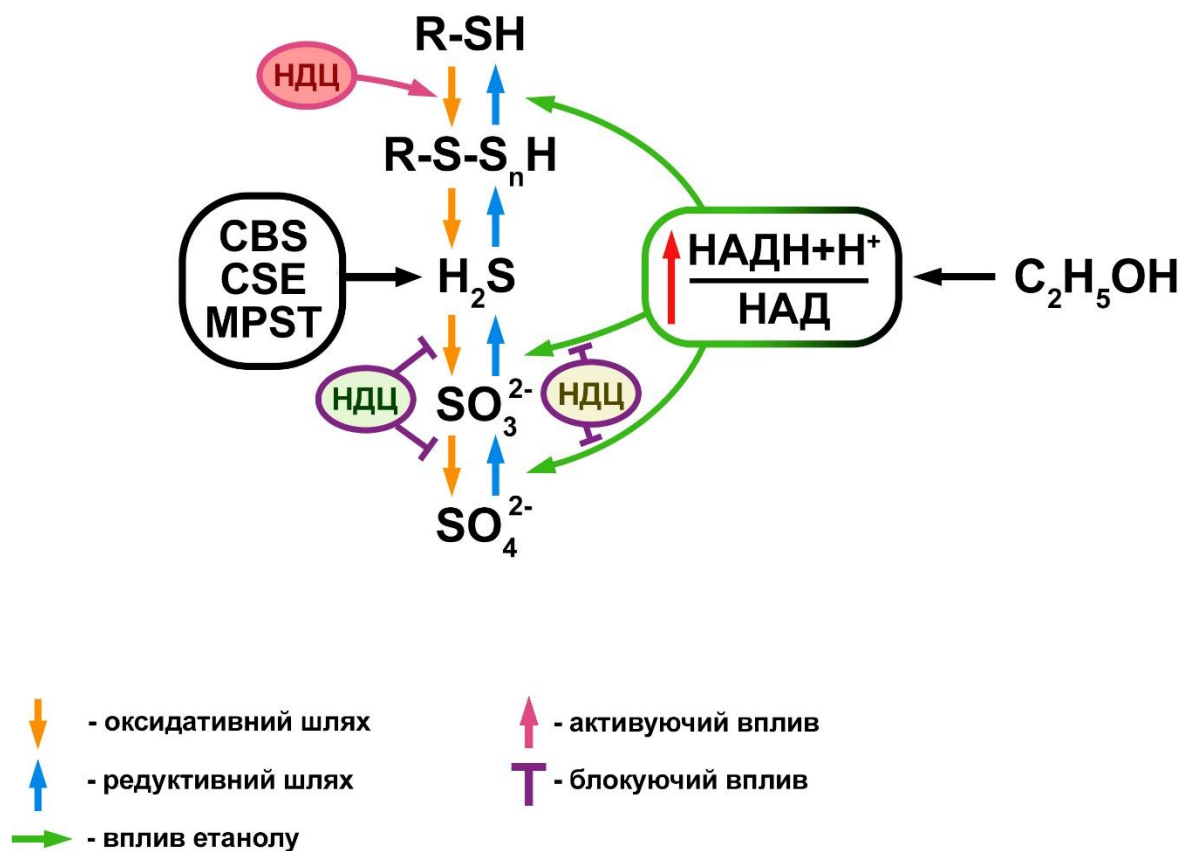


Рис. 8.3. Пермісивний вплив нанодисперсного діоксиду церію за умов хронічного алкогольного гепатиту на метаболізм сірководню в печінці щурів. Примітка: НДЦ - нанодисперсний діоксид церію; CBS – цистатіонін β-синтаза (КФ 4.2.1.22); CSE – цистатіонін γ-ліаза (КФ 4.4.1.1); MPST – 3-меркаптопіруватсульфуртрансфераза (КФ 2.8.1.2.).

Проводячи кореляційний аналіз між показниками концентрації сульфід аніонів (S²⁻) та параметрами прооксидантно / антиоксидантної системи, показниками метаболізму оксиду азота і маркерами обміну екстрацелюлярного матриксу печінки ми дійшли до висновку, що статистично значущі кореляційні зв'язки у контрольній групі щурів відсутні, що може свідчити про нелінійність зв'язків між концентрацією сульфідного аніону та досліджуваними біохімічними параметрами. За умов хронічного алкогольного гепатиту відзначається поява

обернено пропорційного сильного кореляційного зв'язку між концентрацією сульфідного аніону та концентрацією нітритів, що може бути пов'язано із здатністю етанолу незалежно від концентрації H_2S індукувати експресію генів індукцибельної ізоформи NO-синтази (рис. 8.4) [545].

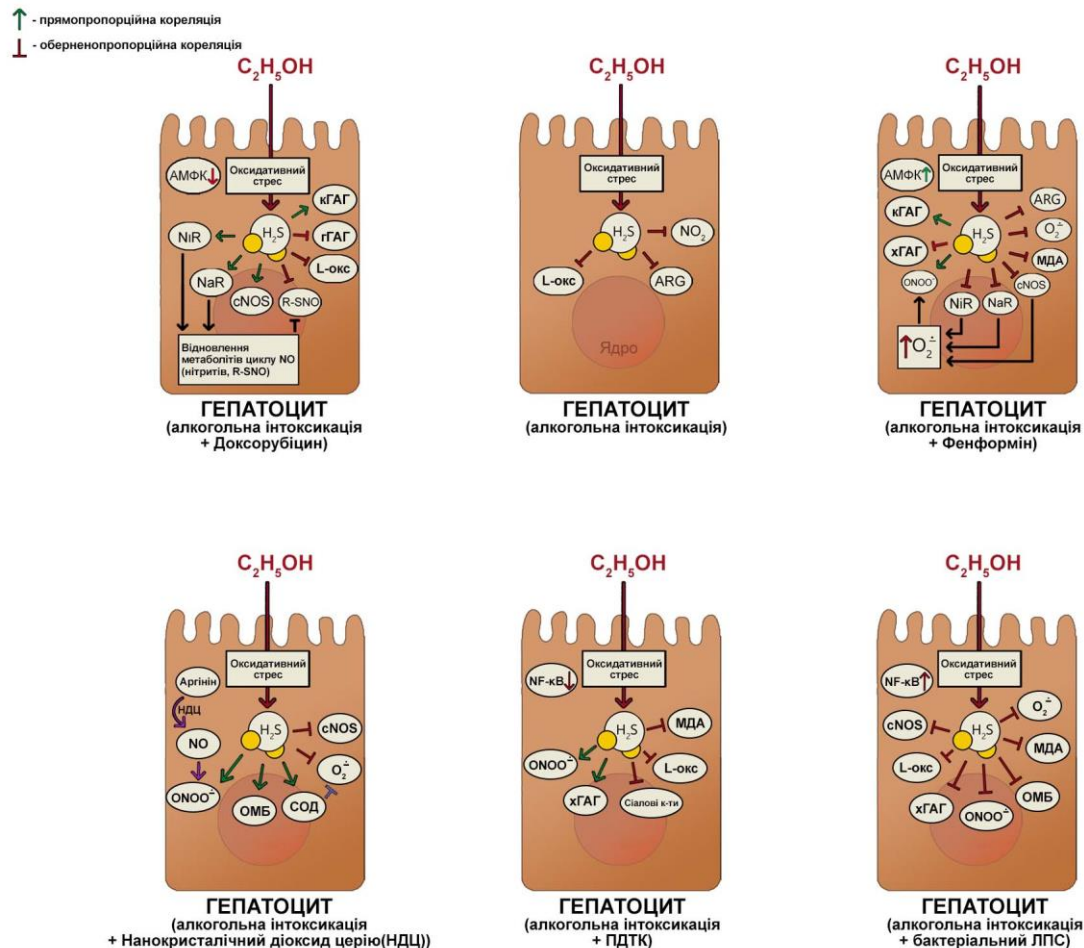


Рис. 8.4. Кореляція концентрації H_2S з параметрами прооксидантно / антиоксидантної системи, показниками метаболізму оксиду азота і маркерами обміну екстрацелюлярного матриксу печінки за умов модуляції транскрипційного фактора NF-κB та АМФ-активованої протеїнкінази на тлі хронічного алкогольного гепатиту. Примітка: НДЦ - нанодисперсний діоксид церію, АМФК - АМФ-активована протеїнкіназа, cNOS – конститутивні NO-синтази, NiR – активність нітритредуктаз, NaR – активність нітратредуктаз, ARG – активність аргіназ, R-SNO – нітрозотіоли, NO – оксид азоту, NO_2 – нітрити, ONOO⁻ – пероксинітрит, O_2^- – супероксидний аніон-

радикал, СОД – супероксиддисмутаза, ОМБ – окисно-модифіковані білки, МДА – малоновий діальдегід, гГАГ – гепарин-гепаранова фракція глікозаміногліканів, кГАГ – кератан-дерматанова фракція глікозаміногліканів, хГАГ – хондроїтинова фракція глікозаміногліканів, L-окс – L-оксипролін.

Поява аналогічного за напрямком та силою зв'язку між концентрацією сульфідного аніону та активністю аргіназ у групі хронічного алкогольного гепатиту також пов'язана із біологічними ефектами етанолу, а саме із його здатністю знижувати активність аргіназ, у той час, як H_2S може підвищувати її активність [577, 330]. Обернено пропорційний сильний зв'язок між концентраціями сульфідного аніону та L-оксипроліну за умов хронічного алкогольного гепатиту можна пояснити підвищенням катаболізмом колагенових волокон спричиненого оксидативним стресом від надлишкового накопичення етанолу, в той час, як H_2S є потужним антиоксидантом [283].

За умов введення бактеріального ліпополісахариду до організму відбувається стимуляція Toll-подібних рецепторів 4 типу (TLR-4), що у свою чергу призводить до посилення активації транскрипційного фактора NF- κ B [184]. За цих умов проявляються антиоксидантні властивості H_2S , які виражаються у обернено пропорційних кореляційних зв'язках між концентрацією H_2S та продукцією супероксидного аніон-радикала, концентрацією МДА та вмістом ОМБ. Це може бути пов'язано із здатністю транскрипційного фактора NF- κ B впливати на активність ферментів, що продукують H_2S . Наукова література не наводить прямих доказів впливу транскрипційного фактора NF- κ B на продукцію H_2S , однак загальновідомим є факт, що за умов надмірної активації транскрипційного фактора NF- κ B зростає продукція АФК [547, 209]. Збільшена продукція АФК внаслідок активації транскрипційного фактора NF- κ B може стимулювати активність цистеїнсинтази (К.Ф. 2.5.1.47), що призведе до субстратної індукції цистеїндесульфгідрази (К.Ф. 4.4.1.15), яка продукує H_2S [224]. В той же час, інгібування активації транскрипційного фактора NF- κ B за допомогою ПДТК значно послаблює

антиоксидантні властивості H_2S , що проявляється відсутністю статистично значущих зв'язків між концентрацією сульфід аніонів та супероксидним аніон-радикалом і вмістом ОМБ. Наявність обернено пропорційного кореляційного зв'язку між концентрацією сульфід аніонів та активністю конститутивних NO-синтаз ймовірно пов'язана із надмірною стимуляцією експресії індукцибельної NO-синтази через вісь LPS/TLR-4/NF- κ B [59]. Збільшення концентрації вільного L-оксипроліну в тканинах відбувається в основному за рахунок активації MMP9, яка може активуватись транскрипційним фактором NF- κ B та під прямим впливом АФК [150, 340]. H_2S має здатність інгібувати активність MMP9 через активуючий вплив сірководню на Nrf2, що пояснює наявність обернено пропорційного кореляційного зв'язку між концентрацією сульфід аніонів та вмістом вільного L-оксипроліну, який не залежить від статусу транскрипційного фактора NF- κ B [152, 679].

Цікавим фактом є зміна полярності зв'язків між концентраціями сульфід аніонів та пероксинітритів, і між концентраціями сульфід аніонів та хондроїтинової фракції глікозаміногліканів з обернено пропорційних зв'язків (при введенні ЛПС за умов хронічного алкогольного гепатиту) на прямо пропорційні (при введенні ПДТК за умов хронічного алкогольного гепатиту). Хондроїтин сульфат також може виступати в ролі донора сірководню, тому прямо пропорційний зв'язок між концентрацією сірководню та хондроїтин сульфатом за умов введення ПДТК на тлі хронічного алкогольного гепатиту може свідчити про те, що він є основним джерелом продукції H_2S із сульфатного залишка хондроїтин сульфату [214]. Надлишкове вивільнення хондроїтин сульфату із ЕСМ може призводити до утворення версікану, який стимулює продукцію пероксинітриту та поглинає солі пероксинітритної кислоти, накопичуючи їх у собі [252]. Таким чином саме зміна джерела утворення H_2S при модуляції активності транскрипційного фактора NF- κ B є причиною зміни зв'язків H_2S із концентрацією пероксинітритів та концентрацією хондроїтинової фракції ГАГ на протилежні.

Модуляція активності АМФК призводить до появи статистично значущих кореляційних співвідношень. Поява обернено пропорційного сильного зв'язку між активністю СОД та концентрацією сульфідного аніону за умов активації АМФК фенформіном може бути пов'язана із зменшенням під впливом АМФК продукції АФК мітохондріями [634]. Поява схожого за напрямком та силою кореляційного зв'язку між концентрацією сульфідного аніону та концентрацією кератан-дерматанової фракції ГАГ пов'язана із здатністю АМФК безпосередньо впливати на концентрації різних фракцій сульфатованих глікозаміногліканів [535]. Зниження ступеня активності АМФК доксирубіцином призводить до появи прямого сильного кореляційного зв'язку між концентрацією сульфідного аніону та концентрацією нітритів, що може свідчити про здатність H_2S посилювати експресію генів конститутивних та індукцибельних ізоформи NO-синтаз [662].

Активація АМФК каскаду на тлі хронічного алкогольного гепатиту значно розширює вплив H_2S на систему оксиду азоту. Появу обернено пропорційних сильних зв'язків із активностями конститутивних ізоформ NO-синтаз, нітрат-редуктазами та нітрит-редуктазами можна пояснити синергізмом інгібіторним впливу АМФК каскаду і алкоголю, який полягав у інгібуванні активності ксантиноксидоредуктазного комплексу, особливо на його редуктазний домен [78, 647, 651]. Врахувавши той факт, що інгібування активації АМФК каскаду доксирубіцином повністю перевертає зв'язок між H_2S та описаними вище ферментами на прямо пропорційний сильний, можна припустити, що АМФК може впливати на біологічну функцію H_2S по відношенню до ксантиноксидоредуктазного комплексу. H_2S має здатність стимулювати перетворення ксантиноксидоредуктазного комплексу в нітрит-редуктазу та сприяти утворенню оксиду азоту із цього джерела [461]. Блокада переходу ксантиноксидоредуктазного комплексу, внаслідок активації АМФК, в нітрит-редуктазу може сприяти надлишковому утворення АФК від оксидазного домену, що пояснює прямо пропорційний сильний зв'язок між H_2S та ONOO^- в групі щурів, яким вводили фенформін за умов хронічного алкогольного гепатиту. І

навпаки, інгібування активації АМФК та H_2S -залежна стимуляція перетворення ксантиноксидоредуктазного комплексу в нітрит-редуктазу можуть пояснити прямо пропорційний сильний зв'язок між H_2S та нітрозотіолами у групі тварин, яким вводили доксирубіцин на тлі хронічного алкогольного гепатиту.

Зникнення взаємозв'язку між H_2S та активністю аргіназ в групі тварин, яким вводили доксирубіцин за умов хронічного алкогольного гепатиту може бути пов'язано із перерозподілом впливу H_2S на нітрат-нітрит редуктазний шлях утворення оксиду азоту в сторону переважання впливу на нітрозотіоли, які можуть модулювати активність аргіназ вивільняючи оксид азоту [99].

Модуляція активності АМФК не змінює напрямок та силу зв'язку між H_2S та концентрацією вільного L-оксипроліну за умов хронічного алкогольного гепатиту. Зміни у взаємозв'язках між H_2S та концентрацією різних фракцій ГАГ більшою мірою залежать від впливу АМФК на концентрацію останніх та потребують подальшого дослідження [535].

Утворення обернено пропорційного зв'язку між концентрацією сульфід аніонів та активністю конститутивних NO-синтаз може бути пов'язано із наявністю у нанодисперсного діоксиду церію NO-синтазної активності [552]. Нанодисперсний діоксид церію потенціює антиоксидантну здатність H_2S , що проявляється у появі обернено пропорційного зв'язку між концентрацією сульфід аніонів та продукцією супероксидного аніон-радикала. Прямо пропорційний зв'язок між концентрацією сульфід аніонів та СОД ймовірно пов'язаний із здатністю H_2S активувати Nrf2, що збільшує експресію генів СОД на фоні зменшення її «завантаженості» завдяки прямим антиоксидантним властивостям нанодисперсного діоксиду церію [679]. Поява прямо пропорційних кореляційних зв'язків між концентрацією H_2S та концентрацією ОМБ і пероксинітритами може бути наслідком наявності у нанодисперсного діоксиду церію NF- κB -інгібуючої властивості, що, як зазначалось вище може змінювати джерело продукції H_2S [25].

ВИСНОВКИ

У дисертації наведене теоретичне узагальнення і розв'язання наукової проблеми, що полягає у встановленні ролі гідроген сульфїду в механізмах етанол-індукованого ушкодження печінки за умов модуляції транскрипційного фактору NF-κB та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази як перспективної стратегії метаболічної гепатопротекції.

1. Хронічне надходження етанолу протягом 63 діб у тварин призводить до надмірної продукції активних форм кисню та азоту, що підтверджується зростанням активності індукцйбельної NO-синтази в 4,5 раза ($p < 0,05$) та нітритредуктаз в 1,68 раза ($p < 0,05$), при цьому переважаючим шляхом утилізації NO є утворення пероксинїтриту. Надмірна продукція активних форм кисню та азоту за умов етанольної інтоксикації призводить до оксидативного ушкодження білкових та ліпідних структур та супроводжується деградацією колагену та глікопротеїдів екстрацелюлярного матриксу печінки з підвищенням концентрації сіалових кислот в 6,09 раза ($p < 0,05$). Зростання концентрації сульфїд аніонів (S^{2-}) в печінці щурів у 2,08 раза ($p < 0,05$) на 63 добу етанол-індукованого ушкодження печінки є адаптивною відповіддю спрямованою на нейтралізацію активних форм кисню, про що свідчить зростання концентрації сульфїт аніонів (SO_3^{2-}) у 1,69 раза ($p < 0,05$) та відновлення тіолових груп білків, що відображено в зростанні біотіолів (R-SH) у 1,06 раза ($p < 0,05$).

2. Введення амоній піролідиндітіокарбамату в якості інгібітора транскрипційного фактора NF-κB на тлі етанол-індукованого ушкодження печінки знижує інтенсивність оксидативного ушкодження білкових структур печінки, що підтверджується зниженням вмісту окисно-модифікованих білків у 1,42 раза ($p < 0,05$) та продукції супероксид аніон-радикалу в 1,52 раза ($p < 0,05$), проте виявляє певну гепатотоксичність про що свідчить підвищення концентрації малонового діальдегіду в 1,07 раза ($p < 0,05$). Амоній піролідиндітіокарбамат посилює утворення NO нітрит- та нітратредуктазним

шляхом та зменшує його утилізацію в пероксинітри, що підтверджується підвищенням активності нітритредуктаз в 2,49 рази ($p < 0,05$) і зниження концентрації пероксинітри в 1,98 рази ($p < 0,05$). Збільшення утворення NO на тлі зменшення активних форм кисню сприяє зменшенню деградації екстрацелюлярного матриксу печінки, про що свідчить зниження концентрації вільного оксипроліну в 1,6 рази ($p < 0,05$) та сіалових кислот в 1,14 рази ($p < 0,05$). В той же час зниження концентрації сульфід аніонів (S^{2-}) в 6,67 рази ($p < 0,05$) є негативним наслідком амоній піролідіндітіокарбамат-індукованого пригнічення активації NF- κ B, який контролює активність ферментів, що синтезують сірководень.

3. Введення бактеріального ліпополісахариду на тлі моделювання хронічного алкогольного гепатиту призводить до посилення етанол-індукованого ушкодження гепатоцитів та збільшує деградацію екстрацелюлярного матриксу печінки: зростання продукції супероксид аніон-радикалу в 1,5 рази ($p < 0,05$), концентрації малонового діальдегіду в 1,74 рази ($p < 0,05$), вмісту окисно-модифікованих білків у 1,12 рази ($p < 0,05$), концентрації оксипроліну в 1,08 рази ($p < 0,05$) і сіалових кислот в 1,26 рази ($p < 0,05$). Бактеріальний ліпополісахарид не змінює переважаючий шлях утилізації надмірного утворення NO, збільшуючи його утворення із нітритів, про що підтверджується підвищення активності нітритредуктаз в 2,46 рази ($p < 0,05$). Роль сірководню в етанол-індукованому ушкодженні печінки не змінюється під впливом бактеріального ліпополісахариду та полягає у нейтралізації активних форм кисню та відновленні біотіолів, про що свідчить підвищення концентрації сульфід аніонів (SO_3^{2-}) у 1,09 рази ($p < 0,05$) та біотіолів (R-SH) у 1,04 рази ($p < 0,05$). Проте введення ліпополісахариду призводить до виснаження ендогенних систем синтезу сірководню, що підтверджується зниженням концентрації сульфід аніонів (S^{2-}) в 2,98 рази ($p < 0,05$).

4. Введення доксорубіцину на тлі хронічного алкогольного гепатиту посилює оксидативне ушкодження гепатоцитів, змінює співвідношення основних продуктів NO в печінці за рахунок зниження активності індукцибельної

NO-синтази в 4 рази та збільшення активності нітритредуктази в 2,94 рази ($p < 0,05$), посилюючи при цьому зростання пероксинітриту в 1,9 рази ($p < 0,05$). Доксорубіцин ремоделює ЕСМ в печінці збільшуючи загальну концентрацію глікозаміногліканів у 1,42 рази ($p < 0,05$) проте зменшуючи етанол-індукований катаболізм колагену та глікопротеїнів, про що свідчить зменшення вмісту оксипроліну в 1,25 рази ($p < 0,05$) і сіалових кислот в 1,36 рази ($p < 0,05$). Застосування доксорубіцину на тлі етанол-індукованого ушкодження печінки блокує адаптивне зростання концентрації сірководню, що пов'язано з інгібуванням активації АМФ-активованої протеїнкінази, яка є стимулятором ендогенної продукції сірководню, про що свідчить зниження концентрації сульфід аніонів (S^{2-}) у 2,11 рази ($p < 0,05$), сульфат аніонів (SO_3^{2-}) у 1,22 рази ($p < 0,05$) та біотіолів (R-SH) у 1,14 рази ($p < 0,05$).

5. Застосування фенформіну на тлі хронічного алкогольного гепатиту призводить до зменшення вмісту окисно-модифікованих білків в 2,6 рази ($p < 0,05$), зростання продукції супероксид аніон-радикалу в 1,11 рази ($p < 0,05$) і концентрації малонового діальдегіду в 2,08 рази ($p < 0,05$). Фенформін впливає на екстрацелюлярний матрикс в печінці збільшуючи загальну концентрацію глікозаміногліканів у 1,53 рази ($p < 0,05$) проте зменшуючи етанол-індукований катаболізм колагену та глікопротеїнів, відповідно концентрація оксипроліну зменшилася в 2,44 рази ($p < 0,05$) і сіалових кислот в 1,79 рази ($p < 0,05$). Фенформін посилює продукцію NO за рахунок активації нітрит-, нітратредуктазної ланки його синтезу, про що свідчить підвищення активності нітритредуктази в 3,63 рази ($p < 0,05$), та запобігає підвищеному утворенню пероксинітриту, про що свідчить зменшення його концентрації в 1,18 рази ($p < 0,05$). Фенформін, як активатор АМФ-активованої протеїнкінази, сприяє синтезу сірководню за умов етанол-індукованого ушкодження печінки, проте блокує здатність сірководню нейтралізувати активні форми кисню та відновлювати тіолові групи білків про що свідчить зниження концентрації сульфат аніонів (SO_3^{2-}) у 1,85 рази ($p < 0,05$) та біотіолів (R-SH) у 1,04 рази ($p < 0,05$).

6. Введення нанокристалічного діоксиду церію тваринам супроводжується зростанням продукції NO від нітритредуктазного шляху (підвищення активності нітритредуктаз в 5,38 рази ($p < 0,05$)) та зниженням концентрації пероксинітриту в 1,25 рази ($p < 0,05$), що аналогічно ефектам інгібування NF- κ B амоній піролідіндітіокарбаматом і попереджає розвиток нітрозативного стресу в печінці. Застосування нанокристалічного діоксиду церію збільшує активність аргіназ в 1,96 рази ($p < 0,05$), чим зменшує токсичний вплив аміаку за умов хронічного алкогольного гепатиту. Використання нанокристалічного діоксиду церію захищає від етанол-індукованого ушкодження білків (зменшення ОМБ в 3,82 рази ($p < 0,05$)) та зменшує колагеноліз і катаболізм неколагенових білків екстрацелюлярного матриксу печінки (знижується концентрація оксипроліну в 1,57 рази ($p < 0,05$) і сіалових кислот в 1,86 рази ($p < 0,05$)). Підвищується деградація протеогліканів (підвищується концентрація глікозаміногліканів у 1,05 рази ($p < 0,05$)) за рахунок протизапальної гепарин-гепаранової фракції глікозаміногліканів концентрація якої зросла в 1,72 рази ($p < 0,05$), імовірно є наслідком оксидативного ушкодження гепатоцитів (зростає продукція супероксид аніон-радикалу в 2,01 рази ($p < 0,05$) і концентрація малонового діальдегіду в 1,46 рази ($p < 0,05$)), що аналогічно змінам при застосуванні доксорубіцину. Застосування нанокристалічного діоксиду церію за умов етанол-індукованого ушкодження печінки нормалізує метаболізм сірководню наближаючи показники концентрації сульфід аніонів (S^{2-}), сульфат аніонів (SO_4^{2-}) та біотіолів до параметрів контрольної групи.

7. Моделювання хронічного алкогольного гепатиту характеризуються порушенням обміну метаболітами між центральними та міжчасточковими венами, що створює передумови для розвитку гіпоксичного ураження гепатоцитів, про що свідчить зменшення діаметрів міжчасточкових артерій в 2,19 рази ($p < 0,05$) та вен в 1,65 рази ($p < 0,05$). Введення амонію піролідіндітіокарбамату, що інгібує активацію транскрипційного фактору NF- κ B за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту сприяє відновленню обміну метаболітами між центральними та міжчасточковими венами, про що

свідчить збільшення просвітів часточкових артеріол в 1,43 раза ($p < 0,05$) та венул в 1,27 раза ($p < 0,05$). Введення бактеріального ліпополісахариду, що активує транскрипційний фактор NF- κ B за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту призводить до надмірного розширення судин мікроциркуляторного русла, що сприяє стазу і запаленню, про що свідчить збільшення просвітів часточкових артеріол в 2,75 раза ($p < 0,05$) та венул в 2,93 раза ($p < 0,05$). Введення фенформіну та доксорубіцину, що впливають на 5'-аденозинмонофосфат-активовану протеїнкіназу за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту запобігає розвитку гіпоксичного ураження гепатоцитів, про що свідчить збільшення діаметрів часточкових артеріол та венул (збільшення діаметру часточкових артеріол за умов інгібування АМФ-активованої протеїнкінази в 2,03 раза ($p < 0,05$), венул в 2,89 раза ($p < 0,05$); збільшення діаметру часточкових артеріол за умов активації АМФ-активованої протеїнкінази в 2,07 раза ($p < 0,05$), венул в 2,73 раза ($p < 0,05$)), та призводить до інтенсифікації міжчасточкового кровообігу. Введення нанокристалічного діоксиду церію на тлі хронічного алкогольного гепатиту не порушує мікроциркуляцію в печінці щурів на відміну від модуляторів транскрипційного фактору NF- κ B та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази (відсутні статистичні відмінності в діаметрах синусоїдних капілярів центральної і периферичної зон у порівнянні з контролем) і збільшує інтенсивність міжчасточкового кровообігу про що свідчить збільшення діаметрів міжчасточкових артерій в 1,76 раза ($p < 0,05$), вен в 1,91 раза ($p < 0,05$), часточкових артеріол в 2,17 раза ($p < 0,05$), венул в 2,27 раза ($p < 0,05$).

8. На підставі кореляційного аналізу встановлено, що сульфідний аніон у печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту може модулювати концентрацію нітритів, активність аргіназ та сприяти колагенолізу (сульфід аніон обернено пропорційно сильно корелює з концентрацією нітритів ($Rho = -0,882$, $p < 0,02$), вільного оксипроліну ($Rho = -0,912$, $p < 0,01$) та активністю аргіназ ($Rho = -0,812$, $p < 0,0499$)). Вплив сульфідного аніону на біохімічні зміни в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту залежить від активації

транскрипційного фактора NF-κB та 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази. Активація транскрипційного фактора NF-κB сприяє реалізації антиоксидантних властивостей H₂S (сульфід аніон обернено пропорційно сильно корелює з показником продукції супероксид аніон-радикалів (Rho = -0,98, p<0,0003), вмістом ОМБ (r² = -0,94, p<0,005), концентрацією МДА (r² = -0,86, p<0,027), пероксинітриту (r² = -0,97, p<0,001), хондроїтиною фракцією глікозаміногліканів (r² = -0,93, p<0,008), вільного оксипроліну (r² = -0,999, p<3,07*10⁻⁶) і активністю конститутивних ізоформ NO-синтаз (r² = -0,93, p<0,007)). Інгібування активації транскрипційного фактора NF-κB знижує антиоксидантні властивості H₂S та загрожує розвитком нітрозативного ушкодження печінки (сульфід аніон прямопропорційно сильно корелює з концентрацією пероксинітритів (r² = 0,9998, p<4,9*10⁻⁸) і концентрацією хондроїтиною фракції глікозаміногліканів (r² = 0,84, p<0,038) та обернено пропорційно сильно корелює з концентрацією МДА (r² = -0,92, p<0,0097), вільного оксипроліну (r² = -0,94*, p<0,006) і сіалових кислот (Rho = -0,96, p<0,003)). Активація 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази сприяє сульфід-залежному утворенню пероксинітриту за умов хронічного алкогольного гепатиту (сульфід аніон прямопропорційно сильно корелює з концентрацією пероксинітриту (Rho = 0,943, p<0,005) та кератан-дерматанової фракції глікозаміногліканів (Rho = 0,94, p<0,005)). Інгібування 5'-аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази сприяє сульфід-залежному накопиченню нітрозотіолів в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту (сульфід аніон прямо пропорційно сильно корелює з активністю конститутивних NO-синтаз (Rho = 0,943, p<0,004), нітритредуктаз (Rho = 0,943, p<0,005), нітратредуктаз (Rho = 0,943, p<0,005) та концентрацією кератан-дерматанової фракції глікозаміногліканів (Rho = 0,89, p<0,02)). Введення нанокристалічного діоксиду церію за умов хронічного алкогольного гепатиту потенціює антиоксидантні властивості H₂S (сульфід аніон обернено пропорційно сильно корелює з продукцією супероксид-аніон радикалу (Rho = -0,956, p<0,003) і прямо пропорційно сильно корелює з вмістом ОМБ (Rho = 0,886, p<0,019) і активністю

СОД ($Rho = 0,956$, $p < 0,003$)), і виявляє NO-синтазноміметичні властивості нанокристалічного діоксиду церію за цих умов (сульфід аніон обернено пропорційно сильно корелює з активністю конститутивних NO-синтаз ($Rho = -0,829$, $p < 0,04$) і прямопропорційно сильно корелює з концентрацією пероксинітриту ($r^2 = 0,908$, $p < 0,01$)).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Рекомендувати розробку нових експериментальних підходів для корекції етанол-індукованого ушкодження гепатоцитів, що включає використання модуляторів транскрипційного фактору NF- κ B та АМФ-активованої протеїнкінази, нанокристалічного діоксиду церію.
2. Рекомендувати доклінічні дослідження нанокристалічного діоксиду церію як засобу ефективної корекції етанол-індукованого ушкодження гепатоцитів з метою захисту від нітрозативного стресу та покращення процесів репаративної регенерації.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Кайдашев ІІ, редактор. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. Полтава; 2003. 320 с.
2. Микитенко А.О. NO-синтазна активність в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту. 42 Наукові читання імені О.О. Богомольця: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченій 140-річчю з дня народження академіка О.О. Богомольця (Київ, 24 травня 2021 р.). Київ: НМУ імені О.О. Богомольця; 2021. С. 113.
3. Микитенко А.О. Активність НАДФН-оксидази та вміст окисно-модифікованих білків в гомогенаті печінки щурів за умов моделювання алкогольного гепатиту. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: матеріали ХІІ Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О. (Галицькі читання ІІ) (Тернопіль, 29-30 жовтня 2020 р.). Тернопіль: ТНМУ; 2020. С.73-74.
4. Микитенко А.О. Вплив нанодисперсного діоксиду церію на редуктазний шлях утворення оксиду нітрогену в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доповідей ІХ Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (19-21 вересня 2024 р.). – Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет, 2024. – С. 148-150.
5. Микитенко А.О. Концентрація сульфідного аніону в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту. Перші читання, присвячені Д.О. Альперну «Актуальні питання патологічної фізіології»: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції (до 150-річчя кафедри загальної та клінічної патофізіології ім. Д.О.Альперна) (Харків, 26 березня 2021 р.). Харків: ХНМУ; 2021. С. 103-104.

6. Микитенко А.О. Стан оксидантно-антиоксидантного балансу в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту. Фізіологія, валеологія, медицина: сучасний стан та перспективи розвитку: тези доповідей Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції (Харків, 06 квітня 2021 р.). Харків: Вид-во НФаУ; 2021. С. 100-101.
7. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Єрошенко ГА, Непорада КС. Вплив наноцерію на метаболізм по в печінці за умов хронічного алкогольної інтоксикації. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: матеріали XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.). – Тернопіль: ТНМУ ім. І. Я. Горбачевського, 2022. – С. 44-45.
8. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Єрошенко ГА, Непорада КС. Зміни морфометричних показників судин печінки щурів за умов тривалої дії етанолу. Експериментальна і клінічна медицина. 2024;93(2):8с. doi: 10.35339/ekm.2024.93.2.may.
9. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Єрошенко ГА, Непорада КС. Зміни морфометричних показників судин печінки за умов хронічного алкогольного гепатиту. Медицина сьогодні і завтра. 2024;93(3):8с. doi: 10.35339/msz.2024.93.3.may.
10. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Єрошенко ГА, Непорада КС. Роль сульфідного аніону в метаболізмі печінки щурів за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція: тези доповідей V науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю (Харків, 17 листопада 2022 р.). – Х.: Вид-во НФаУ, 2022. – С. 263-264.
11. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Непорада КС. Вплив наноцерію на позаклітинний матрикс печінки за умов хронічного алкогольної інтоксикації. Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини: матеріали науково-практичної інтернет-конференції з

- міжнародною участю (Полтава, 11-12 жовтня 2022 р.). – Полтава: ТОВ НВП «Укрпромторгсервіс», 2022. – С. 64-65.
12. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Непорада КС. Вплив стимуляції організму тварин бактеріальним ліпополісахаридом на розвиток оксидативного стресу в печінці. Біологічні, медичні та науково-педагогічні аспекти здоров'я людини: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції (Полтава, 21-22 жовтня 2021 р.). Полтава: Астроя; 2021. С. 126-127.
 13. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Непорада КС. Дія ліпополісахариду на метаболізм оксиду азоту за умов моделювання хронічної алкогольної інтоксикації у щурів. Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації: тези доповідей IV науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (Харків, 19 травня 2022 р.). – Х.: Вид-во НФаУ, 2022. С. 242-243.
 14. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Непорада КС. Метаболізм оксиду азоту в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: тези доповідей IV Науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю (Харків, 18 листопада 2021 р.). Харків: Вид-во НФаУ; 2021. С. 189-190.
 15. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Непорада КС. Роль сульфідного аніону в розвитку оксидативного ушкодження печінки щурів за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Бабенківські читання: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю присвяченій пам'яті академіка Георгія Овксентійовича Бабенка (Івано-Франківськ, 18-19 жовтня 2021 р.). Івано-Франківськ: ІНФМУ; 2021. С. 33.
 16. Микитенко АО. Вплив доксорубіцину на вміст сіалових кислот та оксипроліну в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція : матеріали VI науково-практичної internet-конференції з

- міжнародною участю. (Харків, 16 листопада 2023 р.) – Х.: НФаУ, 2023. – С. 317-318.
17. Микитенко АО. Вплив модуляції аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази на метаболізм сірководню в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту. Ендокринна патологія у віковому аспекті: матеріали науково-практичної конференції з онлайн-трансляцією (Харків, 21-22 листопада 2024 р.). – Х.: ДУ ІПЕП, 2024. – С. 135-136.
 18. Микитенко АО. Вплив модуляції NF-κB на метаболізм сірководню в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту. Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини: збірка тез та статей науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю (Полтава, 30-31 жовтня 2024 р.). – Полтава: ТОВ НВП «Укрпромторгсервіс», 2024. – С. 101-103.
 19. Микитенко АО. Загальна NO-синтазна активність та концентрація нітрозотіолів в печінці щурів за умов моделювання хронічної алкогольної інтоксикації. XXIII–і читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (Одеса, 16-17 травня 2024 року). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2024. – С. 88-89.
 20. Микитенко АО. Метаболізм оксиду азота за умов моделювання хронічної алкогольної інтоксикації. Експериментальна і клінічна медицина. 2023;92(1):13-20. doi: 10.35339/ekm.2023.92.1.myk.
 21. Микитенко АО. Метаболічні зміни в екстрацелюлярному матриксі печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту. *Experimental and clinical physiology and biochemistry*; 2023;1/2(96):12–17. doi: 10.25040/ecpb2023.01-02.012.
 22. Споживання алкоголю в Україні: поведінка та ставлення - грудень 2023: основні результати [Internet]. World health organisation (WHO); 2023 [reviewed 2023, cited 2025]. Available from: <https://www.who.int/ukraine/uk/publications/m/item/alcohol-consumption-in-ukraine-key-findings>.

23. Степанов ЮМ, Діденко ВІ, Динник ОБ, Коненко ІС, Ошмянська НЮ, Галінський ОО, Руденко АІ. Взаємозв'язок між морфологічними змінами печінки та жорсткістю її паренхіми при моделюванні алкогольного та токсичного гепатиту. Журнал НАМН України. 2017; 23(3-4): 196-204.
24. Abdelmegeed MA, Choi Y, Ha SK, Song BJ. Cytochrome P450-2E1 promotes aging-related hepatic steatosis, apoptosis and fibrosis through increased nitroxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2016;91:188-202. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.12.016.
25. Abdulaal WH, Helmi N, Hamza A, Salem NA. Cerium oxide nanoparticles impact on sepsis-induced cerebral injury: Deciphering miRNA/NF- κ B/TLR signalling pathway. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2024;70(1):19-27. doi: 10.14715/cmb/2024.70.1.3.
26. Adam SK, Das S, Jaarin K. A detailed microscopic study of the changes in the aorta of experimental model of postmenopausal rats fed with repeatedly heated palm oil. *Int J Exp Pathol*. 2009;90(3):321-7. doi: 10.1111/j.1365-2613.2009.00658.x.
27. Adebayo OA, Akinloye O, Adaramoye OA. Cerium Oxide Nanoparticles Attenuate Oxidative Stress and Inflammation in the Liver of Diethylnitrosamine-Treated Mice. *Biol Trace Elem Res*. 2020;193(1):214-225. doi: 10.1007/s12011-019-01696-5.
28. Afshar M, Baker K, Corral J, Ross E, Lowery E, Gonzalez R, Burnham EL, Callcut RA, Kornblith LZ, Hendrickson C, Kovacs EJ, Joyce C. Internal and External Validation of an Alcohol Biomarker for Screening in Trauma. *Ann Surg*. 2022;276(6):e961-e968. doi: 10.1097/SLA.0000000000004770.
29. Agra Montava I, Mateo Roca M, López Matas M. Alcoholic ketoacidosis as a cause of metabolic acidosis. *Med Clin (Barc)*. 2022;158(8):393. doi: 10.1016/j.medcli.2021.06.020.
30. Ahmad N, Ansari MY, Bano S, Haqqi TM. Imperatorin suppresses IL-1 β -induced iNOS expression via inhibiting ERK-MAPK/AP1 signaling in primary human

- OA chondrocytes. *Int Immunopharmacol.* 2020;85:106612. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106612.
31. Ahmed OM, Elkomy MH, Fahim HI, Ashour MB, Naguib IA, Alghamdi BS, Mahmoud HUR, Ahmed NA. Rutin and quercetin counter doxorubicin-induced liver toxicity in wistar rats via their modulatory effects on inflammation, oxidative stress, apoptosis, and Nrf2. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:2710607. doi: 10.1155/2022/2710607.
 32. Akaike T, Ida T, Wei FY, et al. Cysteinyl-tRNA synthetase governs cysteine polysulfidation and mitochondrial bioenergetics. *Nat Commun.* 2017;8(1):1177. doi:10.1038/s41467-017-01311-y
 33. Akimov OYe, Kostenko VO. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride. *Ukr Biochem J.* 2016;88(6):70-5. doi: 10.15407/ubj88.06.070.
 34. Alahmari AS, El-Mekkawy HI, Al-Doaiss AA, Alduwish MA. Effect of Natural Commiphora myrrha Extract against Hepatotoxicity Induced by Alcohol Intake in Rat Model. *Toxics.* 202;10(12):729. doi: 10.3390/toxics10120729.
 35. Albillos A, Lario M, Álvarez-Mon M. Cirrhosis-associated immune dysfunction: distinctive features and clinical relevance. *J Hepatol.* 2014; 61(6): 1385-96. doi: 10.1016/j.jhep.2014.08.010.
 36. Alyoussef A, Taha M. Antitumor activity of sulforaphane in mice model of skin cancer via blocking sulfatase-2. *Exp Dermatol.* 2019;28(1):28-34. doi: 10.1111/exd.13802.
 37. Anderson KA, Madsen AS, Olsen CA, Hirschey MD. Metabolic control by sirtuins and other enzymes that sense NAD⁺, NADH, or their ratio. *Biochim Biophys Acta Bioenerg.* 2017;1858(12):991-998. doi: 10.1016/j.bbabbio.2017.09.005.
 38. Andringa KK, King AL, Eccleston HB, Mantena SK, Landar A, Jhala NC, Dickinson DA, Squadrito GL, Bailey SM. Analysis of the liver mitochondrial proteome in response to ethanol and S-adenosylmethionine treatments: novel

- molecular targets of disease and hepatoprotection. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2010;298(5):G732-45. doi: 10.1152/ajpgi.00332.2009.
39. Anouti A, Mellinger JL. The Changing Epidemiology of Alcohol-Associated Liver Disease: Gender, Race, and Risk Factors. *Semin Liver Dis*. 2023;43(1):50-59. doi: 10.1055/a-2000-6680.
 40. Arellanes-Robledo J, Reyes-Gordillo K, Shah R, Domínguez-Rosales JA, Hernández-Nazara ZH, Ramirez F, Rojkind M, Lakshman MR. Fibrogenic actions of acetaldehyde are β -catenin dependent but Wingless independent: a critical role of nucleoredoxin and reactive oxygen species in human hepatic stellate cells. *Free Radic Biol Med*. 2013;65:1487-1496. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.017.
 41. Asati A, Santra S, Kaittanis C, Nath S, Perez JM. Oxidase-like activity of polymer-coated cerium oxide nanoparticles. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2009;48(13):2308-12. doi: 10.1002/anie.200805279.
 42. Asiedu B, Lembede BW, Nyakudya TT, Chivandi E. Orally administered zingerone does not mitigate alcohol-induced hepatic oxidative stress in growing Sprague Dawley rat pups. *Drug Chem Toxicol*. 2023;46(4):736-745. doi: 10.1080/01480545.2022.2085740.
 43. Babu Varukattu N, Lin W, Vivek R, Rejeeth C, Sabarathinam S, Yao Z, Zhang H. Targeted and Intrinsic Activity of HA-Functionalized PEI-Nanoceria as a Nano Reactor in Potential Triple-Negative Breast Cancer Treatment. *ACS Appl Bio Mater*. 2020;3(1):186-196. doi: 10.1021/acsabm.9b00577.
 44. Balakrishnan M, Pappas SC. Alcohol and the Law. *Clin Liver Dis*. 2019;23(1):25-38. doi: 10.1016/j.cld.2018.09.002.
 45. Balbo S, Brooks PJ. Implications of acetaldehyde-derived DNA adducts for understanding alcohol-related carcinogenesis. *Adv Exp Med Biol*. 2015;815:71-88. doi: 10.1007/978-3-319-09614-8_5.
 46. Balbo S, Hashibe M, Gundy S, Brennan P, Canova C, Simonato L, Merletti F, Richiardi L, Agudo A, Castellsagué X, Znaor A, Talamini R, Bencko V, Holcátová I, Wang M, Hecht SS, Boffetta P. N2-ethyldeoxyguanosine as a

- potential biomarker for assessing effects of alcohol consumption on DNA. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(11):3026-32. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0117.
47. Baldim V, Bedioui F, Mignet N, Margail I, Berret JF. The enzyme-like catalytic activity of cerium oxide nanoparticles and its dependency on Ce³⁺ surface area concentration. *Nanoscale.* 2018;10(15):6971-6980. doi: 10.1039/c8nr00325d.
 48. Bartosz G. Peroxynitrite: mediator of the toxic action of nitric oxide. *Acta Biochim Pol.* 1996;43(4):645-59.
 49. Bech JN, Aagaard NK, Pedersen RS, Sorensen TB, Vilstrup H, Pedersen EB. Renal effects of NO-inhibition in patients with cirrhosis vs. healthy controls: a randomized placebo-controlled crossover study. *Liver Int.* 2014;34(2):211-9. doi: 10.1111/liv.12233.
 50. Becker HC, Lopez MF, Doremus-Fitzwater TL. Effects of stress on alcohol drinking: a review of animal studies. *Psychopharmacology (Berl).* 2011;218(1):131-56. doi: 10.1007/s00213-011-2443-9.
 51. Behera J, Tyagi SC, Tyagi N. Hyperhomocysteinemia induced endothelial progenitor cells dysfunction through hyper-methylation of CBS promoter. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019;510(1):135-141. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.01.066.
 52. Beier JJ, McClain CJ. Mechanisms and cell signaling in alcoholic liver disease. *Biol Chem.* 2010;391(11):1249-64. doi: 10.1515/BC.2010.137.
 53. Ben-Neriah Y, Karin M. Inflammation meets cancer, with NF- κ B as the matchmaker. *Nat Immunol.* 2011;12(8):715-23. doi: 10.1038/ni.2060.
 54. Beregova TV, Neporada KS, Skrypnyk M, Falalyeyeva TM, Zholobak NM, Shcherbakov OB, Spivak MY, Bubnov RV. Efficacy of nanocerium for periodontal tissues alteration in glutamate-induced obese rats-multidisciplinary considerations for personalized dentistry and prevention. *EPMA J.* 2017;8(1):43-49. doi: 10.1007/s13167-017-0085-7.
 55. Bergwik J, Kristiansson A, Larsson J, Ekström S, Åkerström B, Allhorn M. Binding of the human antioxidation protein α 1-microglobulin (A1M) to heparin

- and heparan sulfate. Mapping of binding site, molecular and functional characterization, and co-localization in vivo and in vitro. *Redox Biol.* 2021;41:101892. doi: 10.1016/j.redox.2021.101892.
56. Best CA, Laposata M, Proios VG, Szczepiorkowski ZM. Method to assess fatty acid ethyl ester binding to albumin. *Alcohol Alcohol.* 2006;41(3):240-6. doi: 10.1093/alcalc/agl009.
 57. Bhatia M, Sidhapuriwala JN, Ng SW, Tamizhselvi R, Moochhala SM. Pro-inflammatory effects of hydrogen sulphide on substance P in caerulein-induced acute pancreatitis. *J Cell Mol Med.* 2008;12(2):580-90. doi: 10.1111/j.1582-4934.2007.00131.x.
 58. Bhatia R, Thompson CM, Clement EJ, Ganguly K, Cox JL, Rauth S, Siddiqui JA, Mashiana SS, Jain M, Wyatt TA, Mashiana HS, Singh S, Woods NT, Kharbanda KK, Batra SK, Kumar S. Malondialdehyde-Acetaldehyde Extracellular Matrix Protein Adducts Attenuate Unfolded Protein Response During Alcohol and Smoking-Induced Pancreatitis. *Gastroenterology.* 2022;163(4):1064-1078.e10. doi: 10.1053/j.gastro.2022.06.071.
 59. Bi W, Bao K, Zhou X, Deng Y, Li X, Zhang J, Lan X, Zhao J, Lu D, Xu Y, Cen Y, Cao R, Xu M, Zhong W, Zhu L. PSMC5 regulates microglial polarization and activation in LPS-induced cognitive deficits and motor impairments by interacting with TLR4. *J Neuroinflammation.* 2023;20(1):277. doi: 10.1186/s12974-023-02904-9.
 60. Bibbò S, Ianiro G, Dore MP, Simonelli C, Newton EE, Cammarota G. Gut Microbiota as a Driver of Inflammation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Mediators Inflamm.* 2018; 2018: 9321643. doi: 10.1155/2018/9321643.
 61. Biddinger KJ, Emdin CA, Haas ME, Wang M, Hindy G, Ellinor PT, Kathiresan S, Khera AV, Aragam KG. Association of Habitual Alcohol Intake With Risk of Cardiovascular Disease. *JAMA Netw Open.* 2022; 5(3): e223849. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2022.3849.
 62. Bielecka-Dabrowa A, Bartłomiejczyk MA, Sakowicz A, Maciejewski M, Banach M. The Role of Adipokines in the Development of Arterial Stiffness and

- Hypertension. Angiology. 2020; 71(8): 754-761. doi: 10.1177/0003319720927203.
63. Birková A, Hubková B, Čížmarová B, Bolerázská B. Current View on the Mechanisms of Alcohol-Mediated Toxicity. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(18): 9686. doi: 10.3390/ijms22189686.
 64. Blaya D, Rubio-Tomás T, Rodrigo-Torres D, Lozano J, Coll M, Argemi J, Altamirano J, Affò S, Morales-Ibanez O, Gratacós-Ginès J, Pose E, Tanguy M, Issoufaly T, Rautou PE, Bataller R, Caballería J, Sancho-Bru P. Endothelial dysfunction markers predict short-term mortality in patients with severe alcoholic hepatitis. *Hepatol Int.* 202;15(4):1006-1017. doi: 10.1007/s12072-021-10165-y.
 65. Blomme B, Van Steenkiste C, Callewaert N, Van Vlierberghe H. Alteration of protein glycosylation in liver diseases. *J Hepatol.* 2009;50(3):592-603. doi: 10.1016/j.jhep.2008.12.010.
 66. Boey A, Leong SQ, Bhave S, Ho HK. Cerium oxide nanoparticles alleviate hepatic fibrosis phenotypes *in vitro*. *Int J Mol Sci.* 2021;22(21):11777. doi: 10.3390/ijms222111777.
 67. Bolognesi M, Verardo A, Di Pascoli M. Peculiar characteristics of portal-hepatic hemodynamics of alcoholic cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2014;20(25):8005-10. doi: 10.3748/wjg.v20.i25.8005.
 68. Bosman M, Krüger DN, Favere K, Wesley CD, Neutel CHG, Van Asbroeck B, Diebels OR, Faes B, Schenk TJ, Martinet W, De Meyer GRY, Van Craenenbroeck EM, Guns PDF. Doxorubicin Impairs Smooth Muscle Cell Contraction: Novel Insights in Vascular Toxicity. *Int J Mol Sci.* 2021;22(23):12812. doi: 10.3390/ijms222312812.
 69. Brenner DA. Molecular pathogenesis of liver fibrosis. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2009;120:361-368.
 70. Brooks PJ, Theruvathu JA. DNA adducts from acetaldehyde: implications for alcohol-related carcinogenesis. *Alcohol.* 2005;35(3):187-93. doi: 10.1016/j.alcohol.2005.03.009.

71. Cai J, Shi X, Wang H, Fan J, Feng Y, Lin X, Yang J, Cui Q, Tang C, Xu G, Geng B. Cystathionine γ lyase-hydrogen sulfide increases peroxisome proliferator-activated receptor γ activity by sulfhydration at C139 site thereby promoting glucose uptake and lipid storage in adipocytes. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1861(5):419-29. doi: 10.1016/j.bbalip.2016.03.001.
72. Calenic B, Yaegaki K, Ishkitiev N, Kumazawa Y, Imai T, Tanaka T. p53-Pathway activity and apoptosis in hydrogen sulfide-exposed stem cells separated from human gingival epithelium. *J Periodontal Res*. 2013; 48(3): 322-30. doi: 10.1111/jre.12011.
73. Candas D, Li JJ. MnSOD in oxidative stress response-potential regulation via mitochondrial protein influx. *Antioxid Redox Signal*. 2014;20(10):1599-617. doi: 10.1089/ars.2013.5305.
74. Carlos TD, Bezerra LB, Vieira MM, Sarmiento RA, Pereira DH, Cavallini GS. Fenton-type process using peracetic acid: Efficiency, reaction elucidations and ecotoxicity. *J Hazard Mater*. 2021;403:123949. doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.123949.
75. Carnovale CE, Ronco MT. Role of nitric oxide in liver regeneration. *Ann Hepatol*. 2012;11(5):636-47.
76. Carvajal S, Perramón M, Oró D, Casals E, Fernández-Varo G, Casals G, Parra M, González de la Presa B, Ribera J, Pastor Ó, Morales-Ruiz M, Puentes V, Jiménez W. Cerium oxide nanoparticles display antilipogenic effect in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Sci Rep*. 2019;9(1):12848. doi: 10.1038/s41598-019-49262-2.
77. Casals G, Perramón M, Casals E, Portolés I, Fernández-Varo G, Morales-Ruiz M, Puentes V, Jiménez W. Cerium Oxide Nanoparticles: A New Therapeutic Tool in Liver Diseases. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(5):660. doi: 10.3390/antiox10050660.
78. Castro GD, Delgado de Layño AM, Costantini MH, Castro JA. Cytosolic xanthine oxidoreductase mediated bioactivation of ethanol to acetaldehyde and free

- radicals in rat breast tissue. Its potential role in alcohol-promoted mammary cancer. *Toxicology*. 2001;160(1-3):11-8. doi: 10.1016/s0300-483x(00)00433-9.
79. Cederbaum AI. Alcohol metabolism. *Clin Liver Dis*. 2012;16(4):667-85. doi: 10.1016/j.cld.2012.08.002.
 80. Cederbaum AI. Cytochrome P450 2E1-dependent oxidant stress and upregulation of anti-oxidant defense in liver cells. *J Gastroenterol Hepatol*. 2006;21 Suppl 3:S22-5. doi: 10.1111/j.1440-1746.2006.04595.x.
 81. Ceni E, Mello T, Galli A. Pathogenesis of alcoholic liver disease: role of oxidative metabolism. *World J Gastroenterol*. 2014;20(47):17756-72. doi: 10.3748/wjg.v20.i47.17756.
 82. Chapp AD, Nwakama CA, Collins AR, Mermelstein PG, Thomas MJ. Physiological acetic acid concentrations from ethanol metabolism stimulate accumbens shell medium spiny neurons via NMDAR activation in a sex-dependent manner. *Neuropsychopharmacology*. 2024;49(5):885-892. doi: 10.1038/s41386-023-01752-8.
 83. Chapp AD, Shan Z, Chen QH. Acetic Acid: An Underestimated Metabolite in Ethanol-Induced Changes in Regulating Cardiovascular Function. *Antioxidants (Basel)*. 2024;13(2):139. doi: 10.3390/antiox13020139.
 84. Charatcharoenwitthaya P, Liangpunsakul S, Piratvisuth T. Alcohol-Associated Liver Disease: East Versus West. *Clin Liver Dis (Hoboken)*. 2021;16(6):231-235. doi: 10.1002/cld.920.
 85. Chen A. Acetaldehyde stimulates the activation of latent transforming growth factor-beta1 and induces expression of the type II receptor of the cytokine in rat cultured hepatic stellate cells. *Biochem J*. 2002;368(Pt 3):683-693. doi:10.1042/BJ20020949.
 86. Chen H, Shen F, Sherban A, Nocon A, Li Y, Wang H, Xu MJ, Rui X, Han J, Jiang B, Lee D, Li N, Keyhani-Nejad F, Fan JG, Liu F, Kamat A, Musi N, Guarente L, Pacher P, Gao B, Zang M. DEP domain-containing mTOR-interacting protein suppresses lipogenesis and ameliorates hepatic steatosis and acute-on-chronic

- liver injury in alcoholic liver disease. *Hepatology*. 2018;68(2):496-514. doi: 10.1002/hep.29849.
87. Chen J, Clemens DL, Cederbaum AI, Gao B. Ethanol inhibits the JAK-STAT signaling pathway in freshly isolated rat hepatocytes but not in cultured hepatocytes or HepG2 cells: evidence for a lack of involvement of ethanol metabolism. *Clin Biochem*. 2001;34(3):203-9. doi: 10.1016/s0009-9120(01)00216-8.
 88. Chen LY, Chen Q, Cheng YF, Jin HH, Kong DS, Zhang F, Wu L, Shao JJ, Zheng SZ. Diallyl trisulfide attenuates ethanol-induced hepatic steatosis by inhibiting oxidative stress and apoptosis. *Biomed Pharmacother*. 2016;79:35-43. doi: 10.1016/j.biopha.2016.01.009.
 89. Chen LY, Chen Q, Zhu XJ, Kong DS, Wu L, Shao JJ, Zheng SZ. Diallyl trisulfide protects against ethanol-induced oxidative stress and apoptosis via a hydrogen sulfide-mediated mechanism. *Int Immunopharmacol*. 2016;36:23-30. doi: 10.1016/j.intimp.2016.04.015.
 90. Chen M, Liu J, Yang W, Ling W. Lipopolysaccharide mediates hepatic stellate cell activation by regulating autophagy and retinoic acid signaling. *Autophagy*. 2017;13(11):1813-1827. doi: 10.1080/15548627.2017.1356550.
 91. Chen M, Sun X, Wei W, Cucarella C, Martín-Sanz P, Casado M, Pi L, Ren B, Cao Q. Hepatic COX-2 expression protects mice from an alcohol-high fat diet-induced metabolic disorder by involving protein acetylation related energy metabolism. *Alcohol*. 2021;92:41-52. doi: 10.1016/j.alcohol.2020.08.007.
 92. Chen X, Bian M, Jin H, Lian N, Shao J, Zhang F, Zheng S. Dihydroartemisinin attenuates alcoholic fatty liver through regulation of lipin-1 signaling. *IUBMB Life*. 2019;71(11):1740-1750. doi: 10.1002/iub.2113.
 93. Chen Y, Choi SS, Michelotti GA, Chan IS, Swiderska-Syn M, Karaca GF, Xie G, Moylan CA, Garibaldi F, Premont R, Suliman HB, Piantadosi CA, Diehl AM. Hedgehog controls hepatic stellate cell fate by regulating metabolism. *Gastroenterology*. 2012;143(5):1319-1329.e11. doi: 10.1053/j.gastro.2012.07.115.

94. Chrostek L, Cylwik B, Panasiuk A, Brodowska-Adamusiak D, Gruszevska E. Lipid-bound sialic acid (LSA) in liver diseases of different etiologies. *Ann Hepatol*. 2011;10(2):150-4.
95. Chrostek L, Cylwik B. Zaburzenia glikozylacji białek w chorobach wtroby [The alteration of proteins glycosylation in liver diseases]. *Pol Merkur Lekarski*. 2011;31(181):60-4. [Polish].
96. Chung AW, Crispin M, Pritchard L, Robinson H, Gorny MK, Yu X, Bailey-Kellogg C, Ackerman ME, Scanlan C, Zolla-Pazner S, Alter G. Identification of antibody glycosylation structures that predict monoclonal antibody Fc-effector function. *AIDS*. 2014;28(17):2523-30. doi: 10.1097/QAD.0000000000000444.
97. Ci L, Yang X, Gu X, Li Q, Guo Y, Zhou Z, Zhang M, Shi J, Yang H, Wang Z, Fei J. Cystathionine γ -Lyase Deficiency Exacerbates CCl₄-Induced Acute Hepatitis and Fibrosis in the Mouse Liver. *Antioxid Redox Signal*. 2017;27(3):133-149. doi: 10.1089/ars.2016.6773.
98. Cirino G, Szabo C, Papapetropoulos A. Physiological roles of hydrogen sulfide in mammalian cells, tissues, and organs. *Physiol Rev*. 2023;103(1):31-276. doi: 10.1152/physrev.00028.2021.
99. Ckless K, van der Vliet A, Janssen-Heininger Y. Oxidative-nitrosative stress and post-translational protein modifications: implications to lung structure-function relations. Arginase modulates NF-kappaB activity via a nitric oxide-dependent mechanism. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2007;36(6):645-53. doi: 10.1165/rcmb.2006-0329SM.
100. Cobb BA. The history of IgG glycosylation and where we are now. *Glycobiology*. 2020;30(4):202-213. doi: 10.1093/glycob/cwz065.
101. Cohen JI, Roychowdhury S, McMullen MR, Stavitsky AB, Nagy LE. Complement and alcoholic liver disease: role of C1q in the pathogenesis of ethanol-induced liver injury in mice. *Gastroenterology*. 2010;139(2):664-74, 674.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2010.04.041.

102. Comas F, Moreno-Navarrete JM. The impact of H₂S on obesity-associated metabolic disturbances. *antioxidants* (Basel). 2021;10(5):633. doi: 10.3390/antiox10050633.
103. Córdoba-Jover B, Arce-Cerezo A, Ribera J, Pauta M, Oró D, Casals G, Fernández-Varo G, Casals E, Puentes V, Jiménez W, Morales-Ruiz M. Cerium oxide nanoparticles improve liver regeneration after acetaminophen-induced liver injury and partial hepatectomy in rats. *J Nanobiotechnology*. 2019;17(1):112. doi: 10.1186/s12951-019-0544-5.
104. Couch RD, Dailey A, Zaidi F, et al. Alcohol induced alterations to the human fecal VOC metabolome. *PLoS One*. 2015;10(3):e0119362. doi:10.1371/journal.pone.0119362
105. Cuadrado A, Martín-Moldes Z, Ye J, Lastres-Becker I. Transcription factors NRF2 and NF- κ B are coordinated effectors of the Rho family, GTP-binding protein RAC1 during inflammation. *J Biol Chem*. 2014;289(22):15244-58. doi: 10.1074/jbc.M113.540633.
106. Cubero FJ, Urtasun R, Nieto N. Alcohol and liver fibrosis. *Semin Liver Dis*. 2009;29(2):211-21. doi: 10.1055/s-0029-1214376.
107. Cuevasanta E, Benchoam D, Semelak JA, Möller MN, Zeida A, Trujillo M, Alvarez B, Estrin DA. Possible molecular basis of the biochemical effects of cysteine-derived persulfides. *Front Mol Biosci*. 2022;9:975988. doi: 10.3389/fmolb.2022.975988.
108. Cui K, Yan G, Xu C, Chen Y, Wang J, Zhou R, Bai L, Lian Z, Wei H, Sun R, Tian Z. Invariant NKT cells promote alcohol-induced steatohepatitis through interleukin-1 β in mice. *J Hepatol*. 2015;62(6):1311-8. doi: 10.1016/j.jhep.2014.12.027.
109. Cui Y, Chen J, Zhang Z, Shi H, Sun W, Yi Q. The role of AMPK in macrophage metabolism, function and polarisation. *J Transl Med*. 2023;21(1):892. doi: 10.1186/s12967-023-04772-6.

110. Cyr AR, Huckaby LV, Shiva SS, Zuckerbraun BS. Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction. *Crit Care Clin.* 2020;36(2):307-321. doi: 10.1016/j.ccc.2019.12.009.
111. da Silva Morais A, Abarca-Quinones J, Guigas B, Viollet B, Stärkel P, Horsmans Y, Leclercq IA. Development of hepatic fibrosis occurs normally in AMPK-deficient mice. *Clin Sci (Lond).* 2009;118(6):411-20. doi: 10.1042/CS20090293.
112. Daneva Z, Marziano C, Ottolini M, Chen YL, Baker TM, Kuppusamy M, Zhang A, Ta HQ, Reagan CE, Mihalek AD, Kasetti RB, Shen Y, Isakson BE, Minshall RD, Zode GS, Goncharova EA, Laubach VE, Sonkusare SK. Caveolar peroxynitrite formation impairs endothelial TRPV4 channels and elevates pulmonary arterial pressure in pulmonary hypertension. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2021;118(17):e2023130118. doi: 10.1073/pnas.2023130118.
113. Das S, Dowding JM, Klump KE, McGinnis JF, Self W, Seal S. Cerium oxide nanoparticles: applications and prospects in nanomedicine. *Nanomedicine (Lond).* 2013;8(9):1483-508. doi: 10.2217/nnm.13.133.
114. Das SK, Vasudevan DM. Alcohol-induced oxidative stress. *Life Sci.* 2007; 81(3): 177-87. doi: 10.1016/j.lfs.2007.05.005.
115. Davydova NY, Dangi B, Maldonado MA, Vavilov NE, Zgodva VG, Davydov DR. Toward a systems approach to cytochrome P450 ensemble: interactions of CYP2E1 with other P450 species and their impact on CYP1A2. *Biochem J.* 2019; 476(23): 3661-3685. doi: 10.1042/BCJ20190532.
116. Dawood RM, El-Meguid MA, Salum GM, El Awady MK. Key players of hepatic fibrosis. *J Interferon Cytokine Res.* 2020 Oct;40(10):472-489. doi: 10.1089/jir.2020.0059.
117. de Dios ST, Frontanilla KV, Nigro J, Ballinger ML, Ivey ME, Cawson EA, Little PJ. Regulation of the atherogenic properties of vascular smooth muscle proteoglycans by oral anti-hyperglycemic agents. *J Diabetes Complications.* 2007;21(2):108-17. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2006.03.003.
118. de Faria Ghatti F, Oliveira DG, de Oliveira JM, de Castro Ferreira LEVV, Cesar DE, Moreira APB. Influence of gut microbiota on the development and

- progression of nonalcoholic steatohepatitis. *Eur J Nutr.* 2018; 57(3): 861-876. doi: 10.1007/s00394-017-1524-x.
119. de Gregorio E, Colell A, Morales A, Marí M. Relevance of SIRT1-NF- κ B Axis as Therapeutic Target to Ameliorate Inflammation in Liver Disease. *Int J Mol Sci.* 2020;21(11):3858. doi: 10.3390/ijms21113858.
 120. de Jong WJ, Cleveringa AM, Greijdanus B, Meyer P, Heineman E, Hulscher JB. The effect of acute alcohol intoxication on gut wall integrity in healthy male volunteers; a randomized controlled trial. *Alcohol.* 2015;49(1):65-70. doi: 10.1016/j.alcohol.2014.09.033.
 121. DeLeve LD. Liver sinusoidal endothelial cells in hepatic fibrosis. *Hepatology.* 2015;61(5):1740-6. doi: 10.1002/hep.27376.
 122. Dell'Omo G, Crescenti D, Vantaggiato C, Parravicini C, Borroni AP, Rizzi N, Garofalo M, Pinto A, Recordati C, Scanziani E, Bassi FD, Prunerì G, Conti P, Eberini I, Maggi A, Ciana P. Inhibition of SIRT1 deacetylase and p53 activation uncouples the anti-inflammatory and chemopreventive actions of NSAIDs. *Br J Cancer.* 2019;120(5):537-546. doi: 10.1038/s41416-018-0372-7.
 123. Deutsch-Link S, Curtis B, Singal AK. Covid-19 and alcohol associated liver disease. *Dig Liver Dis.* 2022;54(11):1459-1468. doi: 10.1016/j.dld.2022.07.007.
 124. Dhouchak S, Popp SK, Brown DJ, Laybutt DR, Biden TJ, Bornstein SR, Parish CR, Simeonovic CJ. Heparan sulfate proteoglycans in beta cells provide a critical link between endoplasmic reticulum stress, oxidative stress and type 2 diabetes. *PLoS One.* 2021;16(6):e0252607. doi: 10.1371/journal.pone.0252607.
 125. Diesen DL, Kuo PC. Nitric oxide and redox regulation in the liver: part II. Redox biology in pathologic hepatocytes and implications for intervention. *J Surg Res.* 2011;167(1):96-112. doi: 10.1016/j.jss.2009.10.006.
 126. Diesinger T, Buko V, Lautwein A, Dvorsky R, Belonovskaya E, Lukivskaya O, Naruta E, Kirko S, Andreev V, Buckert D, Bergler S, Renz C, Schneider E, Kuchenbauer F, Kumar M, Günes C, Büchele B, Simmet T, Müller-Enoch D, Wirth T, Haehner T. Drug targeting CYP2E1 for the treatment of early-stage

- alcoholic steatohepatitis. *PLoS One*. 2020;15(7):e0235990. doi: 10.1371/journal.pone.0235990.
127. Dilek N, Papapetropoulos A, Toliver-Kinsky T, Szabo C. Hydrogen sulfide: An endogenous regulator of the immune system. *Pharmacol Res*. 2020;161:105119. doi: 10.1016/j.phrs.2020.105119.
 128. Dilman VM, Berstein LM, Zabezhinski MA, Alexandrov VA, Bobrov JF, Pliss GB. Inhibition of DMBA-induced carcinogenesis by phenformin in the mammary gland of rats. *Arch Geschwulstforsch*. 1978;48(1):1-8.
 129. Ding Y, Zhang Y, Wang Z, Zeng F, Zhen Q, Zhao H, Li J, Ma T, Huang C. Echinacoside from *Cistanche tubulosa* ameliorates alcohol-induced liver injury and oxidative stress by targeting Nrf2. *FASEB J*. 2023;37(3):e22792. doi: 10.1096/fj.202201430R.
 130. Dolganiuc A, Thomes PG, Ding WX, Lemasters JJ, Donohue TM Jr. Autophagy in alcohol-induced liver diseases. *Alcohol Clin Exp Res*. 2012;36(8):1301-8. doi: 10.1111/j.1530-0277.2012.01742.x.
 131. Dong Z, Su L, Esmaili S, Iseli TJ, Ramezani-Moghadam M, Hu L, Xu A, George J, Wang J. Adiponectin attenuates liver fibrosis by inducing nitric oxide production of hepatic stellate cells. *J Mol Med (Berl)*. 2015;93(12):1327-39. doi: 10.1007/s00109-015-1313-z.
 132. Donohue TM Jr, Cederbaum AI, French SW, Barve S, Gao B, Osna NA. Role of the proteasome in ethanol-induced liver pathology. *Alcohol Clin Exp Res*. 2007;31(9):1446-59. doi: 10.1111/j.1530-0277.2007.00454.x.
 133. Donohue TM Jr. Alcohol-induced steatosis in liver cells. *World J Gastroenterol*. 2007;13(37):4974-8. doi: 10.3748/wjg.v13.i37.4974.
 134. Dopico AM, Lovinger DM. Acute alcohol action and desensitization of ligand-gated ion channels. *Pharmacol Rev*. 2009;61(1):98-114. doi: 10.1124/pr.108.000430.
 135. Dorrington MG, Fraser IDC. NF- κ B Signaling in Macrophages: Dynamics, Crosstalk, and Signal Integration. *Front Immunol*. 2019;10:705. doi: 10.3389/fimmu.2019.00705.

136. Dowding JM, Das S, Kumar A, Dosani T, McCormack R, Gupta A, Sayle TX, Sayle DC, von Kalm L, Seal S, Self WT. Cellular interaction and toxicity depend on physicochemical properties and surface modification of redox-active nanomaterials. *ACS Nano*. 2013;7(6):4855-68. doi: 10.1021/nn305872d.
137. Dowding JM, Dosani T, Kumar A, Seal S, Self WT. Cerium oxide nanoparticles scavenge nitric oxide radical ($\cdot\text{NO}$). *Chem Commun (Camb)*. 2012;48(40):4896-8. doi: 10.1039/c2cc30485f.
138. Dowding JM, Seal S, Self WT. Cerium oxide nanoparticles accelerate the decay of peroxynitrite ($\text{ONOO}(-)$). *Drug Deliv Transl Res*. 2013;3(4):375-9. doi: 10.1007/s13346-013-0136-0.
139. Druesne-Pecollo N, Tehard B, Mallet Y, Gerber M, Norat T, Hercberg S, Latino-Martel P. Alcohol and genetic polymorphisms: effect on risk of alcohol-related cancer. *Lancet Oncol*. 2009;10(2):173-80. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70019-1.
140. Du Y, Liu X, Du K, Zhang W, Li R, Yang L, Cheng L, He W, Zhang W. Decorin inhibits the formation of hard nodules after microwave ablation by inhibiting the TGF- β 1/SMAD and MAPK signaling pathways: in a Bama miniature pig model of mammary gland hyperplasia. *Int J Hyperthermia*. 2023;40(1):2188151. doi: 10.1080/02656736.2023.2188151.
141. Dudás J, Kovalszky I, Gallai M, Nagy JO, Schaff Z, Knittel T, Mehde M, Neubauer K, Szalay F, Ramadori G. Expression of decorin, transforming growth factor-beta 1, tissue inhibitor metalloproteinase 1 and 2, and type IV collagenases in chronic hepatitis. *Am J Clin Pathol*. 2001;115(5):725-35. doi: 10.1309/J8CD-E9C8-X4NG-GTVG.
142. Dunn W, Shah VH. Pathogenesis of Alcoholic Liver Disease. *Clin Liver Dis*. 2016; 20(3): 445-56. doi: 10.1016/j.cld.2016.02.004.
143. Edenberg HJ, McClintick JN. Alcohol Dehydrogenases, Aldehyde Dehydrogenases, and Alcohol Use Disorders: A Critical Review. *Alcohol Clin Exp Res*. 2018; 42(12): 2281-2297. doi: 10.1111/acer.13904.
144. Egan DF, Shackelford DB, Mihaylova MM, Gelino S, Kohnz RA, Mair W, Vasquez DS, Joshi A, Gwinn DM, Taylor R, Asara JM, Fitzpatrick J, Dillin A,

- Viollet B, Kundu M, Hansen M, Shaw RJ. Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy. *Science*. 2011; 331(6016): 456-61. doi: 10.1126/science.1196371.
145. Eghbal MA, Pennefather PS, O'Brien PJ. H₂S cytotoxicity mechanism involves reactive oxygen species formation and mitochondrial depolarisation. *Toxicology*. 2004; 203(1-3): 69-76. doi: 10.1016/j.tox.2004.05.020.
 146. Ekinci Akdemir FN, Yildirim S, Kandemir FM, Tanyeli A, Küçükler S, Bahaeddin Dortbudak M. Protective effects of gallic acid on doxorubicin-induced cardiotoxicity; an experimental study. *Arch Physiol Biochem*. 2021;127(3):258-265. doi: 10.1080/13813455.2019.1630652.
 147. Ernst LM, Puentes V. How Does Immunomodulatory Nanoceria Work? ROS and Immunometabolism. *Front Immunol*. 2022;13:750175. doi: 10.3389/fimmu.2022.750175.
 148. Erny D, Dokalis N, Mezö C, Castoldi A, Mossad O, Staszewski O, Frosch M, Villa M, Fuchs V, Mayer A, Neuber J, Sosat J, Tholen S, Schilling O, Vlachos A, Blank T, Gomez de Agüero M, Macpherson AJ, Pearce EJ, Prinz M. Microbiota-derived acetate enables the metabolic fitness of the brain innate immune system during health and disease. *Cell Metab*. 2021;33(11):2260-2276.e7. doi: 10.1016/j.cmet.2021.10.010.
 149. Evans AM, Hardie DG. AMPK and the Need to Breathe and Feed: What's the Matter with Oxygen? *Int J Mol Sci*. 2020;21(10):3518. doi: 10.3390/ijms21103518.
 150. Fan H, Tian H, Jin F, Zhang X, Su S, Liu Y, Wen Z, He X, Li X, Duan C. CypD induced ROS output promotes intracranial aneurysm formation and rupture by 8-OHdG/NLRP3/MMP9 pathway. *Redox Biol*. 2023;67:102887. doi: 10.1016/j.redox.2023.102887.
 151. Fan HN, Wang HJ, Yang-Dan CR, Ren L, Wang C, Li YF, Deng Y. Protective effects of hydrogen sulfide on oxidative stress and fibrosis in hepatic stellate cells. *Mol Med Rep*. 2013; 7(1): 247-53. doi: 10.3892/mmr.2012.1153.

152. Fan W, Chen H, Li M, Fan X, Jiang F, Xu C, Wang Y, Wei W, Song J, Zhong D, Li G. NRF2 activation ameliorates blood-brain barrier injury after cerebral ischemic stroke by regulating ferroptosis and inflammation. *Sci Rep.* 2024;14(1):5300. doi: 10.1038/s41598-024-53836-0.
153. Fan X, Weng Y, Bai Y, Wang Z, Wang S, Zhu J, Zhang F. Lipin-1 determines lung cancer cell survival and chemotherapy sensitivity by regulation of endoplasmic reticulum homeostasis and autophagy. *Cancer Med.* 2018;7(6):2541-2554. doi: 10.1002/cam4.1483.
154. Fang C, Pan J, Qu N, Lei Y, Han J, Zhang J, Han D. The AMPK pathway in fatty liver disease. *Front Physiol.* 2022;13:970292. doi: 10.3389/fphys.2022.970292.
155. Fang X, Cao J, Tao Z, Yang Z, Dai Y, Zhao L. Hydroxytyrosol attenuates ethanol-induced liver injury by ameliorating steatosis, oxidative stress and hepatic inflammation by interfering STAT3/iNOS pathway. *Redox Rep.* 2023;28(1):2187564. doi: 10.1080/13510002.2023.2187564.
156. Faria-Ramos I, Poças J, Marques C, Santos-Antunes J, Macedo G, Reis CA et al. Heparan sulfate glycosaminoglycans: (un)expected allies in cancer clinical management. *Biomolecules.* 2021;11(2):136. doi: 10.3390/biom11020136.
157. Farzaei MH, Ramezani-Aliakbari F, Ramezani-Aliakbari M, Zarei M, Komaki A, Shahidi S, Sarihi A, Salehi I. Regulatory effects of trimetazidine in cardiac ischemia/reperfusion injury. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 2023;396(8):1633-1646. doi: 10.1007/s00210-023-02469-7.
158. Fernandez-Checa JC, Kaplowitz N. Hepatic mitochondrial glutathione: transport and role in disease and toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005;204(3):263-73. doi: 10.1016/j.taap.2004.10.001.
159. Fernández-Varo G, Perramón M, Carvajal S, Oró D, Casals E, Boix L, Oller L, Macías-Muñoz L, Marfà S, Casals G, Morales-Ruiz M, Casado P, Cutillas PR, Bruix J, Navasa M, Fuster J, Garcia-Valdecasas JC, Pavel MC, Puentes V, Jiménez W. Bespoke Nanoceria: An Effective Treatment in Experimental Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology.* 2020;72(4):1267-1282. doi: 10.1002/hep.31139.

160. Filipovic MR, Miljkovic J, Allgäuer A, Chaurio R, Shubina T, Herrmann M, Ivanovic-Burmazovic I. Biochemical insight into physiological effects of H₂S: reaction with peroxynitrite and formation of a new nitric oxide donor, sulfinyl nitrite. *Biochem J.* 2012;441(2):609-21. doi: 10.1042/BJ20111389.
161. Filipovic MR, Miljkovic JLj, Nauser T, et al. Chemical characterization of the smallest S-nitrosothiol, HSNO; cellular cross-talk of H₂S and S-nitrosothiols. *J Am Chem Soc.* 2012;134(29):12016-12027. doi:10.1021/ja3009693.
162. Fini MA, Gaydos J, McNally A, Karoor V, Burnham EL. Alcohol abuse is associated with enhanced pulmonary and systemic xanthine oxidoreductase activity. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2017;313(6):L1047-L1057. doi: 10.1152/ajplung.00570.2016.
163. Fiorucci S, Antonelli E, Mencarelli A, Orlandi S, Renga B, Rizzo G, Distrutti E, Shah V, Morelli A. The third gas: H₂S regulates perfusion pressure in both the isolated and perfused normal rat liver and in cirrhosis. *Hepatology.* 2005;42(3):539-48. doi: 10.1002/hep.20817.
164. Flynn AJ, Navarro GY, Basehore HK. PTSD Avoidance Symptoms Associated With Alcohol Craving in Treatment-Seeking Veteran Population. *J Dual Diagn.* 2022;18(3):135-143. doi: 10.1080/15504263.2022.2089799.
165. Foglia B, Novo E, Protopapa F, Maggiora M, Bocca C, Cannito S, Parola M. Hypoxia, Hypoxia-inducible factors and liver fibrosis. *Cells.* 2021;10(7):1764. doi: 10.3390/cells10071764.
166. Formenti F, Constantin-Teodosiu D, Emmanuel Y, Cheeseman J, Dorrington KL, Edwards LM, Humphreys SM, Lappin TR, McMullin MF, McNamara CJ, Mills W, Murphy JA, O'Connor DF, Percy MJ, Ratcliffe PJ, Smith TG, Treacy M, Frayn KN, Greenhaff PL, Karpe F, Clarke K, Robbins PA. Regulation of human metabolism by hypoxia-inducible factor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107(28):12722-7. doi: 10.1073/pnas.1002339107.
167. Forsyth CB, Voigt RM, Burgess HJ, Swanson GR, Keshavarzian A. Circadian rhythms, alcohol and gut interactions. *Alcohol.* 2015;49(4):389-98. doi: 10.1016/j.alcohol.2014.07.021.

168. Friedman RB, Anderson RE, Entine SM, Hirshberg SB. Effects of diseases on clinical laboratory tests. *Clin Chem.* 1980;26 (4 Suppl):1D-476D.
169. Fukada H, Yamashina S, Izumi K, Komatsu M, Tanaka K, Ikejima K, Watanabe S. Suppression of autophagy sensitizes Kupffer cells to endotoxin. *Hepatol Res.* 2012;42(11):1112-8. doi: 10.1111/j.1872-034X.2012.01024.x.
170. Gai H, Zhou F, Zhang Y, Ai J, Zhan J, You Y, Huang W. Coniferaldehyde ameliorates the lipid and glucose metabolism in palmitic acid-induced HepG2 cells via the LKB1/AMPK signaling pathway. *J Food Sci.* 2020;85(11):4050-4060. doi: 10.1111/1750-3841.15482.
171. Galli A, Pinaire J, Fischer M, Dorris R, Crabb DW. The transcriptional and DNA binding activity of peroxisome proliferator-activated receptor alpha is inhibited by ethanol metabolism. A novel mechanism for the development of ethanol-induced fatty liver. *J Biol Chem.* 2001;276(1):68-75. doi: 10.1074/jbc.M008791200.
172. Gao B, Ahmad MF, Nagy LE, Tsukamoto H. Inflammatory pathways in alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol.* 2019;70(2):249-259. doi:10.1016/j.jhep.2018.10.023
173. Gao B, Bataller R. Alcoholic liver disease: pathogenesis and new therapeutic targets. *Gastroenterology.* 2011;141(5):1572-1585. doi:10.1053/j.gastro.2011.09.002.
174. Gao Y, Zhou Z, Ren T, Kim SJ, He Y, Seo W, Guillot A, Ding Y, Wu R, Shao S, Wang X, Zhang H, Wang W, Feng D, Xu M, Han E, Zhong W, Zhou Z, Pacher P, Niu J, Gao B. Alcohol inhibits T-cell glucose metabolism and hepatitis in ALDH2-deficient mice and humans: roles of acetaldehyde and glucocorticoids. *Gut.* 2019;68(7):1311-1322. doi: 10.1136/gutjnl-2018-316221.
175. Garcia R. Understanding Alcohol Use Disorder. *Nurs Clin North Am.* 2023;58(2):133-140. doi: 10.1016/j.cnur.2023.02.006.
176. García-Ruiz C, Kaplowitz N, Fernandez-Checa JC. Role of Mitochondria in Alcoholic Liver Disease. *Curr Pathobiol Rep.* 2013;1(3):159-168. doi: 10.1007/s40139-013-0021-z.

177. García-Villafranca J, Guillén A, Castro J. Ethanol consumption impairs regulation of fatty acid metabolism by decreasing the activity of AMP-activated protein kinase in rat liver. *Biochimie*. 2008;90(3):460-6. doi: 10.1016/j.biochi.2007.09.019.
178. Gaston B, Reilly J, Drazen JM, Fackler J, Ramdev P, Arnette D, Mullins ME, Sugarbaker DJ, Chee C, Singel DJ, Loscalzo J, Stamler JS. Endogenous nitrogen oxides and bronchodilator S-nitrosothiols in human airways. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90(23):10957-61. doi: 10.1073/pnas.90.23.10957.
179. Ge Y, Konrad MA, Matherly LH, Taub JW. Transcriptional regulation of the human cystathionine beta-synthase -1b basal promoter: synergistic transactivation by transcription factors NF-Y and Sp1/Sp3. *Biochem J*. 2001; 357(Pt 1): 97-105. doi: 10.1042/0264-6021:3570097.
180. Gee LC, Massimo G, Lau C, Primus C, Fernandes D, Chen J, Rathod KS, Hamers AJP, Filomena F, Nuredini G, Ibrahim AS, Khambata RS, Gupta AK, Moon JC, Kapil V, Ahluwalia A. Inorganic nitrate attenuates cardiac dysfunction: roles for xanthine oxidoreductase and nitric oxide. *Br J Pharmacol*. 2022;179(20):4757-4777. doi: 10.1111/bph.15636.
181. Geng C, Cui C, Wang C, Lu S, Zhang M, Chen D, Jiang P. Systematic Evaluations of Doxorubicin-Induced Toxicity in Rats Based on Metabolomics. *ACS Omega*. 2020;6(1):358-366. doi: 10.1021/acsomega.0c04677.
182. Genovesi S, Prata Pizzala DM, Pozzi M, Ratti L, Milanese M, Vincenti A, Stella A, Mancina G. Baroreceptor sensitivity and baroreceptor effectiveness index in cirrhosis: the relevance of hepatic venous pressure gradient. *Liver Int*. 2010; 30(2): 232-9. doi: 10.1111/j.1478-3231.2009.02125.x.
183. Gérard-Monnier D, Erdelmeier I, Régnard K, Moze-Henry N, Yadan JC, Chaudière J. Reactions of 1-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation. *Chem Res Toxicol*. 1998; 11(10): 1176-83. doi: 10.1021/tx9701790.

184. Ghaiad HR, Ali SO, Al-Mokaddem AK, Abdelmonem M. Regulation of PKC/TLR-4/NF- κ B signaling by sulbutiamine improves diabetic nephropathy in rats. *Chem Biol Interact.* 2023;381:110544. doi: 10.1016/j.cbi.2023.110544.
185. Glässner A, Eisenhardt M, Krämer B, Körner C, Coenen M, Sauerbruch T, Spengler U, Nattermann J. NK cells from HCV-infected patients effectively induce apoptosis of activated primary human hepatic stellate cells in a TRAIL-, FasL- and NKG2D-dependent manner. *Lab Invest.* 2012;92(7):967-77. doi: 10.1038/labinvest.2012.54.
186. Goirand F, Solar M, Athea Y, Viollet B, Mateo P, Fortin D, Leclerc J, Hoerter J, Ventura-Clapier R, Garnier A. Activation of AMP kinase α 1 subunit induces aortic vasorelaxation in mice. *J Physiol.* 2007;581(Pt 3):1163-71. doi: 10.1113/jphysiol.2007.132589.
187. Gómez-Quiroz L, Bucio L, Souza V, Escobar C, Farfán B, Hernández E, Königsberg M, Vargas-Vorackova F, Kershenobich D, Gutiérrez-Ruiz MC. Interleukin 8 response and oxidative stress in HepG2 cells treated with ethanol, acetaldehyde or lipopolysaccharide. *Hepatol Res.* 2003;26(2):134-141. doi: 10.1016/s1386-6346(03)00010-x.
188. Gong L, Wang Z, Wang Z, Zhang Z. Sestrin2 as a Potential Target for Regulating Metabolic-Related Diseases. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:751020. doi: 10.3389/fendo.2021.751020.
189. Gorbunova IA, Sasin ME, Yachkov DV, Volkov DA, Vedyaykin AD, Nikiforov AA, Vasyutinskii OS. Two-Photon Excited Fluorescence of NADH-Alcohol Dehydrogenase Complex in a Mixture with Bacterial Enzymes. *Biomolecules.* 2023;13(2):256. doi: 10.3390/biom13020256.
190. Grattagliano I, Russmann S, Diogo C, Bonfrate L, Oliveira PJ, Wang DQ, Portincasa P. Mitochondria in chronic liver disease. *Curr Drug Targets.* 2011;12(6):879-93. doi: 10.2174/138945011795528877.
191. Griffiths CD, Zhang B, Tywonek K, Meyers BM, Serrano PE. Toxicity Profiles of Systemic Therapies for Advanced Hepatocellular Carcinoma: A Systematic

- Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open*. 2022;5(7):e2222721. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2022.22721.
192. Grohmann M, Wiede F, Dodd GT, Gurzov EN, Ooi GJ, Butt T, Rasmiena AA, Kaur S, Gulati T, Goh PK, Treloar AE, Archer S, Brown WA, Muller M, Watt MJ, Ohara O, McLean CA, Tiganis T. Obesity Drives STAT-1-Dependent NASH and STAT-3-Dependent HCC. *Cell*. 2018;175(5):1289-1306.e20. doi: 10.1016/j.cell.2018.09.053.
 193. Gruszewska E, Cylwik B, Panasiuk A, Szmitkowski M, Flisiak R, Chrostek L. Total and free serum sialic acid concentration in liver diseases. *Biomed Res Int*. 2014;2014:876096. doi: 10.1155/2014/876096.
 194. Gu L, Cai N, Lyu Y, Yao L, Wang F, Xu H, Hu Z, Li H, Xu X. γ -Mangostin Ameliorates Free Fatty Acid-Induced Lipid Accumulation via the SIRT1/LKB1/AMPK Pathway in HepG2 and L02 Cells. *J Agric Food Chem*. 2019; 67(50): 13929-13938. doi: 10.1021/acs.jafc.9b05632.
 195. Guengerich FP. Cytochrome P450 2E1 and its roles in disease. *Chem Biol Interact*. 2020;322:109056. doi: 10.1016/j.cbi.2020.109056.
 196. Guerra-Ojeda S, Marchio P, Rueda C, Suarez A, Garcia H, Victor VM, Juez M, Martin-Gonzalez I, Vila JM, Mauricio MD. Cerium dioxide nanoparticles modulate antioxidant defences and change vascular response in the human saphenous vein. *Free Radic Biol Med*. 2022;193(Pt 2):694-701. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2022.11.012.
 197. Guo Z, Fan D, Liu FY, Ma SQ, An P, Yang D, Wang MY, Yang Z, Tang QZ. NEU1 Regulates Mitochondrial Energy Metabolism and Oxidative Stress Post-myocardial Infarction in Mice via the SIRT1/PGC-1 Alpha Axis. *Front Cardiovasc Med*. 2022;9:821317. doi: 10.3389/fcvm.2022.821317.
 198. Gupta R, Sahu M, Tripathi R, Ambasta RK, Kumar P. Protein S-sulfhydration: Unraveling the prospective of hydrogen sulfide in the brain, vasculature and neurological manifestations. *Ageing Res Rev*. 2022;76:101579. doi: 10.1016/j.arr.2022.101579.

199. Gyamfi D, Everitt HE, Tewfik I, Clemens DL, Patel VB. Hepatic mitochondrial dysfunction induced by fatty acids and ethanol. *Free Radic Biol Med.* 2012;53(11):2131-45. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.09.024.
200. Hamon MP, Bulteau AL, Friguet B. Mitochondrial proteases and protein quality control in ageing and longevity. *Ageing Res Rev.* 2015;23(Pt A):56-66. doi: 10.1016/j.arr.2014.12.010.
201. Han H, Desert R, Das S, Song Z, Athavale D, Ge X, Nieto N. Danger signals in liver injury and restoration of homeostasis. *J Hepatol.* 2020;73(4):933-951. doi: 10.1016/j.jhep.2020.04.033.
202. Han S, Yang Z, Zhang T, Ma J, Chandler K, Liangpunsakul S. Epidemiology of Alcohol-Associated Liver Disease. *Clin Liver Dis.* 2021;25(3):483-492. doi: 10.1016/j.cld.2021.03.009.
203. Hanna-Addams S, Liu S, Liu H, Chen S, Wang Z. CK1 α , CK1 δ , and CK1 ϵ are necrosome components which phosphorylate serine 227 of human RIPK3 to activate necroptosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2020;117(4):1962-1970. doi: 10.1073/pnas.1917112117.
204. Hanukoglu I. Conservation of the Enzyme-Coenzyme Interfaces in FAD and NADP Binding Adrenodoxin Reductase-A Ubiquitous Enzyme. *J Mol Evol.* 2017;85(5-6):205-218. doi: 10.1007/s00239-017-9821-9.
205. Hardie DG, Schaffer BE, Brunet A. AMPK: An Energy-Sensing Pathway with Multiple Inputs and Outputs. *Trends Cell Biol.* 2016;26(3):190-201. doi: 10.1016/j.tcb.2015.10.013.
206. Hardie DG. AMPK--sensing energy while talking to other signaling pathways. *Cell Metab.* 2014;20(6):939-52. doi: 10.1016/j.cmet.2014.09.013.
207. Hashem RM, Rashd LA, Hashem KS, Soliman HM. Cerium oxide nanoparticles alleviate oxidative stress and decreases Nrf-2/HO-1 in D-GALN/LPS induced hepatotoxicity. *Biomed Pharmacother.* 2015;73:80-6. doi: 10.1016/j.biopha.2015.05.006.
208. Hayes JD, Dinkova-Kostova AT, Tew KD. Oxidative Stress in Cancer. *Cancer Cell.* 2020;38(2):167-197. doi: 10.1016/j.ccell.2020.06.001.

209. He Y, Li Z, Xu T, Luo D, Chi Q, Zhang Y, Li S. Polystyrene nanoplastics deteriorate LPS-modulated duodenal permeability and inflammation in mice via ROS driven-NF- κ B/NLRP3 pathway. *Chemosphere*. 2022;307(Pt1):135662. doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.135662.
210. Heinrichs D, Berres ML, Coeuru M, Knauel M, Nellen A, Fischer P, Philippeit C, Bucala R, Trautwein C, Wasmuth HE, Bernhagen J. Protective role of macrophage migration inhibitory factor in nonalcoholic steatohepatitis. *FASEB J*. 2014;28(12):5136-47. doi: 10.1096/fj.14-256776.
211. Heinrichs D, Knauel M, Offermanns C, Berres ML, Nellen A, Leng L, Schmitz P, Bucala R, Trautwein C, Weber C, Bernhagen J, Wasmuth HE. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) exerts antifibrotic effects in experimental liver fibrosis via CD74. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(42):17444-9. doi: 10.1073/pnas.1107023108.
212. Heo MJ, Kim TH, You JS, Blaya D, Sancho-Bru P, Kim SG. Alcohol dysregulates miR-148a in hepatocytes through FoxO1, facilitating pyroptosis via TXNIP overexpression. *Gut*. 2019;68(4):708-720. doi: 10.1136/gutjnl-2017-315123.
213. Herzig S, Shaw RJ. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2018;19(2):121-135. doi: 10.1038/nrm.2017.95.
214. Hine C, Zhu Y, Hollenberg AN, Mitchell JR. Dietary and Endocrine Regulation of Endogenous Hydrogen Sulfide Production: Implications for Longevity. *Antioxid Redox Signal*. 2018;28(16):1483-1502. doi: 10.1089/ars.2017.7434.
215. Hoek JB, Cahill A, Pastorino JG. Alcohol and mitochondria: a dysfunctional relationship. *Gastroenterology*. 2002;122(7):2049-63. doi: 10.1053/gast.2002.33613.
216. Hoffman NJ, Whitfield J, Janzen NR, Belhaj MR, Galic S, Murray-Segal L, Smiles WJ, Ling NXY, Dite TA, Scott JW, Oakhill JS, Brink R, Kemp BE, Hawley JA. Genetic loss of AMPK-glycogen binding destabilises AMPK and disrupts metabolism. *Mol Metab*. 2020;41:101048. doi: 10.1016/j.molmet.2020.101048.

217. Hollósi P, Váncza L, Karászi K, Dobos K, Péterfia B, Tátrai E, Tátrai P, Szarvas T, Paku S, Szilák L, Kovalszky I. Syndecan-1 Promotes Hepatocyte-Like Differentiation of Hepatoma Cells Targeting Ets-1 and AP-1. *Biomolecules*. 2020;10(10):1356. doi: 10.3390/biom10101356.
218. Horie Y, Ishii H. [Effect of alcohol on organ microcirculation: its relation to hepatic, pancreatic and gastrointestinal diseases due to alcohol]. *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi*. 2001;36(5):471-85. (In Japanese)
219. Horiguchi N, Wang L, Mukhopadhyay P, Park O, Jeong WI, Lafdil F, Osei-Hyiaman D, Moh A, Fu XY, Pacher P, Kunos G, Gao B. Cell type-dependent pro- and anti-inflammatory role of signal transducer and activator of transcription 3 in alcoholic liver injury. *Gastroenterology*. 2008;134(4):1148-58. doi: 10.1053/j.gastro.2008.01.016.
220. Hritz I, Mandrekar P, Velayudham A, Catalano D, Dolganiuc A, Kodys K, Kurt-Jones E, Szabo G. The critical role of toll-like receptor (TLR) 4 in alcoholic liver disease is independent of the common TLR adapter MyD88. *Hepatology*. 2008;48(4):1224-31. doi: 10.1002/hep.22470.
221. Hu LS, George J, Wang JH. Current concepts on the role of nitric oxide in portal hypertension. *World J Gastroenterol*. 2013;19(11):1707-17. doi: 10.3748/wjg.v19.i11.1707.
222. Hu M, Wang F, Li X, Rogers CQ, Liang X, Finck BN, Mitra MS, Zhang R, Mitchell DA, You M. Regulation of hepatic lipin-1 by ethanol: role of AMP-activated protein kinase/sterol regulatory element-binding protein 1 signaling in mice. *Hepatology*. 2012;55(2):437-46. doi: 10.1002/hep.24708.
223. Hu X, Li Y, Chen Q, Wang T, Ma L, Zhang W, Yu R, Zhang J, Wan J, Yu C, Yuan Z. Sialic acids promote macrophage M1 polarization and atherosclerosis by upregulating ROS and autophagy blockage. *Int Immunopharmacol*. 2023;120:110410. doi: 10.1016/j.intimp.2023.110410.
224. Huang D, Jing G, Zhang L, Chen C, Zhu S. Interplay Among Hydrogen Sulfide, Nitric Oxide, Reactive Oxygen Species, and Mitochondrial DNA Oxidative Damage. *Front Plant Sci*. 2021;12:701681. doi: 10.3389/fpls.2021.701681.

225. Huang DQ, Mathurin P, Cortez-Pinto H, Loomba R. Global epidemiology of alcohol-associated cirrhosis and HCC: trends, projections and risk factors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2023;20(1):37-49. doi: 10.1038/s41575-022-00688-6.
226. Huang H, Ma L, Li J, Yu Y, Zhang D, Wei J, Jin H, Xu D, Gao J, Huang C. NF- κ B1 inhibits c-Myc protein degradation through suppression of FBW7 expression. *Oncotarget*. 2014;5(2):493-505. doi: 10.18632/oncotarget.1643.
227. Huang J, Niknahad H, Khan S, O'Brien PJ. Hepatocyte-catalysed detoxification of cyanide by L- and D-cysteine. *Biochem Pharmacol*. 1998;55(12):1983-90. doi: 10.1016/s0006-2952(98)00072-0.
228. Huang L, Xiao D, Wu T, Hu X, Deng J, Yan X, Wu J, Xu S, Yang X, Li G. Phenformin synergistically sensitizes liver cancer cells to sorafenib by downregulating CRAF/ERK and PI3K/AKT/mTOR pathways. *Am J Transl Res*. 2021;13(7):7508-7523.
229. Huang LL, Wan JB, Wang B, He CW, Ma H, Li TW, Kang JX. Suppression of acute ethanol-induced hepatic steatosis by docosahexaenoic acid is associated with downregulation of stearyl-CoA desaturase 1 and inflammatory cytokines. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2013;88(5):347-53. doi: 10.1016/j.plefa.2013.02.002.
230. Huang R, Guo F, Li Y, Liang Y, Li G, Fu P, Ma L. Activation of AMPK by triptolide alleviates nonalcoholic fatty liver disease by improving hepatic lipid metabolism, inflammation and fibrosis. *Phytomedicine*. 2021;92:153739. doi: 10.1016/j.phymed.2021.153739.
231. Hwang CL, Muchira J, Hibner BA, Phillips SA, Piano MR. Alcohol Consumption: A New Risk Factor for Arterial Stiffness? *Cardiovasc Toxicol*. 2022;22(3):236-245. doi: 10.1007/s12012-022-09728-8.
232. Hyun J, Han J, Lee C, Yoon M, Jung Y. Pathophysiological Aspects of Alcohol Metabolism in the Liver. *Int J Mol Sci*. 2021;22(11):5717. doi:10.3390/ijms22115717.

233. Ibrahim HG, Attia N, Hashem FEZA, El Heneidy MAR. Cerium oxide nanoparticles: In pursuit of liver protection against doxorubicin-induced injury in rats. *Biomed Pharmacother.* 2018;103:773-781. doi: 10.1016/j.biopha.2018.04.075.
234. Iciek M, Górny M, Bilska-Wilkosz A, Kowalczyk-Pachel D. Is aldehyde dehydrogenase inhibited by sulfur compounds? In vitro and in vivo studies. *Acta Biochim Pol.* 2018;65(1):125-132. doi: 10.18388/abp.2017_2324.
235. Ingólfsson HI, Andersen OS. Alcohol's effects on lipid bilayer properties. *Biophys J.* 2011;101(4):847-55. doi: 10.1016/j.bpj.2011.07.013.
236. Inokuchi-Shimizu S, Park EJ, Roh YS, Yang L, Zhang B, Song J, Liang S, Pimienta M, Taniguchi K, Wu X, Asahina K, Lagakos W, Mackey MR, Akira S, Ellisman MH, Sears DD, Olefsky JM, Karin M, Brenner DA, Seki E. TAK1-mediated autophagy and fatty acid oxidation prevent hepatosteatosis and tumorigenesis. *J Clin Invest.* 2014;124(8):3566-78. doi: 10.1172/JCI74068.
237. Itaba N, Kono Y, Watanabe K, Yokobata T, Oka H, Osaki M, Kakuta H, Morimoto M, Shiota G. Reversal of established liver fibrosis by IC-2-engineered mesenchymal stem cell sheets. *Sci Rep.* 2019;9(1):6841. doi: 10.1038/s41598-019-43298-0.
238. Itakura E, Kishi-Itakura C, Koyama-Honda I, Mizushima N. Structures containing Atg9A and the ULK1 complex independently target depolarized mitochondria at initial stages of Parkin-mediated mitophagy. *J Cell Sci.* 2012;125(Pt 6):1488-99. doi: 10.1242/jcs.094110.
239. Iwakiri Y, Trebicka J. Portal hypertension in cirrhosis: Pathophysiological mechanisms and therapy. *JHEP Rep.* 2021;3(4):100316. doi: 10.1016/j.jhepr.2021.100316.
240. Janaszak-Jasiecka A, Płoska A, Wierońska JM, Dobrucki LW, Kalinowski L. Endothelial dysfunction due to eNOS uncoupling: molecular mechanisms as potential therapeutic targets. *Cell Mol Biol Lett.* 2023;28(1):21. doi: 10.1186/s11658-023-00423-2.

241. Jastroch M, Divakaruni AS, Mookerjee S, Treberg JR, Brand MD. Mitochondrial proton and electron leaks. *Essays Biochem.* 2010;47:53-67. doi: 10.1042/bse0470053.
242. Jeong WI, Gao B. Innate immunity and alcoholic liver fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008;23 Suppl 1(Suppl 1):S112-8. doi: 10.1111/j.1440-1746.2007.05274.x.
243. Jeong WI, Park O, Gao B. Abrogation of the antifibrotic effects of natural killer cells/interferon-gamma contributes to alcohol acceleration of liver fibrosis. *Gastroenterology.* 2008;134(1):248-58. doi: 10.1053/j.gastro.2007.09.034.
244. Jiang F, Liu GS, Dusting GJ, Chan EC. NADPH oxidase-dependent redox signaling in TGF- β -mediated fibrotic responses. *Redox Biol.* 2014;2:267-72. doi: 10.1016/j.redox.2014.01.012.
245. Jiang S, Li T, Yang Z, Yi W, Di S, Sun Y, Wang D, Yang Y. AMPK orchestrates an elaborate cascade protecting tissue from fibrosis and aging. *Ageing Res Rev.* 2017;38:18-27. doi: 10.1016/j.arr.2017.07.001.
246. Jiang Z, Zhou J, Zhou D, Zhu Z, Sun L, Nanji AA. The adiponectin-SIRT1-AMPK pathway in alcoholic fatty liver disease in the rat. *Alcohol Clin Exp Res.* 2015;39(3):424-33. doi: 10.1111/acer.12641.
247. Jiao X., Song H.J., Zhao H.H., Bai W., Zhang L.C., Lv Y. Well-redispersed ceria nanoparticles: Promising peroxidase mimetics for H₂O₂ and glucose detection. *Anal. Methods.* 2012;4:3261–3267. doi: 10.1039/c2ay25511a.
248. Jin Q, Su H, Yang R, Tan Y, Li B, Yi W, Dong Q, Zhang H, Xing W, Sun X. C1q/TNF-related protein-9 ameliorates hypoxia-induced pulmonary hypertension by regulating secretion of endothelin-1 and nitric oxide mediated by AMPK in rats. *Sci Rep.* 2021;11(1):11372. doi: 10.1038/s41598-021-90779-2.
249. Jin T, Zhang Y, Botchway BOA, Huang M, Lu Q, Liu X. Quercetin activates the Sestrin2/AMPK/SIRT1 axis to improve amyotrophic lateral sclerosis. *Biomed Pharmacother.* 2023;161:114515. doi: 10.1016/j.biopha.2023.114515.
250. Jin Y, Guo YH, Li JC, Li Q, Ye D, Zhang XX, Li JT. Vascular endothelial growth factor protein and gene delivery by novel nanomaterials for promoting liver

- regeneration after partial hepatectomy. *World J Gastroenterol*. 2023;29(24):3748-3757. doi: 10.3748/wjg.v29.i24.3748.
251. Jo HK, Kim GW, Jeong KJ, Kim DY, Chung SH. Eugenol ameliorates hepatic steatosis and fibrosis by down-regulating SREBP1 gene expression via AMPK-mTOR-p70S6K signaling pathway. *Biol Pharm Bull*. 2014;37(8):1341-51. doi: 10.1248/bpb.b14-00281.
 252. Jørgensen SM, Lorentzen LG, Hammer A, Hoefler G, Malle E, Chuang CY, Davies MJ. The inflammatory oxidant peroxynitrous acid modulates the structure and function of the recombinant human V3 isoform of the extracellular matrix proteoglycan versican. *Redox Biol*. 2023;64:102794. doi: 10.1016/j.redox.2023.102794.
 253. Jung GS, Jeon JH, Choi YK, Jang SY, Park SY, Kim MK, Shin EC, Jeong WI, Lee IK, Kang YN, Park KG. Small heterodimer partner attenuates profibrogenic features of hepatitis C virus-infected cells. *Liver Int*. 2015;35(10):2233-45. doi: 10.1111/liv.12871.
 254. Jurkowska H, Roman HB, Hirschberger LL, Sasakura K, Nagano T, Hanaoka K, Krijt J, Stipanuk MH. Primary hepatocytes from mice lacking cysteine dioxygenase show increased cysteine concentrations and higher rates of metabolism of cysteine to hydrogen sulfide and thiosulfate. *Amino Acids*. 2014;46(5):1353-65. doi: 10.1007/s00726-014-1700-8.
 255. Kabil O, Banerjee R. Redox biochemistry of hydrogen sulfide. *J Biol Chem*. 2010;285(29):21903-7. doi: 10.1074/jbc.R110.128363.
 256. Kabil O, Motl N, Banerjee R. H₂S and its role in redox signaling. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1844(8):1355-66. doi: 10.1016/j.bbapap.2014.01.002.
 257. Kabil O, Vitvitsky V, Xie P, Banerjee R. The quantitative significance of the transsulfuration enzymes for H₂S production in murine tissues. *Antioxid Redox Signal*. 2011;15(2):363-372. doi:10.1089/ars.2010.3781
 258. Kamal H, Tan GC, Ibrahim SF, Shaikh MF, Mohamed IN, Mohamed RMP, Hamid AA, Ugusman A, Kumar J. Alcohol Use Disorder, Neurodegeneration, Alzheimer's and Parkinson's Disease: Interplay Between Oxidative Stress,

- Neuroimmune Response and Excitotoxicity. *Front Cell Neurosci.* 2020;14:282. doi: 10.3389/fncel.2020.00282.
259. Kang JW, Hong JM, Lee SM. Melatonin enhances mitophagy and mitochondrial biogenesis in rats with carbon tetrachloride-induced liver fibrosis. *J Pineal Res.* 2016;60(4):383-93. doi: 10.1111/jpi.12319.
 260. Kawaratani H, Moriya K, Namisaki T, Uejima M, Kitade M, Takeda K, Okura Y, Kaji K, Takaya H, Nishimura N, Sato S, Sawada Y, Seki K, Kubo T, Mitoro A, Yamao J, Yoshiji H. Therapeutic strategies for alcoholic liver disease: Focusing on inflammation and fibrosis (Review). *Int J Mol Med.* 2017;40(2):263-270. doi: 10.3892/ijmm.2017.3015.
 261. Kay J, Thadhani E, Samson L, Engelward B. Inflammation-induced DNA damage, mutations and cancer. *DNA Repair (Amst).* 2019;83:102673. doi: 10.1016/j.dnarep.2019.102673.
 262. Ke PY. Diverse Functions of Autophagy in Liver Physiology and Liver Diseases. *Int J Mol Sci.* 2019;20(2):300. doi:10.3390/ijms20020300.
 263. Kendrick SF, O'Boyle G, Mann J, Zeybel M, Palmer J, Jones DE, Day CP. Acetate, the key modulator of inflammatory responses in acute alcoholic hepatitis. *Hepatology.* 2010;51(6):1988-97. doi: 10.1002/hep.23572.
 264. Kerr IM, Costa-Pereira AP, Lillemeier BF, Strobl B. Of JAKs, STATs, blind watchmakers, jeeps and trains. *FEBS Lett.* 2003;546(1):1-5. doi: 10.1016/s0014-5793(03)00411-3.
 265. Khan N, Jajeh F, Khan MI, Mukhtar E, Shabana SM, Mukhtar H. Sestrin-3 modulation is essential for therapeutic efficacy of cucurbitacin B in lung cancer cells. *Carcinogenesis.* 2017;38(2):184-195. doi: 10.1093/carcin/bgw124.
 266. Khanova E, Wu R, Wang W, Yan R, Chen Y, French SW, Llorente C, Pan SQ, Yang Q, Li Y, Lazaro R, Ansong C, Smith RD, Bataller R, Morgan T, Schnabl B, Tsukamoto H. Pyroptosis by caspase11/4-gasdermin-D pathway in alcoholic hepatitis in mice and patients. *Hepatology.* 2018;67(5):1737-1753. doi: 10.1002/hep.29645.

267. Kim DS, Lee HJ, Sim DY, Park JE, Park Y, Kim B, Shim B, Kim SH. The underlying hepatoprotective mechanism of PKC#963 in alcohol or carbon tetrachloride induced liver injury via inhibition of iNOS, COX-2, and p-STAT3 and enhancement of SOD and catalase. *Phytother Res.* 2023;37(2):505-514. doi: 10.1002/ptr.7630.
268. Kim J, Kundu M, Viollet B, Guan KL. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat Cell Biol.* 2011;13(2):132-41. doi: 10.1038/ncb2152.
269. Kim J, Yang G, Kim Y, Kim J, Ha J. AMPK activators: mechanisms of action and physiological activities. *Exp Mol Med.* 2016;48(4):e224. doi:10.1038/emm.2016.16.
270. Kim JE, You DJ, Lee C, Ahn C, Seong JY, Hwang JI. Suppression of NF-kappaB signaling by KEAP1 regulation of IKKbeta activity through autophagic degradation and inhibition of phosphorylation. *Cell Signal.* 2010;22(11):1645-54. doi: 10.1016/j.cellsig.2010.06.004.
271. Kim SJ, Tang T, Abbott M, Viscarra JA, Wang Y, Sul HS. AMPK Phosphorylates Desnutrin/ATGL and Hormone-Sensitive Lipase To Regulate Lipolysis and Fatty Acid Oxidation within Adipose Tissue. *Mol Cell Biol.* 2016;36(14):1961-76. doi: 10.1128/MCB.00244-16.
272. Kim SK, Choe JY, Park KY. Ethanol Augments Monosodium Urate-Induced NLRP3 Inflammasome Activation via Regulation of AhR and TXNIP in Human Macrophages. *Yonsei Med J.* 2020;61(6):533-541. doi: 10.3349/ymj.2020.61.6.533.
273. Kim YM, Kim TH, Chung HT, Talanian RV, Yin XM, Billiar TR. Nitric oxide prevents tumor necrosis factor alpha-induced rat hepatocyte apoptosis by the interruption of mitochondrial apoptotic signaling through S-nitrosylation of caspase-8. *Hepatology.* 2000;32(4 Pt 1):770-8. doi: 10.1053/jhep.2000.18291.
274. Kim YS, Morgan MJ, Choksi S, Liu ZG. TNF-induced activation of the Nox1 NADPH oxidase and its role in the induction of necrotic cell death. *Mol Cell.* 2007;26(5):675-87. doi: 10.1016/j.molcel.2007.04.021.

275. Kimura M, Miyakawa T, Matsushita S, So M, Higuchi S. Gender differences in the effects of ADH1B and ALDH2 polymorphisms on alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res*. 2011; 35(11):1923-7. doi: 10.1111/j.1530-0277.2011.01543.x.
276. Kitchin KT, Richards JA, Robinette BL, Wallace KA, Coates NH, Castellon BT, Grulke EA. Biochemical effects of some CeO₂, SiO₂, and TiO₂ nanomaterials in HepG2 cells. *Cell Biol Toxicol*. 2019;35(2):129-145. doi: 10.1007/s10565-018-9445-x.
277. Kline HL, Yamamoto BK. Alcohol reinstatement after prolonged abstinence from alcohol drinking by female adolescent rats: Roles of cyclooxygenase-2 and the prostaglandin E2 receptor 1. *Drug Alcohol Depend*. 2022 Jul 1;236:109491. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2022.109491.
278. Knudsen JR, Li Z, Persson KW, Li J, Henriquez-Olguin C, Jensen TE. Contraction-regulated mTORC1 and protein synthesis: Influence of AMPK and glycogen. *J Physiol*. 2020;598(13):2637-2649. doi: 10.1113/JP279780.
279. Kobayashi EH, Suzuki T, Funayama R, Nagashima T, Hayashi M, Sekine H, Tanaka N, Moriguchi T, Motohashi H, Nakayama K, Yamamoto M. Nrf2 suppresses macrophage inflammatory response by blocking proinflammatory cytokine transcription. *Nat Commun*. 2016;7:11624. doi: 10.1038/ncomms11624.
280. Koh KK, Oh PC, Quon MJ. Does reversal of oxidative stress and inflammation provide vascular protection? *Cardiovasc Res*. 2009;81(4):649-59. doi: 10.1093/cvr/cvn354.
281. Koivunen J, Heinonen-Tanski H. Peracetic acid (PAA) disinfection of primary, secondary and tertiary treated municipal wastewaters. *Water Res*. 2005;39(18):4445-53. doi: 10.1016/j.watres.2005.08.016.
282. Kolluru GK, Shen X, Bir SC, Kevil CG. Hydrogen sulfide chemical biology: pathophysiological roles and detection. *Nitric Oxide*. 2013;35:5-20. doi:10.1016/j.niox.2013.07.002.
283. Koneru M, Sahu BD, Gudem S, Kuncha M, Ravuri HG, Kumar JM, Kilari EK, Sistla R. Polydatin alleviates alcohol-induced acute liver injury in mice:

- Relevance of matrix metalloproteinases (MMPs) and hepatic antioxidants. *Phytomedicine*. 2017;27:23-32. doi: 10.1016/j.phymed.2017.01.013.
284. Kostenko VO, Tsebrzhins'kii OI. Production of superoxide anion radical and nitric oxide in renal tissues sutured with different surgical suture material. *Fiziol Zh*. 2000; 46(5): 56-62.
 285. Kubiak-Tomaszewska G, Tomaszewski P, Pachecka J, Struga M, Olejarz W, Mielczarek-Putka M, Nowicka G. Molecular mechanisms of ethanol biotransformation: enzymes of oxidative and nonoxidative metabolic pathways in human. *Xenobiotica*. 2020;50(10):1180-1201. doi: 10.1080/00498254.2020.1761571.
 286. Kuchma MH, Komanski CB, Colon J, Teblum A, Masunov AE, Alvarado B, Babu S, Seal S, Summy J, Baker CH. Phosphate ester hydrolysis of biologically relevant molecules by cerium oxide nanoparticles. *Nanomedicine*. 2010;6(6):738-44. doi: 10.1016/j.nano.2010.05.004.
 287. Kumar A, Triquigneaux M, Madenspacher J, Rangelova K, Bang JJ, Fessler MB, Mason RP. Sulfite-induced protein radical formation in LPS aerosol-challenged mice: Implications for sulfite sensitivity in human lung disease. *Redox Biol*. 2018;15:327-334. doi: 10.1016/j.redox.2017.12.014.
 288. Kumar SM, Haridoss M, Swaminathan K, Gopal RK, Clemens D, Dey A. The effects of changes in glutathione levels through exogenous agents on intracellular cysteine content and protein adduct formation in chronic alcohol-treated VL17A cells. *Toxicol Mech Methods*. 2017;27(2):128-135. doi: 10.1080/15376516.2016.1268229.
 289. Kwon HJ, Won YS, Park O, Chang B, Duryee MJ, Thiele GE, Matsumoto A, Singh S, Abdelmegeed MA, Song BJ, Kawamoto T, Vasiliou V, Thiele GM, Gao B. Aldehyde dehydrogenase 2 deficiency ameliorates alcoholic fatty liver but worsens liver inflammation and fibrosis in mice. *Hepatology*. 2014;60(1):146-57. doi: 10.1002/hep.27036.
 290. Lackner C, Tiniakos D. Fibrosis and alcohol-related liver disease. *J Hepatol*. 2019;70(2):294-304. doi: 10.1016/j.jhep.2018.12.003.

291. Lai W, Zhou S, Bai Y, Che Q, Cao H, Guo J, Su Z. Glucosamine attenuates alcohol-induced acute liver injury via inhibiting oxidative stress and inflammation. *Curr Res Food Sci.* 2024;8:100699. doi: 10.1016/j.crfs.2024.100699.
292. Lau AH, Abe M, Thomson AW. Ethanol affects the generation, cosignaling molecule expression, and function of plasmacytoid and myeloid dendritic cell subsets in vitro and in vivo. *J Leukoc Biol.* 2006;79(5):941-53. doi: 10.1189/jlb.0905517.
293. Lee HJ, Feliars D, Mariappan MM, Sataranatarajan K, Choudhury GG, Gorin Y, Kasinath BS. Tadalafil Integrates Nitric Oxide-Hydrogen Sulfide Signaling to Inhibit High Glucose-induced Matrix Protein Synthesis in Podocytes. *J Biol Chem.* 2015;290(19):12014-26. doi: 10.1074/jbc.M114.615377.
294. Lee JH, Im SS. Function of gaseous hydrogen sulfide in liver fibrosis. *BMB Rep.* 2022;55(10):481-487. doi: 10.5483/BMBRep.2022.55.10.124.
295. Lee MKS, Cooney OD, Lin X, Nadarajah S, Dragoljevic D, Huynh K, Onda DA, Galic S, Meikle PJ, Edlund T, Fullerton MD, Kemp BE, Murphy AJ, Loh K. Defective AMPK regulation of cholesterol metabolism accelerates atherosclerosis by promoting HSPC mobilization and myelopoiesis. *Mol Metab.* 2022;61:101514. doi: 10.1016/j.molmet.2022.101514.
296. Lee PC, Ho IC, Lee TC. Oxidative stress mediates sodium arsenite-induced expression of heme oxygenase-1, monocyte chemoattractant protein-1, and interleukin-6 in vascular smooth muscle cells. *Toxicol Sci.* 2005;85(1):541-50. doi: 10.1093/toxsci/kfi101.
297. Lee YS, Kim YS, Lee SY, Kim GH, Kim BJ, Lee SH, Lee KU, Kim GS, Kim SW, Koh JM. AMP kinase acts as a negative regulator of RANKL in the differentiation of osteoclasts. *Bone.* 2010;47(5):926-37. doi: 10.1016/j.bone.2010.08.001.
298. Lemasters JJ. Metabolic implications of non-electrogenic ATP/ADP exchange in cancer cells: A mechanistic basis for the Warburg effect. *Biochim Biophys Acta Bioenerg.* 2021;1862(7):148410. doi: 10.1016/j.bbabbio.2021.148410.

299. Lemmers A, Moreno C, Gustot T, Maréchal R, Degré D, Demetter P, de Nadai P, Geerts A, Quertinmont E, Vercruysse V, Le Moine O, Devière J. The interleukin-17 pathway is involved in human alcoholic liver disease. *Hepatology*. 2009;49(2):646-57. doi: 10.1002/hep.22680.
300. Lewis SE, Rosencrance CB, De Vallance E, Giromini A, Williams XM, Oh JY, Schmidt H, Straub AC, Chantler PD, Patel RP, Kelley EE. Human and rodent red blood cells do not demonstrate xanthine oxidase activity or XO-catalyzed nitrite reduction to NO. *Free Radic Biol Med*. 2021;174:84-88. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.07.012.
301. Li D, Morishita M, Wagner JG, Fatouraie M, Wooldridge M, Eagle WE, Barres J, Carlander U, Emond C, Jolliet O. In vivo biodistribution and physiologically based pharmacokinetic modeling of inhaled fresh and aged cerium oxide nanoparticles in rats. *Part Fibre Toxicol*. 2016;13(1):45. doi: 10.1186/s12989-016-0156-2.
302. Li J, Wang T, Liu P, Yang F, Wang X, Zheng W, Sun W. Hesperetin ameliorates hepatic oxidative stress and inflammation via the PI3K/AKT-Nrf2-ARE pathway in oleic acid-induced HepG2 cells and a rat model of high-fat diet-induced NAFLD. *Food Funct*. 2021;12(9):3898-3918. doi: 10.1039/d0fo02736g.
303. Li L, Bhatia M, Zhu YZ, Zhu YC, Ramnath RD, Wang ZJ, Anuar FB, Whiteman M, Salto-Tellez M, Moore PK. Hydrogen sulfide is a novel mediator of lipopolysaccharide-induced inflammation in the mouse. *FASEB J*. 2005;19(9):1196-8. doi: 10.1096/fj.04-3583fje.
304. Li L, Rose P, Moore PK. Hydrogen sulfide and cell signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2011;51:169-87. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010510-100505.
305. Li M, Xu C, Shi J, et al. Fatty acids promote fatty liver disease via the dysregulation of 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase/hydrogen sulfide pathway. *Gut*. 2018;67(12):2169-2180. doi:10.1136/gutjnl-2017-313778
306. Li NN, Li W, Feng JX, Zhang WW, Zhang R, Du SH, Liu SY, Xue GH, Yan C, Cui JH, Zhao HQ, Feng YL, Gan L, Zhang Q, Chen C, Liu D, Yuan J. High

- alcohol-producing *Klebsiella pneumoniae* causes fatty liver disease through 2,3-butanediol fermentation pathway in vivo. *Gut Microbes*. 2021;13(1):1979883. doi: 10.1080/19490976.2021.1979883.
307. Li P, He K, Li J, Liu Z, Gong J. The role of Kupffer cells in hepatic diseases. *Mol Immunol*. 2017;85:222-229. doi: 10.1016/j.molimm.2017.02.018.
 308. Li S, Tan HY, Wang N, Zhang ZJ, Lao L, Wong CW, Feng Y. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *Int J Mol Sci*. 2015;16(11):26087-124. doi: 10.3390/ijms161125942.
 309. Li W, Amet T, Xing Y, Yang D, Liangpunsakul S, Puri P, Kamath PS, Sanyal AJ, Shah VH, Katz BP, Radaeva S, Crabb DW, Chalasani N, Yu Q. Alcohol abstinence ameliorates the dysregulated immune profiles in patients with alcoholic hepatitis: A prospective observational study. *Hepatology*. 2017;66(2):575-590. doi: 10.1002/hep.29242.
 310. Li W, Ma F, Zhang L, et al. S-Propargyl-cysteine Exerts a Novel Protective Effect on Methionine and Choline Deficient Diet-Induced Fatty Liver via Akt/Nrf2/HO-1 Pathway. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:4690857. doi:10.1155/2016/4690857.
 311. Li X, Zhang KY, Zhang P, Chen LX, Wang L, Xie M, Wang CY, Tang XQ. Hydrogen sulfide inhibits formaldehyde-induced endoplasmic reticulum stress in PC12 cells by upregulation of SIRT-1. *PLoS One*. 2014;9(2):e89856. doi: 10.1371/journal.pone.0089856.
 312. Li Y, Gan L, Lu M, Zhang X, Tong X, Qi D, Zhao Y, Ye X. HBx downregulated decorin and decorin-derived peptides inhibit the proliferation and tumorigenicity of hepatocellular carcinoma cells. *FASEB J*. 2023;37(4):e22871. doi: 10.1096/fj.202200999RR.
 313. Li Y, Xu S, Mihaylova MM, Zheng B, Hou X, Jiang B, Park O, Luo Z, Lefai E, Shyy JY, Gao B, Wierzbicki M, Verbeuren TJ, Shaw RJ, Cohen RA, Zang M. AMPK phosphorylates and inhibits SREBP activity to attenuate hepatic steatosis and atherosclerosis in diet-induced insulin-resistant mice. *Cell Metab*. 2011;13(4):376-388. doi: 10.1016/j.cmet.2011.03.009.

314. Lian N, Jin H, Zhang F, Wu L, Shao J, Lu Y, Zheng S. Curcumin inhibits aerobic glycolysis in hepatic stellate cells associated with activation of adenosine monophosphate-activated protein kinase. *IUBMB Life*. 2016;68(7):589-96. doi: 10.1002/iub.1518.
315. Liang Z, Li T, Jiang S, Xu J, Di W, Yang Z, Hu W, Yang Y. AMPK: a novel target for treating hepatic fibrosis. *Oncotarget*. 2017;8(37):62780-62792. doi: 10.18632/oncotarget.19376.
316. Liaskou E, Klemsdal Henriksen EK, Holm K, Kaveh F, Hamm D, Fear J, Viken MK, Hov JR, Melum E, Robins H, Olweus J, Karlsen TH, Hirschfield GM. High-throughput T-cell receptor sequencing across chronic liver diseases reveals distinct disease-associated repertoires. *Hepatology*. 2016;63(5):1608-19. doi: 10.1002/hep.28116.
317. Libiad M, Yadav PK, Vitvitsky V, Martinov M, Banerjee R. Organization of the human mitochondrial hydrogen sulfide oxidation pathway. *J Biol Chem*. 2014;289(45):30901-30910. doi:10.1074/jbc.M114.602664
318. Lim JY, Oh MA, Kim WH, Sohn HY, Park SI. AMP-activated protein kinase inhibits TGF- β -induced fibrogenic responses of hepatic stellate cells by targeting transcriptional coactivator p300. *J Cell Physiol*. 2012;227(3):1081-9. doi: 10.1002/jcp.22824.
319. Lin CW, Tsai MH, Li ST, Tsai TI, Chu KC, Liu YC, Lai MY, Wu CY, Tseng YC, Shivatare SS, Wang CH, Chao P, Wang SY, Shih HW, Zeng YF, You TH, Liao JY, Tu YC, Lin YS, Chuang HY, Chen CL, Tsai CS, Huang CC, Lin NH, Ma C, Wu CY, Wong CH. A common glycan structure on immunoglobulin G for enhancement of effector functions. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015;112(34):10611-6. doi: 10.1073/pnas.1513456112.
320. Lin F, Taylor NJ, Su H, Huang X, Hussain MJ, Abeles RD, Blackmore L, Zhou Y, Ikbal MM, Heaton N, Jassem W, Shawcross DL, Vergani D, Ma Y. Alcohol dehydrogenase-specific T-cell responses are associated with alcohol consumption in patients with alcohol-related cirrhosis. *Hepatology*. 2013;58(1):314-24. doi: 10.1002/hep.26334. .

321. Lin RC, Lumeng L, Shahidi S, Kelly T, Pound DC. Protein-acetaldehyde adducts in serum of alcoholic patients. *Alcohol Clin Exp Res*. 1990;14(3):438-43. doi: 10.1111/j.1530-0277.1990.tb00501.x.
322. Lin W, Wu RT, Wu T, Khor TO, Wang H, Kong AN. Sulforaphane suppressed LPS-induced inflammation in mouse peritoneal macrophages through Nrf2 dependent pathway. *Biochem Pharmacol*. 2008;76(8):967-73. doi: 10.1016/j.bcp.2008.07.036.
323. Liu GH, Qu J, Shen X. NF-kappaB/p65 antagonizes Nrf2-ARE pathway by depriving CBP from Nrf2 and facilitating recruitment of HDAC3 to MafK. *Biochim Biophys Acta*. 2008;1783(5):713-27. doi: 10.1016/j.bbamcr.2008.01.002.
324. Liu M, Cao S, He L, Gao J, Arab JP, Cui H, Xuan W, Gao Y, Sehwat TS, Hamdan FH, Ventura-Cots M, Argemi J, Pomerantz WCK, Johnsen SA, Lee JH, Gao F, Ordog T, Mathurin P, Revzin A, Bataller R, Yan H, Shah VH. Super enhancer regulation of cytokine-induced chemokine production in alcoholic hepatitis. *Nat Commun*. 2021;12(1):4560. doi: 10.1038/s41467-021-24843-w.
325. Liu N, Lin X, Huang C. Activation of the reverse transsulfuration pathway through NRF2/CBS confers erastin-induced ferroptosis resistance. *Br J Cancer*. 2020;122(2):279-292. doi: 10.1038/s41416-019-0660-x.
326. Liu RM, Desai LP. Reciprocal regulation of TGF- β and reactive oxygen species: A perverse cycle for fibrosis. *Redox Biol*. 2015;6:565-577. doi: 10.1016/j.redox.2015.09.009.
327. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther*. 2017;2:17023. doi: 10.1038/sigtrans.2017.23.
328. Liu W, Zhao Y, Wang G, Feng S, Ge X, Ye W, Wang Z, Zhu Y, Cai W, Bai J, Zhou X. TRIM22 inhibits osteosarcoma progression through destabilizing NRF2 and thus activation of ROS/AMPK/mTOR/autophagy signaling. *Redox Biol*. 2022;53:102344. doi: 10.1016/j.redox.2022.102344.
329. Liu XB, Haney JR, Cantero G, Lambert JR, Otero-Garcia M, Truong B, Gropman A, Cobos I, Cederbaum SD, Lipshutz GS. Hepatic arginase deficiency fosters

- dysmyelination during postnatal CNS development. *JCI Insight*. 2019;4(17):e130260. doi: 10.1172/jci.insight.130260.
330. Liu Z, Zhu Z, He Y, Kang Q, Li F, Zhang W, He Y, Lin Y, Huang B, Mo M, Xu P, Zhu X. A Novel Hydrogen Sulfide Donor Reduces Pilocarpine-Induced Status Epilepticus and Regulates Microglial Inflammatory Profile. *Front Cell Neurosci*. 2021;15:780447. doi: 10.3389/fncel.2021.780447.
 331. Logan BK, Jones AW. Endogenous ethanol 'auto-brewery syndrome' as a drunk-driving defence challenge. *Med Sci Law*. 2000;40(3):206-15. doi: 10.1177/002580240004000304.
 332. Loh K, Tam S, Murray-Segal L, Huynh K, Meikle PJ, Scott JW, van Denderen B, Chen Z, Steel R, LeBlond ND, Burkovsky LA, O'Dwyer C, Nunes JRC, Steinberg GR, Fullerton MD, Galic S, Kemp BE. Inhibition of Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase-3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase Signaling Leads to Hypercholesterolemia and Promotes Hepatic Steatosis and Insulin Resistance. *Hepatology*. 2018;3(1):84-98. doi: 10.1002/hep4.1279.
 333. Loisel JJ, Yang G, Wu L. Hydrogen sulfide and hepatic lipid metabolism - a critical pairing for liver health. *Br J Pharmacol*. 2020;177(4):757-768. doi: 10.1111/bph.14556.
 334. Long B, Lentz S, Gottlieb M. Alcoholic Ketoacidosis: Etiologies, Evaluation, and Management. *J Emerg Med*. 2021;61(6):658-665. doi: 10.1016/j.jemermed.2021.09.007.
 335. Long JK, Dai W, Zheng YW, Zhao SP. miR-122 promotes hepatic lipogenesis via inhibiting the LKB1/AMPK pathway by targeting Sirt1 in non-alcoholic fatty liver disease. *Mol Med*. 2019;25(1):26. doi: 10.1186/s10020-019-0085-2.
 336. Losón OC, Song Z, Chen H, Chan DC. Fis1, Mff, MiD49, and MiD51 mediate Drp1 recruitment in mitochondrial fission. *Mol Biol Cell*. 2013;24(5):659-67. doi: 10.1091/mbc.E12-10-0721.
 337. Lu X, Xuan W, Li J, Yao H, Huang C, Li J. AMPK protects against alcohol-induced liver injury through UQCRC2 to up-regulate mitophagy. *Autophagy*. 2021;17(11):3622-3643. doi: 10.1080/15548627.2021.1886829.

338. Lu Y, Cederbaum AI. CYP2E1 and oxidative liver injury by alcohol. *Free Radic Biol Med.* 2008;44(5):723-38. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.11.004.
339. Lücke J, Sabihi M, Zhang T, Bauditz LF, Shiri AM, Giannou AD, Huber S. The good and the bad about separation anxiety: roles of IL-22 and IL-22BP in liver pathologies. *Semin Immunopathol.* 2021;43(4):591-607. doi: 10.1007/s00281-021-00854-z.
340. Luo X, Wu J, Wu G. PPAR γ activation suppresses the expression of MMP9 by downregulating NF- κ B post intracerebral hemorrhage. *Neurosci Lett.* 2021;752:135770. doi: 10.1016/j.neulet.2021.135770.
341. Luther J, Khan S, Gala MK, Kedrin D, Sridharan G, Goodman RP, Garber JJ, Masia R, Diagacomo E, Adams D, King KR, Piaker S, Reinecker HC, Yarmush ML, Argemi J, Bataller R, Dienstag JL, Chung RT, Patel SJ. Hepatic gap junctions amplify alcohol liver injury by propagating cGAS-mediated IRF3 activation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2020;117(21):11667-11673. doi: 10.1073/pnas.1911870117.
342. Ma X, Chen A, Melo L, Clemente-Sanchez A, Chao X, Ahmadi AR, Peiffer B, Sun Z, Sesaki H, Li T, Wang X, Liu W, Bataller R, Ni HM, Ding WX. Loss of hepatic DRP1 exacerbates alcoholic hepatitis by inducing megamitochondria and mitochondrial maladaptation. *Hepatology.* 2023;77(1):159-175. doi: 10.1002/hep.32604.
343. Maccioni L, Fu Y, Horsmans Y, Leclercq I, Stärkel P, Kunos G, Gao B. Alcohol-associated bowel disease: new insights into pathogenesis. *eGastroenterology.* 2023;1(1):e100013. doi: 10.1136/egastro-2023-100013.
344. Mackowiak B, Fu Y, Maccioni L, Gao B. Alcohol-associated liver disease. *J Clin Invest.* 2024;134(3):e176345. doi: 10.1172/JCI176345.
345. Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(1):29-38. doi: 10.1161/01.ATV.0000150649.39934.13.
346. Maia LB, Moura JJG. Putting xanthine oxidoreductase and aldehyde oxidase on the NO metabolism map: Nitrite reduction by molybdoenzymes. *Redox Biol.* 2018;19:274-289. doi: 10.1016/j.redox.2018.08.020.

347. Mailloux RJ, Harper ME. Uncoupling proteins and the control of mitochondrial reactive oxygen species production. *Free Radic Biol Med*. 2011;51(6):1106-15. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.06.022.
348. Mak KM, Kee D, Shin DW. Alcohol-associated capillarization of sinusoids: A critique since the discovery by Schaffner and Popper in 1963. *Anat Rec (Hoboken)*. 2022;305(7):1592-1610. doi: 10.1002/ar.24829.
349. Mak KM, Mei R. Basement Membrane Type IV Collagen and Laminin: An Overview of Their Biology and Value as Fibrosis Biomarkers of Liver Disease. *Anat Rec (Hoboken)*. 2017;300(8):1371-1390. doi: 10.1002/ar.23567.
350. Malhi H, Barreyro FJ, Isomoto H, Bronk SF, Gores GJ. Free fatty acids sensitise hepatocytes to TRAIL mediated cytotoxicity. *Gut*. 2007;56(8):1124-31. doi: 10.1136/gut.2006.118059.
351. Malnick SDH, Alin P, Somin M, Neuman MG. Fatty Liver Disease-Alcoholic and Non-Alcoholic: Similar but Different. *Int J Mol Sci*. 2022;23(24):16226. doi: 10.3390/ijms232416226.
352. Mandrekar P, Szabo G. Signalling pathways in alcohol-induced liver inflammation. *J Hepatol*. 2009;50(6):1258-66. doi: 10.1016/j.jhep.2009.03.007.
353. Mantena SK, King AL, Andringa KK, Eccleston HB, Bailey SM. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in the pathogenesis of alcohol- and obesity-induced fatty liver diseases. *Free Radic Biol Med*. 2008;44(7):1259-72. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.12.029.
354. Manzo-Avalos S, Saavedra-Molina A. Cellular and mitochondrial effects of alcohol consumption. *Int J Environ Res Public Health*. 2010;7(12):4281-304. doi: 10.3390/ijerph7124281.
355. Markwick LJ, Riva A, Ryan JM, Cooksley H, Palma E, Tranah TH, Manakkat Vijay GK, Vergis N, Thursz M, Evans A, Wright G, Tarff S, O'Grady J, Williams R, Shawcross DL, Chokshi S. Blockade of PD1 and TIM3 restores innate and adaptive immunity in patients with acute alcoholic hepatitis. *Gastroenterology*. 2015;148(3):590-602.e10. doi: 10.1053/j.gastro.2014.11.041.

356. Marozkina N, Gaston B. An Update on Thiol Signaling: S-Nitrosothiols, Hydrogen Sulfide and a Putative Role for Thionitrous Acid. *Antioxidants* (Basel). 2020;9(3):225. doi: 10.3390/antiox9030225.
357. Martínez-Esparza M, Tristán-Manzano M, Ruiz-Alcaraz AJ, García-Peñarrubia P. Inflammatory status in human hepatic cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 2015;21(41):11522-41. doi: 10.3748/wjg.v21.i41.11522.
358. Martinez-Hernandez A, Martinez J. The role of capillarization in hepatic failure: studies in carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Hepatology*. 1991;14(5):864-74. doi: 10.1002/hep.1840140519.
359. Marutani E, Ichinose F. Emerging pharmacological tools to control hydrogen sulfide signaling in critical illness. *Intensive Care Med Exp*. 2020;8(1):5. doi:10.1186/s40635-020-0296-4.
360. Massart J, Begriche K, Hartman JH, Fromenty B. Role of Mitochondrial Cytochrome P450 2E1 in Healthy and Diseased Liver. *Cells*. 2022;11(2):288. doi: 10.3390/cells11020288.
361. Massonnet B, Delwail A, Ayrault JM, Chagneau-Derrode C, Lecron JC, Silvain C. Increased immunoglobulin A in alcoholic liver cirrhosis: exploring the response of B cells to Toll-like receptor 9 activation. *Clin Exp Immunol*. 2009;158(1):115-24. doi: 10.1111/j.1365-2249.2009.04004.x.
362. Mastoridou EM, Goussia AC, Glantzounis GK, Kanavaros P, Charchanti AV. Autophagy and Exosomes: Cross-Regulated Pathways Playing Major Roles in Hepatic Stellate Cells Activation and Liver Fibrosis. *Front Physiol*. 2022;12:801340. doi: 10.3389/fphys.2021.801340.
363. Mateus I, Prip-Buus C. Hydrogen sulphide in liver glucose/lipid metabolism and non-alcoholic fatty liver disease. *Eur J Clin Invest*. 2022;52(3):e13680. doi:10.1111/eci.13680.
364. Mathews S, Feng D, Maricic I, Ju C, Kumar V, Gao B. Invariant natural killer T cells contribute to chronic-plus-binge ethanol-mediated liver injury by promoting hepatic neutrophil infiltration. *Cell Mol Immunol*. 2016;13(2):206-16. doi: 10.1038/cmi.2015.06.

365. Matsytska YK, Akimov OY, Mykytenko AO. Influence of corvitin and metformin on biochemical changes in lacrimal glands of rats during water avoidance stress modeling. *Oftalmologicheskii Zhurnal*. 2022;97(3):39–44. doi: 10.31288/oftalmolzh202233944.
366. Mauro C, Leow SC, Anso E, Rocha S, Thotakura AK, Tornatore L, Moretti M, De Smaele E, Beg AA, Tergaonkar V, Chandel NS, Franzoso G. NF- κ B controls energy homeostasis and metabolic adaptation by upregulating mitochondrial respiration. *Nat Cell Biol*. 2011;13(10):1272-9. doi: 10.1038/ncb2324.
367. McCord JM, Roy RS, Schaffer SW. Free radicals and myocardial ischemia. The role of xanthine oxidase. *Adv Myocardiol*. 1985;5:183-9.
368. McVicker BL, Thiele GM, Tuma DJ, Casey CA. Hepatocyte-mediated cytotoxicity and host defense mechanisms in the alcohol-injured liver. *Hepatol Int*. 2014;8 Suppl 2:432-8. doi: 10.1007/s12072-013-9511-7.
369. Medeiros T, Saraiva GN, Moraes LA, Gomes AC, Lacerda GS, Leite PE, Esberard EB, Andrade TG, Xavier AR, Quírico-Santos T, Rosário NF, Silva AA. Liver fibrosis improvement in chronic hepatitis C after direct acting-antivirals is accompanied by reduced profibrogenic biomarkers-a role for MMP-9/TIMP-1. *Dig Liver Dis*. 2020;52(10):1170-1177. doi: 10.1016/j.dld.2020.05.004.
370. Mehal W, To U. New approaches for fibrosis regression in alcoholic cirrhosis. *Hepatol Int*. 2016;10(5):773-778. doi:10.1007/s12072-016-9752-3.
371. Mehal WZ, Schuppan D. Antifibrotic therapies in the liver. *Semin Liver Dis*. 2015;35(2):184-198. doi:10.1055/s-0035-1550055
372. Mehal WZ. HIF-1 α is a major and complex player in alcohol induced liver diseases. *J Hepatol*. 2012;56(2):311-2. doi: 10.1016/j.jhep.2011.09.009.
373. Mellis AT, Misko AL, Arjune S, Liang Y, Erdélyi K, Ditrói T, Kaczmarek AT, Nagy P, Schwarz G. The role of glutamate oxaloacetate transaminases in sulfite biosynthesis and H₂S metabolism. *Redox Biol*. 2021;38:101800. doi: 10.1016/j.redox.2020.101800.
374. Michelena J, Altamirano J, Abalde JG, Affò S, Morales-Ibanez O, Sancho-Bru P, Dominguez M, García-Pagán JC, Fernández J, Arroyo V, Ginès P, Llovet A,

- Mathurin P, Mehal WZ, Caballería J, Bataller R. Systemic inflammatory response and serum lipopolysaccharide levels predict multiple organ failure and death in alcoholic hepatitis. *Hepatology*. 2015;62(3):762-72. doi: 10.1002/hep.27779.
375. Milroy CM, Lal A, Parai JL. Deaths From Alcoholic and Diabetic Ketoacidosis at Autopsy-A Comparison Study. *Acad Forensic Pathol*. 2023;13(2):73-79. doi: 10.1177/19253621231167014.
376. Milton-Laskibar I , Aguirre L , Etxeberria U , Milagro FI , Martínez JA , Portillo MP. Involvement of autophagy in the beneficial effects of resveratrol in hepatic steatosis treatment. A comparison with energy restriction. *Food Funct*. 2018;9(8):4207-4215. doi: 10.1039/c8fo00930a.
377. Minciuna I, Taru MG, Procopet B, Stefanescu H. The Interplay between Liver Sinusoidal Endothelial Cells, Platelets, and Neutrophil Extracellular Traps in the Development and Progression of Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease. *J Clin Med*. 2024;13(5):1406. doi: 10.3390/jcm13051406.
378. Mishanina TV, Libiad M, Banerjee R. Biogenesis of reactive sulfur species for signaling by hydrogen sulfide oxidation pathways. *Nat Chem Biol*. 2015;11(7):457-64. doi: 10.1038/nchembio.1834.
379. Misian M, Baum E, Breborowicz A. Sulodexide modulates the dialysate effect on the peritoneal mesothelium. *J Physiol Pharmacol*. 2019;70(6). doi: 10.26402/jpp.2019.6.15.
380. Miyao M, Kotani H, Ishida T, Kawai C, Manabe S, Abiru H, Tamaki K. Pivotal role of liver sinusoidal endothelial cells in NAFLD/NASH progression. *Lab Invest*. 2015;95(10):1130-44. doi: 10.1038/labinvest.2015.95.
381. Miyata T, Wu X, Fan X, Huang E, Sanz-Garcia C, Ross CKC, Roychowdhury S, Bellar A, McMullen MR, Dasarathy J, Allende DS, Caballeria J, Sancho-Bru P, McClain CJ, Mitchell M, McCullough AJ, Radaeva S, Barton B, Szabo G, Dasarathy S, Nagy LE. Differential role of MLKL in alcohol-associated and non-alcohol-associated fatty liver diseases in mice and humans. *JCI Insight*. 2021;6(4):e140180. doi: 10.1172/jci.insight.140180.

382. Módis K, Asimakopoulou A, Coletta C, Papapetropoulos A, Szabo C. Oxidative stress suppresses the cellular bioenergetic effect of the 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase/hydrogen sulfide pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;433(4):401-7. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.02.131.
383. Módis K, Coletta C, Erdélyi K, Papapetropoulos A, Szabo C. Intramitochondrial hydrogen sulfide production by 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase maintains mitochondrial electron flow and supports cellular bioenergetics. *FASEB J.* 2013;27(2):601-11. doi: 10.1096/fj.12-216507.
384. Módis K, Ju Y, Ahmad A, et al. S-Sulfhydration of ATP synthase by hydrogen sulfide stimulates mitochondrial bioenergetics. *Pharmacol Res.* 2016;113(Pt A):116-124. doi:10.1016/j.phrs.2016.08.023
385. Molina RM, Konduru NV, Jimenez RJ, Pyrgiotakis G, Demokritou P, Wohlleben W, Brain JD. Bioavailability, distribution and clearance of tracheally instilled, gavaged or injected cerium dioxide nanoparticles and ionic cerium. *Environ. Sci. Nano.* 2014;1:561–573. doi: 10.1039/C4EN00034J.
386. Momcilovic M, Hong SP, Carlson M. Mammalian TAK1 activates Snf1 protein kinase in yeast and phosphorylates AMP-activated protein kinase in vitro. *J Biol Chem.* 2006;281(35):25336-43. doi: 10.1074/jbc.M604399200.
387. Monji A, Zhang Y, Kumar GVN, Guillermier C, Kim S, Olenchock B, Steinhauser ML. A Cycle of Inflammatory Adipocyte Death and Regeneration in Murine Adipose Tissue. *Diabetes.* 2022;71(3):412-423. doi: 10.2337/db20-1306.
388. Monzir S. Abdel-Latif. New Spectrophotometric Method for Sulfite Determination. *Analytical Letters.* 1994;27(13):2601-2614. doi: 10.1080/00032719408002664.
389. Moon AM, Curtis B, Mandrekar P, Singal AK, Verna EC, Fix OK. Alcohol-Associated Liver Disease Before and After COVID-19-An Overview and Call for Ongoing Investigation. *Hepatol Commun.* 2021;5(9):1616-1621. doi: 10.1002/hep4.1747.

390. Mormone E, George J, Nieto N. Molecular pathogenesis of hepatic fibrosis and current therapeutic approaches. *Chem Biol Interact.* 2011;193(3):225-31. doi: 10.1016/j.cbi.2011.07.001.
391. Moschos MM, Rouvas AA, Papadimitriou S, Kotsolis A, Sitaras N, Apostolopoulos M. Quantitative determination of glycosaminoglycans in tears of diabetic patients. *Clin Ophthalmol.* 2008;2(3):581-4. doi: 10.2147/opth.s2643.
392. Mosharov E, Cranford MR, Banerjee R. The quantitatively important relationship between homocysteine metabolism and glutathione synthesis by the transsulfuration pathway and its regulation by redox changes. *Biochemistry.* 2000;39(42):13005-11. doi: 10.1021/bi001088w.
393. Mou YJ, Ma YT, Yuan X, Wang M, Liu Y, Pei CS, Liu CF, Hou XO, Hu LF. Cystathionine β -Synthase Suppresses NLRP3 Inflammasome Activation via Redox Regulation in Microglia. *Antioxid Redox Signal.* 2023. doi: 10.1089/ars.2022.0174.
394. Murphy B, Bhattacharya R, Mukherjee P. Hydrogen sulfide signaling in mitochondria and disease. *FASEB J.* 2019;33(12):13098-13125. doi: 10.1096/fj.201901304R.
395. Mustafa AK, Gadalla MM, Sen N, et al. H₂S signals through protein S-sulfhydration. *Sci Signal.* 2009; 2(96): ra72. doi:10.1126/scisignal.2000464
396. Myers RW, Guan HP, Ehrhart J, Petrov A, Prahalada S, Tozzo E, Yang X, Kurtz MM, Trujillo M, Gonzalez Trotter D, Feng D, Xu S, Eiermann G, Holahan MA, Rubins D, Conarello S, Niu X, Souza SC, Miller C, Liu J, Lu K, Feng W, Li Y, Painter RE, Milligan JA, He H, Liu F, Ogawa A, Wisniewski D, Rohm RJ, Wang L, Bunzel M, Qian Y, Zhu W, Wang H, Bennet B, LaFranco Scheuch L, Fernandez GE, Li C, Klimas M, Zhou G, van Heek M, Biftu T, Weber A, Kelley DE, Thornberry N, Erion MD, Kemp DM, Sebhat IK. Systemic pan-AMPK activator MK-8722 improves glucose homeostasis but induces cardiac hypertrophy. *Science.* 2017;357(6350):507-511. doi: 10.1126/science.aah5582.
397. Mykytenko AO, Akimov OY, Neporada KS. Influence of lipopolysaccharide on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions

- of chronic alcohol intoxication. *Fiziol. Zh.* 2022;68(2):29-35. doi: 10.15407/fz68.02.029.
398. Mykytenko AO, Akimov OY, Neporada KS. Influence of systemic inflammatory response syndrome on the development of oxidative stress during simulation of chronic alcohol intoxication in rats. *Biotechnologia acta.* 2022;15(2):62-63. DOI: 10.15407/biotech15.02.062.
399. Mykytenko AO, Akimov OY, Neporada KS. The influence of phenformin on the extracellular matrix of the liver of rats under long-term administration of ethanol. *Fiziol. Zh.* 2024;70(2):75-81. doi: 10.15407/fz70.02.075.
400. Mykytenko AO, Akimov OY, Shevchenko OM, Neporada KS. Role of sulfide anion in the development of chronic alcoholic hepatitis under the conditions of modulation of adenosine monophosphate kinase – a correlational study. *Eur J Clin Exp Med.* 2023;21(3):567–575. doi: 10.15584/ejcem.2023.3.24.
401. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Extracellular matrix of rat liver under the conditions of combining systemic inflammatory response syndrome and chronic alcohol intoxication. *World of Medicine and Biology.* 2022;1(79):214-217. doi: 10.26724/2079-8334-2022-1-79-214-217.
402. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of NF - κ B on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcohol intoxication. *Ukr. Biochem. J.,* 2022;94(6):57-66. doi: 10.15407/ubj94.06.057.
403. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of transcription factor κ B on remodeling of extracellular matrix of rat liver under conditions of chronic alcohol intoxication. *World of Medicine and Biology.* 2022;2(80):214-217. doi: 10.26724/2079-8334-2022-2-80-214-217.
404. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Shevchenko OM, Neporada KS. Biochemical changes in the extracellular matrix of rat liver during chronic alcohol intoxication. *World of Medicine and Biology.* 2022;4(82):221-225. doi: 10.26724/2079-8334-2022-4-82-221-225.

405. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Shevchenko OM, Neporada KS. Changes in the microcirculatory bed of the liver during alcoholic hepatitis modeling. *World of Medicine and Biology*. 2023;4(86):212-216. doi: 10.26724/2079-8334-2023-4-86-212-216.
406. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA. Peculiarities of connective tissue degradation in rat's liver on early terms of chronic alcoholic hepatitis modelling. *World of Medicine and Biology*. 2021;1(75):197-200. doi: 10.26724/2079-8334-2021-1-75-197-200.
407. Mykytenko AO. Development of oxidative-nitrosative stress underconditions of chronic alcoholic hepatitis in dynamics. *Експериментальна та клінічна фармакологія: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, присвячена 100-річчю кафедри фармакології НФаУ (Харків, 23-24 жовтня 2024 року) – Х.: НФаУ, 2024. – С. 141-144.*
408. Mykytenko AO. Effect of doxorubicin on the content of glycosaminoglycans in the liver of rats with chronic alcoholic hepatitis. The collection contains abstracts of reports and research articles that were presented as part of the VI International Scientific and Practical Conference "KyivLvivPharma-2023. Pharmaceutical Technology and Pharmacology in Ensuring Active Longevity" (November 16-18, 2023, Kyiv, Lviv). *Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers*. Tallinn: Nordic Sci Publisher, 2023: 188-189.
409. Mykytenko AO, Akimov OY, Matsytska YK, Neporada KS. Nitrogen oxide metabolism in the liver under conditions of systemic inflammatory response: Abstracts from the 19h Annual World Congress on Insulin Resistance Diabetes & Cardiovascular Disease (Los Angeles, 2-4 December 2021). *Metabolism - Clinical and Experimental*, Volume 128, Supplement, 155004 DOI: 10.1016/j.metabol.2021.155004.
410. Mykytenko AO, Akimov OY, Neporada KS. Influence of doxorubicin on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcoholic hepatitis. *Медична та клінічна хімія*. 2024;26(2):5-11. doi: 10.11603/mcch.2410-681X.2024.i2.14761.

411. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of nanosized cerium dioxide on metabolic changes of the liver under conditions of chronic alcoholic hepatitis. *Letters in Applied NanoBioScience*. 2024;13(3):129. doi: 10.33263/LIANBS133.129.
412. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of doxorubicin on the extracellular matrix of the liver of rats under conditions of chronic alcoholic hepatitis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2023;14(2):278–283. doi: 10.15421/022341.
413. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of nuclear factor κ B and adenosine monophosphate-activated protein kinase on the vascular bed of the liver under the conditions of modeling chronic alcoholic hepatitis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2024;15(3):410–415. doi: 10.15421/022457.
414. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Phenformin attenuates the oxidativenitrosative stress in the liver of rats under long-term ethanol administration. *Ukr. Biochem. J.*, 2024;96(3):22-30. doi: 10.15407/ubj96.03.022.
415. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. The role of sulfide anion in the development of oxidative stress in the liver under conditions of chronic alcoholic hepatitis. *World of Medicine and Biology*. 2022;3(81):223-226. doi: 10.26724/2079-8334-2022-3-81-223-226.
416. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of nanosized cerium dioxide on the vascular bed of the liver under the conditions of chronic alcoholic hepatitis modeling. *World of Medicine and Biology*. 2024;2(88):211-215. doi: 10.26724/2079-8334-2024-2-88-211-215.
417. Nagahara N, Ito T, Kitamura H, Nishino T. Tissue and subcellular distribution of mercaptopyruvate sulfurtransferase in the rat: confocal laser fluorescence and immunoelectron microscopic studies combined with biochemical analysis. *Histochem Cell Biol*. 1998;110(3):243-50. doi: 10.1007/s004180050286.

418. Nagahara N. Multiple role of 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase: antioxidative function, H₂S and polysulfide production and possible SO_x production. *Br J Pharmacol*. 2018;175(4):577-589. doi: 10.1111/bph.14100.
419. Nagappan A, Kim JH, Jung DY, Jung MH. Cryptotanshinone from the *Salvia miltiorrhiza* Bunge Attenuates Ethanol-Induced Liver Injury by Activation of AMPK/SIRT1 and Nrf2 Signaling Pathways. *Int J Mol Sci*. 2019;21(1):265. doi: 10.3390/ijms21010265.
420. Nagata K, Suzuki H, Sakaguchi S. Common pathogenic mechanism in development progression of liver injury caused by non-alcoholic or alcoholic steatohepatitis. *J Toxicol Sci*. 2007;32(5):453-68. doi: 10.2131/jts.32.453.
421. Nagy LE, Ding WX, Cresci G, Saikia P, Shah VH. Linking Pathogenic Mechanisms of Alcoholic Liver Disease With Clinical Phenotypes. *Gastroenterology*. 2016;150(8):1756-68. doi: 10.1053/j.gastro.2016.02.035.
422. Nagy LE. The Role of Innate Immunity in Alcoholic Liver Disease. *Alcohol Res*. 2015;37(2):237-50.
423. Nakayama K, Hasegawa H. Blood Vessels as a Key Mediator for Ethanol Toxicity: Implication for Neuronal Damage. *Life (Basel)*. 2022;12(11):1882. doi: 10.3390/life12111882.
424. Narro GEC, Díaz LA, Ortega EK, Garín MFB, Reyes EC, Delfin PSM, Arab JP, Bataller R. Alcohol-related liver disease: A global perspective. *Ann Hepatol*. 2024;101499. doi: 10.1016/j.aohep.2024.101499.
425. Nassif RM, Chalhoub E, Chedid P, Hurtado-Nedelec M, Raya E, Dang PM, Marie JC, El-Benna J. Metformin Inhibits ROS Production by Human M2 Macrophages via the Activation of AMPK. *Biomedicines*. 2022;10(2):319. doi: 10.3390/biomedicines10020319.
426. Nassir F, Ibdah JA. Role of mitochondria in alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(9):2136-42. doi: 10.3748/wjg.v20.i9.2136.
427. Nassir F, Rector RS, Hammoud GM, Ibdah JA. Pathogenesis and Prevention of Hepatic Steatosis. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2015;11(3):167-75.

428. Neill T, Kapoor A, Xie C, Buraschi S, Iozzo RV. A functional outside-in signaling network of proteoglycans and matrix molecules regulating autophagy. *Matrix Biol.* 2021;100-101:118-149. doi: 10.1016/j.matbio.2021.04.001.
429. Nelson BC, Johnson ME, Walker ML, Riley KR, Sims CM. Antioxidant Cerium Oxide Nanoparticles in Biology and Medicine. *Antioxidants (Basel).* 2016; 5(2): 15. doi: 10.3390/antiox5020015.
430. Ness KJ, Fan J, Wilke WW, Coleman RA, Cook RT, Schlueter AJ. Chronic ethanol consumption decreases murine Langerhans cell numbers and delays migration of Langerhans cells as well as dermal dendritic cells. *Alcohol Clin Exp Res.* 2008; 32(4): 657-68. doi: 10.1111/j.1530-0277.2007.00614.x.
431. Neuman MG, Seitz HK, French SW, Malnick S, Tsukamoto H, Cohen LB, Hoffman P, Tabakoff B, Fasullo M, Nagy LE, Tuma PL, Schnabl B, Mueller S, Groebner JL, Barbara FA, Yue J, Nikko A, Alejandro M, Brittany T, Edward V, Harrall K, Saba L, Mihai O. Alcoholic-Hepatitis, Links to Brain and Microbiome: Mechanisms, Clinical and Experimental Research. *Biomedicines.* 2020;8(3):63. doi: 10.3390/biomedicines8030063.
432. Neuman MG, Seitz HK, Teschke R, Malnick S, Johnson-Davis KL, Cohen LB, German A, Hohmann N, Moreira B, Moussa G, Opris M. Molecular, Viral and Clinical Features of Alcohol- and Non-Alcohol-Induced Liver Injury. *Curr Issues Mol Biol.* 2022;44(3):1294-1315. doi: 10.3390/cimb44030087.
433. Neumann D. Is TAK1 a Direct Upstream Kinase of AMPK? *Int J Mol Sci.* 2018;19(8):2412. doi: 10.3390/ijms19082412.
434. Ngoei KRW, Langendorf CG, Ling NXY, Hoque A, Varghese S, Camerino MA, Walker SR, Bozikis YE, Dite TA, Ovens AJ, Smiles WJ, Jacobs R, Huang H, Parker MW, Scott JW, Rider MH, Foitzik RC, Kemp BE, Baell JB, Oakhill JS. Structural Determinants for Small-Molecule Activation of Skeletal Muscle AMPK $\alpha 2\beta 2\gamma 1$ by the Glucose Importagoc SC4. *Cell Chem Biol.* 2018;25(6):728-737.e9. doi: 10.1016/j.chembiol.2018.03.008.
435. Ni D, Wei H, Chen W, Bao Q, Rosenkrans ZT, Barnhart TE, Ferreira CA, Wang Y, Yao H, Sun T, Jiang D, Li S, Cao T, Liu Z, Engle JW, Hu P, Lan X, Cai W.

- Ceria Nanoparticles Meet Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury: The Perfect Imperfection. *Adv Mater.* 2019;31(40):e1902956. doi: 10.1002/adma.201902956.
436. Ni HM, Du K, You M, Ding WX. Critical role of FoxO3a in alcohol-induced autophagy and hepatotoxicity. *Am J Pathol.* 2013;183(6):1815-1825. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.08.011.
 437. Ni YH, Huo LJ, Li TT. Antioxidant axis Nrf2-keap1-ARE in inhibition of alcoholic liver fibrosis by IL-22. *World J Gastroenterol.* 2017;23(11):2002-2011. doi: 10.3748/wjg.v23.i11.2002.
 438. Nieto N, Friedman SL, Cederbaum AI. Stimulation and proliferation of primary rat hepatic stellate cells by cytochrome P450 2E1-derived reactive oxygen species. *Hepatology.* 2002;35(1):62-73. doi: 10.1053/jhep.2002.30362.
 439. Nishiyama Y, Goda N, Kanai M, Niwa D, Osanai K, Yamamoto Y, Senoo-Matsuda N, Johnson RS, Miura S, Kabe Y, Suematsu M. HIF-1 α induction suppresses excessive lipid accumulation in alcoholic fatty liver in mice. *J Hepatol.* 2012;56(2):441-7. doi: 10.1016/j.jhep.2011.07.024.
 440. Nogueira V, Hay N. Molecular pathways: reactive oxygen species homeostasis in cancer cells and implications for cancer therapy. *Clin Cancer Res.* 2013;19(16):4309-14. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-1424.
 441. Norkina O, Dolganiuc A, Catalano D, Kodys K, Mandrekar P, Syed A, Efros M, Szabo G. Acute alcohol intake induces SOCS1 and SOCS3 and inhibits cytokine-induced STAT1 and STAT3 signaling in human monocytes. *Alcohol Clin Exp Res.* 2008;32(9):1565-73. doi: 10.1111/j.1530-0277.2008.00726.x.
 442. Norkina O, Dolganiuc A, Shapiro T, Kodys K, Mandrekar P, Szabo G. Acute alcohol activates STAT3, AP-1, and Sp-1 transcription factors via the family of Src kinases to promote IL-10 production in human monocytes. *J Leukoc Biol.* 2007;82(3):752-62. doi: 10.1189/jlb.0207099.
 443. Norris EJ, Culbertson CR, Narasimhan S, Clemens MG. The liver as a central regulator of hydrogen sulfide. *Shock.* 2011;36(3):242-250. doi:10.1097/SHK.0b013e3182252ee7.

444. Nowak AJ, Relja B. The Impact of Acute or Chronic Alcohol Intake on the NF- κ B Signaling Pathway in Alcohol-Related Liver Disease. *Int J Mol Sci.* 2020;21(24):9407. doi: 10.3390/ijms21249407.
445. Oak S, Mandrekar P, Catalano D, Kodys K, Szabo G. TLR2- and TLR4-mediated signals determine attenuation or augmentation of inflammation by acute alcohol in monocytes. *J Immunol.* 2006;176(12):7628-35. doi: 10.4049/jimmunol.176.12.7628.
446. Oekonomaki E, Notas G, Mouzas IA, Valatas V, Skordilis P, Xidakis C, Kouroumalis EA. Binge drinking and nitric oxide metabolites in chronic liver disease. *Alcohol Alcohol.* 2004;39(2):106-9. doi: 10.1093/alcalc/agh030.
447. Ohtani N, Kawada N. Role of the Gut-Liver Axis in Liver Inflammation, Fibrosis, and Cancer: A Special Focus on the Gut Microbiota Relationship. *Hepatol Commun.* 2019;3(4):456-470. doi: 10.1002/hep4.1331.
448. Olson KR, Deleon ER, Gao Y, Hurley K, Sadauskas V, Batz C, Stoy GF. Thiosulfate: a readily accessible source of hydrogen sulfide in oxygen sensing. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2013;305(6):R592-603. doi: 10.1152/ajpregu.00421.2012.
449. Ong ASK, Aw MM, Goh DL, Karthik SV. Cholestatic Jaundice in Sulphite Oxidase Deficiency - An Unusual Association. *Indian J Pediatr.* 2021;88(1):64-66. doi: 10.1007/s12098-020-03428-3.
450. Orci LA, Kreutzfeldt M, Goossens N, Rubbia-Brandt L, Slits F, Hammad K, Delaune V, Oldani G, Negro F, Clément S, Gonelle-Gispert C, Buhler LH, Toso C, Lacotte S. Tolerogenic properties of liver macrophages in non-alcoholic steatohepatitis. *Liver Int.* 2020;40(3):609-621. doi: 10.1111/liv.14336.
451. Oró D, Yudina T, Fernández-Varo G, Casals E, Reichenbach V, Casals G, González de la Presa B, Sandalinas S, Carvajal S, Puentes V, Jiménez W. Cerium oxide nanoparticles reduce steatosis, portal hypertension and display anti-inflammatory properties in rats with liver fibrosis. *J Hepatol.* 2016;64(3):691-8. doi: 10.1016/j.jhep.2015.10.020.

452. Osna NA, Donohue TM Jr, Kharbanda KK. Alcoholic Liver Disease: Pathogenesis and Current Management. *Alcohol Res.* 2017;38(2):147-161.
453. Osna NA, Donohue TM Jr. Implication of altered proteasome function in alcoholic liver injury. *World J Gastroenterol.* 2007;13(37):4931-7. doi: 10.3748/wjg.v13.i37.4931.
454. Osna NA, Rasineni K, Ganesan M, Donohue TM Jr, Kharbanda KK. Pathogenesis of Alcohol-Associated Liver Disease. *J Clin Exp Hepatol.* 2022;12(6):1492-1513. doi: 10.1016/j.jceh.2022.05.004.
455. Ottolini M, Hong K, Cope EL, Daneva Z, DeLalio LJ, Sokolowski JD, Marziano C, Nguyen NY, Altschmied J, Haendeler J, Johnstone SR, Kalani MY, Park MS, Patel RP, Liedtke W, Isakson BE, Sonkusare SK. Local Peroxynitrite Impairs Endothelial Transient Receptor Potential Vanilloid 4 Channels and Elevates Blood Pressure in Obesity. *Circulation.* 2020;141(16):1318-1333. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.043385.
456. Ou HX, Huang Q, Liu CH, Xiao J, Lv YC, Li X, Lei LP, Mo ZC. Midkine Inhibits Cholesterol Efflux by Decreasing ATP-Binding Membrane Cassette Transport Protein A1 via Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase/Mammalian Target of Rapamycin Signaling in Macrophages. *Circ J.* 2020;84(2):217-225. doi: 10.1253/circj.CJ-19-0430.
457. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev.* 2007;87(1):315-424. doi: 10.1152/physrev.00029.2006.
458. Paik YH, Lee KS, Lee HJ, Yang KM, Lee SJ, Lee DK, Han KH, Chon CY, Lee SI, Moon YM, Brenner DA. Hepatic stellate cells primed with cytokines upregulate inflammation in response to peptidoglycan or lipoteichoic acid. *Lab Invest.* 2006;86(7):676-86. doi: 10.1038/labinvest.3700422.
459. Pan TT, Neo KL, Hu LF, Yong QC, Bian JS. H₂S preconditioning-induced PKC activation regulates intracellular calcium handling in rat cardiomyocytes. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2008;294(1):C169-77. doi: 10.1152/ajpcell.00282.2007.
460. Pantea V, Cobzac V, Tagadiuc O, Palarie V, Gudumac V. In Vitro Evaluation of the Cytotoxic Potential of Thiosemicarbazide Coordinating Compounds in

- Hepatocyte Cell Culture. *Biomedicines*. 2023;11(2):366. doi: 10.3390/biomedicines11020366.
461. Pardue S, Kolluru GK, Shen X, Lewis SE, Saffle CB, Kelley EE, Kevil CG. Hydrogen sulfide stimulates xanthine oxidoreductase conversion to nitrite reductase and formation of NO. *Redox Biol*. 2020;34:101447. doi: 10.1016/j.redox.2020.101447.
 462. Park HS, Jung HY, Park EY, Kim J, Lee WJ, Bae YS. Cutting edge: direct interaction of TLR4 with NAD(P)H oxidase 4 isozyme is essential for lipopolysaccharide-induced production of reactive oxygen species and activation of NF-kappa B. *J Immunol*. 2004; 173(6): 3589-93. doi: 10.4049/jimmunol.173.6.3589.
 463. Park SH, Seo W, Xu MJ, Mackowiak B, Lin Y, He Y, Fu Y, Hwang S, Kim SJ, Guan Y, Feng D, Yu L, Lehner R, Liangpunsakul S, Gao B. Ethanol and its Nonoxidative Metabolites Promote Acute Liver Injury by Inducing ER Stress, Adipocyte Death, and Lipolysis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2023;15(2):281-306. doi: 10.1016/j.jcmgh.2022.10.002.
 464. Patel D, Rathaur P, Parwani K, Patel F, Sharma D, Johar K, Mandal P. In vitro, in vivo, and in silico analysis of synbiotics as preventive interventions for lipid metabolism in ethanol-induced adipose tissue injury. *Lipids Health Dis*. 2023;22(1): 49. doi: 10.1186/s12944-023-01809-z.
 465. Patel S, Behara R, Swanson GR, Forsyth CB, Voigt RM, Keshavarzian A. Alcohol and the Intestine. *Biomolecules*. 2015;5(4):2573-88. doi: 10.3390/biom5042573.
 466. Paterlini V, Porpiglia NM, De Palo EF, Tagliaro F. Asialo-transferrin: Biochemical aspects and association with alcohol abuse investigation. *Alcohol*. 2019;78:43-50. doi: 10.1016/j.alcohol.2019.03.002.
 467. Pellicoro A, Ramachandran P, Iredale JP. Reversibility of liver fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2012;5(Suppl 1):S26. doi: 10.1186/1755-1536-5-S1-S26.

468. Pemmasani G, Tremaine WJ, Suresh Kumar VC, Aswath G, Sapkota B, Karagozian R, John S. Sex differences in clinical characteristics and outcomes associated with alcoholic hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2023;35(10):1192-1196. doi: 10.1097/MEG.0000000000002612.
469. Perridon BW, Leuvenink HG, Hillebrands JL, van Goor H, Bos EM. The role of hydrogen sulfide in aging and age-related pathologies. *Aging (Albany NY)*. 2016;8(10):2264-2289. doi: 10.18632/aging.101026.
470. Perry RJ, Peng L, Barry NA, Cline GW, Zhang D, Cardone RL, Petersen KF, Kibbey RG, Goodman AL, Shulman GI. Acetate mediates a microbiome-brain- β -cell axis to promote metabolic syndrome. *Nature*. 2016;534(7606):213-7. doi: 10.1038/nature18309.
471. Petsouki E, Cabrera SNS, Heiss EH. AMPK and NRF2: Interactive players in the same team for cellular homeostasis? *Free Radic Biol Med*. 2022;190:75-93. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2022.07.014.
472. Phillips SA, Osborn K, Hwang CL, Sabbahi A, Piano MR. Ethanol Induced Oxidative Stress in the Vasculature: Friend or Foe. *Curr Hypertens Rev*. 2020;16(3):181-191. doi: 10.2174/1573402115666190325124622.
473. Pilling D, Karhadkar TR, Gomer RH. High-Fat Diet-Induced Adipose Tissue and Liver Inflammation and Steatosis in Mice Are Reduced by Inhibiting Sialidases. *Am J Pathol*. 2021;191(1):131-143. doi: 10.1016/j.ajpath.2020.09.011.
474. Pinkosky SL, Scott JW, Desjardins EM, Smith BK, Day EA, Ford RJ, Langendorf CG, Ling NXY, Nero TL, Loh K, Galic S, Hoque A, Smiles WJ, Ngoei KRW, Parker MW, Yan Y, Melcher K, Kemp BE, Oakhill JS, Steinberg GR. Long-chain fatty acyl-CoA esters regulate metabolism via allosteric control of AMPK β 1 isoforms. *Nat Metab*. 2020;2(9):873-881. doi: 10.1038/s42255-020-0245-2.
475. Polimanti R, Gelernter J. ADH1B: From alcoholism, natural selection, and cancer to the human phenome. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2018;177(2):113-125. doi: 10.1002/ajmg.b.32523.
476. Ponnusamy L, Natarajan SR, Thangaraj K, Manoharan R. Therapeutic aspects of AMPK in breast cancer: Progress, challenges, and future directions. *Biochim*

- Biophys Acta Rev Cancer. 2020;1874(1):188379. doi: 10.1016/j.bbcan.2020.188379.
477. Praticò D. Antioxidants and endothelium protection. *Atherosclerosis*. 2005;181(2):215-24. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2005.03.005.
 478. Predmore BL, Lefer DJ, Gojon G. Hydrogen sulfide in biochemistry and medicine. *Antioxid Redox Signal*. 2012;17(1):119-40. doi: 10.1089/ars.2012.4612.
 479. Prince DS, Nash E, Liu K. Alcohol-Associated Liver Disease: Evolving Concepts and Treatments. *Drugs*. 2023;83(16):1459-1474. doi: 10.1007/s40265-023-01939-9.
 480. Prystupa A, Boguszevska-Czubara A, Bojarska-Junak A, Toruń-Jurkowska A, Roliński J, Załuska W. Activity of MMP-2, MMP-8 and MMP-9 in serum as a marker of progression of alcoholic liver disease in people from Lublin Region, eastern Poland. *Ann Agric Environ Med*. 2015;22(2):325-8. doi: 10.5604/12321966.1152088.
 481. Psefteli PM, Kitscha P, Vizcay G, Fleck R, Chapple SJ, Mann GE, Fowler M, Siow RC. Glycocalyx sialic acids regulate Nrf2-mediated signaling by fluid shear stress in human endothelial cells. *Redox Biol*. 2021;38:101816. doi: 10.1016/j.redox.2020.101816.
 482. Purohit V, Abdelmalek MF, Barve S, Benevenga NJ, Halsted CH, Kaplowitz N, Kharbanda KK, Liu QY, Lu SC, McClain CJ, Swanson C, Zakhari S. Role of S-adenosylmethionine, folate, and betaine in the treatment of alcoholic liver disease: summary of a symposium. *Am J Clin Nutr*. 2007;86(1):14-24. doi: 10.1093/ajcn/86.1.14.
 483. Purohit V, Brenner DA. Mechanisms of alcohol-induced hepatic fibrosis: a summary of the Ron Thurman Symposium. *Hepatology*. 2006;43(4):872-8. doi: 10.1002/hep.21107.
 484. Qian LW, Evani SJ, Chen P, Brandenburg KS, Weaver AJ, Fourcaudot AB, Abercrombie JJ, Sebastian EA, Leung KP. Cerium Nitrate Treatment Provides Eschar Stabilization through Reduction in Bioburden, DAMPs, and Inflammatory

- Cytokines in a Rat Scald Burn Model. *J Burn Care Res.* 2020;41(3):576-584. doi: 10.1093/jbcr/irz199.
485. Qin JD, Cao ZH, Li XF, Kang XL, Xue Y, Li YL, Zhang D, Liu XY, Xue YZ. Effect of ammonium pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) on NF- κ B activation and CYP2E1 content of rats with immunological liver injury. *Pharm Biol.* 2014;52(11):1460-6. doi: 10.3109/13880209.2014.898075.
 486. Qu XQ, Chen QF, Shi QQ, Luo QQ, Zheng SY, Li YH, Bai LY, Gan S, Zhou XY. Hepatocyte-Conditional Knockout of Phosphatidylethanolamine Binding Protein 4 Aggravated LPS/D-GalN-Induced Acute Liver Injury via the TLR4/NF- κ B Pathway. *Front Immunol.* 2022;13:901566. doi: 10.3389/fimmu.2022.901566.
 487. Quast I, Keller CW, Maurer MA, Giddens JP, Tackenberg B, Wang LX, Münz C, Nimmerjahn F, Dalakas MC, Lünemann JD. Sialylation of IgG Fc domain impairs complement-dependent cytotoxicity. *J Clin Invest.* 2015;125(11):4160-70. doi: 10.1172/JCI82695.
 488. Radi R. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2018;115(23):5839-5848. doi: 10.1073/pnas.1804932115.
 489. Ramachandran P, Pellicoro A, Vernon MA, Boulter L, Aucott RL, Ali A, Hartland SN, Snowdon VK, Cappon A, Gordon-Walker TT, Williams MJ, Dunbar DR, Manning JR, van Rooijen N, Fallowfield JA, Forbes SJ, Iredale JP. Differential Ly-6C expression identifies the recruited macrophage phenotype, which orchestrates the regression of murine liver fibrosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012;109(46):E3186-95. doi: 10.1073/pnas.1119964109.
 490. Ramachandran S, Loganathan S, Cheeran V, Charles S, Munuswamy-Ramanujan G, Ramasamy M, Raj V, Mala K. Forskolin attenuates doxorubicin-induced accumulation of asymmetric dimethylarginine and s-adenosylhomocysteine via methyltransferase activity in leukemic monocytes. *Leuk Res Rep.* 2018;9:28-35. doi: 10.1016/j.lrr.2018.02.001.

491. Ramaiah SK, Jaeschke H. Hepatic neutrophil infiltration in the pathogenesis of alcohol-induced liver injury. *Toxicol Mech Methods*. 2007;17(7):431-40. doi: 10.1080/00952990701407702.
492. Ramezani-Moghadam M, Wang J, Ho V, Iseli TJ, Alzahrani B, Xu A, Van der Poorten D, Qiao L, George J, Hebbard L. Adiponectin reduces hepatic stellate cell migration by promoting tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) secretion. *J Biol Chem*. 2015;290(9):5533-42. doi: 10.1074/jbc.M114.598011.
493. Ramkissoon R, Shah VH. Alcohol Use Disorder and Alcohol-Associated Liver Disease. *Alcohol Res*. 2022;42(1):13. doi: 10.35946/arc.v42.1.13.
494. Rao PS, Midde NM, Miller DD, Chauhan S, Kumar A, Kumar S. Diallyl Sulfide: Potential Use in Novel Therapeutic Interventions in Alcohol, Drugs, and Disease Mediated Cellular Toxicity by Targeting Cytochrome P450 2E1. *Curr Drug Metab*. 2015;16(6):486-503. doi:10.2174/1389200216666150812123554.
495. Rao R. Endotoxemia and gut barrier dysfunction in alcoholic liver disease. *Hepatology*. 2009;50(2):638-44. doi: 10.1002/hep.23009.
496. Read E, Zhu J, Yang G. Disrupted H₂S signaling by cigarette smoking and alcohol drinking: evidence from cellular, animal, and clinical studies. *antioxidants (Basel)*. 2021;10(1):49. doi:10.3390/antiox10010049/
497. Reed K., Cormack A., Kulkarni A., Mayton M., Sayle D., Klaessig F., Stadler B. Exploring the properties and applications of nanoceria: Is there still plenty of room at the bottom? *Environ. Sci. Nano*. 2014;1:390–405. doi: 10.1039/C4EN00079J.
498. Rehm J, Taylor B, Mohapatra S, Irving H, Baliunas D, Patra J, Roerecke M. Alcohol as a risk factor for liver cirrhosis: a systematic review and meta-analysis. *Drug Alcohol Rev*. 2010; 29(4): 437-45. doi: 10.1111/j.1465-3362.2009.00153.x.
499. Reue K, Wang H. Mammalian lipin phosphatidic acid phosphatases in lipid synthesis and beyond: metabolic and inflammatory disorders. *J Lipid Res*. 2019;60(4):728-733. doi: 10.1194/jlr.S091769.
500. Revu S, Wu J, Henkel M, Rittenhouse N, Menk A, Delgoffe GM, Poholek AC, McGeachy MJ. IL-23 and IL-1 β Drive Human Th17 Cell Differentiation and

- Metabolic Reprogramming in Absence of CD28 Costimulation. *Cell Rep.* 2018;22(10):2642-2653. doi: 10.1016/j.celrep.2018.02.044.
501. Ribera J, Rodríguez-Vita J, Cordoba B, Portolés I, Casals G, Casals E, Jiménez W, Puentes V, Morales-Ruiz M. Functionalized cerium oxide nanoparticles mitigate the oxidative stress and pro-inflammatory activity associated to the portal vein endothelium of cirrhotic rats. *PLoS One.* 2019;14(6):e0218716. doi: 10.1371/journal.pone.0218716.
 502. Rivet R, Rao RM, Nizet P, Belloy N, Huber L, Dauchez M, Ramont L, Baud S, Brézillon S. Differential MMP-14 targeting by biglycan, decorin, fibromodulin, and lumican unraveled by in silico approach. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2023;324(2):C353-C365. doi: 10.1152/ajpcell.00429.2022.
 503. Robert K, Nehmé J, Bourdon E, Pivert G, Friguet B, Delcayre C, Delabar JM, Janel N. Cystathionine beta synthase deficiency promotes oxidative stress, fibrosis, and steatosis in mice liver. *Gastroenterology.* 2005;128(5):1405-15. doi: 10.1053/j.gastro.2005.02.034.
 504. Rogers CQ, Ajmo JM, You M. Adiponectin and alcoholic fatty liver disease. *IUBMB Life.* 2008;60(12):790-7. doi: 10.1002/iub.124.
 505. Ross FA, MacKintosh C, Hardie DG. AMP-activated protein kinase: a cellular energy sensor that comes in 12 flavours. *FEBS J.* 2016;283(16):2987-3001. doi: 10.1111/febs.13698.
 506. Roychowdhury S, McMullen MR, Pritchard MT, Hise AG, van Rooijen N, Medof ME, Stavitsky AB, Nagy LE. An early complement-dependent and TLR-4-independent phase in the pathogenesis of ethanol-induced liver injury in mice. *Hepatology.* 2009;49(4):1326-34. doi: 10.1002/hep.22776.
 507. Ruuskanen MO, Åberg F, Männistö V, Havulinna AS, Méric G, Liu Y, Loomba R, Vázquez-Baeza Y, Tripathi A, Valsta LM, Inouye M, Jousilahti P, Salomaa V, Jain M, Knight R, Lahti L, Niiranen TJ. Links between gut microbiome composition and fatty liver disease in a large population sample. *Gut Microbes.* 2021;13(1):1-22. doi: 10.1080/19490976.2021.1888673.

508. Sakai A, Han J, Cato AC, Akira S, Li JD. Glucocorticoids synergize with IL-1 β to induce TLR2 expression via MAP Kinase Phosphatase-1-dependent dual Inhibition of MAPK JNK and p38 in epithelial cells. *BMC Mol Biol.* 2004;5:2. doi: 10.1186/1471-2199-5-2.
509. Sánchez M, Sabio L, Gálvez N, Capdevila M, Dominguez-Vera JM. Iron chemistry at the service of life. *IUBMB Life.* 2017;69(6):382-388. doi: 10.1002/iub.1602.
510. Sangineto M, Grander C, Grabherr F, Mayr L, Enrich B, Schwärzler J, Dallio M, Bukke VN, Moola A, Moschetta A, Adolph TE, Sabbà C, Serviddio G, Tilg H. Recovery of *Bacteroides thetaiotaomicron* ameliorates hepatic steatosis in experimental alcohol-related liver disease. *Gut Microbes.* 2022;14(1):2089006. doi: 10.1080/19490976.2022.2089006.
511. Santhekadur PK, Kumar DP, Sanyal AJ. Preclinical models of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2018;68(2):230-237. doi: 10.1016/j.jhep.2017.10.031.
512. Santiesteban-Lores LE, Carneiro MC, Isaac L, Bavia L. Complement System in Alcohol-Associated Liver Disease. *Immunol Lett.* 2021;236:37-50. doi: 10.1016/j.imlet.2021.05.007.
513. Santos-Molina L, Herrerias A, Zawatsky CN, Gunduz-Cinar O, Cinar R, Iyer MR, Wood CM, Lin Y, Gao B, Kunos G, Godlewski G. Effects of a Peripherally Restricted Hybrid Inhibitor of CB1 Receptors and iNOS on Alcohol Drinking Behavior and Alcohol-Induced Endotoxemia. *Molecules.* 2021;26(16):5089. doi: 10.3390/molecules26165089.
514. Sarnatskaya V, Shlapa Y, Yushko L, Shton I, Solopan S, Ostrovska G, Kalachniuk L, Negelia A, Garmanchuk L, Prokopenko I, Khudenko N, Maslenny V, Bubnovskaya L, Belous A, Nikolaev V. Biological activity of cerium dioxide nanoparticles. *J Biomed Mater Res A.* 2020;108(8):1703-1712. doi: 10.1002/jbm.a.36936.
515. Schmitz ML, Krappmann D. Controlling NF-kappaB activation in T cells by costimulatory receptors. *Cell Death Differ.* 2006;13(5):834-42. doi: 10.1038/sj.cdd.4401845.

516. Schuppan D. Structure of the extracellular matrix in normal and fibrotic liver: collagens and glycoproteins. *Semin Liver Dis.* 1990;10(1):1-10. doi: 10.1055/s-2008-1040452.
517. Sedeman M, Christowitz C, de Jager L, Engelbrecht AM. Obese mammary tumour-bearing mice are highly sensitive to doxorubicin-induced hepatotoxicity. *BMC Cancer.* 2022;22(1):1240. doi: 10.1186/s12885-022-10189-z.
518. Seitz HK, Moreira B, Neuman MG. Pathogenesis of Alcoholic Fatty Liver a Narrative Review. *Life (Basel).* 2023; 13(8): 1662. doi: 10.3390/life13081662.
519. Seki E, Brenner DA, Karin M. A liver full of JNK: signaling in regulation of cell function and disease pathogenesis, and clinical approaches. *Gastroenterology.* 2012;143(2):307-20. doi: 10.1053/j.gastro.2012.06.004.
520. Seki T, Yamamoto M, Taguchi Y, Miyauchi M, Akiyama N, Yamaguchi N, Gohda J, Akiyama T, Inoue J. Visualization of RelB expression and activation at the single-cell level during dendritic cell maturation in Relb-Venus knock-in mice. *J Biochem.* 2015;158(6):485-95. doi: 10.1093/jb/mvv064.
521. Sen N, Paul BD, Gadalla MM, Mustafa AK, Sen T, Xu R, Kim S, Snyder SH. Hydrogen sulfide-linked sulfhydrylation of NF- κ B mediates its antiapoptotic actions. *Mol Cell.* 2012;45(1):13-24. doi: 10.1016/j.molcel.2011.10.021.
522. Sen N. Functional and Molecular Insights of Hydrogen Sulfide Signaling and Protein Sulfhydrylation. *J Mol Biol.* 2017;429(4):543-561. doi:10.1016/j.jmb.2016.12.015
523. Seth D, Haber PS, Syn WK, Diehl AM, Day CP. Pathogenesis of alcohol-induced liver disease: classical concepts and recent advances. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011;26(7):1089-105. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.06756.x.
524. Setshedi M, Wands JR, Monte SM. Acetaldehyde adducts in alcoholic liver disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2010;3(3):178-85. doi: 10.4161/oxim.3.3.12288.
525. Shao T, Zhao C, Li F, Gu Z, Liu L, Zhang L, Wang Y, He L, Liu Y, Liu Q, Chen Y, Donde H, Wang R, Jala VR, Barve S, Chen SY, Zhang X, Chen Y, McClain CJ, Feng W. Intestinal HIF-1 α deletion exacerbates alcoholic liver disease by

- inducing intestinal dysbiosis and barrier dysfunction. *J Hepatol.* 2018;69(4):886-895. doi: 10.1016/j.jhep.2018.05.021.
526. Sharawy N, Lehmann C. Molecular mechanisms by which iNOS uncoupling can induce cardiovascular dysfunction during sepsis: Role of posttranslational modifications (PTMs). *Life Sci.* 2020;255:117821. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117821.
 527. Sharma A , Anand SK , Singh N , Dwarkanath A , Dwivedi UN , Kakkar P . Berbamine induced activation of the SIRT1/LKB1/AMPK signaling axis attenuates the development of hepatic steatosis in high-fat diet-induced NAFLD rats. *Food Funct.* 2021;12(2):892-909. doi: 10.1039/d0fo02501a.
 528. Shasthry SM, Sarin SK. New treatment options for alcoholic hepatitis. *World J Gastroenterol.* 2016;22(15):3892-906. doi: 10.3748/wjg.v22.i15.3892.
 529. Shen X, Carlström M, Borniquel S, Jädert C, Kevil CG, Lundberg JO. Microbial regulation of host hydrogen sulfide bioavailability and metabolism. *Free Radic Biol Med.* 2013;60:195-200. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.024.
 530. Shen Y, Malik SA, Amir M, Kumar P, Cingolani F, Wen J, Liu Y, Zhao E, Farris AB, Raeman R, Czaja MJ. Decreased Hepatocyte Autophagy Leads to Synergistic IL-1 β and TNF Mouse Liver Injury and Inflammation. *Hepatology.* 2020;72(2):595-608. doi: 10.1002/hep.31209.
 531. Shen Y, Wang Z, Su L, Zheng L, Han Y, Jiao X, Fan X, Wang D. Inhibition of angiotensin II type 1 receptor partially prevents acute elevation of pulmonary arterial pressure induced by endovascular ethanol injection. *Hypertens Res.* 2023;46(4):972-983. doi: 10.1038/s41440-022-01132-7.
 532. Shetty S, Lalor PF, Adams DH. Liver sinusoidal endothelial cells - gatekeepers of hepatic immunity. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018;15(9):555-567. doi: 10.1038/s41575-018-0020-y.
 533. Shi L, Tu BP. Acetyl-CoA and the regulation of metabolism: mechanisms and consequences. *Curr Opin Cell Biol.* 2015;33:125-31. doi: 10.1016/j.ceb.2015.02.003.

534. Shi S, Li QS, Li H, Zhang L, Xu M, Cheng JL, Peng CH, Xu CQ, Tian Y. Anti-apoptotic action of hydrogen sulfide is associated with early JNK inhibition. *Cell Biol Int.* 2009;33(10):1095-101. doi: 10.1016/j.cellbi.2009.06.029.
535. Shrikanth CB, Jagannath S, Chilkunda ND. AMPK differentially alters sulphated glycosaminoglycans under normal and high glucose milieu in proximal tubular cells. *J Biochem.* 2021;169(1):75-86. doi: 10.1093/jb/mvaa094.
536. Silva J, Spatz MH, Folk C, Chang A, Cadenas E, Liang J, Davies DL. Dihydromyricetin improves mitochondrial outcomes in the liver of alcohol-fed mice via the AMPK/Sirt-1/PGC-1 α signaling axis. *Alcohol.* 2021;91:1-9. doi: 10.1016/j.alcohol.2020.10.002.
537. Singal AK, Mathurin P. Diagnosis and Treatment of Alcohol-Associated Liver Disease: A Review. *JAMA.* 2021;326(2):165-176. doi: 10.1001/jama.2021.7683.
538. Singh RJ, Hogg N, Joseph J, Kalyanaraman B. Mechanism of nitric oxide release from S-nitrosothiols. *J Biol Chem.* 1996;271(31):18596-603. doi: 10.1074/jbc.271.31.18596.
539. Singh S, Banerjee R. PLP-dependent H(2)S biogenesis. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1814(11):1518-27. doi: 10.1016/j.bbapap.2011.02.004.
540. Sinha RA, Singh BK, Zhou J, Wu Y, Farah BL, Ohba K, Lesmana R, Gooding J, Bay BH, Yen PM. Thyroid hormone induction of mitochondrial activity is coupled to mitophagy via ROS-AMPK-ULK1 signaling. *Autophagy.* 2015;11(8):1341-57. doi: 10.1080/15548627.2015.1061849.
541. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Front Immunol.* 2018;9:754. doi: 10.3389/fimmu.2018.00754.
542. Staitieh BS, Egea EE, Fan X, Amah A, Guidot DM. Chronic alcohol ingestion impairs rat alveolar macrophage phagocytosis via disruption of RAGE signaling. *Am J Med Sci.* 2018;355(5):497-505. doi: 10.1016/j.amjms.2017.12.013.
543. Stärkel P, Leclercq S, de Timary P, Schnabl B. Intestinal dysbiosis and permeability: the yin and yang in alcohol dependence and alcoholic liver disease. *Clin Sci (Lond).* 2018;132(2):199-212. doi: 10.1042/CS20171055. PMID: 29352076.

544. Stockwell BR, Friedmann Angeli JP, Bayir H, Bush AI, Conrad M, Dixon SJ, Fulda S, Gascón S, Hatzios SK, Kagan VE, Noel K, Jiang X, Linkermann A, Murphy ME, Overholtzer M, Oyagi A, Pagnussat GC, Park J, Ran Q, Rosenfeld CS, Salnikow K, Tang D, Torti FM, Torti SV, Toyokuni S, Woerpel KA, Zhang DD. Ferroptosis: A Regulated Cell Death Nexus Linking Metabolism, Redox Biology, and Disease. *Cell*. 2017;171(2):273-285. doi: 10.1016/j.cell.2017.09.021.
545. Sudhakaran G, Prathap P, Guru A, Haridevamuthu B, Murugan R, Almutairi BO, Almutairi MH, Juliet A, Gopinath P, Arockiaraj J. Reverse pharmacology of Nimbin-N2 attenuates alcoholic liver injury and promotes the hepatoprotective dual role of improving lipid metabolism and downregulating the levels of inflammatory cytokines in zebrafish larval model. *Mol Cell Biochem*. 2022;477(10):2387-2401. doi: 10.1007/s11010-022-04448-7.
546. Sugahara S, Suzuki M, Kamiya H, et al. Colorimetric Determination of Sulfide in Microsamples. *Anal Sci*. 2016;32(10):1129-1131. doi: 10.2116/analsci.32.1129
547. Sul OJ, Ra SW. Quercetin Prevents LPS-Induced Oxidative Stress and Inflammation by Modulating NOX2/ROS/NF- κ B in Lung Epithelial Cells. *Molecules*. 2021;26(22):6949. doi: 10.3390/molecules26226949.
548. Sun J, Fu J, Li L, Chen C, Wang H, Hou Y, Xu Y, Pi J. Nrf2 in alcoholic liver disease. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2018;357:62-69. doi: 10.1016/j.taap.2018.08.019.
549. Tian R, Yang W, Xue Q, Gao L, Huo J, Ren D, Chen X. Rutin ameliorates diabetic neuropathy by lowering plasma glucose and decreasing oxidative stress via Nrf2 signaling pathway in rats. *Eur J Pharmacol*. 2016;771:84-92. doi: 10.1016/j.ejphar.2015.12.021.
550. Sun SC. The non-canonical NF- κ B pathway in immunity and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2017;17(9):545-558. doi: 10.1038/nri.2017.52.
551. Sun X, Liu Z, Zhou L, Ma R, Zhang X, Wang T, Fu F, Wang Y. Escin avoids hemorrhagic transformation in ischemic stroke by protecting BBB through the

- AMPK/Cav-1/MMP-9 pathway. *Phytomedicine*. 2023;120:155071. doi: 10.1016/j.phymed.2023.155071.
552. Sun Y, Xu T, Qian Y, Chen Q, Xiong F, Du W, Xu L. NOS-like activity of CeO₂ nanozymes contributes to diminishing the vascular plaques. *J Nanobiotechnology*. 2024;22(1):12. doi: 10.1186/s12951-023-02276-5.
 553. Sun Z, Chin YE, Zhang DD. Acetylation of Nrf2 by p300/CBP augments promoter-specific DNA binding of Nrf2 during the antioxidant response. *Mol Cell Biol*. 2009;29(10):2658-72. doi: 10.1128/MCB.01639-08.
 554. Suraweera DB, Weeratunga AN, Hu RW, Pandol SJ, Hu R. Alcoholic hepatitis: The pivotal role of Kupffer cells. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2015;6(4):90-8. doi: 10.4291/wjgp.v6.i4.90.
 555. Suzuki N, Yoneda M, Naito T, Iwamoto T, Yamada K, Hisama K, Okada I, Hirofuji T. The relationship between alcohol consumption and oral malodour. *Int Dent J*. 2009;59(1):31-4.
 556. Szabo C. Hydrogen sulfide, an enhancer of vascular nitric oxide signaling: mechanisms and implications. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2017;312(1):C3-C15. doi: 10.1152/ajpcell.00282.2016.
 557. Szabo G, Csak T. Inflammasomes in liver diseases. *J Hepatol*. 2012;57(3):642-54. doi: 10.1016/j.jhep.2012.03.035.
 558. Szabo G, Petrasek J, Bala S. Innate immunity and alcoholic liver disease. *Dig Dis*. 2012;30 Suppl 1(Suppl 1):55-60. doi: 10.1159/000341126.
 559. Szabo G. Women and alcoholic liver disease - warning of a silent danger. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;15(5):253-254. doi: 10.1038/nrgastro.2018.8.
 560. Takano N, Peng YJ, Kumar GK, Luo W, Hu H, Shimoda LA, Suematsu M, Prabhakar NR, Semenza GL. Hypoxia-inducible factors regulate human and rat cystathionine β -synthase gene expression. *Biochem J*. 2014;458(2):203-11. doi: 10.1042/BJ20131350.
 561. Tan HK, Yates E, Lilly K, Dhanda AD. Oxidative stress in alcohol-related liver disease. *World J Hepatol*. 2020;12(7):332-349. doi: 10.4254/wjh.v12.i7.332.

562. Tanaka Y, Aleksunes LM, Yeager RL, Gyamfi MA, Esterly N, Guo GL, Klaassen CD. NF-E2-related factor 2 inhibits lipid accumulation and oxidative stress in mice fed a high-fat diet. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008;325(2):655-64. doi: 10.1124/jpet.107.135822.
563. Tanaka Y, Nagoshi T, Yoshii A, Oi Y, Takahashi H, Kimura H, Ito K, Kashiwagi Y, Tanaka TD, Yoshimura M. Xanthine oxidase inhibition attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice. *Free Radic Biol Med*. 2021;162:298-308. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.10.303.
564. Tang H, Sebastian BM, Axhemi A, Chen X, Hillian AD, Jacobsen DW, Nagy LE. Ethanol-induced oxidative stress via the CYP2E1 pathway disrupts adiponectin secretion from adipocytes. *Alcohol Clin Exp Res*. 2012;36(2):214-22. doi: 10.1111/j.1530-0277.2011.01607.x.
565. Tang Y, Chen A. Curcumin protects hepatic stellate cells against leptin-induced activation in vitro by accumulating intracellular lipids. *Endocrinology*. 2010;151(9):4168-77. doi: 10.1210/en.2010-0191.
566. Taniai M. Alcohol and hepatocarcinogenesis. *Clin Mol Hepatol*. 2020;26(4):736-741. doi: 10.3350/cmh.2020.0203.
567. Tao B, Wang R, Sun C, Zhu Y. 3-Mercaptopyruvate Sulfurtransferase, Not Cystathionine β -Synthase Nor Cystathionine γ -Lyase, Mediates Hypoxia-Induced Migration of Vascular Endothelial Cells. *Front Pharmacol*. 2017; 8:657. doi: 10.3389/fphar.2017.00657.
568. Teschke R. Alcoholic Liver Disease: Alcohol Metabolism, Cascade of Molecular Mechanisms, Cellular Targets, and Clinical Aspects. *Biomedicines*. 2018;6(4):106. doi: 10.3390/biomedicines6040106.
569. Thakur V, Pritchard MT, McMullen MR, Wang Q, Nagy LE. Chronic ethanol feeding increases activation of NADPH oxidase by lipopolysaccharide in rat Kupffer cells: role of increased reactive oxygen in LPS-stimulated ERK1/2 activation and TNF- α production. *J Leukoc Biol*. 2006; 79(6): 1348-56. doi: 10.1189/jlb.1005613.

570. Thomann M, Schlothauer T, Dashivets T, Malik S, Avenal C, Bulau P, Rüger P, Reusch D. In vitro glycoengineering of IgG1 and its effect on Fc receptor binding and ADCC activity. *PLoS One*. 2015;10(8):e0134949. doi: 10.1371/journal.pone.0134949.
571. Tian J, Cai M, Jin S, Chen Q, Xu J, Guo Q, Yan Z, Han X, Lu H. JianPi-QingHua formula attenuates nonalcoholic fatty liver disease by regulating the AMPK/SIRT1/NF- κ B pathway in high-fat-diet-fed C57BL/6 mice. *Pharm Biol*. 2023;61(1):647-656. doi: 10.1080/13880209.2023.2188549.
572. Tian L, Cao W, Yue R, Yuan Y, Guo X, Qin D, Xing J, Wang X. Pretreatment with Tilianin improves mitochondrial energy metabolism and oxidative stress in rats with myocardial ischemia/reperfusion injury via AMPK/SIRT1/PGC-1 α signaling pathway. *J Pharmacol Sci*. 2019; 139(4): 352-360. doi: 10.1016/j.jphs.2019.02.008.
573. Timm KN, Tyler DJ. The Role of AMPK Activation for Cardioprotection in Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2020;34(2):255-269. doi: 10.1007/s10557-020-06941-x.
574. Tóth G, Pál D, Sugár S, Kovalszky I, Dezső K, Schlosser G, Drahos L, Turiák L. Expression of glycosaminoglycans in cirrhotic liver and hepatocellular carcinoma-a pilot study including etiology. *Anal Bioanal Chem*. 2022;414(13):3837-3846. doi: 10.1007/s00216-022-04025-3.
575. Touyz RM. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance? *Hypertension*. 2004; 44(3): 248-52. doi: 10.1161/01.HYP.0000138070.47616.9d.
576. Toyama EQ, Herzig S, Courchet J, Lewis TL Jr, Losón OC, Hellberg K, Young NP, Chen H, Polleux F, Chan DC, Shaw RJ. Metabolism. AMP-activated protein kinase mediates mitochondrial fission in response to energy stress. *Science*. 2016; 351(6270): 275-281. doi: 10.1126/science.aab4138.
577. Trapeznikova SS, Gurtovenko VM, Navasardiants DG. Aktivnost' arginazy razlichnykh tkaneĭ krysy pri alkohol'noĭ intoksikatsii [Arginase activity in various

- tissues of rats in alcohol intoxication]. *Vopr Med Khim.* 1983;29(4):95-8. (In Russian).
578. Trefts E, Shaw RJ. AMPK: restoring metabolic homeostasis over space and time. *Mol Cell.* 2021; 81(18): 3677-3690. doi: 10.1016/j.molcel.2021.08.015.
 579. Tschopp J, Schroder K. NLRP3 inflammasome activation: The convergence of multiple signalling pathways on ROS production? *Nat Rev Immunol.* 2010; 10(3): 210-5. doi: 10.1038/nri2725.
 580. Tseng MT, Fu Q, Lor K, Fernandez-Botran GR, Deng ZB, Graham U, Butterfield DA, Grulke EA, Yokel RA. Persistent hepatic structural alterations following nanoceria vascular infusion in the rat. *Toxicol Pathol.* 2014; 42(6): 984-96. doi: 10.1177/0192623313505780.
 581. Tsomidis I, Notas G, Xidakis C, Voumvouraki A, Samonakis DN, Koulentaki M, Kouroumalis E. Enzymes of Fibrosis in Chronic Liver Disease. *Biomedicines.* 2022;10(12):3179. doi: 10.3390/biomedicines10123179.
 582. Tsukayama I, Mega T, Hojo N, Toda K, Kawakami Y, Takahashi Y, Suzuki-Yamamoto T. Diosgenin suppresses COX-2 and mPGES-1 via GR and improves LPS-induced liver injury in mouse. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2021;156:106580. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2021.106580.
 583. Tuma DJ, Casey CA. Dangerous byproducts of alcohol breakdown--focus on adducts. *Alcohol Res Health.* 2003;27(4):285-90.
 584. Tuma DJ. Role of malondialdehyde-acetaldehyde adducts in liver injury. *Free Radic Biol Med.* 2002;32(4):303-8. doi: 10.1016/s0891-5849(01)00742-0.
 585. Turrà N, Neuenschwander U, Hermans I. Molecule-induced peroxide homolysis. *Chemphyschem.* 2013;14(8):1666-9. doi: 10.1002/cphc.201300130.
 586. Udoh US, Valcin JA, Gamble KL, Bailey SM. The Molecular Circadian Clock and Alcohol-Induced Liver Injury. *Biomolecules.* 2015;5(4):2504-37. doi: 10.3390/biom5042504.
 587. Utami AR, Maksum IP, Deawati Y. Berberine and Its Study as an Antidiabetic Compound. *Biology (Basel).* 2023;12(7):973. doi: 10.3390/biology12070973.

588. Uttara B, Singh AV, Zamboni P, Mahajan RT. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Curr Neuropharmacol*. 2009;7(1):65-74. doi: 10.2174/157015909787602823.
589. van de Pavert SA, Mebius RE. New insights into the development of lymphoid tissues. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(9):664-74. doi: 10.1038/nri2832.
590. van der Heide FCT, Eussen SJPM, Houben AJHM, Henry RMA, Kroon AA, van der Kallen CJH, Dagnelie PC, van Dongen MCJM, Berendschot TTJM, Schouten JSAG, Webers CAB, van Greevenbroek MMJ, Wesselius A, Schalkwijk CG, Koster A, Jansen JFA, Backes WH, Beulens JWJ, Stehouwer CDA. Alcohol consumption and microvascular dysfunction: a J-shaped association: The Maastricht Study. *Cardiovasc Diabetol*. 2023;22(1):67. doi: 10.1186/s12933-023-01783-x.
591. Veteläinen R, van Vliet A, van Gulik TM. Essential pathogenic and metabolic differences in steatosis induced by choline or methionine-choline deficient diets in a rat model. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007;22(9):1526-33. doi: 10.1111/j.1440-1746.2006.04701.x.
592. Vijayalekshmi B, Sharma A, Prabhu SB, Nair SC, Mammen J, Goel A, Zachariah UG, Dutta AK, Balasubramanian KA, Elias E, Eapen CE. Reticuloendothelial activation correlates with disease severity and predicts mortality in severe alcoholic hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2021;33(1S Suppl 1):e329-e334. doi: 10.1097/MEG.0000000000002056.
593. Vijayraghavan S, Porcher L, Mieczkowski PA, Saini N. Acetaldehyde makes a distinct mutation signature in single-stranded DNA. *Nucleic Acids Res*. 2022; 50(13): 7451-7464. doi: 10.1093/nar/gkac570.
594. Villalobos-García D, Hernández-Muñoz R. Catalase increases ethanol oxidation through the purine catabolism in rat liver. *Biochem Pharmacol*. 2017; 137: 107-112. doi: 10.1016/j.bcp.2017.05.011.

595. Villalobos-García D, Hernández-Muñoz R. Lactate-stimulated ethanol oxidation: Revisiting an old hypothesis. *Biochem Pharmacol.* 2019;164:283-288. doi: 10.1016/j.bcp.2019.04.012.
596. Viola KS, Rodrigues EM, Tanomaru-Filho M, Carlos IZ, Ramos SG, Guerreiro-Tanomaru JM, Faria G. Cytotoxicity of peracetic acid: evaluation of effects on metabolism, structure and cell death. *Int Endod J.* 2018;51 Suppl 4:e264-e277. doi: 10.1111/iej.12750.
597. Viollet B, Athea Y, Mounier R, Guigas B, Zarrinpashneh E, Horman S, Lantier L, Hebrard S, Devin-Leclerc J, Beauloye C, Foretz M, Andreelli F, Ventura-Clapier R, Bertrand L. AMPK: Lessons from transgenic and knockout animals. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2009;14(1):19-44. doi: 10.2741/3229.
598. Viollet B, Guigas B, Leclerc J, Hébrard S, Lantier L, Mounier R, Andreelli F, Foretz M. AMP-activated protein kinase in the regulation of hepatic energy metabolism: from physiology to therapeutic perspectives. *Acta Physiol (Oxf).* 2009;196(1):81-98. doi: 10.1111/j.1748-1716.2009.01970.x.
599. Vitvitsky V, Yadav PK, Kurthen A, Banerjee R. Sulfide oxidation by a noncanonical pathway in red blood cells generates thiosulfate and polysulfides. *J Biol Chem.* 2015;290(13):8310-8320. doi:10.1074/jbc.M115.639831.
600. Volpi N. Purification of heparin, dermatan sulfate and chondroitin sulfate from mixtures by sequential precipitation with various organic solvents. *J Chromatogr B Biomed Appl.* 1996;685(1):27-34. doi: 10.1016/0378-4347(96)00154-5.
601. Wali AF, Rashid S, Rashid SM, Ansari MA, Khan MR, Haq N, Alhareth DY, Ahmad A, Rehman MU. Naringenin Regulates Doxorubicin-Induced Liver Dysfunction: Impact on Oxidative Stress and Inflammation. *Plants (Basel).* 2020;9(4):550. doi: 10.3390/plants9040550.
602. Wan J, Benkdane M, Teixeira-Clerc F, Bonnafous S, Louvet A, Lafdil F, Pecker F, Tran A, Gual P, Mallat A, Lotersztajn S, Pavoine C. M2 Kupffer cells promote M1 Kupffer cell apoptosis: a protective mechanism against alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2014;59(1):130-42. doi: 10.1002/hep.26607.

603. Wan J, Weiss E, Ben Mkaddem S, Mabire M, Choinier PM, Picq O, Thibault-Sogorb T, Hegde P, Pishvaie D, Bens M, Broer L, Gilgenkrantz H, Moreau R, Saveanu L, Codogno P, Monteiro RC, Lotersztajn S. LC3-associated phagocytosis protects against inflammation and liver fibrosis via immunoreceptor inhibitory signaling. *Sci Transl Med.* 2020;12(539):eaaw8523. doi: 10.1126/scitranslmed.aaw8523.
604. Wan Y, Li X, Slevin E, Harrison K, Li T, Zhang Y, Klaunig JE, Wu C, Shetty AK, Dong XC, Meng F. Endothelial dysfunction in pathological processes of chronic liver disease during aging. *FASEB J.* 2022;36(1):e22125. doi: 10.1096/fj.202101426R.
605. Wang F, Yang JL, Yu KK, Xu M, Xu YZ, Chen L, Lu YM, Fang HS, Wang XY, Hu ZQ, Li FF, Kan L, Luo J, Wang SY. Activation of the NF- κ B pathway as a mechanism of alcohol enhanced progression and metastasis of human hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer.* 2015;14(1):10. doi: 10.1186/s12943-014-0274-0.
606. Wang GS, Hoyte C. Review of Biguanide (Metformin) Toxicity. *J Intensive Care Med.* 2019;34(11-12):863-876. doi: 10.1177/0885066618793385.
607. Wang H, Chan TW, Vashisht AA, Drew BG, Calkin AC, Harris TE, Wohlschlegel JA, Xiao X, Reue K. Lipin 1 modulates mRNA splicing during fasting adaptation in liver. *JCI Insight.* 2021;6(17):e150114. doi: 10.1172/jci.insight.150114.
608. Wang H, Li X, Zhu Z, Wang H, Wei B, Bai X. Hydrogen sulfide promotes lipopolysaccharide-induced apoptosis of osteoblasts by inhibiting the AKT/NF- κ B signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020;524(4):832-838. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.02.005.
609. Wang H, Mehal W, Nagy LE, Rotman Y. Immunological mechanisms and therapeutic targets of fatty liver diseases. *Cell Mol Immunol.* 2021;18(1):73-91. doi: 10.1038/s41423-020-00579-3.
610. Wang H, Zhang H, Zhang Y, Wang D, Cheng X, Yang F, Zhang Q, Xue Z, Li Y, Zhang L, Yang L, Miao G, Li D, Guan Z, Da Y, Yao Z, Gao F, Qiao L, Kong L, Zhang R. Plumbagin protects liver against fulminant hepatic failure and chronic

- liver fibrosis via inhibiting inflammation and collagen production. *Oncotarget*. 2016;7(50):82864-82875. doi: 10.18632/oncotarget.12655.
611. Wang H, Zhou H, Mahler S, Chervenak R, Wolcott M. Alcohol affects the late differentiation of progenitor B cells. *Alcohol Alcohol*. 2011;46(1):26-32. doi: 10.1093/alcalc/agq076.
 612. Wang J, Yao L, Wu X, Guo Q, Sun S, Li J, Shi G, Caldwell RB, Caldwell RW, Chen Y. Protection against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity through Modulating iNOS/ARG 2 Balance by Electroacupuncture at PC6. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:6628957. doi: 10.1155/2021/6628957.
 613. Wang N, Xu Q, Tan HY, Hong M, Li S, Yuen MF, Feng Y. Berberine Inhibition of Fibrogenesis in a Rat Model of Liver Fibrosis and in Hepatic Stellate Cells. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2016;2016:8762345. doi: 10.1155/2016/8762345.
 614. Wang S, Ni HM, Dorko K, Kumer SC, Schmitt TM, Nawabi A, Komatsu M, Huang H, Ding WX. Increased hepatic receptor interacting protein kinase 3 expression due to impaired proteasomal functions contributes to alcohol-induced steatosis and liver injury. *Oncotarget*. 2016;7(14):17681-98. doi: 10.18632/oncotarget.6893.
 615. Wang T, Yuan C, Liu J, Deng L, Li W, He J, Liu H, Qu L, Wu J, Zou W. Targeting Energy Protection as a Novel Strategy to Disclose Di'ao Xinxuekang against the Cardiotoxicity Caused by Doxorubicin. *Int J Mol Sci*. 2023;24(2):897. doi: 10.3390/ijms24020897.
 616. Wang W, Gao W, Zhu Q, Alasbahi A, Seki E, Yang L. TAK1: A Molecular Link Between Liver Inflammation, Fibrosis, Steatosis, and Carcinogenesis. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:734749. doi: 10.3389/fcell.2021.734749.
 617. Wang W, Wang C, Xu H, Gao Y. Aldehyde Dehydrogenase, Liver Disease and Cancer. *Int J Biol Sci*. 2020;16(6):921-934. doi: 10.7150/ijbs.42300.
 618. Wang XK, Peng ZG. Targeting Liver Sinusoidal Endothelial Cells: An Attractive Therapeutic Strategy to Control Inflammation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Front Pharmacol*. 2021;12:655557. doi: 10.3389/fphar.2021.655557.

619. Wang Y, Guan M, Zhao X, Li X. Effects of garlic polysaccharide on alcoholic liver fibrosis and intestinal microflora in mice. *Pharm Biol.* 2018;56(1):325-332. doi:10.1080/13880209.2018.1479868.
620. Wang Y, Hu H, Yin J, Shi Y, Tan J, Zheng L, Wang C, Li X, Xue M, Liu J, Wang Y, Li Y, Li X, Liu F, Liu Q, Yan S. TLR4 participates in sympathetic hyperactivity Post-MI in the PVN by regulating NF- κ B pathway and ROS production. *Redox Biol.* 2019;24:101186. doi: 10.1016/j.redox.2019.101186.
621. Wang Z, Li B, Jiang H, Ma Y, Bao Y, Zhu X, Xia H, Jin Y. IL-8 exacerbates alcohol-induced fatty liver disease via the Akt/HIF-1 α pathway in human IL-8-expressing mice. *Cytokine.* 2021;138:155402. doi: 10.1016/j.cyto.2020.155402.
622. Wang Z, Zhang X, Zhu L, Yang X, He F, Wang T, Bao T, Lu H, Wang H, Yang S. Inulin alleviates inflammation of alcoholic liver disease via SCFAs-inducing suppression of M1 and facilitation of M2 macrophages in mice. *Int Immunopharmacol.* 2020;78:106062. doi: 10.1016/j.intimp.2019.106062.
623. Wei X, Lu Z, Li L, Zhang H, Sun F, Ma H, Wang L, Hu Y, Yan Z, Zheng H, Yang G, Liu D, Tepel M, Gao P, Zhu Z. Reducing NADPH Synthesis Counteracts Diabetic Nephropathy through Restoration of AMPK Activity in Type 1 Diabetic Rats. *Cell Rep.* 2020;32(13):108207. doi: 10.1016/j.celrep.2020.108207.
624. Wells RG. Portal Fibroblasts in Biliary Fibrosis. *Curr Pathobiol Rep.* 2014;2(4):185-190. doi: 10.1007/s40139-014-0054-y.
625. Werner J, Saghir M, Warshaw AL, Lewandrowski KB, Laposata M, Iozzo RV, Carter EA, Schatz RJ, Fernández-Del Castillo C. Alcoholic pancreatitis in rats: injury from nonoxidative metabolites of ethanol. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2002;283(1):G65-73. doi: 10.1152/ajpgi.00419.2001.
626. White AM, Castle IP, Powell PA, Hingson RW, Koob GF. Alcohol-Related Deaths During the COVID-19 Pandemic. *JAMA.* 2022;327(17):1704-1706. doi: 10.1001/jama.2022.4308.
627. Wilkinson AL, Qurashi M, Shetty S. The Role of Sinusoidal Endothelial Cells in the Axis of Inflammation and Cancer Within the Liver. *Front Physiol.* 2020;11:990. doi: 10.3389/fphys.2020.00990.

628. Willows R, Navaratnam N, Lima A, Read J, Carling D. Effect of different γ -subunit isoforms on the regulation of AMPK. *Biochem J*. 2017;474(10):1741-1754. doi: 10.1042/BCJ20170046.
629. Win S, Than TA, Zhang J, Oo C, Min RWM, Kaplowitz N. New insights into the role and mechanism of c-Jun-N-terminal kinase signaling in the pathobiology of liver diseases. *Hepatology*. 2018;naga67(5):2013-2024. doi: 10.1002/hep.29689.
630. World Health Organization. Global status report on alcohol and health 2018.
631. World Health Organization. Global status report on alcohol and health 2024.
632. Wu J, Yang F, Zhang X, Chen G, Zou J, Yin L et al. Hydrogen sulfide inhibits endoplasmic reticulum stress through the GRP78/mTOR pathway in rat chondrocytes subjected to oxidative stress. *Int J Mol Med*. 2021;47(4):34. doi:10.3892/ijmm.2021.4867.
633. Wu MF, Zhang GD, Liu TT, Shen JH, Cheng JL, Shen J, Yang TY, Huang C, Zhang L. HIF-2 α regulates lipid metabolism in alcoholic fatty liver disease through mitophagy. *Cell Biosci*. 2022;12(1):198. doi: 10.1186/s13578-022-00889-1.
634. Wu S, Zou MH. AMPK, Mitochondrial Function, and Cardiovascular Disease. *Int J Mol Sci*. 2020;21(14):4987. doi: 10.3390/ijms21144987.
635. Wu X, Fan X, Miyata T, Kim A, Cajigas-Du Ross CK, Ray S, Huang E, Taiwo M, Arya R, Wu J, Nagy LE. Recent Advances in Understanding of Pathogenesis of Alcohol-Associated Liver Disease. *Annu Rev Pathol*. 2023; 18: 411-438. doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-031521-030435.
636. Wynants M, Vengethasamy L, Ronisz A, Meyns B, Delcroix M, Quarck R. NF- κ B pathway is involved in CRP-induced effects on pulmonary arterial endothelial cells in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2013;305(12):L934-42. doi: 10.1152/ajplung.00034.2013.
637. Wynia-Smith SL, Smith BC. Nitrosothiol formation and S-nitrosation signaling through nitric oxide synthases. *Nitric Oxide*. 2017;63:52-60. doi: 10.1016/j.niox.2016.10.001.

638. Xia Y, Shen S, Verma IM. NF- κ B, an active player in human cancers. *Cancer Immunol Res.* 2014;2(9):823-30. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0112.
639. Xie G, Choi SS, Syn WK, Michelotti GA, Swiderska M, Karaca G, Chan IS, Chen Y, Diehl AM. Hedgehog signalling regulates liver sinusoidal endothelial cell capillarisation. *Gut.* 2013;62(2):299-309. doi: 10.1136/gutjnl-2011-301494.
640. Xie L, Feng H, Li S, Meng G, Liu S, Tang X, Ma Y, Han Y, Xiao Y, Gu Y, Shao Y, Park CM, Xian M, Huang Y, Ferro A, Wang R, Moore PK, Wang H, Ji Y. SIRT3 Mediates the Antioxidant Effect of Hydrogen Sulfide in Endothelial Cells. *Antioxid Redox Signal.* 2016;24(6):329-43. doi: 10.1089/ars.2015.6331.
641. Xie ZZ, Liu Y, Bian JS. Hydrogen Sulfide and Cellular Redox Homeostasis. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:6043038. doi: 10.1155/2016/6043038.
642. Xu C, Qu X. Cerium oxide nanoparticle: a remarkably versatile rare earth nanomaterial for biological applications. *NPG Asia Mater.* 2014;6:e90. doi: 10.1038/am.2013.88.
643. Xu YY, Sun YY, Zhang YJ, Lu CH, Miao JF. Detection of biological thiols based on a colorimetric method. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2016;17(10):807-812. doi: 10.1631/jzus.B1500232.
644. Xue G, Lu CJ, Pan SJ, Zhang YL, Miao H, Shan S, Zhu XT, Zhang Y. DNA hypomethylation of CBS promoter induced by folate deficiency is a potential noninvasive circulating biomarker for colorectal adenocarcinomas. *Oncotarget.* 2017;8(31):51387-51401. doi: 10.18632/oncotarget.17988.
645. Xue Y, Zhai Y, Zhou K, Wang L, Tan H, Luan Q, Yao X. The vital role of buffer anions in the antioxidant activity of CeO₂ nanoparticles. *Chemistry.* 2012;18(35):11115-22. doi: 10.1002/chem.201200983.
646. Xue Y, Luan QF, Yang D, Yao X, Zhou KB. Direct evidence for hydroxyl radical scavenging activity of cerium oxide nanoparticles. *J. Phys. Chem. C.* 2011;115:4433–4438. doi: 10.1021/jp109819u.
647. Yamamoto T, Moriwaki Y, Takahashi S, Suda M, Higashino K. Ethanol as a xanthine dehydrogenase inhibitor. *Metabolism.* 1995;44(6):779-85. doi: 10.1016/0026-0495(95)90192-2.

648. Yang C, Gong X, Ai Q, Ge P, Lin L, Zhang L. 5-Aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -d-ribofuranoside alleviated carbon tetrachloride-induced acute hepatitis in mice. *Int Immunopharmacol.* 2015;25(2):393-9. doi: 10.1016/j.intimp.2015.02.018.
649. Yang CS, Kim JJ, Lee HM, Jin HS, Lee SH, Park JH, Kim SJ, Kim JM, Han YM, Lee MS, Kweon GR, Shong M, Jo EK. The AMPK-PPARGC1A pathway is required for antimicrobial host defense through activation of autophagy. *Autophagy.* 2014;10(5):785-802. doi: 10.4161/auto.28072.
650. Yang J, Minkler P, Grove D, et al. Non-enzymatic hydrogen sulfide production from cysteine in blood is catalyzed by iron and vitamin B6. *Commun Biol.* 2019;2:194. doi:10.1038/s42003-019-0431-5.
651. Yang KJ, Kim JH, Chang YK, Park CW, Kim SY, Hong YA. Inhibition of xanthine oxidoreductase protects against contrast-induced renal tubular injury by activating adenosine monophosphate-activated protein kinase. *Free Radic Biol Med.* 2019;145:209-220. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.09.027.
652. Yang W, Yuan W, Peng X, Wang M, Xiao J, Wu C, Luo L. PPAR γ /Nnat/NF- κ B Axis Involved in Promoting Effects of Adiponectin on Preadipocyte Differentiation. *Mediators Inflamm.* 2019;2019:5618023. doi: 10.1155/2019/5618023.
653. Yang Y, Sangwung P, Kondo R, Jung Y, McConnell MJ, Jeong J, Utsumi T, Sessa WC, Iwakiri Y. Alcohol-induced Hsp90 acetylation is a novel driver of liver sinusoidal endothelial dysfunction and alcohol-related liver disease. *J Hepatol.* 2021;75(2):377-386. doi: 10.1016/j.jhep.2021.02.028.
654. Yang Y, Zhao Z, Liu Y, Kang X, Zhang H, Meng M. Suppression of oxidative stress and improvement of liver functions in mice by ursolic acid via LKB1-AMP-activated protein kinase signaling. *J Gastroenterol Hepatol.* 2015;30(3):609-18. doi: 10.1111/jgh.12723.
655. Yang YM, Cho YE, Hwang S. Crosstalk between Oxidative Stress and Inflammatory Liver Injury in the Pathogenesis of Alcoholic Liver Disease. *Int J Mol Sci.* 2022;23(2):774. doi: 10.3390/ijms23020774.

656. Yang YY, Lee PC, Huang YT, Lee WP, Kuo YJ, Lee KC, Hsieh YC, Lee TY, Lin HC. Involvement of the HIF-1 α and Wnt/ β -catenin pathways in the protective effects of losartan on fatty liver graft with ischaemia/reperfusion injury. *Clin Sci (Lond)*. 2014;126(2):163-74. doi: 10.1042/CS20130025.
657. Yao F, Abdel-Rahman AA. Tetrahydrobiopterin paradoxically mediates cardiac oxidative stress and mitigates ethanol-evoked cardiac dysfunction in conscious female rats. *Eur J Pharmacol*. 2021;909:174406. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174406.
658. Yarana C, Siwaponanan P, Maneechote C, Khuanjing T, Ongnok B, Prathumsap N, Chattipakorn SC, Chattipakorn N, Pattanapanyasat K. Extracellular Vesicles Released after Doxorubicin Treatment in Rats Protect Cardiomyocytes from Oxidative Damage and Induce Pro-Inflammatory Gene Expression in Macrophages. *Int J Mol Sci*. 2022;23(21):13465. doi: 10.3390/ijms232113465.
659. Yarmohmmadi F, Rahimi N, Faghir-Ghanesefat H, Javadian N, Abdollahi A, Pasalar P, Jazayeri F, Ejtemaemehr S, Dehpour AR. Protective effects of agmatine on doxorubicin-induced chronic cardiotoxicity in rat. *Eur J Pharmacol*. 2017; 796: 39-44. doi: 10.1016/j.ejphar.2016.12.022.
660. Yelins'ka AM, Liashenko LI, Kostenko VO. Quercetin potentiates antiradical properties of epigallocatechin-3-gallate in periodontium of rats under systemic and local administration of lipopolisaccharide of salmonella typhi. *Wiad Lek*. 2019; 72(8): 1499-1503.
661. Yiğittürk G, Önal MÖ, Subaşı E, Doğan B, Türkmenoğlu M, Kaplan M, Yaşar V, Elbe H, Öztürk F. Leptin Accelerates Endothelial Wound Healing: Role of Endothelial Nitric Oxide Synthase Expression. *Anatol J Cardiol*. 2022; 26(10): 750-756. doi: 10.5152/AnatolJCardiol.2022.1607.
662. Yilmaz-Oral D, Kaya-Sezginer E, Asker H, Gur S. Co-administration of sodium hydrosulfide and tadalafil modulates hypoxia and oxidative stress on bladder dysfunction in a rat model of bladder outlet obstruction. *Int Braz J Urol*. 2022;48(6):971-980. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2022.0207.

663. Yokel RA, Tseng MT, Dan M, Unrine JM, Graham UM, Wu P, Grulke EA. Biodistribution and biopersistence of ceria engineered nanomaterials: size dependence. *Nanomedicine*. 2013;9(3):398-407. doi: 10.1016/j.nano.2012.08.002.
664. You M, Matsumoto M, Pacold CM, Cho WK, Crabb DW. The role of AMP-activated protein kinase in the action of ethanol in the liver. *Gastroenterology*. 2004;127(6):1798-808. doi: 10.1053/j.gastro.2004.09.049.
665. You M, Rogers CQ. Adiponectin: a key adipokine in alcoholic fatty liver. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2009;234(8):850-9. doi: 10.3181/0902-MR-61.
666. Yu M, Li H, Liu Q, Liu F, Tang L, Li C, Yuan Y, Zhan Y, Xu W, Li W, Chen H, Ge C, Wang J, Yang X. Nuclear factor p65 interacts with Keap1 to repress the Nrf2-ARE pathway. *Cell Signal*. 2011;23(5):883-92. doi: 10.1016/j.cellsig.2011.01.014.
667. Yuan B, Tang WH, Lu LJ, Zhou Y, Zhu HY, Zhou YL, Zhang HH, Hu CY, Xu GY. TLR4 upregulates CBS expression through NF- κ B activation in a rat model of irritable bowel syndrome with chronic visceral hypersensitivity. *World J Gastroenterol*. 2015;21(28):8615-28. doi: 10.3748/wjg.v21.i28.8615.
668. Yuan HC, Yu QT, Bai H, Xu HZ, Gu P, Chen LY. Alcohol intake and the risk of chronic kidney disease: results from a systematic review and dose-response meta-analysis. *Eur J Clin Nutr*. 2021;75(11):1555-1567. doi: 10.1038/s41430-021-00873-x.
669. Yuan J, Chen C, Cui J, Lu J, Yan C, Wei X, Zhao X, Li N, Li S, Xue G, Cheng W, Li B, Li H, Lin W, Tian C, Zhao J, Han J, An D, Zhang Q, Wei H, Zheng M, Ma X, Li W, Chen X, Zhang Z, Zeng H, Ying S, Wu J, Yang R, Liu D. Fatty Liver Disease Caused by High-Alcohol-Producing *Klebsiella pneumoniae*. *Cell Metab*. 2019; 30(4): 675-688.e7. doi: 10.1016/j.cmet.2019.08.018.
670. Yue J, Khokhar J, Miksys S, Tyndale RF. Differential induction of ethanol-metabolizing CYP2E1 and nicotine-metabolizing CYP2B1/2 in rat liver by chronic nicotine treatment and voluntary ethanol intake. *Eur J Pharmacol*. 2009; 609(1-3): 88-95. doi: 10.1016/j.ejphar.2009.03.015.

671. Zakhari S. Overview: how is alcohol metabolized by the body? *Alcohol Res Health*. 2006; 29(4): 245-54.
672. Zayachkivska O, Havryluk O, Hrycevyh N, Bula N, Grushka O, Wallace JL. Cytoprotective effects of hydrogen sulfide in novel rat models of non-erosive esophagitis. *PLoS One*. 2014; 9(10): e110688. doi: 10.1371/journal.pone.0110688.
673. Zdanowicz K, Kowalczyk-Kryston M, Olanski W, Werpachowska I, Mielech W, Lebensztejn DM. Increase in Serum MMP-9 and TIMP-1 Concentrations during Alcohol Intoxication in Adolescents-A Preliminary Study. *Biomolecules*. 2022;12(5):710. doi: 10.3390/biom12050710.
674. Zeng J, Zhu B, Su M. Autophagy is involved in acetylshikonin ameliorating non-alcoholic steatohepatitis through AMPK/mTOR pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018; 503(3): 1645-1650. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.07.094.
675. Zeng T, Zhang CL, Song FY, Zhao XL, Xie KQ. Garlic oil alleviated ethanol-induced fat accumulation via modulation of SREBP-1, PPAR- α , and CYP2E1. *Food Chem Toxicol*. 2012;50(3-4):485-91. doi: 10.1016/j.fct.2011.11.030.
676. Zeng T, Zhang CL, Song FY, Zhao XL, Yu LH, Zhu ZP, Xie KQ. The activation of HO-1/Nrf-2 contributes to the protective effects of diallyl disulfide (DADS) against ethanol-induced oxidative stress. *Biochim Biophys Acta*. 2013; 1830(10): 4848-59. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.06.028.
677. Zeng T, Zhang CL, Zhu ZP, Yu LH, Zhao XL, Xie KQ. Diallyl trisulfide (DATS) effectively attenuated oxidative stress-mediated liver injury and hepatic mitochondrial dysfunction in acute ethanol-exposed mice. *Toxicology*. 2008; 252(1-3): 86-91. doi: 10.1016/j.tox.2008.07.062.
678. Zhang F, Wang M, Zha Y, Zhou J, Han J, Zhang S. Daucosterol Alleviates Alcohol-Induced Hepatic Injury and Inflammation through P38/NF- κ B/NLRP3 Inflammasome Pathway. *Nutrients*. 2023;15(1):223. doi: 10.3390/nu15010223.
679. Zhang H, Pan J, Huang S, Chen X, Chang ACY, Wang C, Zhang J, Zhang H. Hydrogen sulfide protects cardiomyocytes from doxorubicin-induced ferroptosis

- through the SLC7A11/GSH/GPx4 pathway by Keap1 S-sulfhydration and Nrf2 activation. *Redox Biol.* 2024;70:103066. doi: 10.1016/j.redox.2024.103066.
680. Zhang J, Wang X, Vikash V, Ye Q, Wu D, Liu Y, Dong W. ROS and ROS-Mediated Cellular Signaling. *Oxid Med Cell Longev.* 2016; 2016: 4350965. doi: 10.1155/2016/4350965.
 681. Zhang L, Yang G, Untereiner A, Ju Y, Wu L, Wang R. Hydrogen sulfide impairs glucose utilization and increases gluconeogenesis in hepatocytes. *Endocrinology.* 2013;154(1):114-26. doi: 10.1210/en.2012-1658.
 682. Zhang R, Huang X, Jiang Y, Wang J, Chen S. Effects of Anticoagulants on Experimental Models of Established Chronic Liver Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Can J Gastroenterol Hepatol.* 2020;2020:8887574. doi: 10.1155/2020/8887574.
 683. Zhang W, Rho JH, Roehrl MH, Wang JY. A comprehensive autoantigen-ome of autoimmune liver diseases identified from dermatan sulfate affinity enrichment of liver tissue proteins. *BMC Immunol.* 2019;20(1):21. doi: 10.1186/s12865-019-0304-1.
 684. Zhao H, Swanson KD, Zheng B. Therapeutic Repurposing of Biguanides in Cancer. *Trends Cancer.* 2021;7(8):714-730. doi: 10.1016/j.trecan.2021.03.001.
 685. Zhao Y, Hu X, Liu Y, Dong S, Wen Z, He W, Zhang S, Huang Q, Shi M. ROS signaling under metabolic stress: cross-talk between AMPK and AKT pathway. *Mol Cancer.* 2017;16(1):79. doi: 10.1186/s12943-017-0648-1.
 686. Zhou Z, Ye TJ, DeCaro E, Buehler B, Stahl Z, Bonavita G, Daniels M, You M. Intestinal SIRT1 Deficiency Protects Mice from Ethanol-Induced Liver Injury by Mitigating Ferroptosis. *Am J Pathol.* 2020;190(1):82-92. doi: 10.1016/j.ajpath.2019.09.012.
 687. Zhu L, Baker SS, Gill C, Liu W, Alkhouri R, Baker RD, Gill SR. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology.* 2013;57(2):601-9. doi: 10.1002/hep.26093.

688. Zhu Q, Li H, Xie X, Chen X, Kosuru R, Li S, Lian Q, Cheung CW, Irwin MG, Ge RS, Xia Z. Adiponectin Facilitates Postconditioning Cardioprotection through Both AMPK-Dependent Nuclear and AMPK-Independent Mitochondrial STAT3 Activation. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020:4253457. doi: 10.1155/2020/4253457.
689. Zhu X, Lu R, Zhang G, Fan L, Zhan Y, Chen G, Zhou L. Diallyl Trisulfide attenuates alcohol-induced hepatocyte pyroptosis via elevation of hydrogen sulfide. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2022;86(11):1552-1561. doi: 10.1093/bbb/zbac149.
690. Zhu XY, Liu SJ, Liu YJ, Wang S, Ni X. Glucocorticoids suppress cystathionine gamma-lyase expression and H₂S production in lipopolysaccharide-treated macrophages. *Cell Mol Life Sci.* 2010;67(7):1119-32. doi: 10.1007/s00018-009-0250-9.
691. Zima T. Alcohol Abuse. *EJIFCC.* 2018;29(4):285-289.
692. Zippel N, Malik RA, Frömel T, Popp R, Bess E, Strilic B, Wettschureck N, Fleming I, Fisslthaler B. Transforming growth factor- β -activated kinase 1 regulates angiogenesis via AMP-activated protein kinase- α 1 and redox balance in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33(12):2792-9. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.301848.
693. Zipursky JS, Stall NM, Silverstein WK, Huang Q, Chau J, Hillmer MP, Redelmeier DA. Alcohol Sales and Alcohol-Related Emergencies During the COVID-19 Pandemic. *Ann Intern Med.* 2021;174(7):1029-1032. doi: 10.7326/M20-7466.
694. Zivanovic J, Kouroussis E, Kohl JB, Adhikari B, Bursac B, Schott-Roux S, Petrovic D, Miljkovic JL, Thomas-Lopez D, Jung Y, Miler M, Mitchell S, Milosevic V, Gomes JE, Benhar M, Gonzalez-Zorn B, Ivanovic-Burmazovic I, Torregrossa R, Mitchell JR, Whiteman M, Schwarz G, Snyder SH, Paul BD, Carroll KS, Filipovic MR. Selective persulfide detection reveals evolutionarily conserved antiaging effects of S-sulfhydration. *Cell Metab.* 2019;30(6):1152-1170.e13. doi: 10.1016/j.cmet.2019.10.007.



9. Аммоній тетраметилгідроксипентагідрат, нітросиній тетразолій хлорид, метиловий спирт, дистильована вода, трихлороцтова кислота, спектрофотометр або фотокалориметр здатний вимірювати абсорбцію на довжині хвилі 510 нм, центрифужні пробірки місткістю 10 мл, дозатори піпеткові (0,1, 0,2, 0,5 та 1,0 мл).

10. Контроль за концентрацією кортизолу в організмі при використанні гормональних препаратів. Оцінка якості харчових продуктів тваринного походження.

11. Відсутні.

12. Відсутні.

13. Полтавський державний медичний університет.

14. Відсутні.

15. Микитенко А. О., Акімов О. Є.

Контактна особа: Микитенко А. О., +380985512121.

Реєстр № 49/9/23

1. СПОСІБ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ СУЛЬФІДІВ У ПРОДУКТАХ ХАРЧУВАННЯ ТВАРИННОГО ПОХОДЖЕННЯ

2. НДР «Роль транскрипційних факторів, системи циркадіадного осцилятора та метаболічних розладів в утворенні та функціонуванні патологічних систем» номер державної реєстрації: 0119 U103898, 2019-2024 рр.

3. Гігієна харчування.

4. 2+; С.

5. Патент України на корисну модель № 151753 UA, МПК G01N 21/31 (2006.01) G01N 33/02 (2006.01). Спосіб спектрофотометричного визначення концентрації сульфідів у продуктах харчування тваринного походження / Акімов О. Є., Микитенко А. О., Костенко В. О., Катрушов О. В.; заявник і патентовласник ПДМУ - № у 2022 00726; Заявл. 18.02.2022; Опубл. 7.09.2022. Бюл. № 36.

6. Mykytenko A. O. The role of sulfide anion in the development of oxidative stress in the liver under conditions of chronic alcoholic hepatitis / A. O. Mykytenko, O. Ye. Akimov, G. A. Yeroshenko, K. S. Neporada // World of Medicine and Biology. – 2022. – № 3. – С. 223-226.

7. Метод базується на гомогенізації із трис-буферним розчином твердих речовин рослинного та тваринного походження та застосуванні специфічного хімічного реагенту на сульфіді, який є нечутливим до присутності небілкових органічних забруднювачів (жирів, вуглеводів). Аналіз продуктів харчування здійснюється наступним чином: наважка 1 г продукту гомогенізується із 10 мл 0,2 М трис-буферного розчину (рН=7,4) для отримання 10% гомогенату. Для аналізу береться 0,1 мл 10%

гомогенату, до якого додається 0,2 мл розчину реагенту на сульфідний аніон. Проводиться інкубація при кімнатній температурі 15 хв (не менше ніж 18 та не більше 22). До кожної пробірки додається 5 мл 0,1 М соляної кислоти. Далі проба центрифугується 10 хв при 3000 об/хв. Надосадову рідину переливають у новий ряд центрифужних пробірок. Отриману суміш фотометрують у кюветі із довжиною оптичного шляху 10 мм на довжині хвилі 667 нм. Концентрацію сульфідного аніону розраховують за калібрувальною кривою у мкмоль/г.

8. Використання даного методу дозволяє оцінювати безпечність та якість харчових продуктів рослинного та тваринного походження за рахунок визначення концентрації сульфід-іонів у досліджуваних зразках. Метод дозволяє контролювати вміст сульфідів у сироватці крові при використанні препаратів-донаторів сульфідних груп або препаратів, до складу яких входять амінокислоти із сульфідною групою, що запобігає розвитку небажаних ефектів та передозуванню.

9. N-N-диметил-пара-фенілендіамін, феррум (III) хлорид гексагідрат, Три-амінооксипентан, дистильована вода, трихлороцтова кислота, спектрофотометр або фотокалориметр здатний вимірювати абсорбцію на довжині хвилі 667 нм, центрифужні пробірки місткістю 10 мл, дозатори піпеткові (0,1, 0,2, 0,5 та 1,0 мл).

10. Контроль за концентрацією сульфідів в організмі при використанні препаратів-донаторів сульфідних груп або препаратів, до складу яких входять амінокислоти із сульфідною групою. Оцінка якості харчових продуктів рослинного та тваринного походження, особливо у регіонах де можливе потрапляння каналізаційних вод до водойм призначених для пиття людини чи тварин.

11. Відсутні.

12. Відсутні.

13. Полтавський державний медичний університет.

14. Відсутні.

15. Акімов О. Є., Микитенко А. О., Костенко В. О., Катрушов О. В., Соловійова Н. В., Міщенко А. В.

Контактна особа: Акімов О. Є., +380996042313.

Додаток В

«Затверджую»
 Проректор з наукової роботи
 Вінницького національного
 медичного університету
 ім. М. І. Пирогова
 професор Олег ВЛАСЕНКО
 28.11.2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** біохімічні механізми розвитку оксидативно-нітрозативного стресу в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту
- 2. Установа, автор:** Полтавський державний медичний університет, кафедра біологічної та біоорганічної хімії, доцент Микитенко Андрій Олегович
- 3. Джерело інформації:** 1. Mykytenko A.O., Akimov O.Y., Neporada K.S. Influence of lipopolysaccharide on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcohol intoxication. Fiziol. Zh. 2022; 68(2): 29-35.
 2. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of NF- κ B on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcohol intoxication. Ukr. Biochem. J., 2022; 94(6): 57-66.
- 4. Де впроваджено:** на кафедрі біохімії ім. професора О. О. Пентюка Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова
- 5. Форма впровадження:** включено в лекційний курс та практичні заняття з біологічної хімії.
- 6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань здобувачів вищої освіти 3 рівня навчання щодо біохімічних механізмів оксидативно-нітрозативного ушкодження печінки щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту.
- 7. Терміни впровадження:** 2023 -2024 н.р.

Протокол № 7 від 27.11.2023.

Відповідальний за впровадження:

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



Наталія ЗАІЧКО

Додаток Г



«Затверджую»
Перший проректор
науково-педагогічної роботи
Львівського національного
медичного університету
імені Данила Галицького
доцент Солонинко І. І.
14.11. 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** роль H_2S у патогенезі розвитку хронічного алкогольного гепатиту.
2. **Установа, автор:** Полтавський державний медичний університет, кафедра біологічної та біоорганічної хімії, доцент Микитенко Андрій Олегович
3. **Джерело інформації:** 1. Mykytenko AO, Akimov OYe, Yeroshenko GA, Neporada KS. The role of sulfide anion in the development of oxidative stress in the liver under conditions of chronic alcoholic hepatitis. *Світ медицини та біології*. 2022; 81(3): 223-226.
2. Mykytenko A, Akimov O, Shevchenko O, Neporada K. Role of sulfide anion in the development of chronic alcoholic hepatitis under the conditions of modulation of adenosine monophosphate kinase – a correlational study. *Eur J Clin Exp Med*. 2023; 21(3): 567–575.
4. **Де впроваджено:** на кафедрі біологічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.
5. **Форма впровадження:** включено у лекційний курс та практичні заняття з біологічної хімії студентів 2 курсу медичного факультету і 3 курсу фармацевтичного факультету.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо ролі H_2S в біохімічних механізмах розвитку хронічного алкогольного гепатиту.
7. **Терміни впровадження:** 2023 р.

Протокол №4 від 10 листопада 2023р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
біологічної хімії
Львівського національного
медичного університету
імені Данила Галицького,
к.мед.н., д.б.н., професор

Леся КОБИЛІНСЬКА

«Затверджую»
В.о. першого проректора
Івано-Франківського національного
медичного університету
професор Грицик А. Р.
2023 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** механізми розвитку оксидативно-нітрозативного стресу за умов модуляції транскрипційного фактора NF- κ B під час моделювання хронічного алкогольного гепатиту.
2. **Установа, автор:** Полтавський державний медичний університет, кафедра біологічної та біоорганічної хімії, доцент Микитенко Андрій Олегович.
3. **Джерело інформації:** 1. Mykytenko A.O., Akimov O.Y., Neporada K.S. Influence of lipopolysaccharide on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcohol intoxication. Fiziol. Zh. 2022; 68(2): 29-35.
2. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of NF - κ B on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcohol intoxication. Ukr. Biochem. J., 2022; 94(6): 57-66.
4. **Де впроваджено:** на кафедрі біологічної та медичної хімії імені академіка Г. О. Бабенка Івано-Франківського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** включено в лекційний курс та практичні заняття з біологічної хімії.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо розвитку оксидативно-нітрозативного стресу у печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту.
7. **Терміни впровадження:** 2023 р.

Протокол № ____ від _____ 2023р.

Відповідальний за впровадження:

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

Тарас МАКСИМЧУК

Додаток Д

«Затверджую»

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

2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: роль H_2S в патогенезі розвитку хронічного алкогольного гепатиту за умов модуляції аденозинмонофосфаткінази.

2. Установа, автор: Полтавський державний медичний університет, кафедра біологічної та біоорганічної хімії, доцент Микитенко Андрій Олегович

3. Джерело інформації: 1. Mykytenko AO, Akimov OYe, Yeroshenko GA, Neporada KS. The role of sulfide anion in the development of oxidative stress in the liver under conditions of chronic alcoholic hepatitis. Світ медицини та біології. 2022; 81(3): 223-226.

2. Mykytenko A, Akimov O, Shevchenko O, Neporada K. Role of sulfide anion in the development of chronic alcoholic hepatitis under the conditions of modulation of adenosine monophosphate kinase – a correlational study. Eur J Clin Exp Med. 2023; 21(3). 567–575.

4. Де впроваджено: на кафедрі хімії ліків та лікарської токсикології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця

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

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо ролі H_2S в патогенезі розвитку хронічного алкогольного гепатиту за умов модуляції аденозинмонофосфаткінази у щурів.

7. Терміни впровадження: 2023 р.

Протокол № 19 від 09.11. 2023р.

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

Ірина НІЖЕНКОВСЬКА

Додаток Е



«Затверджую»
Перший проректор
Дніпровського державного
медичного університету
професор Ігор ШПОНЬКА
2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** роль оксиду азоту в патогенезі хронічного алкогольного гепатиту за умов модуляції NF-κB фактору.
2. **Установа, автор:** Полтавський державний медичний університет, кафедра біологічної та біоорганічної хімії, доцент Микитенко Андрій Олегович
3. **Джерело інформації:** 1. Микитенко АО. Метаболізм оксиду азота за умов моделювання хронічної алкогольної інтоксикації. Експериментальна і клінічна медицина. 2023; 92(1): 13-20.
2. Mykytenko A.O., Akimov O.Y., Neporada K.S. Influence of lipopolysaccharide on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcohol intoxication. Fiziol. Zh: 2022; 68(2): 29-35.
3. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of NF-κB on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcohol intoxication. Ukr. Biochem. J., 2022; 94(6): 57-66.
4. **Де впроваджено:** на кафедрі біохімії та медичної хімії Дніпровського державного медичного університету
5. **Форма впровадження:** включено в лекційний курс та практичні заняття з біологічної хімії.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо ролі оксиду азоту в патогенезі хронічного алкогольного гепатиту за умов модуляції NF-κB фактору.
7. **Терміни впровадження:** 2023 р.

Протокол № 5 від 24.11 2023р.

Відповідальний за впровадження:

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

Ганна МАСЛЯК

Додаток Є

«Затверджую»
 Проректор з наукової роботи
 Харківського національного
 медичного університету
 професор Валерій М'ЯСОЄДОВ
 «_____» _____ 2023 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: біохімічні механізми розвитку патологічних змін в метаболізмі екстрацелюлярного матриксу печінки щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту.
2. Ким і коли запропоновано: Полтавський державний медичний університет, кафедра біологічної та біоорганічної хімії, доцент Микитенко Андрій Олегович
3. Джерело інформації: 1. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of doxorubicin on the extracellular matrix of the liver of rats under conditions of chronic alcoholic hepatitis. Regulatory Mechanisms in Biosystems. 2023; 14(2): 278–283.
 2. Mykytenko AO, Akimov OYe, Yeroshenko GA, Shevchenko OM, Neporada KS. Biochemical changes in the extracellular matrix of rat liver during chronic alcohol intoxication. Світ медицини та біології. 2022. - №4 (82). – С. 221-225.
4. Де і коли впроваджено: на кафедрі біологічної хімії Харківського національного медичного університету, 2023р.
5. Результати застосування методу за період з січня 2023р. по грудень 2023р. включено в наукові дослідження кафедри.
6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації: поглиблення знань здобувачів вищої освіти 3 рівня навчання щодо розвитку патологічних змін в метаболізмі екстрацелюлярного матриксу печінки щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту.
7. Зауваження, пропозиції: відсутні

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

13.10.2023

(дата)

(підпис)

Додаток Ж

«Затверджую»

Перший проректор
закладу вищої освіти
з науково-педагогічної роботи
Полтавського державного
медичного університету
професор Валентин ДВОРНИК
2025 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: роль сірководню та оксиду азота в патогенезі хронічного алкогольного гепатиту за умов модуляції NF-κB фактору.

2. Установа, автор: Полтавський державний медичний університет, кафедра біологічної та біоорганічної хімії, доцент Микитенко Андрій Олегович

3. Джерело інформації: 1. Микитенко АО. Метаболізм оксиду азота за умов моделювання хронічної алкогольної інтоксикації. Експериментальна і клінічна медицина. 2023; 92(1): 13-20.

2. Mykytenko A.O., Akimov O.Y., Neporada K.S. Influence of lipopolysaccharide on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcohol intoxication. Fiziol. Zh. 2022; 68(2): 29-35.

2. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of NF-κB on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcohol intoxication. Ukr. Biochem. J., 2022; 94(6): 57-66.

4. Де впроваджено: на кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету

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

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо ролі сірководню та оксиду азота в патогенезі хронічного алкогольного гепатиту за умов модуляції NF-κB фактору.

7. Терміни впровадження: 2025 р.

Протокол № 10 від 07.07 2025р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
патофізіології
Полтавського державного
медичного університету,
д.мед.н., професор

Віталій КОСТЕНКО

Додаток 3

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор

з науково-педагогічної роботи

Харківського національного
університету імені В. Н. Каразіна

Кирило БІЛІЧЕВ



» _____ 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: роль H_2S в патогенезі розвитку хронічного алкогольного гепатиту за умов модуляції АМФ-активованої протеїнкінази.

2. Установа, автор: Полтавський державний медичний університет, кафедра біологічної та біоорганічної хімії, доцент Микитенко Андрій Олегович.

3. Джерело інформації: 1. Mykytenko AO, Akimov OYe, Yeroshenko GA, Neporada KS. The role of sulfide anion in the development of oxidative stress in the liver under conditions of chronic alcoholic hepatitis // Світ медицини та біології. – 2022. – № 3(81). – С. 223–226.

2. Mykytenko A, Akimov O, Shevchenko O, Neporada K. Role of sulfide anion in the development of chronic alcoholic hepatitis under the conditions of modulation of adenosine monophosphate kinase – a correlational study // European Journal of Clinical and Experimental Medicine. – 2023. – Vol. 21, No. 3. – P. 567–575.

4. Де впроваджено: на кафедрі загальної та клінічної патології медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна.

5. Форма впровадження: включено в лекційний курс та практичні заняття з навчальної дисципліни Патоморфологія.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо патогенезу розвитку хронічного алкогольного гепатиту.

7. Терміни впровадження: 2025 рік.

8. Затверджено на засіданні кафедри загальної та клінічної патології медичного факультету, протокол № 6 від 14 січня 2025 року.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри

загальної та клінічної патології

Харківського національного

університету імені В. Н. Каразіна

доктор медичних наук, професор

Олена ПРОЦЕНКО



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти з науково-педагогічної роботи

Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, д.мед.н., проф.

Вадим ВІЗІР

» 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: роль H_2S в патогенезі розвитку хронічного алкогольного гепатиту.

2. Установа, автор: Полтавський державний медичний університет, кафедра біологічної та біоорганічної хімії, доцент Микитенко Андрій Олегович

3. Джерело інформації: 1. Mykytenko AO, Akimov OYe, Yeroshenko GA, Neporada KS. The role of sulfide anion in the development of oxidative stress in the liver under conditions of chronic alcoholic hepatitis. Світ медицини та біології. 2022; 81(3): 223-226.

2. Mykytenko A, Akimov O, Shevchenko O, Neporada K. Role of sulfide anion in the development of chronic alcoholic hepatitis under the conditions of modulation of adenosine monophosphate kinase – a correlational study. Eur J Clin Exp Med. 2023; 21(3): 567–575.

4. Де впроваджено: на кафедрі патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

5. Форма впровадження: включено в лекційний курс та практичні заняття з патологічної фізіології.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань здобувачів вищої освіти щодо ролі H_2S в біохімічних механізмах розвитку хронічного алкогольного гепатиту.

7. Терміни впровадження: 2024-2025 навч. р.

Протокол № 10 від 20 січня 2025р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри
патологічної фізіології
з курсом нормальної фізіології
Запорізького державного медико-фармацевтичного
університету,
д. мед. н., професор

Ольга ГАНЧЕВА

Список публікацій здобувача за темою дисертації

Праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA. Peculiarities of connective tissue degradation in rat's liver on early terms of chronic alcoholic hepatitis modelling. World of Medicine and Biology. 2021;1(75):197-200. DOI: 10.26724/2079-8334-2021-1-75-197-200. **(Web of Science)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

2. Mykytenko AO, Akimov OY, Neporada KS. Influence of lipopolysaccharide on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcohol intoxication. Fiziol. Zh. 2022;68(2):29-35. DOI: 10.15407/fz68.02.029. **(Scopus)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

3. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Extracellular matrix of rat liver under the conditions of combining systemic inflammatory response syndrome and chronic alcohol intoxication. World of Medicine and Biology. 2022;1(79):214-217. DOI: 10.26724/2079-8334-2022-1-79-214-217. **(Web of Science)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

4. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of NF -κB on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcohol intoxication. Ukr. Biochem. J., 2022;94(6):57-66. DOI: 10.15407/ubj94.06.057. **(Scopus)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано*

джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).

5. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of transcription factor κB on remodeling of extracellular matrix of rat liver under conditions of chronic alcohol intoxication. World of Medicine and Biology. 2022;2(80):214-217. DOI: 10.26724/2079-8334-2022-2-80-214-217. **(Web of Science)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

6. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. The role of sulfide anion in the development of oxidative stress in the liver under conditions of chronic alcoholic hepatitis. World of Medicine and Biology. 2022;3(81):223-226. DOI: 10.26724/2079-8334-2022-3-81-223-226. **(Web of Science)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

7. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Shevchenko OM, Neporada KS. Biochemical changes in the extracellular matrix of rat liver during chronic alcohol intoxication. World of Medicine and Biology. 2022;4(82):221-225. DOI: 10.26724/2079-8334-2022-4-82-221-225. **(Web of Science)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

8. Mykytenko AO, Akimov OY, Shevchenko OM, Neporada KS. Role of sulfide anion in the development of chronic alcoholic hepatitis under the conditions of modulation of adenosine monophosphate kinase – a correlational study. Eur J Clin Exp

Med. 2023;21(3):567–575. DOI: 10.15584/ejcem.2023.3.24. **(Scopus)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

9. Микитенко АО. Метаболічні зміни в екстрацелюлярному матриксі печінки щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту. Experimental and clinical physiology and biochemistry; 2023;1/2(96):12–17. DOI: 10.25040/ecpb2023.01-02.012.

10. Микитенко АО. Метаболізм оксиду азота за умов моделювання хронічної алкогольної інтоксикації. Експериментальна і клінічна медицина. 2023;92(1):13-20. DOI: 10.35339/ekm.2023.92.1.myk.

11. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of doxorubicin on the extracellular matrix of the liver of rats under conditions of chronic alcoholic hepatitis. Regulatory Mechanisms in Biosystems. 2023;14(2):278–283. DOI: 10.15421/022341. **(Scopus)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні та морфологічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

12. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Shevchenko OM, Neporada KS. Changes in the microcirculatory bed of the liver during alcoholic hepatitis modeling. World of Medicine and Biology. 2023;4(86):212-216. DOI: 10.26724/2079-8334-2023-4-86-212-216. **(Web of Science)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні, морфологічні та морфометричні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

13. Mykytenko AO, Akimov OY, Neporada KS. The influence of phenformin on the extracellular matrix of the liver of rats under long-term administration of ethanol. Fiziol. Zh. 2024;70(2):75-81. DOI: 10.15407/fz70.02.075. **(Scopus)**

(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).

14. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of nanosized cerium dioxide on metabolic changes of the liver under conditions of chronic alcoholic hepatitis. Letters in Applied NanoBioScience. 2024;13(3):129. DOI: 10.33263/LIANBS133.129. **(Scopus)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

15. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Phenformin attenuates the oxidativenitrosative stress in the liver of rats under long-term ethanol administration. Ukr. Biochem. J., 2024;96(3):22-30. DOI: 10.15407/ubj96.03.022. **(Scopus)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

16. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of nanosized cerium dioxide on the vascular bed of the liver under the conditions of chronic alcoholic hepatitis modeling. World of Medicine and Biology. 2024;2(88):211-215. DOI: 10.26724/2079-8334-2024-2-88-211-215. **(Web of Science)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні, морфологічні та морфометричні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

17. Mykytenko AO, Akimov OY, Neporada KS. Influence of doxorubicin on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under conditions of chronic alcoholic hepatitis. Медична та клінічна хімія. 2024;26(2):5-11. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2024.i2.14761. *(Особистий внесок здобувача –*

опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані біохімічні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).

18. Mykytenko AO, Akimov OY, Yeroshenko GA, Neporada KS. Influence of nuclear factor κ B and adenosine monophosphate-activated protein kinase on the vascular bed of the liver under the conditions of modeling chronic alcoholic hepatitis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2024;15(3):410–415. DOI: 10.15421/022457. **(Scopus)** *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані морфологічні та морфометричні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

19. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Єрошенко ГА, Непорада КС. Зміни морфометричних показників судин печінки щурів за умов тривалої дії етанолу. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2024;93(2):8с. DOI: 10.35339/ekm.2024.93.2.may. *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані морфологічні та морфометричні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

20. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Єрошенко ГА, Непорада КС. Зміни морфометричних показників судин печінки за умов хронічного алкогольного гепатиту. *Медицина сьогодні і завтра*. 2024;93(3):8с. DOI: 10.35339/msz.2024.93.3.may. *(Особистий внесок здобувача – опрацьовано джерела наукової літератури, проведено експериментальне моделювання патології, виконані морфологічні та морфометричні дослідження, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис статті).*

Праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

21. Микитенко А.О. Активність НАДФН-оксидази та вміст окисно-модифікованих білків в гомогенаті печінки щурів за умов моделювання алкогольного гепатиту. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: матеріали XII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМУ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О. (Галицькі читання II) (Тернопіль, 29-30 жовтня 2020 р.). Тернопіль: ТНМУ; 2020. С.73-74.

22. Микитенко А.О. Концентрація сульфідного аніону в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту. Перші читання, присвячені Д.О. Альперну «Актуальні питання патологічної фізіології»: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції (до 150-річчя кафедри загальної та клінічної патофізіології ім.. Д.О.Альперна) (Харків, 26 березня 2021 р.). Харків: ХНМУ; 2021. С. 103-104.

23. Микитенко А.О. Стан оксидантно-антиоксидантного балансу в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту. Фізіологія, валеологія, медицина: сучасний стан та перспективи розвитку: тези доповідей Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції (Харків, 06 квітня 2021 р.). Харків: Вид-во НФаУ; 2021. С. 100-101.

24. Микитенко А.О. NO-синтазна активність в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту. 42 Наукові читання імені О.О. Богомольця: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченій 140-річчю з дня народження академіка О.О. Богомольця (Київ, 24 травня 2021 р.). Київ: НМУ імені О.О. Богомольця; 2021. С. 113.

25. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Непорада КС. Роль сульфідного аніону в розвитку оксидативного ушкодження печінки щурів за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Бабенківські читання: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю присвяченій пам'яті академіка Георгія Овксентійовича Бабенка (Івано-Франківськ, 18-19 жовтня 2021 р.). Івано-Франківськ: ІНФМУ; 2021. С. 33. *(Особистий внесок здобувача – одержано*

результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).

26. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Непорада КС. Вплив стимуляції організму тварин бактеріальним ліпополісахаридом на розвиток оксидативного стресу в печінці. Біологічні, медичні та науково-педагогічні аспекти здоров'я людини: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції (Полтава, 21-22 жовтня 2021 р.). Полтава: Астроя; 2021. С. 126-127. *(Особистий внесок здобувача – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).*

27. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Непорада КС. Метаболізм оксиду азоту в печінці щурів за умов моделювання хронічного алкогольного гепатиту. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: тези доповідей IV Науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю (Харків, 18 листопада 2021 р.). Харків: Вид-во НФаУ; 2021. С. 189-190. *(Особистий внесок здобувача – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).*

28. Mykytenko AO, Akimov OY, Matsytska YK, Neporada KS. Nitrogen oxide metabolism in the liver under conditions of systemic inflammatory response: Abstracts from the 19h Annual World Congress on Insulin Resistance Diabetes & Cardiovascular Disease (Los Angeles, 2-4 December 2021). Metabolism - Clinical and Experimental, Volume 128, Supplement, 155004 DOI: 10.1016/j.metabol.2021.155004. *(Особистий внесок здобувача – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).*

29. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Непорада КС. Дія ліпополісахариду на метаболізм оксиду азоту за умов моделювання хронічної алкогольної інтоксикації у щурів. Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації: тези доповідей IV науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (Харків, 19

травня 2022 р.). – Х.: Вид-во НФаУ, 2022. С. 242-243. *(Особистий внесок здобувача – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).*

30. Mykytenko AO, Akimov OY, Neporada KS. Influence of systemic inflammatory response syndrome on the development of oxidative stress during simulation of chronic alcohol intoxication in rats. *Biotechnologia acta*. 2022;15(2):62-63. DOI: 10.15407/biotech15.02.062. *(Особистий внесок здобувача – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).*

31. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Непорада КС. Вплив наноцерію на позаклітинний матрикс печінки за умов хронічного алкогольної інтоксикації. Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини: матеріали науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю (Полтава, 11-12 жовтня 2022 р.). – Полтава: ТОВ НВП «Укрпромторгсервіс», 2022. – С. 64-65. *(Особистий внесок здобувача – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).*

32. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Єрошенко ГА, Непорада КС. Вплив наноцерію на метаболізм по в печінці за умов хронічного алкогольної інтоксикації. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: матеріали XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.). – Тернопіль: ТНМУ ім. І. Я. Горбачевського, 2022. – С. 44-45. *(Особистий внесок здобувача – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).*

33. Микитенко АО, Акімов ОЄ, Єрошенко ГА, Непорада КС. Роль сульфідного аніону в метаболізмі печінки щурів за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція: тези доповідей V науково-практичної інтернет-

конференції з міжнародною участю (Харків, 17 листопада 2022 р.). – Х.: Вид-во НФаУ, 2022. – С. 263-264. *(Особистий внесок здобувача – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, формування висновків, підготовлено рукопис).*

34. Микитенко А.О. Вплив нанодисперсного діоксиду церію на редуказний шлях утворення оксиду нітрогену в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України: тези доповідей IX Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (19-21 вересня 2024 р.). – Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет, 2024. – С. 148-150.

35. Mykytenko AO. Effect of doxorubicin on the content of glycosaminoglycans in the liver of rats with chronic alcoholic hepatitis. The collection contains abstracts of reports and research articles that were presented as part of the VI International Scientific and Practical Conference "KyivLvivPharma-2023. Pharmaceutical Technology and Pharmacology in Ensuring Active Longevity" (November 16-18, 2023, Kyiv, Lviv). Chemical and biopharmaceutical technologies: collection of scientific papers. Tallinn: Nordic Sci Publisher, 2023: 188-189.

36. Микитенко АО. Вплив доксорубіцину на вміст сіалових кислот та оксипроліну в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція: матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю. (Харків, 16 листопада 2023 р.) – Х.: НФаУ, 2023. – С. 317-318.

37. Микитенко АО. Загальна NO-синтазна активність та концентрація нітрозотіолів в печінці щурів за умов моделювання хронічної алкогольної інтоксикації. XXIII-і читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (Одеса, 16-17 травня 2024 року). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2024. – С. 88-89.

38. Mykytenko AO. Development of oxidative-nitrosative stress underconditions of chronic alcoholic hepatitis in dynamics. Експериментальна та клінічна фармакологія: матеріали міжнародної науково-практичної конференції,

присвячена 100-річчю кафедри фармакології НФаУ (Харків, 23-24 жовтня 2024 року) – Х.: НФаУ, 2024. – С. 141-144.

39. Микитенко АО. Вплив модуляції NF-κB на метаболізм сірководню в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту. Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини: збірка тез та статей науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю (Полтава, 30-31 жовтня 2024 р.). – Полтава: ТОВ НВП «Укрпромторгсервіс», 2024. – С. 101-103.

40. Микитенко АО. Вплив модуляції аденозинмонофосфат-активованої протеїнкінази на метаболізм сірководню в печінці щурів за умов хронічного алкогольного гепатиту. Ендокринна патологія у віковому аспекті: матеріали науково-практичної конференції з онлайн-трансляцією (Харків, 21-22 листопада 2024 р.). – Х.: ДУ ІПЕП, 2024. – С. 135-136.

Праці, які додатково відображають результати дисертації:

41. Акімов ОЄ, Микитенко АО, Костенко ВО, Катрушов ОВ, винахідники; Полтавський державний медичний університет, патентовласник. Спосіб спектрофотометричного визначення концентрації сульфідів у продуктах харчування тваринного походження. Патент на корисну модель № 151753. Україна, МПК G01N 21/31 (2006.01) G01N 33/02 (2006.01). № u 2022 00726; заявл. 18.02.2022; опубл. 07.09.2022, Бюл. № 36. *(Здобувачу належать дані щодо визначення концентрації сірководню в гомогенаті печінки щурів за умов модуляції транскрипційного фактора NF-κB, АМФ-активованої протеїнкінази та нанокристалічного діоксиду церію за умов етанол-індукованого ушкодження печінки).*

42. Акімов О.Є., Микитенко А.О., Костенко В.О., Катрушов О.В., Соловйова Н.В., Міщенко А.В. Спосіб спектрофотометричного визначення концентрації сульфідів у продуктах харчування тваринного походження. Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження

досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я, Вип. № 9. 2023. Реєстр № 49/9/23. С. 75-76. *(Здобувачу належать дані щодо визначення концентрації сірководню в гомогенаті печінки щурів за умов модуляції транскрипційного фактора NF-κB, АМФ-активованої протеїнкінази та нанокристалічного діоксиду церію за умов етанол-індукованого ушкодження печінки).*

Відомості про апробацію результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи представлені та обговорені на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. XII Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присвячена Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О. (Галицькі читання II) (Тернопіль, 29-30 жовтня 2020 р.) – публікація тез, усна доповідь;

2. Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання патологічної фізіології» (Перші читання, присвячені Д.О. Альперну, до 150-річчя кафедри загальної та клінічної патофізіології ім.. Д.О.Альперна) (Харків, 26 березня 2021 р.). – публікація тез, усна доповідь;

3. Всеукраїнська науково-практична інтернет-конференція «Фізіологія, валеологія, медицина: сучасний стан та перспективи розвитку» (Харків, 06 квітня 2021 р.). – публікація тез, усна доповідь;

4. 42 Наукові читання імені О.О. Богомольця: науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 140-річчю з дня народження академіка О.О. Богомольця (Київ, 24 травня 2021 р.) – публікація тез, усна доповідь;

5. Бабенківські читання: науково-практична конференція з міжнародною участю присвячена пам'яті академіка Георгія Овксентійовича Бабенка (Івано-Франківськ, 18-19 жовтня 2021 р.) – публікація тез, усна доповідь;

6. Міжнародна науково-практична конференція «Біологічні, медичні та науково-педагогічні аспекти здоров'я людини» (Полтава, 21-22 жовтня 2021 р.) – публікація тез, усна доповідь;

7. IV Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 18 листопада 2021 р.) – публікація тез, усна доповідь;

8. 19h Annual World Congress on Insulin Resistance Diabetes & Cardiovascular Disease (Los Angeles, 2-4 December 2021) – публікація тез, стендова доповідь;

9. IV науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 19 травня 2022 р.) – публікація тез, усна доповідь;

10. Конференція-конкурс молодих вчених «Актуальні проблеми біохімії і біотехнології—2022» – публікація тез, усна доповідь;

11. Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини» (Полтава, 11-12 жовтня 2022 р.) – публікація тез, усна доповідь;

12. XIII Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.) – публікація тез, усна доповідь;

13. V науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (Харків, 17 листопада 2022 р.) – публікація тез, усна доповідь;

14. IX Національний конгрес патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» (Івано-Франківськ, 19-21 вересня 2024р.) – публікація тез;

15. VI International Scientific and Practical Conference "KyivLvivPharma-2023. Pharmaceutical Technology and Pharmacology in Ensuring Active Longevity" (November 16-18, 2023, Kyiv, Lviv) – публікація тез, усна доповідь;

16. VI науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (Харків, 16 листопада 2023 р.) – публікація тез, усна доповідь;

17. XXIII–і читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (Одеса, 16-17 травня 2024р.) – публікація тез;

18. Міжнародна науково-практична конференція «Експериментальна та клінічна фармакологія», присвячена 100-річчю кафедри фармакології НФаУ (Харків, 23-24 жовтня 2024 р.) – публікація тез;

19. Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини» (Полтава, 30-31 жовтня 2024 р.) – публікація тез, усна доповідь;

20. Науково-практична конференція з онлайн-трансляцією «Ендокринна патологія у віковому аспекті» (Харків, 21-22 листопада 2024 р.) – публікація тез, усна доповідь.