

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
і.м. М. І. ПИРОГОВА МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

РОМАНЕНКО ІРИНА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК: 616.36/.61:547.814+546.221.1]:613.81:636.028

ДИСЕРТАЦІЯ

**МЕХАНІЗМИ УШКОДЖЕННЯ ТКАНИН ПЕЧІНКИ Й НИРОК ЗА
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО
УРАЖЕННЯ ТА ШЛЯХИ МЕТАБОЛІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ**

222 «Медицина»

22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів має посилання на відповідне джерело
_____ (підписано ЕП) _____ І.В. Романенко

Науковий керівник: Мельник Андрій Володимирович, доктор медичних наук,
професор

Вінниця – 2023

АНОТАЦІЯ

Романенко І. В. Механізми ушкодження тканин печінки й нирок за експериментального гострого алкогольного ураження та шляхи метаболічної корекції. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина». – Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2023.

Дисертація присвячена вирішенню актуального наукового завдання сучасної медицини, що полягає у встановленні ролі інсуліноподібного фактора росту (IGF-1) та гідроген сульфід (H₂S) в механізмах гострого алкогольного ураження тканин печінки й нирок та обґрунтуванні нових підходів до метаболічної гепато- та нефропротекції шляхом застосування кверцетину в поєднанні з донором H₂S.

Досліди проведені на 116 білих нелінійних статевозрілих щурів-самцях. Усі лабораторні тварини утримувались на стандартному харчовому раціоні віварію ВНМУ ім. М.І. Пирогова при звичайному світловому й температурному режимі. Всі етапи досліджень виконані за загальними етичними принципами експериментів на тваринах згідно Першого національного конгресу України з біоетики (Київ, 2001), «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), а також Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження», що було засвідчено комісією з біоетики ВНМУ ім. М.І. Пирогова (протокол № 8 від 25 жовтня 2018 р., протокол №7 від 01 листопада 2023 р.).

Тварини були розподілені випадковим чином на п'ять груп. Щурі 1 групи (контроль) утримувались за стандартних умов віварію та протягом 7 днів отримували інтрагастрально за допомогою металевого зонда з оливою дистильовану воду з розрахунку 20 мл/кг маси тіла та 0,9 % розчин NaCl

інтраперитонеально в дозі 0,1 мл/кг маси тіла. Тваринам 2-5 груп моделювали гостре алкогольне ураження шляхом інтрагастрального введення 40% етанолу у дозі 20 мл/кг протягом 7 днів. В якості метаболічної корекції тваринам 3-ої групи вводили кверцетин («Корвітин» ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», м. Київ) у вигляді свіжоприготовленого розчину (на 0,9 % розчині NaCl) інтраперитонеально в дозі 100 мг/кг маси тіла (з розрахунку 0,1 мл на 100 г маси) 1 раз на добу протягом 7 діб; тваринам 4-ої групи вводили донор гідроген сульфід $\text{NaHS}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (Sigma, США) у вигляді свіжоприготовленого розчину (на 0,9 % розчині NaCl) інтраперитонеально в дозі 3 мг/кг маси (з розрахунку 0,1 мл на 100 г маси щура) 1 раз на добу протягом 7 діб; тваринам 5-ої групи вводили одночасно кверцетин та $\text{NaHS}\cdot\text{H}_2\text{O}$ у вищенаведених дозах.

Результати дослідження показали, що гостре алкогольне ураження печінки та нирок супроводжується статистично достовірним зростанням сироваткового рівня IGF-1 на 23,9 % ($p < 0,05$) у порівнянні з контрольною групою тварин. За цих умов застосування кверцетину вірогідно не впливає на рівень IGF-1 в сироватці крові, тоді як введення NaHS та його комбінації з кверцетином викликає його достовірне підвищення відповідно на 13,2 та 14,7 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин.

На тлі гострого алкогольного ураження печінки та нирок реєструються порушення метаболізму H_2S : вірогідно зменшується рівень H_2S відповідно на 35,1 та 28,1 %, зростає швидкість його утилізації на 61,7 та 49,9 % ($p < 0,05$), але достовірно не змінюється H_2S -синтезуюча активність цистатіонін- γ -ліази відносно контрольної групи. Застосована метаболічна терапія з різною ефективністю зменшує алкоголь-асоційовані порушення обміну H_2S в печінці та нирках, що супражено зі збільшенням сироваткового рівня IGF-1 ($r_s = |0,39-0,58|$, $p < 0,05$). Введення NaHS та, особливо, його комбінації з кверцетином найбільш ефективно коригує розлади метаболізму H_2S , тоді як монотерапія кверцетином значно поступається їм. У групі тварин, які отримували лікування кверцетином та NaHS , в тканинах печінки та нирок реєструється

вірогідне зростання рівня H_2S (відповідно на 50,6 та 41,1 %, $p < 0,05$), активності цистатіонін- γ -ліази (відповідно на 30,8 та 20,8 %, $p < 0,05$), а також зменшення швидкості утилізації H_2S (відповідно на 39,2 та 32,4 %, $p < 0,05$) у порівнянні з нелікованими тваринами.

Інтрагастральне введення етанолу протягом 1 тижня супроводжується розвитком цитолізу гепатоцитів (активність АЛТ в сироватці крові зростає на 27,6 %, $p < 0,05$, відносно контролю), холестазу (активність ГГТП в сироватці крові зростає на 84,4 %, $p < 0,05$, відносно контролю), жирового гепатозу (вміст тригліцеридів у печінці зростає на 27,6 %, $p < 0,05$, відносно контролю), пригніченням білоксинтезуючої функції печінки (сироватковий рівень загального білка зменшується на 17,8 %, $p < 0,05$, відносно контролю), а також формуванням тубулярної дисфункції в нирках (зростає протеїнурія на 52,4 %, $p < 0,05$, відносно контролю). Поряд з цим в печінці та нирках щурів відмічається індукція запальної реакції та оксидативного стресу: вірогідно зростають рівні $TNF\alpha$, відповідно в 2,72 та 2,29 рази ($p < 0,05$), МДА в 3,10 та 2,0 рази ($p < 0,05$), а також зменшується активність СОД на 35,0 та 29,8 % ($p < 0,05$) відносно контролю. Використання кверцетину в комплексі з $NaHS$ найбільш ефективно коригує біохімічні ознаки гострого алкогольного ураження печінки та нирок: реєструється зменшення в сироватці крові активності АЛТ, ГГТП та збільшення рівня загального білку відповідно на 16,0; 39,4 та 21,9 % ($p < 0,05$), зниження екскреції білку з сечею на 23,6 % ($p < 0,05$), зменшення печінкових тригліцеридів на 16,5 % ($p < 0,05$), а також зниження рівня $TNF\alpha$ та МДА в печінці та нирках на 38,0-51,9 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами, що асоціюється зі зростанням сироваткового рівня IGF-1 ($r_s = |0,39-0,58|$, $p < 0,05$) та збільшенням вмісту H_2S в печінці та нирках ($r_s = |0,39-0,58|$, $p < 0,05$). В той же час ізольоване використання в якості коректора $NaHS$ та, особливо, кверцетину поступається комбінованій терапії за вказаними ефектами.

Гостре алкогольне ураження характеризується зміною параметрів клітинного циклу в печінці та нирках: зростає активність апоптозу

(збільшується частка клітин з фрагментованою ДНК відповідно на 37,9 та 32,0 %, $p < 0,05$), а також розвивається блок проліферації (зростає співвідношення кількості клітин у фазі S до їх кількості у фазах G2 + M відповідно на 79,8 та 53,0 % $p < 0,05$) порівняно з контролем. Використання кверцетину зменшує активність апоптозу клітин печінки та нирок (відповідно на 15,1 та 13,5 %, $p < 0,05$, відносно нелікованих тварин), але вірогідно не впливає на блок проліферації. Введення NaHS супроводжується антиапоптотичною дією, яка є вищою ніж у кверцетину (частка клітин з фрагментованою ДНК в печінці та нирках була меншою відповідно на 21,0 та 17,3 %, $p < 0,05$, відносно нелікованих тварин), а також посиленням проліферації клітин печінки та нирок (зменшується показник блоку проліферації відповідно на 47,8 та 47,6 %, $p < 0,05$, відносно нелікованих тварин). За використання комбінації кверцетину та NaHS антиапоптотична дія та здатність посилювати проліферативну активність в печінці та нирках є найвищими, що тісно супр'яжено зі зростанням сироваткового рівня IGF-1 ($r_s = |0,48-0,64|$, $p < 0,05$) та збільшенням вмісту H_2S в печінці та нирках ($r_s = |0,45-0,54|$, $p < 0,05$).

Під час морфологічного дослідження встановлено, що за гострого алкогольного ураження печінки та нирок спостерігається ряд характерних гістологічних змін: в печінці порушується часточкова будова, радіальне впорядкування печінкових балок, виникають ознаки запалення, жирового гепатозу; в нирках відмічається фрагментація ниркових тілець, ущільнення судинних клубочків, ознаки запалення, набряк цитоплазми та дистрофія епітеліоцитів каналців нефронів. Застосована терапія зменшує ініційовані алкоголем гістологічні зміни в печінці та нирках, хоча її ефективність залежить від обраного коректора. Найбільшу здатність коригувати гістологічні зміни в органах тварин виявляє комбінація кверцетину та NaHS, їй поступається монотерапія NaHS, а найменша ефективність зареєстрована у кверцетину.

Результати проведених досліджень поглибили існуючі уявлення щодо ролі IGF-1 та H_2S -сигнальної системи в біохімічних механізмах пошкодження

та регенерації тканин печінки та нирок за гострого алкогольного ураження, а також експериментально обґрунтували необхідність використання донорів H_2S з метою підвищення ефективності гепато- та нефропротекторної дії кверцетину.

Ключові слова: алкогольне ураження, печінка, нирки, гідроген сульфід, цистатіонін- γ -ліаза, інсуліноподібний фактор росту 1, запалення, оксидативний стрес, жировий гепатоз, морфологія, метаболічна корекція, кверцетин, щури.

ANNOTATION

Romanenko I.V. Mechanisms of liver and kidney tissue damage in experimental acute alcohol injury and ways of metabolic correction. – Qualifying scientific work as a manuscript.

Dissertation for obtaining the scientific degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 "Health care" in the specialty 222 "Medicine". - Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsia, 2023.

The dissertation is devoted to one of the urgent scientific tasks of modern medicine - establishing the role of insulin-like growth factor (IGF-1) and hydrogen sulfide (H₂S) in the mechanisms of acute alcohol-induced injury to the liver and kidney tissues, and presenting new approaches to metabolic hepato- and nephroprotective potential of quercetin in combination with H₂S donor.

The experiments were carried out on 116 white non-linear sexually mature male rats. All laboratory animals were fed the standard vivarium diet at Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University under normal light and temperature conditions. All stages of the study were carried out according to general ethical principles of animal experiments adopted by the First National Congress of Ukraine on Bioethics (Kyiv, 2001), European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Research and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986), as well as the Law of Ukraine No 3447-IV of 21.02.2006 "On protection of animals from cruel treatment", which was certified by VNMU bioethics commission (record No 8 of October 25, 2018, record No 7 of November 1, 2023).

The animals were randomly divided into five groups. Rats of group 1 (the control group) were kept under standard vivarium conditions and received intragastric distilled water - 20 ml/kg of body weight using the metal probe with oil as well as intraperitoneal 0.9% NaCl solution at a dose of 0.1 ml/kg of body weight for 7 days. In animals of groups 2, 3, 4 and 5, acute alcoholic injury was induced by intragastric injection of 40% ethanol at a dose of 20 ml/kg for 7 days. The following metabolic correction was performed: in the animals of group 3, intraperitoneal administration of quercetin ("Corvitin", Closed Joint Stock Company Scientific

Production Center Borshchagiv Chemical and Pharmaceutical Plant, Kyiv) in the form of freshly prepared solution (in 0.9% NaCl solution) - 100 mg/kg (at the rate of 0.1 ml per 100 g of body weight) once a day for 7 days; in the animals of group 4, intraperitoneal administration of hydrogen sulfide donor NaHS·H₂O (Sigma, USA) in the form of freshly prepared solution (in 0.9% NaCl solution) - 3 mg/kg (at a rate of 0.1 ml per 100 g of rat weight) once a day for 7 days; animals of group 5 received simultaneous injections of quercetin and NaHS·H₂O in the above mentioned doses.

The results of the study demonstrated acute alcohol-induced injury to the liver and kidneys to be accompanied by statistically significant increase in serum IGF-1 level by 23.9% ($p < 0.05$) as compared to the control group of animals. Under those conditions, quercetin reliably did not affect the level of IGF-1 in blood serum, while the administration of NaHS and its combination with quercetin caused its significant increase by 13.2% and 14.7%, respectively ($p < 0.05$), as compared to untreated animals.

Acute alcohol-induced injury to the liver and kidney was found to be associated with disorders of H₂S metabolism: decreased H₂S level - by 35.1 and 28.1%, respectively, increased rate of its utilization - by 61.7 and 49.9%, respectively ($p < 0.05$), with no significant changes in H₂S-synthesizing activity of cystathionine- γ -lyase, as compared to the control group. The metabolic therapy performed had led to decreased number of alcohol-associated disorders of H₂S metabolism in the liver and kidneys with varying degree of effectiveness, being associated with increased serum IGF-1 level ($r_s = |0.39-0.58|$, $p < 0.05$). Administration of NaHS alone and particularly in combination with quercetin proved to be most effective in correction of H₂S metabolism, while quercetin monotherapy showed worse results. In liver and kidney tissues of animals treated with quercetin and NaHS, significantly increased level of H₂S (by 50.6 and 41.1%, respectively, $p < 0.05$) and cystathionine- γ -lyase activity (by 30.8 and 20.8%, respectively, $p < 0.05$), as well as decreased H₂S utilization rate (by 39.2 and 32.4%, respectively, $p < 0.05$) were registered, as compared to untreated animals.

Intragastric administration of ethanol for one week was accompanied by the development of liver cytolysis (serum ALT activity increased by 27.6%, $p < 0.05$, as compared to the control), cholestasis (blood serum GGT activity increased by 84.4%, $p < 0.05$, as compared to the control), fatty hepatosis (liver triglyceride content increased by 27.6%, $p < 0.05$, as compared to the control), suppression of the protein-synthesizing function of the liver (serum total protein level decreased by 17.8%, $p < 0.05$, as compared to the control), as well as the formation of renal tubular dysfunction (proteinuria increased by 52.4%, $p < 0.05$, as compared to the control). Besides, the signs of induced inflammatory reaction and oxidative stress were registered in the liver and kidneys of rats: increased levels of TNF α by 2.72 and 2.29 times ($p < 0.05$), respectively, MDA by 3.10 and 2.0 times ($p < 0.05$), decreased SOD activity by 35.0 and 29.8% ($p < 0.05$) as compared to the control. Quercetin in combination with NaHS demonstrated the best results in correction of biochemical signs of acute alcohol-induced liver and kidney injury: decreased blood serum ALT, GGT activity and increased serum level of total protein by 16.0%, 39.4 % and 21.9% ($p < 0.05$), respectively, were recorded; decreased protein excretion in urine by 23.6% ($p < 0.05$), decreased liver triglyceride content by 16.5% ($p < 0.05$), as well as decreased level of TNF α and MDA in the liver and kidneys by 38.0-51.9% ($p < 0.05$), as compared to untreated animals, being associated with increased serum level of IGF-1 ($r_s = |0.39-0.58|$, $p < 0.05$), and increased H₂S content in liver and kidneys ($r_s = |0.39-0.58|$, $p < 0.05$). At the same time, the use of quercetin alone to correct NaHS proved to be less effective than combined therapy.

Acute alcohol-induced injury was characterized by the changes in cell cycle parameters of the liver and kidneys: increased apoptosis activity (the proportion of cells with fragmented DNA increased by 37.9 and 32.0%, respectively, $p < 0.05$), as well as the development of proliferation block (the ratio of percentage of cells in S phase to their number in G₂ + M phases increased by 79.8 and 53.0%, respectively, $p < 0.05$), as compared to the control. The use of quercetin reduced apoptosis activity of hepatocytes and kidney cells (by 15.1 and 13.5%, respectively, $p < 0.05$, as compared to untreated animals), but reliably had no influence on proliferation block. Administration of NaHS resulted in better than quercetin antiapoptotic effect, (the

percentage of cells with fragmented DNA in the liver and kidneys was lower by 21.0 and 17.3%, respectively, $p < 0.05$, as compared to untreated animals), as well as increased proliferation of liver and kidney cells (proliferation block index decreased by 47.8 and 47.6%, respectively, $p < 0.05$, as compared to untreated animals). In combined use of quercetin and NaHS, the best antiapoptotic effect and the ability to enhance proliferative activity were recorded, being closely associated with increased serum IGF-1 level ($r_s = |0.48-0.64|$, $p < 0.05$) and increased H₂S concentration in the liver and kidneys ($r_s = |0.45-0.54|$, $p < 0.05$).

Morphological examination detected a number of histological changes typical for acute alcohol-induced injury to the liver and kidney. In the liver, disturbances in lobular structure and radial arrangement of liver plates were observed, there were the signs of inflammation and fatty hepatosis. In the kidneys, fragmentation of renal corpuscles, compacting of vascular glomeruli, signs of inflammation, swollen cytoplasm and dystrophy of tubular epithelial cells were noted. The therapy used in the study resulted in decrease of alcohol-induced histological changes in the liver and kidneys, although its efficacy depended on the agent chosen for correction. Combination of quercetin and NaHS proved to be the best choice in the ability to correct histological changes in animal organs, while NaHS monotherapy gave worse results, and the use of quercetin appeared to be the least effective treatment.

The results of conducted study add more insight to the role of IGF-1 and the H₂S-signaling system in biochemical mechanisms of damage and regeneration of liver and kidney tissues during acute alcohol-induced injury, and experimentally prove the significance of using H₂S donors in order to increase the effectiveness of hepato- and nephroprotective potential of quercetin.

Key words: alcohol-induced injury, liver, kidneys, hydrogen sulfide, cystathionine- γ -lyase, insulin-like growth factor 1, inflammation, oxidative stress, fatty hepatosis, morphology, metabolic correction, quercetin, rats.

Список публікацій здобувача

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Романенко, І.В., Мельник, А.В. (2023). Гепато- та нефропротекторна дія донора гідроген сульфїду, кверцетину та їхньої комбінації за гострого алкогольного ураження. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 17(5), 328-337. <https://doi.org/10.33250/17.04.328>
2. Романенко, І.В., Мельник, А.В., & Піліпонова, В.В. (2023). Гістологічні зміни в тканинах печінки та нирок щурів при гострому алкогольному ураженні та метаболічній корекції. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 27(3), 377-383. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2023-27\(3\)-04](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2023-27(3)-04)
3. Рикало, Н.А., & Романенко, І.В. (2022). Можливості реалізації антифіброзного та протизапального ефектів метаболічної терапії при гострих алкогольних розладах в експериментальних умовах. *Запорізький медичний журнал*, 24(4), 396–401. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2022.4.255267>
4. Рикало, Н.А., & Романенко, І.В. (2022). Медикаментозна корекція синдромів цитолізу та холестазу при гострому алкогольному гепатиті в експерименті. *Актуальні проблеми транспортної медицини*, 2 (68), 128-137. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6814980>
5. Рикало, Н.А., & Романенко, І.В. (2017). Визначення показників оксидативного стресу та антиоксидантної системи в сироватці крові щурів при гострому алкогольному гепатиті та за умов його медикаментозної корекції. *Актуальні проблеми сучасної медицини*, 17 (4), 51-54.

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

6. Rikalo, N.A. & Romanenko, I.V. (2018). Morphological changes in kidney tissues of rats with acute ethanol-induced injury and after drug correction. *Journal of Education, Health and Sport*, 8(2), 272-279

7. Рикало, Н.А., & Романенко, І.В. (2016). Патоморфологічні зміни печінки та біохімічні зміни сироватки крові при гострому алкогольному гепатиті в умовах експерименту. *Експериментальна і клінічна медицина*, 71(2), 156-160
<https://esm.knmu.edu.ua/article/view/684>

8. Рикало, Н.А., & Романенко, І.В. (2016). *Спосіб моделювання гострого алкогольного гепатиту у щурів* (Пат. 108687 Україна МПК G01N 33/576 (2006.01). Державна служба інтелектуальної власності України.
<https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=225693>

9. Рикало, Н. А., & Романенко, І. В. (2014). Сучасні погляди на патогенез гострого алкогольного гепатиту і можливості його лікування. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 18(2), 641-645

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

10. Романенко І.В. (2022). Порівняльна ефективність застосування l-аргініну - l-глутамату на гістоструктуру печінки та нирок щурів з гострим алкогольним ураженням. *Матеріали XXVI Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених, м. Тернопіль, 13-15 квітня 2022 р., (с. 196)*
<https://rmv.tdmu.edu.ua/congresses/kongres-2022>

11. Романенко І.В. (2022). Вплив різних доз етанолу на гістоструктуру печінки щурів. *Матеріали XIX науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку -2022», м. Вінниця, 7-9 квітня 2022 р., (с. 438)*

<file:///C:/Users/PK/Downloads/%D0%B7%D0%B1%D1%96%D1%80%D0%BD%D0%B8%D0%BA%202023>

12. Rykalo, N. & Romanenko, I. (2020). Effect of corvitin on oxidative stress and the state of the antioxidant system of rats with acute ethanol-induced injury of the liver. *Abstracts of IX International Scientific and Practical Conference, Ankara, Turkey November 16-19, 2020 (p. 365)*. <https://isg-konf.com/science-and-practice-of-today-en/>

13. Романенко І.В. (2019). Структурні зміни епітелію звивистих каналців нирок щурів обумовлені токсичною дією етанолу та на тлі медикаментозної

корекції. *Матеріали XVI науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку -2019», м. Вінниця, 18 квітня 2019р., (с. 460-461)*

14. Рикало, Н.А., & Романенко, І.В. (2018). Структурні зміни печінки при гострому алкогольному гепатиті та за умов медикаментозної корекції. *Бюлетень XVII читань ім. В.В. Підвисоцького, м. Одеса, 24-25 травня 2018 р., (с. 146) <https://core.ac.uk/download/pdf/237164281.pdf#page=146>*

15. Рикало Н.А., & Романенко І.В. (2017). Вплив Корвітину та глутаргіну на показники оксидативного стресу та антиоксидантної системи щурів при гострому алкогольному гепатиті. *Збірник матеріалів міжнародної науково - практичної конференції «Сучасні аспекти клінічної фармакології на тлі доказової медицини», м. Вінниця, 16-17 листопада 2017р., (с. 248-250)*

16. Рикало Н.А., & Романенко І.В. (2015). Розробка експериментальної моделі гострого алкогольного гепатиту у щурів. *Збірник матеріалів міжнародної науково - практичної конференції «Теоретичні та практичні аспекти розвитку сучасної медицини», м. Львів, 26 червня 2015р., (96-97).*

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ		2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ		17
ВСТУП		19
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ ТА МЕТАБОЛІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ ЕТАНОЛУ НА ПЕЧІНКУ ТА НИРКИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)		25
1.1	Механізми токсичного впливу етанолу на печінку та нирки	25
1.2	Роль гідроген сульфїду в механізмах ураження внутрішніх органів за алкогольної інтоксикації	35
1.3	Принципи патогенетичної терапії алкогольного ураження внутрішніх органів	40
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ		46
2.1	Характеристика експериментальних моделей та груп тварин	46
2.2	Методи дослідження	50
2.2.1	Біохімічні методи	50
2.2.2	Імуноферментні методи	53
2.2.3	Цитофлуориметричний метод	55
2.2.4	Гістологічні методи	56
2.2.5	Статистичні методи	56
РОЗДІЛ 3. ВМІСТ IGF-1 В СИРОВАТЦІ КРОВІ ТА СТАН СИСТЕМИ H ₂ S/ЦГЛ В ТКАНИНАХ ПЕЧІНКИ Й НИРОК ЗА ГОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО УРАЖЕННЯ І НА ТЛІ МЕТАБОЛІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ		58
3.1	Дослідження сироваткового рівня IGF-1 у щурів за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції	59

	3.2	Визначення вмісту H_2S , активності ЦГЛ та швидкості утилізації H_2S в тканинах печінки й нирок та оцінка їх зв'язку з сироватковим рівнем IGF-1 у щурів за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції	61
РОЗДІЛ 4. БІОХІМІЧНІ ТА ЦИТОФЛУОРИМЕТРИЧНІ ПАРАМЕТРИ ФУНКЦІОНУВАННЯ ПЕЧІНКИ Й НИРОК ЗА ГОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО УРАЖЕННЯ І НА ТЛІ МЕТАБОЛІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ			72
	4.1	Дослідження біохімічних маркерів стану печінки та оцінка їх зв'язку з рівнем IGF-1 і H_2S у щурів за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції	73
	4.2	Дослідження біохімічних маркерів функціонального стану нирок та оцінка їх зв'язку з рівнем IGF-1 і H_2S у щурів за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції	86
	4.3	Зміни показників клітинного циклу в печінці щурів та їх зв'язок з рівнем IGF-1 і H_2S у щурів за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції	94
	4.4	Параметри клітинного циклу в нирках щурів та їх зв'язок з рівнем IGF-1 і H_2S у щурів за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції	99
РОЗДІЛ 5. МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ТА НИРОК ЗА ГОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО УРАЖЕННЯ І НА ТЛІ МЕТАБОЛІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ			105
	5.1	Гістологічні зміни тканин печінки щурів за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції	105
	5.2	Гістологічні зміни тканин нирок щурів за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції	113
РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ			122

ВИСНОВКИ	136
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ	139
ДОДАТКИ	181

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АГ	- алкогольний гепатит
АлкДГ	- алкогольдегідрогеназа
АлдДГ	- альдегіддегідрогеназа
АЛТ	- аланінамінотрансфераза
АФК	- активні форми кисню
ГАУ	- гостре алкогольне ураження
ГГТП	- гама-глутамілтранспептидаза
ДНК	- дезоксирибонуклеїнова кислота
МДА	- малоновий діальдегід
МЕОС	- мікросомальна етанолокиснювальна система
3-МСТ	- 3-меркаптопіруватсульфурттрансфераза
ПОЛ	- перекисне окиснення ліпідів
СОД	- супероксидисмутаза
ЦАТ	- цистеїнамінотрансфераза
ЦБС	- цистатіонін- β -синтаза
ЦГЛ	- цистатіон- γ -ліаза
ВР	- блок проліферації
СУР2Е1	- цитохром Р2Е1
ІР	- індекс проліферації
IGF-1	- інсуліноподібний фактор росту 1
ІЛ-1	- інтерлейкін-1
H ₂ S	- гідроген сульфід
K _{АТФ} -канали	- АТФ-чутливі калієві канали
Na ⁺ -K ⁺ -АТФаза	- натрій-калієва АТФ-аза
NaHS	- натрій гідрогенсульфід
NAD	- нікотинамідаденіндинуклеотид
NLR	- нод-подібні рецептори

NO	- нітроген монооксид
NF-κB	- ядерний фактор каппа бета
Nrf2	- ядерний фактор еритроїдного походження 2
MAPK	- мітоген-активована протеїнкіназа
S ²⁻	- сульфід аніон
TGF-β	- трансформуючий фактор росту бета
TLR	- толл-подібні рецептори
TNFα	- фактор некрозу пухлин альфа

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Однією з актуальних проблем цивілізації є алкогольна хвороба. Згідно з статистикою Всесвітньої організації охорони здоров'я загальне споживання алкоголю в розрахунку на душу населення стрімко зросло протягом останнього десятиріччя [112]. Алкоголь-індукована смертність посідає третє місце у структурі причин смерті від хвороб органів травлення у світі та складає близько 3,3 мільйона летальних випадків [291].

Вживання алкоголю є важливим етіологічним фактором ураження печінки та нирок [23, 269]. Гепато-та нефротоксична дія алкоголю реалізується через різноманітні механізми: оксидативний стрес, запалення, апоптоз, порушення ліпідного обміну, фіброгенез та ін [177]. Враховуючи патогенетичні ланки розвитку алкогольної хвороби з метою фармакокорекції уражень печінки та нирок широко використовується поліфенольні сполуки, в тому числі кверцетин, який пригнічує продукцію активних форм кисню, посилює антиоксидантний захист, виявляє антиапоптотичні, протизапальні та ендотеліотропні властивості [298, 303].

Однією із важливих сигнальних систем, яка залучена до регуляції процесів регенерації, апоптозу, проліферації клітин печінки та нирок є інсуліноподібний фактор росту (IGF-1). Поряд з цим IGF-1 приймає участь в численних фізіологічних та метаболічних процесах в печінці та нирках: активує протеосинтез та ліполіз в печінці, зменшує чутливість рецепторів до інсуліну в печінці, стимулює клубочкову фільтрацію, реабсорбцію води, йонів натрію, фосфат-аніонів та синтез кальцитріолу в нирках, виявляє антиоксидантну та цитопротекторну дії [156, 260]. Дотепер залишається невивченим питання щодо залученості системи IGF-1 до гострого алкогольного ураження печінки й нирок та механізмів фармакокорекції.

Останнім часом проводяться інтенсивні дослідження щодо вивчення ролі сигнальної системи H_2S у регуляції функцій печінки та нирок в нормі та при патології [222, 284]. В той же час на сьогодні існують лише поодинокі літературні дані про цитопротекторну дію донорів H_2S за хронічної алкоголізації [117, 188, 240], тоді як інформації щодо причетності системи H_2S в механізмах ураження внутрішніх органів та фармакокорекції за гострого алкогольного ураження взагалі не має. Залишається також не вивченою роль донорів H_2S в модуляції гепато-та нефропротекторної дії кверцетину за гострого алкогольного ураження. Вирішенню саме цих проблемних питань присвячене дисертаційне дослідження.

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

Дисертаційна робота є фрагментом двох планових НДР кафедри патологічної фізіології ім. М.І. Пирогова «Вплив гуморальних факторів на механізми розвитку патологічних процесів у печінці, спричинених дією екзо- та ендогенних чинників, та при їх корекції» (№ державної реєстрації 0116U007973, 2017-2021 рр.) та «Патофізіологічні та молекулярні механізми ураження внутрішніх органів за дії екзо- та ендогенних чинників та шляхи їх медикаментозної корекції» (№ держреєстрації 0123U101518). Дисертантка є співвиконавцем вказаних тем.

Мета дослідження

Оцінити роль IGF-1 та H_2S в механізмах гострого алкогольного ураження тканин печінки та нирок і на цій основі обґрунтувати нові шляхи метаболічної гепато- та нефропротекції

Завдання дослідження

1. Оцінити рівень IGF-1 у сироватці крові щурів за експериментального гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції кверцетином, донором гідроген сульфідом $NaHS$ та їх комбінацією.

2. Визначити вміст H_2S , активність H_2S -синтезуючого ензиму (цистатіонін- γ -ліази) в тканинах печінки й нирок щурів та оцінити можливий зв'язок з сироватковим рівнем IGF-1 за гострого алкогольного ураження і на

тлі метаболічної корекції кверцетином, донором гідроген сульфідом NaHS і їх комбінацією.

3. Дослідити вплив кверцетину, NaHS та їх комбінації на біохімічні маркери ураження печінки й нирок та оцінити можливий зв'язок з рівнями IGF-1 і H_2S у щурів за гострого алкогольного ураження.

4. Оцінити показники клітинного циклу тканин печінки й нирок щурів та оцінити можливий зв'язок з рівнями IGF-1 і H_2S у щурів за гострого алкогольного ураження і на тлі застосування кверцетину, NaHS та їх комбінації.

5. Вивчити гістологічну структуру тканин печінки та нирок щурів за експериментального гострого алкогольного ураження та метаболічної корекції кверцетином, донором гідроген сульфідом NaHS і їх комбінацією.

Об'єкт дослідження: механізми пошкодження тканин печінки та нирок за експериментального гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції.

Предмет дослідження: рівень IGF-1 в сироватці крові, показники метаболізму H_2S в печінці та нирках, гістологічні, біохімічні та цитофлуориметричні параметри функціонування печінки та нирок за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції.

Методи дослідження: біохімічні (рівні H_2S , МДА, креатиніну, білку, тригліцеридів, швидкість утилізації H_2S , активності цистатіонін- γ -ліази, СОД, АЛТ, ГГТП), імуноферментні (рівні IGF-1 та $\text{TNF}\alpha$), цитофлуориметричні (параметри клітинного циклу), морфологічні (гістологічні зміни печінки та нирок) та статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів

В дисертаційній роботі поглиблені уявлення щодо ролі сигнальних молекул IGF-1 та H_2S в реалізації токсичної дії етанолу на тканини печінки й нирок, а також в механізмах гепато- та нефропротекторних ефектів кверцетину й донору гідроген сульфідом.

Вперше встановлено, що гостре алкогольне ураження печінки та нирок супроводжується вірогідним зростанням в сироватці крові рівня IGF-1 та пертурбаціями метаболізму H_2S в тканинах, а саме формуванням дефіциту H_2S на тлі незміненої H_2S -продукуючої активності цистатіонін- γ -ліази та збільшення швидкості окиснювальної деградації H_2S .

З'ясовано, що на тлі гострого алкогольного ураження відмічаються порушення клітинного циклу в печінці та нирках: зростає активність апоптозу, збільшується частка клітин у синтетичній фазі та вірогідно не змінюється кількість клітин у постсинтетичній фазі та мітозі, розвивається блок проліферації, що супряжено зі зменшенням вмісту H_2S в тканинах та збільшенням сироваткового рівня IGF-1.

Виявлено, що алкоголь-індуковані патохімічні та гістологічні порушення в печінці та нирках, а саме виразність цитолізу гепатоцитів, холестазу, жирового гепатозу, пошкодження канальцевого апарату нирок, запалення та оксидативний стрес, асоціюються зі змінами рівнів IGF-1 в сироватці крові та H_2S в тканинах

Застосування метаболічних коректорів з різною ефективністю стримує розвиток патологічних змін в печінці та нирках. Використання кверцетину за гострого алкогольного ураження вірогідно не змінює виразність жирового гепатозу, не впливає на показник блоку проліферації клітин печінки й нирок та сироватковий рівень IGF-1, співставляється з NaHS за впливом на протеосинтез й активність цитолізу в печінці, а також поступається NaHS за протизапальною, антиоксидантною, антихолестатичною, тубулопротекторною активністю та впливом на систему H_2S .

Вперше показано, що використання кверцетину у поєднанні з NaHS за гострого алкогольного ураження забезпечує більш ефективну корекцію цитолізу гепатоцитів, холестазу, тубулярних розладів, запалення, оксидативного стресу, апоптозу та регенераторних процесів в печінці та нирках, що тісно асоціюється зі стимулюючим впливом на сигнальні системи IGF-1 та H_2S .

Практичне значення одержаних результатів

Результати проведених досліджень розширюють сучасні дані щодо окремих ланок патогенезу гострого алкогольного ураження печінки та нирок, а саме ролі IGF-1 та системи H₂S. Поряд з цим в роботі обґрунтовані нові підходи щодо метаболічної гепато- та нефропротекції за гострого алкогольного ураження: показано доцільність застосування донору H₂S з метою потенціювання гепато- та нефропротекторних властивостей кверцетину. Практичне значення результатів дослідження підтверджується 1 патентом України на корисну модель (№ 108687).

Результати дослідження використовуються в науково-педагогічному процесі кафедр патологічної фізіології, медичної та біологічної хімії, фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету, кафедри патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету, кафедри патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського, кафедри клінічної медицини навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету ім. Т.Г. Шевченка.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота самостійно виконана здобувачем. Дисертантом особисто проведений патентно-інформаційний пошук відповідно до теми дослідження, аналіз вітчизняних і зарубіжних наукових літературних джерел та оформлений огляд літератури. Самостійно сформульовано мету та завдання дослідження, розроблено методологію дослідження. Дисертанткою опановані методи запланованих досліджень, самостійно проведена статистична обробка отриманих результатів та оформлено дисертацію. Основні положення роботи, висновки, практичні рекомендації обговорені з науковими керівниками і сформульовані

автором самостійно. Оформлення наукових публікацій та патентів виконано здобувачем особисто.

Апробація результатів дослідження. Основні положення дисертації оприлюднені на: науково-практичній конференції «Теоретичні та практичні аспекти розвитку сучасної медицини» (Львів, 2015), міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні аспекти клінічної фармакології на тлі доказової медицини» (Вінниця, 2017), XVII читаннях ім. В.В. Підвисоцького (Одеса, 2018), XVI науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку - 2019» (Вінниця, 2019), IX th International scientific and practical conference «Science and practice of today» (Ankara, Turkey, 2020), XIX науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку - 2022» (Вінниця, 2022), XXVI міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2022).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 16 наукових праць: 7 статей у наукових фахових виданнях МОН України (категорія Б), серед яких 1 стаття індексується в міжнародній наукометричній базі Web of Science, 1 стаття у фаховому періодичному іноземному виданні (Польща), 1 патент України на корисну модель та 7 тез в матеріалах конгресів та конференцій.

Структура і обсяг дисертації. Дисертація представлена українською мовою на 191 сторінках (120 сторінок основного тексту) і складається з анотації, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних літературних джерел (включає 316 найменувань, з них 90 кирилицею, 226 – латиницею) та додатків. Робота ілюстрована 19 рисунками та 29 таблицями.

РОЗДІЛ 1
СУЧАСНІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ ТА МЕТАБОЛІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ
ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ ЕТАНОЛУ НА ПЕЧІНКУ ТА НИРКИ
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Механізми токсичного впливу етанолу на печінку та нирки

На сьогодні алкоголізм як причина смертності в усьому світі посідає важливе місце поряд з серцево-судинними захворюваннями і злоякісними новоутвореннями. Летальність від різних причин у осіб, які непомірно вживають алкоголь, у 2–3 рази вища, ніж у населення загалом [70,71]. В Україні провідними причинами смерті й скорочення тривалості життя населення через вживання алкоголю є алкогольна кардіоміопатія (34,7 %), алкогольна хвороба печінки (17,9 %), розлади психіки та поведінки внаслідок приймання алкоголю (7,4 %), ураження нервової системи (6,8 %) [20]. За цих умов негативне значення має не лише вид напою, а й кількість спожитого етанолу [41], швидкість його споживання [122], тривалість алкоголізації, генетична схильність [179], підвищена маса тіла та ожиріння [115, 164, 247], жіноча стать [3]. Слід зазначити, що токсичні властивості етанолу завжди перевищують його позитивний ефект на організм людини [134].

Універсальність впливу алкоголю на метаболізм, систему регуляції та морфологічні структури дозволяє стверджувати, що практично немає жодної системи або органу, які б не втягувалися у патологічний процес. Токсичні властивості етанолу пов'язані з його безпосереднім місцевим впливом на слизові оболонки стравоходу, шлунку, кишечника, а також з системною дією його метаболітів, особливо ацетальдегіду, що підвищує токсичність етанолу в 100 разів [53, 70]. Етанол та ацетальдегід спричиняють різноманітні розлади внутрішньоклітинного обміну, викликаючи ушкодження мембрани, розлади окисно-відновних процесів, порушення енергоутворення та кислотно-лужної

рівноваги [41, 56]. В результаті алкогольної інтоксикації особливо страждають наступні органи-мішені: печінка, підшлункова залоза, шлунок, головний мозок, легені, серце та нирки.

Особливості метаболізму етанолу в організмі

В організмі людини метаболізм алкоголю проходить у три етапи за участю алкогольдегідрогенази (АлкДГ), мікросомальної етанолокиснювальної системи (МЕОС) та пероксисом [30]. Етиловий спирт має досить просту хімічну будову і в його метаболізмі приймають участь 2 основних ферменти, один з яких локалізується в цитоплазмі гепатоцитів – це АлкДГ, а інший – у мітохондріях – ацетальдегіддегідрогеназа (АлдДГ) [134, 165, 169]. Ці ферменти суворо специфічні і локалізуються переважно у печінці. При потраплянні в шлунок 12-25% алкоголю окиснюється під дією шлункової АлкДГ, яка конвертує етанол в ацетальдегід, тим самим зменшує кількість алкоголю, що надходить у систему портального кровотоку та печінку. Надходячи до печінки, етанол окиснюється печінковою фракцією АлкДГ, коферментом якої є нікотинаміддинуклеотид (NAD⁺), в результаті чого відбувається утворення ацетальдегіду і відновлення коферменту до NADH [78]. АлкДГ, будучи цитоплазматичним ферментом, бере участь в окисленні етанолу за умови тканинної концентрації алкоголю не більше 10 ммоль/л. У людини існують три основні гени, що кодують АлкДГ: АлкДГ1, АлкДГ2, АлкДГ3 [165]. На наступному етапі ацетальдегід під впливом цитозольного ферменту АлдДГ1 і мітохондріального ферменту АлдДГ2 у NAD-залежних реакціях метаболізується до оцтової кислоти. Приблизно 10-15% етанолу метаболізується у мікросомах гладкого ендоплазматичного ретикулуму за допомогою МЕОС, що включає цитохром P-450 2E1 [120]. Також незначна кількість етанолу може метаболізуватись в пероксисомах за участі каталази [155].

Патогенетичні аспекти алкогольного ураження печінки

У людини основним місцем метаболізму алкоголю є печінка, тому саме цей орган в найбільшій мірі потерпає від токсичної дії етанолу [250].

Настанови Американської колегії гастроентерологів вказують на те, що алкогольна хвороба печінки охоплює спектр гепатобіліарних захворювань та проявляється у вигляді 4 нозологічних форм: алкогольний стеатоз, алкогольний гепатит, алкогольний фіброз печінки та алкогольний цироз печінки [51, 78, 125]. Алкогольне ураження печінки - це результат складної взаємодії між продуктами метаболізму етанолу, запальними та імунними реакціями, оксидативним стресом, процесами фіброгенезу, порушеннями регенерації гепатоцитів [19]. Важливо, що всі ці ефекти можуть додатково викликати складні патологічні реакції, які в кінцевому підсумку призводять до пошкодження печінки. Патерни, пов'язані з ураженням печінки, викликаним алкоголем, включають різні типи загибелі клітин (головним чином, апоптоз і некроз) [181].

Патогенез алкогольного ураження печінки можна представити у вигляді чотирьох основних ланок:

- пряма токсична дія етанолу та продуктів його метаболізму;
- цитокін-індуковане пошкодження печінкової тканини, зумовлене активацією клітин Купфера кишковими ендотоксинами;
- порушення рівноваги у процесах перекисного окиснення та активності антиоксидантної системи
- аутоімунне пошкодження внаслідок формування неоантигенів, які включають продукти метаболізму етанолу [19].

Збільшення алкогольного навантаження призводить до підвищення чутливості до лікарських речовин, утворення токсичних метаболітів і токсичного ураження печінки при використанні навіть терапевтичних доз препаратів [59].

Алкогольний гепатит (АГ) - дегенеративне і запальне ураження печінки, обумовлене алкогольною інтоксикацією [135, 151, 166]. Ця проблема є вкрай актуальною сьогодні, оскільки має місце зростання частоти захворюваності на дану патологію, що в свою чергу супроводжується інвалідизацією працездатного населення [75].

Останнім часом проводяться інтенсивні наукові дослідження щодо вивчення патофізіології алкогольного ураження печінки [94]. Встановлено, що у його розвитку мають значення різні фактори, включаючи генетичні, нутриційні, метаболічні, імунологічні, фактори навколишнього середовища та ін. Так, існують чіткі докази того, що генетичний фон є важливим модулятором чутливості до розвитку алкогольної хвороби печінки. Зокрема, гетерозиготні та гомозиготні носії G-алелю гену PNPLA3 rs 738409 є підтвердженням генетичних факторів ризику прогресування алкогольної хвороби печінки [40, 104, 192].

Важливим чинником токсичної дії алкоголю є накопичення ацетальдегіду, який може безпосередньо взаємодіяти із структурними та функціональними протеїнами, їх аміно- і сульфгідрильними групами, викликаючи порушення структурної організації та функціональної активності ендотелію судин [214, 245].

За умов алкогольної інтоксикації виникають метаболічні порушення в печінці: розвивається метаболічний лакто-та кетоацидоз, знижується активність β -окиснення жирних кислот, активується синтез тригліцеридів та порушується їх виведення з печінки у складі ЛПДНЩ, розвивається жировий гепатоз [16, 58, 197].

Провідними чинниками у розвитку АГ є окиснювальний стрес і цитокін/ендотоксин-опосередковане ушкодження гепатоцитів, причому останньому механізму сьогодні приділяють все більшу уваги [39, 239].

Існує гіпотеза «подвійного удару» у розвитку алкогольного ураження печінки [73]. На ранніх стадіях алкогольного ушкодження спостерігається інтенсивний вплив цитокінів на гепатоцити, що ініціює різні клітинні сигнали, які підвищують проникність мітохондріальної мембрани, наслідком чого є вивільнення активних форм кисню (АФК) та апоптоз гепатоцитів - «перший удар» [45]. За цих умов частина гепатоцитів використовує «потенційно летальні» сигнали для активації множинних адаптивних реакцій, що дозволяє клітинам вижити. Слід зауважити, що навіть за умов ефективної адаптації до

«першого удару» гепатоцити стають дуже чутливими до різних патогенних впливів, що асоціюється з частковою деполаризацією їх внутрішньої мітохондріальної мембрани і може призвести до некрозу гепатоцитів у разі порушення трансмембранних іонних градієнтів. «Другий удар» цитокінів на гепатоцити супроводжується пригніченням адаптаційної здатності клітин печінки та посиленням їх апоптозу [140].

Роль цитокінів та ендотоксинів у алкогольному ураженні печінки

Цитокіни - збірне поняття, що включає різні групи біологічно активних речовин з різноманітними біологічними функціями. До них належать інтерлейкіни, сімейство фактора некрозу пухлини- α (tumor necrosis factor - α - TNF- α), інтерферони, хемокіни, ростові фактори, наприклад трансформуючий фактор росту- β (transforming growth factor- β - TGF- β), колонієстимулюючі фактори та інші [18, 51]. Цитокіни можуть продукуватися будь-якою клітиною людського організму, в тому числі клітинами печінки, у відповідь на різноманітні фізіологічні та патологічні сигнали [223].

На ранніх стадіях захворювань печінки продукцію цитокінів стимулює пошкоджуючий агент (алкоголь, вірус тощо), на більш пізніх стадіях цю роль в основному беруть на себе ендотоксини. Виділення ендотоксину у хворих, які тривалий час приймають алкоголь, обумовлене підвищенням проникності кишкової стінки [29]. Постійне надходження ендотоксину - ліпополісахариду грамнегативних бактерій кишкового походження, через комплекс всередині клітини формує сигнал, який підвищує експресію інтегринів та стимулює секрецію TNF- α [60, 83].

Патогенетична роль бактеріальних ендотоксинів полягає у вторинному пошкодженні печінки і стимуляції печінкових макрофагів під впливом бактеріальних ліпополісахаридів, мураміддипептидів, ліпопротеїнів і bactDNA, що опосередковується через внутрішньоклітинні Toll-подібні рецептори (TLR, зокрема TLR2, TLR4, TLR9) або Nod-подібні рецептори (NLR, зокрема NOD2). Активація макрофагів супроводжується посиленням

секреції прозапальних цитокінів: TNF- α , інтерлейкіну-1 β та інтерлейкіну-12 [6].

Продемонстровано, що сироватковий рівень TNF- α , інтерлейкіну-1 (ІЛ-1), інтерлейкіну-6 (ІЛ-6), ІЛ-8 підвищений у пацієнтів з алкогольним стеатогепатитом в момент госпіталізації і поступово знижується на тлі лікування [69, 176]. Сироваткова концентрація TNF- α і розчинних TNF-рецепторів корелює зі ступенем ендотоксемії, стадією алкогольної хвороби печінки та госпітальною летальністю [127, 244]. Застосування антибіотиків та лактобактерій за умов алкогольного гепатиту знижує рівень ендотоксинів, що асоціюється зі зменшенням пошкодження тканин печінки [82].

Патогенетичне значення TNF- α у розвитку алкогольного гепатиту підтверджене в експерименті на мишах: у тварин з малою кількістю рецепторів І типу до TNF- α не розвивалися ураження печінки на тлі тривалого введення етанолу [160, 194]. В експериментальних дослідженнях виявлено, що TNF- α сприяє активації зірчастих клітин, збільшенню синтезу білків позаклітинного матриксу, пригніченню апоптозу активованих зірчастих клітин, стимулює синтазу оксиду азоту та індукує продукцію оксиду азоту [201]. Поряд з цим за умов тривалої алкогольної інтоксикації TNF- α стимулює продукцію АФК та оксиду азоту, що викликає пошкодження клітин-мішеней в різних органах та супроводжується формуванням поліорганної недостатності [79, 160]. Крім того TNF- α є незалежним предиктором фіброзу за алкогольного ураження печінки [51, 208, 271].

Патогенетичне значення процесів перекисного окиснення ліпідів у розвитку алкогольного ураження печінки

Процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) мають важливе значення в нормі та за різних патологічних станів [48, 224]. За фізіологічної норми ПОЛ проходить з низькою швидкістю, але виконує важливі функції: активує ряд мембранних білків та імуноглобулінів, стимулює процеси проліферації та диференціації клітин, транспорт іонів, бере участь у руйнуванні пошкоджених хромосом, активує апоптоз відпрацьованих клітин

[32, 44]. За різних патологічних станів, у тому числі алкогольного гепатиту, відмічається зростання активності процесів ПОЛ, що лежить в основі ураження різних тканин та органів [28, 84, 143].

Виникає питання щодо причин активації ПОЛ за АГ. Встановлено, що на тлі алкогольної інтоксикації реєструється зростання вмісту прозапальних цитокінів, які спричиняють хемотаксис нейтрофілів та продукцію останніми вільних радикалів, що супроводжується активацією ПОЛ та цитолізом гепатоцитів [8, 57]. На сьогодні вважають, що важливим джерелом АФК за АГ також є активовані купферовські клітини [209]. Зростання продукції АФК за алкогольної інтоксикації може бути наслідком підвищення субстратного навантаження на ферменти детоксикації ксенобіотиків [162].

Відомо, що процеси пероксидного окиснення знаходяться у динамічній рівновазі з функціонуванням добре розвиненої системи антиоксидантного захисту, яка представлена ензимами та неензимними сполуками [24, 294]. Показано, що на тлі алкогольної інтоксикації розвивається дефіцит антиоксидантної ланки: зменшується активність супероксиддисмутази та виникає дефіцит глутатіону, що є однією із причин активації ПОЛ [36, 114, 142, 190].

Окислювальний стрес на тлі алкоголізації є важливим чинником ураження печінки, адже викликає пошкодження мембран клітин, порушення їх осмотичної резистентності та електричного потенціалу, руйнування білків, активації апоптозу, зміни активності цитохрому P-450 2E1 (CYP2E1) [57, 170]. Поряд з цим оксидативний стрес спричиняє ушкодження генетичного апарату клітин, гальмує клітинний поділ, пригнічує окислювальне фосфорилування, стимулює розпад лізосом та погіршує перебіг запального процесу [11].

Механізми регенерації гепатоцитів за алкогольного ураження печінки

У відповідь на системні обмінні порушення, викликані розвитком алкогольного ураження клітин, відбувається активація молекулярних та клітинних механізмів, що спрямовані на відновлення метаболічного гомеостазу, включаючи регенеративні та репаративні механізми [109]. За цих

умов активуються компенсаторні реакції, які проявляється гіпертрофією (збільшенням розмірів клітин) з подальшою гіперплазією (збільшенням кількості гепатоцитів) [42]. Регенерація печінки в умовах її алкогольного ураження реалізується за механізмом поліплоїдизації ядер гепатоцитів, оскільки останні володіють потенційними властивостями стовбурових та прогеніторних клітин, які формують печінковий репаративний комплекс [113, 149, 187]. Відомо, що гепатоцити, які знаходяться в G₀ періоді клітинного циклу і функціонують до смерті, можуть повернутися в клітинний цикл [148] і вступати в мітоз.

Важливими молекулярними чинниками регенерації печінки є фактори росту, а саме фактор росту ендотелію судин, фактор росту гепатоцитів, інсуліноподібний фактор росту 1 (IGF-1), епідермальний фактор росту і основний фактор росту фібробластів [265]. Останім часом показано, що навіть на термінальних стадіях захворювань печінки гепатоцити зберігають можливість експресувати IGF-1, що сприяє процесам регенерації [161].

Основні патогенетичні ланки алкогольного ураження нирок

На сьогодні існують досить суперечливі дані щодо ролі алкоголізації у розвитку гострого та хронічного ураження нирок [95]. На думку деяких авторів ураження нирок (гломерулонефрит, гепатоліснальний синдром, гострий каналцевий некроз) не займають провідне місце в структурі вісцеральних проявів алкогольної хвороби, однак за важких форм алкоголізму розвиток нефропатій часто визначає прогноз захворювання [273]. Поряд з цим існує ряд клінічних та експериментальних досліджень у яких наголошено, що етиловий спирт є важливим етіологічним фактором ураження нирок [23].

Вважається, що ураження нирок на тлі тривалої алкоголізації асоціюється з розвитком гепато-ренального синдрому, що значно ускладнює перебіг та прогноз захворювання [77, 124].

Токсичний вплив етанолу на нирки реалізується через різноманітні патохімічні та патофізіологічні механізми - запалення, ендотеліальна дисфункція, імунокомплексні порушення, розлади пуринового обміну та ін

[86, 139]. Гострі алкогольні ураження нирок зазвичай проявляються анурією, хронічні — гломерулонефритом, пієлонефритом, нирковим каналцевим ацидозом.

Однією із причин гострої алкогольної нефропатії є розвиток сечокислої блокади на тлі порушення пуринового обміну: інтенсивний алкогольний ексцес викликає розвиток дегідратації, метаболічного ацидозу, що асоціюється з пригніченням секреції сечової кислоти через ниркові каналці в сечу, а також зменшенням її розчинності [144, 297]. Поряд з цим за гострої алкогольної інтоксикації може розвиватись токсичний вплив етанолу на скелетні м'язи, що супроводжується міоглобінурією, закупоркою та пошкодженням каналцевого апарату [17, 95].

У розвитку хронічної алкогольної нефропатії важливу роль займають гемодинамічні порушення, які виникають на тлі активації ренін-ангіотензин-альдостеронової системи, зменшення продукції простагландину E₂, зниження синтезу оксиду азоту (NO) ендотеліальною ізоформою NO-синтази, що є важливими чинниками пошкодження клубочків та порушення клубочкової фільтрації [13]. На тлі прийому алкоголю також порушується обмін води: за гострої алкогольної інтоксикації посилюється діурез, тоді як за хронічної — зменшується за рахунок посилення секреції вазопресину. Поряд з цим при тривалому прийомі алкоголю часто виникають електролітні порушення, а саме гіпокаліємія, гіпонатріємія, гіпомагніємія, гіпокальціємія та гіпофосфатемія, однак причини їх розвитку залишаються невивченими [139].

Важливим патогенетичним чинником ураження нирок за алкогольної хвороби є індукція окисдатовного стресу. Показано, що ризик розвитку, характер, важкість і наслідки алкогольної нефропатії асоціюється з інтенсивністю вільно-радикальних процесів в нирках [133, 139, 163]. Виразність і глибина морфологічних змін у нирці при алкогольній інтоксикації корелює з рівнем продуктів ліпопероксидації та окисної модифікації білків [72]. Одним із чинників посилення активності процесів пероксидації ліпідів при алкогольному ураженні є індукція CYP2E1 в нирках, яка є більш

виразною, ніж в печінці [162]. Ще однією із причин інтенсифікації вільнорадикальних процесів за алкогольної хвороби є активація індукцибельної ізоформи NO-синтази, що спричиняє утворення надмірних кількостей оксиду азоту, який після взаємодії з супероксидним-аніон радикалом викликає утворення дуже токсичного пероксинітриту [169, 225, 259, 273].

Активація процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів у нирках за тривалої алкоголізації супроводжується окисною деструкцією фосфоліпідного бішару клітинних мембран, порушенням активності $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -АТФази каналців та пошкодження гломерулярного й тубулярного апаратів нирок [107, 111, 124, 174, 183].

Важливою патогенетичною ланкою уражень клубочків за хронічної алкогольної інтоксикації належить імунокомплексним порушенням. Показано, що за алкогольної хвороби відмічається окисна деструкція білків за участі вільних радикалів, а також ковалентна модифікація білків під впливом ацетальдегіду, що спричиняє формуванню нових антигенних детермінант, розвитку аномальної імунної реакції, відкладанням імунних комплексів у клубочках та їх пошкодження [139, 296].

Механізми регенерації клітин нирок за алкогольного ураження

Нирка має невисокий базально-клітинний регенеративний потенціал, але епітеліальні клітини каналців мають виражену здатність до проліферації після ушкодження [189]. Висунуто ряд гіпотез про природу регенеративної здатності в тканині нирок. Більшість дослідників вважають, що регенеративний потенціал обумовлений дедиференціацію зрілого епітелію каналців, або забезпечується наявністю резидентного пулу клітин-попередників у тканині нирок [137, 178]. Регенерація через дедиференціацію полягає у послідовності гістологічних змін, які включають втрату морфології зрілого епітелію, епітеліально-мезенхімальний перехід, проліферацію для заміни втрачених клітин і повторну диференціацію [98].

Процес відновлення ниркової тканини на тлі токсичного впливу етанолу проходить в 4 етапи. На першому етапі спостерігається відмирання

епітелію каналців шляхом апоптозу, некрозу або іншим способом, що часто супроводжується запальною реакцією. На другому етапі незруйновані трубчасті клітини змінюють свій фенотип: втрачають щіткову облямівку, сплющуються та швидко втрачають полярність [232, 243]. Третя фаза пов'язана з підвищенням рівнів факторів росту, таких як IGF-1, фактор росту фібробластів, що веде до посилення проліферації більшості клітин нирок. Фактори росту стимулюють клітини у фазі G_0 і сприяють їх входженню в клітинний цикл [98]. Процес регенерації припиняється після відновлення нормальної структури епітеліальних клітин нефрона [283].

Окремо, варто звернути увагу на роль протизапальних макрофагів M2, які індують імунні реакції типу Th2, продукують TGF- β та протизапальні цитокіни, перетворюються в міофібробласти α SMA+ у пошкодженій нирці, що сприяє пригніченню імунних реакцій та заповнення дефекту фіброзною тканиною [287].

1.2. Роль гідроген сульфіду в механізмах ураження внутрішніх органів за алкогольної інтоксикації

Характеристика гідроген сульфіду, особливостей його біосинтезу та утилізації. Гідроген сульфід (H_2S) раніше розглядався як токсичний газ, який у високих концентраціях інгібує тканинне дихання шляхом блокування цитохром С-оксидази дихального ланцюга [121]. Однак, починаючи з середини 1990-х років, думки науковців щодо біологічної ролі H_2S почали змінюватись, адже було показано наявність у цієї молекули нейромодуляторних властивостей [96]. Відтоді, H_2S був класифікований як третій газотрансмітер, поряд з монооксидом вуглецю та оксидом азоту, і розпочались інтенсивні наукові дослідження щодо його біологічних ефектів у нормі та за різних патологічних станів [279, 280].

Показано, що H_2S є важливим неорганічним відновником, який синтезується в достатніх кількостях у тканинах печінки, нирок, серця, судин,

підшлункової залози, мозку та ін [10, 38, 110, 153]. Основними попередниками синтезу H_2S є сірковмісні амінокислоти L-цистеїн та L-гомоцистеїну. Утворення H_2S відбувається переважно ензиматичним шляхом в реакціях, які каталізуються трьома основними ферментами - цистатіонін- γ -ліазою (ЦГЛ), цистатіонін- β -синтазою (ЦБС) та цистеїнамінотрансферазою (ЦАТ), супряженою з 3-меркаптопіруватсульфуртрансферазою (3-МСТ) [147, 213, 226].

Синтез H_2S за участі ЦГЛ здійснюється у ході наступних реакцій [101, 150, 182]:

- гідролітичного розщеплення L-цистеїну: $\text{L-цистеїн} + \text{H}_2\text{O} = \text{H}_2\text{S} + \text{NH}_3 + \text{Піруват}$;
 - гідролізу L-гомоцистеїну: $\text{L-гомоцистеїн} + \text{H}_2\text{O} = \text{H}_2\text{S} + \text{NH}_3 + \alpha\text{-кетобутират}$;
 - конденсації двох молекул L-гомоцистеїну: $2\text{L-гомоцистеїн} = \text{H}_2\text{S} + \text{Гомолантіонін}$
 - конденсації двох молекул L-цистеїну: $2\text{L-цистеїн} = \text{H}_2\text{S} + \text{Лантіонін}$.
- ЦБС каталізує синтез H_2S в таких реакціях:
- конденсації L-гомоцистеїну та L-цистеїну: $\text{L-гомоцистеїн} + \text{L-цистеїн} = \text{H}_2\text{S} + \text{Цистатіонін}$;
 - гідролітичного розщеплення L-цистеїну: $\text{L-цистеїн} + \text{H}_2\text{O} = \text{H}_2\text{S} + \text{Серин}$.

Утворення H_2S за участі системи двох ферментів ЦАТ/3-МСТ відбувається у ході послідовних реакцій:

- 1) $\text{L-цистеїн} + \alpha\text{-кетоглутарат} = 3\text{-меркаптопіруват} + \text{L-глутамат}$;
- 2) $3\text{-меркаптопіруват} + 2 \text{ Глутатіон відновлений (GSH)} = \text{H}_2\text{S} + \text{Глутатіон окиснений (GSSG)} + \text{Піруват}$ [249].

Слід зауважити, що частина H_2S може утворюватись в кишечнику з сульфатів неферментативним шляхом за участі кишкових бактерій [253]. Нещодавно було показано, що важливим джерелом H_2S може бути

селензв'язуючий білок-1 [238], який до того ж є маркером пошкодження нирок, спричиненого важкими металами [186].

Баланс H_2S в тканинах та органах залежить не лише від активності реакцій синтезу, а й швидкості його утилізації. На сьогодні відомо, що утилізація H_2S відбувається шляхом його окиснення в мітохондріях клітин за участі ферментів оксидоредуктаз і супроводжується послідовним утворенням тіосульфатів, сульфітів та сульфатів [182].

Фізіологічне та патогенетичне значення H_2S

Біологічна роль H_2S є багатогранною, адже він є регулятором великої кількості фізіологічних та біохімічних процесів. Так, показано, що H_2S є регулятором клітинного циклу, аутофагії, апоптозу, клітинного старіння [171, 213, 229, 299, 315], виконує роль цитопротектора та антиоксиданта [248, 286]. Нещодавні дослідження засвідчили, що застосування донора H_2S (NaHS або Na_2S) за токсичного тетрахлорметанового ураження печінки викликає зменшення продукції АФК, швидкості вільнорадикальних процесів, активності CYP2E1, а також підвищення рівня глутатіону, активності антиоксидантних ферментів (СОД, глутатіонпероксидази, каталази та глутатіон S-трансферази) в гепатоцитах [263, 304, 316].

H_2S є потужним вазодилітатором, подібно до монооксиду вуглецю і оксиду азоту. Судинорозширювальна дія H_2S асоціюється з його здатністю активувати АТФ-чутливі калієві канали гладеньких м'язів судин, посилювати продукцію оксиду азоту ендотеліальною ізоформою NO-синтази, а також зменшувати синтез вазоконстриктора ангіотензину-II [108, 130, 168, 203].

Вплив H_2S на активність запальної реакції є досить неоднозначним і залежить від його дози [281]. В одних дослідженнях наголошується на прозапальних ефектах донорів H_2S [237, 262]. Було встановлено, що використання інгібіторів синтезу H_2S значно зменшує активність запального процесу за експериментального гострого панкреатиту [106]. В багатьох інших роботах [146, 210] повідомляється про наявність у донорів H_2S потужних протизапальних властивостей. Встановлено, що використання S-диклофенаку,

який вивільняє H_2S , зменшує карагенін-індукований набряк задньої лапки щурів [251]. За геморагічного шоку натрій гідрогенсульфід зменшував активність запалення та апоптозу в легенях щурів, що пов'язують зі зниженням продукції прозапального цитокіну $TNF-\alpha$ [293]. Активація синтезу H_2S в мозку зменшує виразність нейрозапалення на тлі церебральної ішемії [311]. Донори H_2S інгібують експресію ядерного фактору $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$), одого із основних регуляторів запалення, а також зменшують продукцію прозапальних цитокінів, хемокінів та молекул адгезії [184, 277, 302, 306].

В нирках H_2S стимулює процеси фільтрації (через активацію K_{ATP} -каналів гладеньких міоцитів судин) та інгібує каналцеву реабсорбцію натрію (через блокування Na^+-K^+-ATP ази каналців нефрона), що спричиняє посилення діурезу та екскреції натрію з організму [105]. В β -клітинах підшлункової залози донори H_2S інгібують секрецію інсуліну через взаємодію з K_{ATP} -каналами острівкових клітин [172, 231, 235, 300]. У печінці H_2S бере участь у мітохондріальному біогенезі, стимулює біоенергетику, підвищує чутливість рецепторів до інсуліну та стимулює синтез ліпопротеїдів [207].

H_2S залучений до регуляції ліпідного обміну. Так, введення $NaHS$ у мишей з ожирінням зменшує ліпідемію (за рахунок зниження в крові рівнів тригліцеридів та загального холестеролу), що асоціюється зі зниженням активності синтази жирних кислот та підвищенням активності карнітинпальмітоїлтрансферази-1 у печінці [286].

H_2S модифікує регуляторні білки, що веде до зміни функції, структури та стабільності білків. Модифікація білків реалізується через такі механізми: 1) H_2S зв'язується з кофакторами перехідних металів у складі активного центру протеїнів; 2) персульфідація білків або пептидів шляхом взаємодії з залишками цистеїну [123]. Показано, що персульфідація білків підвищує їх захист від шкідливих окиснювальних модифікацій [180], що було показано при токсичних ураженнях різних органів, в тому числі печінки та нирок [242, 284].

Зниження базального вмісту H_2S у плазмі крові спостерігають у хворих з артеріальною гіпертензією, ішемічною хворобою серця, тромбозами глибоких вен нижніх кінцівок, хворобою Альцгеймера, гіпергомоцистеїнемією [199]. Ендогенна продукція H_2S знижується також при хронічній хворобі нирок, гепатитах та цирозах, а використання донорів H_2S виявляє виразний нефро- та гепатопротекторний ефекти [110, 222].

Підвищення рівня H_2S реєструється при синдромі Дауна, декомпенсованому цирозі печінки, неалкогольному стеатогепатиті, сепсисі, ішемічному інсульті, хронічних обструктивних захворюваннях легень, гострому панкреатиті, ендотоксемії [138, 141, 202, 261, 305].

Роль гідроген сульфїду в механїзмах алкогольного ураження внутрішніх органів

На сьогодні інформація щодо ролі H_2S в механізмах токсичної дії алкоголю та органопротекції є досить обмеженою [240]. Показано, що за хронічного алкогольного гепатиту реєструється зменшення рівня сульфід-аніону в печінці [43]. Поряд з цим відомо, що донори H_2S пригнічують активність АлкДГ в печінці та зменшують утворення токсичного ацетальдегіду [167]. Використання донору H_2S натрій гідрогенсульфїду значно зменшувало виразність фіброзу міокарду за алкогольної кардіоміопатії [188]. Існують дані, що донори H_2S , пригнічують індуковане алкоголем пошкодження печінки. Так, за експериментальної алкогольної інтоксикації введення діалїлтрисульфїду, діалїлдисульфїду, часникової олії або часникового полісахариду значно обмежувало накопичення ліпідів в печінці [117, 276, 310], зменшувалась активність запалення, апоптозу, цитолїзу гепатоцитів, оксидативного стресу, що асоціювалось з підвищенням рівня гемоксигенази-1 (через транскрипційний фактор Nrf2) та зростанням рівня глутатїону [117, 120, 158, 240]. Застосування препаратів, які вивільняють H_2S , за тривалої алкоголізації зменшує прояви запалення, пошкодження ДНК клітин та покращує мікроциркуляцію слизової оболонки шлунка [100]. Залишається практично невивченим питання щодо ролі системи H_2S в

механізмах розвитку гострого алкогольного ураження печінки й нирок та цитопротекції, що потребує подальшого вивчення.

1.3 Принципи патогенетичної терапії алкогольного ураження внутрішніх органів

Найбільш ефективною стратегією терапії патологій, що асоційовані з алкоголем, є повна відмова від його приймання [41, 97]. Наявність множинних ланок патогенезу алкогольного ураження внутрішніх органів зумовлює доцільність їх адекватної медикаментозної корекції, зокрема, проведення протизапальної, гепатопротекторної, метаболічної, сорбційної терапії тощо [2, 78].

Протизапальна терапія алкогольного ураження внутрішніх органів

Стандарт лікування хворих на АГ за останні кілька десятиліть не змінився, однак смертність хворих на дану патологію залишається високою (15-50%). Це свідчить про значну прогалину в розробці нових методів лікування та підкреслює відсутність уваги до алкогольного гепатиту [177].

На першому місці при тяжкій формі АГ стоїть терапія глюкокортикостероїдами, застосування яких обумовлено їх блокуючою дією на цитотоксичні та запальні механізми розвитку захворювання [254]. Поміж тим, результати нещодавнього мета-аналізу численних клінічних досліджень, які включали дані знакового дослідження STORAN, показали, що кортикостероїди за важкого АГ мають короткотривалий та незначний ефект [198]. Ці дані співставні і з результатами інших дослідників, які не знайшли переконливих доказів, демонструючих різницю між групами терапії кортикостероїдами та плацебо у впливі на показники смертності, якості життя пацієнтів, частоти серйозних небажаних явищ під час терапії у хворих на АГ [246]. З урахуванням вищесказаного однозначно важко стверджувати факт користі або шкоди призначення глюкокортикостероїдів у терапії алкогольного ураження печінки.

Задля усунення токсичної дії етанолу на організм, доцільним є призначення препаратів, що прискорюють його метаболізм. Одним з таких препаратів є метадоксин, який, як вважають, підвищує концентрацію глутатіону в печінці, активує АлкДГ та має виражені центральні ефекти – холінергічну дію на ЦНС, підвищує рівень допаміну та зниженує вміст глутамату [5]. Метадоксин, що використовувався у комбінації зі стероїдом або пентоксифіліном, покращував виживання пацієнтів на АГ [244].

Ще одним препаратом, який широко використовується для лікування алкогольного ураження печінки є неселективний інгібітор фосфодіестерази пентоксифілін [244]. Показано, що пентоксифілін знижує продукцію $TNF\alpha$ та інших прозапальних цитокінів, збільшуючи внутрішньоклітинний вміст цАМФ, зменшує активність нейтрофілів, пригнічує проліферацію моноцитів та лімфоцитів. Він зменшує частоту розвитку гепаторенального синдрому. Однак, поступається стероїдам за протизапальною активністю [135, 154, 198].

Багатообіцяючим новим терапевтичним засобом для лікування алкогольних уражень внутрішніх органів є інтерлейкін-22 (IL-22), який у доклінічних дослідженнях показав потужні антиапоптозну, протизапальну, антистеатозну та проліферативну дії [195]. Попередні дані відкритого невеликого когортного дослідження з застосуванням IL-22 показали високу ефективність та хороший профіль безпеки при лікуванні пацієнтів з алкогольним гепатитом [99, 257].

Проведення анти-TNF-терапія показало високу ефективність на щурах за тривалої алкоголізації. Однак, клінічні дослідження щодо використання блокаторів $TNF\alpha$ або рецепторів TNF довелося припинити через збільшення частоти розвитку інфекцій [230].

Відомо, що запалення є важливим патогенетичним чинником розвитку фіброзу органів за алкогольної інтоксикації [194, 235, 308]. Важливим профіброгенним чинником є прозапальний цитокін TGF- β , який стимулює розвиток сполучної тканини в печінці та нирках. На сьогодні проводяться

досить крупні дослідження щодо вивчення цитопротекторних властивостей інгібіторів TGF- β , зокрема, дапагліфлозину за тривалої алкоголізації [291]. Експериментальні дослідження показали, що використання дапагліфлозину за алкогольного ураження нирок виявляє потужну нефропротекторну дію, яка характеризується зменшенням ниркової гіпоксії, активності запальної реакції та проявів фіброзу нирок [93].

Особливий інтерес за алкогольного ураження органів представляє використання гранулоцитарно-колонієстимулюючого фактора (G-CSF). Показано, що G-CSF посилює регенерацію клітин печінки, адже стимулює кістковий мозок до вивільнення стовбурових клітин (CD34+) та їх диференціювання в зрілі гепатоцити, а також проліферацію клітин-попередників гепатоцитів у холангіоцитах [212, 218, 237, 253].

Значення ентеросорбції у терапії алкогольного ураження внутрішніх органів

Враховуючи особливості патогенезу алкогольної хвороби, використання ентеросорбції є повністю виправданим. Регулярне вживання алкогольних напоїв підвищення проникність бар'єру кишечника, сприяє зростанню чисельності грамнегативної флори. У свою чергу патогенна флора починає синтезувати ендотоксин, який в надмірній кількості проникає в центральний кровотік шляхом транслокації і сприяє розвитку ендотоксикозу [175, 204, 218, 257, 292]. Розвиток ендотоксикозу, в свою чергу, підтримує метаболічні порушення в організмі, ініційовані вживанням алкоголю. Використання сучасної ентеросорбції спрямоване на запобігання надлишковому надходженню ендотоксину в сироватку крові. Терапевтичний ефект дії ентеросорбенту досягається його здатністю зв'язувати і виводити з організму токсичні продукти – мікроорганізми і їх токсини, отрути, надлишок продуктів обміну й інші шкідливі для організму субстанції шляхом ад- і абсорбції, іоного обміну або комплексоутворення. Патогенетично найбільш істотний детоксикаційний ефект ентеросорбції пов'язаний із поглинанням токсичних продуктів, які не тільки утворюються,

але й секретуються в порожнину кишечника [1, 27].

Застосування антиоксидантів в терапії алкогольної ураження внутрішніх органів

Враховуючи центральну роль окисного пошкодження в патогенезі алкогольного ураження органів, використання антиоксидантів для його корекції привертає велику увагу [145].

Патогенетичні процеси, зумовлені алкогольною інтоксикацією, розглядаються як захисно-приспосувальні, в основі яких лежить мітохондріальна дисфункція, а саме зміни у сукцинат-керованому диханні [157]. Компенсаторний механізм здатний підтримувати нормальну продукцію енергії в клітині при достатньому вмісті в мітохондріях субстрату окиснення - янтарної кислоти [52]. Янтарна кислота бере участь у енергозабезпеченні та відновлює NAD-залежне клітинне дихання, підвищує стійкість мембран гепатоцитів до ПОЛ. В умовах ішемії янтарна кислота, що виділяється гепатоцитами, виступає як паракринний агент і через рецептори SUCNR1 активує клітини Іто печінки, основним завданням яких є її регенерація.

Потужною антиоксидантною дією володіє і вітчизняний препарат «Глутаргін» [33], діюча речовина якого L-аргініну - L-глутамат. Застосування препарату сприяє зменшенню інтенсивності процесів ПОЛ, зростанню пулу відновленого глутатіону, збільшенню активності мітохондріальних ферментів, що супроводжується зростанням синтезу оксиду азоту на тлі зниження рівня показників ендогенної інтоксикації [87]. Глутамінова кислота як попередник глутатіонпероксидази і глутатіонтрансферази, ферментів здатних утилізувати синглетний кисень, відіграє провідну роль у регуляції процесів ПОЛ в організмі та надає препарату антиоксидантних властивостей, стимулюючи утворення оксиду азоту [21]. L - аргінін є субстратом не лише для утворення оксиду азоту, а й цитруліну [14, 85], інгібує синтез ендотеліну-I, який є потужним вазоконстриктором, і забезпечує антигіпоксичну дію препарату [91]. Окрім

того, амінокислоти, які входять до складу глутаргіну, беруть участь у метаболічних процесах, зокрема в знешкодження аміаку [26].

Патогенетичне значення застосування кверцетину у терапії алкогольного ураження внутрішніх органів

Для корекції порушень функцій органів, спричинених активацією ПОЛ, широко використовують антиоксиданти прямої дії - біофлавоноїди, що мають безпосередню антирадикальну активність, підтверджену в дослідженнях *in vivo* та *in vitro* [301, 314]. Найпопулярнішим серед них є біофлавоноїд кверцетин, який застосовується при ушкодженні печінки, серця, нирок, неврологічних розладах [128, 131, 233] завдяки здатності пригнічувати продукцію АФК та активності окисних ферментів (ліпоксигенази та ксантинооксидази), пригнічувати запальні процеси та регулювати вміст оксиду азоту [173, 228]. Однак, погана розчинність і всмоктування в кишечнику, а також швидка нейтралізація після перорального прийому «парадокс флавоноїдів» [152, 271] значно обмежують біодоступність цього біофлавоноїду. Розробка групою українських учених [50] водорозчинного аналогу кверцетину – «Корвітину» – усунула головний недолік таблетованих форм. Корвітин має багаторівневу фармакологічну ефективність, а саме високий антиоксидантний потенціал, потужну блокаторну активність щодо 5-ліпоксигенази, імуномодулювальні властивості, а також здатність ініціювати вивільнення дилатуючого чинника – оксиду азоту [88]. Кверцетин спричиняє значне збільшення тканинного кровотоку в слизовій оболонці шлунка та печінки щурів, а також посилює жовчовиділення, вміст як вільних, так і кон'югованих з амінокислотами жовчних кислот [35, 274].

За даними літератури, кверцетин володіє також протипухлинною, мембраностабілізуючою [126, 216], гіполіпідемічною, протимікробною та гіпоглікемічною діями [275]. Крім того, кверцетин сприяє ліпофагії, що підтверджується зниженням рівня периліпіну 2 та підвищенням активності протеїнкінази, асоційованої з аденозин-5-монофосфатом (АМРК). У сукупності ці результати свідчать про те, що регулярне споживання

кверцетину відіграє значну роль у запобіганні стеатозу печінки, спричиненого хронічним споживанням етанолу, і цей механізм може бути пов'язаний з очевидним регуляторним впливом кверцетину на ліпофагію [309].

Серед ефектів кверцетину слід відзначити його здатність активувати Акт-кіназу, яка бере участь у регуляції проліферації, росту та виживанні клітин [118, 128]. Протизапальні властивості препарату пов'язані з експресією γ -рецепторів, зниженням рівня TNF- α , С-реактивного білка, пригніченням синтезу лейкотрієнів [103]. Нещодавні дослідження демонструють, що кверцетин пригнічує активність CYP2E1 в печінці, що зменшує етанол-індукований оксидативний стрес [220, 295, 313]. Препарат також знижує генерацію мітохондріальних супероксидів, стабілізує мембрани мітохондрій, зменшує пошкодження мітохондріальної ДНК [266, 267, 278, 313].

Резюме до розділу 1.

В даному розділі висвітлені сучасні дані щодо епідеміології, механізмів алкогольного ураження печінки та нирок, узагальнені дані стосовно патогенетичних принципів лікування алкогольного ураження органів та, зокрема, механізмів дії кверцетину; описана фізіологічна та патогенетична роль H_2S за алкогольного ураження внутрішніх органів. Результати цього розділу засвідчують про те, що питання патогенезу та метаболічної корекції уражень печінки та нирок за алкогольної хвороби залишаються недостатньо вивченими. Зокрема, практично не вивчена роль сигнальної системи H_2S в механізмах розвитку та фармакокорекції алкогольного ураження печінки і нирок. Вирішенню саме цього актуального завдання сучасної медицини присвячена ця дисертаційна робота.

Основні результати розділу висвітлені в наступних публікаціях: [59].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Характеристика експериментальних моделей та груп тварин

Характеристика експериментальних тварини, умови їх утримання, розподіл за серіями експериментів. Біоетичні принципи роботи з тваринами

Експериментальна частина роботи виконана відповідно до загальних етичних принципів експериментів на тваринах, регламентованих положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р., зі змінами, 1998 р.) та Законом України № 3447-IV від 21.02.2006 р. зі змінами «Про захист тварин від жорстокого поводження» [136]. Були дотримані усі положення вищевказаних документів, включаючи використання найменшої кількості тварин, достатньої для отримання достовірних результатів. Комісією з біоетики ВНМУ імені М.І. Пирогова (протокол № 8 від 25 жовтня 2018 р., протокол №7 від 01 листопада 2023 р.) не було виявлено порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи. Усі прилади, що використовувались у ході наукового дослідження, підлягали систематичному метрологічному контролю.

Експериментальне дослідження проводилось на 116 білих нелінійних статевозрілих лабораторних щурах самцях масою 150-200 г, отриманих з експериментально-біологічної клініки (віварію) Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова. До початку дослідження тварин утримували 14 днів для адаптації в умовах віварію. Експериментальні групи формувались методом випадкової вибірки з урахуванням статі та маси тіла тварин. Тварини контрольних та дослідних груп знаходились в ідентичних умовах, забір та обробка матеріалу здійснювались паралельно. При проведенні експерименту щодня спостерігали за загальним станом тварин, споживанням

корму і води, щоденно визначали масу тіла. Протягом експерименту тварини знаходились в стандартних умовах в полікарбонатних клітках зі сталевими решітчастими кришками та кормовим заглибленням. В якості підстилки використовували деревну тирсу. Лабораторних тварин годували збалансованим гранульованим кормом для гризунів та поїли охолодженою кип'яченою водою *ad libitum* у відповідності до нормативів. Світловий режим складав 12 годин світла та 12 годин темноти. Температура повітря підтримувалась в межах 18-22°C, відносна вологість повітря – 50 ± 5 % [31]. Усі маніпуляції зі щурами проводились у ранковий час (8⁰⁰-9⁰⁰ год), щоб уникнути впливу на результати досліджень циркадних ритмів фізіологічних і біохімічних процесів.

Відповідно до мети та завдань дослідження усі експериментальні тварини були поділені на 3 серії експериментів (табл. 2.1).

Моделювання гострого алкогольного ураження печінки та нирок (ГАУ). Для відтворення моделі ГАУ користувались адаптованою методикою [49]. Еспериментальним тваринам вводили 40 % водний розчин етанолу в дозі 20 мл/кг маси тіла інтрагастрально за допомогою металевого зонда з оливою протягом 7 діб. В цілому модель ГАУ вдалось відтворити у 96 лабораторних тварин, 12 тварин загинуло впродовж перших двох діб та ще 8 щурів загинуло до кінця експерименту. Отже, ефективність моделювання гострого алкогольного ураження становить 82,8 %.

Застосування кверцетину на моделі ГАУ. З метою метаболічної терапії був використаний препарат із групи біофлаваноїдів кверцетин, а саме його водорозчинна форма «Корвітин» (ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», м. Київ). Препарат має антиоксидантну, протизапальну та мембраностабілізуючу дії [126, 216, 228]. Частині тварин, у яких моделювали ГАУ, проводили метаболічну корекцію кверцетином, який вводили інтраперитонеально у вигляді свіжоприготовленого розчину (на 0,9 % розчині NaCl) в дозі 100 мг/кг маси тіла (з розрахунку 0,1 мл на 100 г маси) 1

раз на добу протягом 7 діб. За даними літератури в такій дозі препарат чинить протизапальну, антиоксидантну та репаративну дію [90, 221].

Таблиця 2.1

Розподіл щурів за серіями експериментів

№№ серій	Напрямки дослідження по серіям	Кількість тварин
1	Дослідження сироваткового рівня IGF-1, показників метаболізму H_2S (рівень H_2S , H_2S -синтезуюча активність цистатіонін- γ -ліази, швидкість утилізації H_2S), біохімічних маркерів оксидативного стресу і запалення та параметрів функціонування печінки й нирок за експериментального гострого алкогольного ураження, а також на тлі застосування кверцетину, NaHS та їх комбінації	66
2	Цитофлуориметричні дослідження показників клітинного циклу та фрагментації ядерної ДНК печінки й нирок за умов гострого алкогольного ураження, а також на тлі застосування кверцетину, NaHS та їх комбінації	25
3	Морфологічні дослідження структурної організації печінки й нирок щурів за експериментального гострого алкогольного ураження, а також на тлі застосування кверцетину, NaHS та їх комбінації	25
Усього тварин		116

Застосування натрій гідрогенсульфіду на моделі ГАУ.

В якості модулятора обміну H_2S використаний його неорганічний донор - натрій гідрогенсульфід ($NaHS \cdot H_2O$, Sigma, США). В літературі показано наявність у донора H_2S потужних гепато- та нефропротекторних властивостей [242, 284.]. Частині тварин, яким вводили 40 % розчин етанолу, з метою корекції отримували $NaHS \cdot H_2O$, який вводили інтраперитонеально у

вигляді свіжоприготовленого розчину (на 0,9 % розчині NaCl) в дозі 3 мг/кг маси (з розрахунку 0,1 мл на 100 г маси щура) 1 раз на добу протягом 7 діб. При виборі дози та шляху введення модулятора обміну H_2S користувались даними літератури [9, 159].

З метою дослідження впливу донора гідроген сульфіда на гепато- та нефропротекторні властивості кверцитину була виділена окрема група тварин, у яких на тлі моделювання ГАУ застосовували інтраперитонеально кверцетин та $NaHS \cdot H_2O$ у вищенаведених дозах протягом 7 діб.

Розподіл тварин на групи та дизайн експерименту (табл. 2.2).

Відповідно завданням дослідження експериментальні тварини були розподілені рандомно на п'ять груп.

Таблиця 2.2

Розподіл експериментальних тварин за групами та напрямками досліджень

№ групи	Назва групи	Кількість тварин у групі	Напрямки дослідження	Кількість тварин за напрямком досліджень
1.	Контрольна	20	Біохімічні та імуноферментні	n=10
			Цитофлуориметричні	n=5
			Морфологічні	n=5
2.	ГАУ	30	Біохімічні та імуноферментні	n=20
			Цитофлуориметричні	n=5
			Морфологічні	n=5
3.	ГАУ + кверцетин	22	Біохімічні та імуноферментні	n=12
			Цитофлуориметричні	n=5
			Морфологічні	n=5
4.	ГАУ + NaHS	22	Біохімічні та імуноферментні	n=12
			Цитофлуориметричні	n=5
			Морфологічні	n=5
5.	ГАУ + кверцетин + NaHS	22	Біохімічні та імуноферментні	n=12
			Цитофлуориметричні	n=5
			Морфологічні	n=5

Перша група – контрольна, тварини отримували еквівалентну кількість розчинника 1 раз на добу протягом 7 діб. У щурів другої, третьої, четвертої та п'ятої груп моделювали ГАУ шляхом інтрагастрального введення 40 % розчину етанолу. Тварини 3-ї групи з метою корекції отримували інтраперитонеально кверцетин, 4-ої групи – NaHS, а 5-ї групи – комбінацію кверцетину та NaHS. Тривалість введення етанолу та речовин для корекції складала 7 днів; детальний опис доз введення досліджуваних речовин наведений вище.

2.2 Методи дослідження

2.2.1 Біохімічні методи

Біохімічні дослідження виконані на базі кафедри біологічної та загальної хімії і сертифікованої МОЗ України науково-дослідної клініко-діагностичної лабораторії ВНМУ ім. М. І. Пирогова (свідоцтво МОЗ України про переатестацію № 049/15 від 02.03.2015 р.).

Техніка забору та приготування проб біологічного матеріалу для біохімічних досліджень.

Для досліджень використовували сироватку крові, сечу та пост'ядерний супернатант гомогенату печінки й нирок.

Кров отримували під час декапітації, центрифугували при 1500 g 20 хв за температури 18-22 °С, відбирали аліквоти сироватки крові в мікропробірки Eppendorf і до проведення досліджень зберігали при -20 °С.

З сьомої доби експерименту щурам усіх груп інтрагастрально вводили питну воду (1 мл на 100 г маси) з метою водного навантаження організму для забору сечі. Надалі тварини відсаджувались в окремі клітки. Впродовж шести годин проводили забір сечі. Далі сечу перемішували та

центрифугували впродовж 15 хв при 1500 g, аліквоти відбирали в мікропробірки типу Eppendorf і зберігали при -20°C .

Для визначення рівня H_2S супернатант гомогенату печінки та нирок отримували наступним методом: органи промивали холодним 1,15% розчином KCl , подрібнювали та гомогенізували в середовищі 0,01 М NaOH у співвідношенні 1:5 (маса/об'єм) при 3000 об/хв (тефлон-скло). Далі до 1 мл отриманого гомогенату додавали 0,25 мл 50% трихлороцтової кислоти, центрифугували при 1200 g 15 хв. і відбирали супернатант, який одразу використовували для досліджень.

З метою визначення інших біохімічних показників супернатант гомогенату печінки і нирок отримували наступним способом: органи були гомогенізовані в середовищі 0,25 М сахарози та 0,01 М Трис (рН 7,4) у співвідношенні 1:5 (маса/об'єм) при 3000 об/хв (тефлон-скло), далі піддавались центрифугуванню впродовж 30 хв при 600 g за температури $4-6^{\circ}\text{C}$. Аліквоти пост'ядерного супернатанту відбирали в мікропробірки Eppendorf і зберігали при -20°C до проведення досліджень.

Біохімічні дослідження показників функціонування печінки

Визначення активності аланінамінотрансферази (АЛТ) (КФ 2.6.1.2) в сироватці крові. Активність АЛТ визначали методом Райтмана-Френкеля за набором «АлАТ» (Філісіт-Діагностика, Україна). Принцип методу: внаслідок амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аланіном, яке відбувається під дією аланінамінотрансферази, утворюються L-глутамінова та піровиноградна кислоти (ПВК). Визначення базується на вимірюванні оптичної щільності 2,4-днітрофінілгідразонів 2-оксоглутарової та ПВК в лужному середовищі. Оскільки гідразон ПВК має більш високий коефіцієнт молярної екстинції, то спостерігається прямопропорційна залежність оптичної щільності реакційного розчину від активності ферменту.

Визначення активності гама-глутамілтранспептидази (ГГТП) (2.3.2.2) в сироватці крові. Активність ГГТП визначали уніфікованим методом

за набором «ГГТ» (Філісіт-Діагностика, Україна). Принцип методу: під дією ГГТП глутаміновий залишок з γ -глутаміл-4-нітроаніліда переноситься на акцептор гліцилгліцин. При цьому вивільняється хромоген п-нітроанілін. Оптичну щільність реакційного розчину вимірюють після гальмування ферментативної реакції оцтовою кислотою.

Визначення вмісту тригліцеридів у гомогенаті печінки. Рівень тригліцеридів визначали уніфікованим ферментативним колориметричним методом за набором «Тригліцериди Ф» (Філісіт-Діагностика, Україна).

Біохімічні дослідження показників функціонування нирок

Рівень креатиніну в сироватці крові і сечі тварин визначали спектрофотометричним методом за кольоровою реакцією Яффе (з пікриновою кислотою) з використанням стандартних наборів відповідно до інструкції виробника (Філісіт-Діагностика, Україна). Далі кліренс креатиніну (мл/хв) розраховували за формулою:

$$\text{Кліренс креатиніну} = \frac{C (\text{креатинін сечі}) \cdot \text{ХД} \cdot 1000}{C (\text{креатинін крові})};$$

де С (креатинін сечі) – вміст креатиніну у сечі в ммоль/л; ХД – хвилинний діурез в мл / хв; С (креатинін крові) – рівень креатиніну у сироватці крові в мкмоль/л; 1000 – коефіцієнт перерахунку ммоль / л в мкмоль / л.

Рівень білку в сироватці крові, сечі, гомогенатах печінки і нирок визначали за методом Лоурі [200].

Визначення показників обміну H_2S в печінці та нирках

Рівень H_2S оцінювали спектрофотометричним методом у супернатанті гомогенату печінки й нирок за реакцією утворення метиленового синього в присутності N,N-диметил-пара-фенілендіаміну та катіонів тривалентного заліза [282].

Активність H_2S -синтезуючого ензиму - цистатіонін- γ -ліази (ЦГЛ, КФ 4.4.1.1) визначали в супернатанті гомогенату печінки і нирок за приростом

гідроген сульфід [282], використовуючи адаптоване інкубаційне середовище, яке містило L-цистеїн 3,3 мМ, піридоксальфосфат 0,67 мМ, Трис-НСІ буфер 0,08 М (рН 8,5) [38].

Загальну швидкість утилізації екзогенного H_2S супернатантом гомогенату печінки й нирок оцінювали за зниженням рівня сульфід-аніону в інкубаційному середовищі, яке містило в кінцевих концентраціях 312 мкМ Na_2S та 0,47 мМ Трис-НСІ буферу (рН 7,4) [22].

Визначення біохімічних маркерів оксидативного стресу

Визначення вмісту малонового діальдегіду (МДА) в сироватці крові, гомогенатах печінки та нирок. Вміст МДА визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою. Принцип методу: в кислому середовищі при високій температурі речовини реагують з тіобарбітуровою кислотою з утворенням забарвленого комплексу з максимумом поглинання при довжині хвилі 535 нм [215].

Визначення активності супероксиддисмутази в сироватці крові, гомогенатах печінки та нирок (СОД, К.Ф.1.15.1.1). Активність СОД визначали спектрофотометричним методом за відсотком гальмування окиснення кверцетину [4].

2.2.2 Імуноферментні методи

Імуноферментні дослідження виконані на базі сертифікованої МОЗ України науково-дослідної клініко-діагностичної лабораторії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (свідоцтво про переатестацію №049/15 від 02.03.2015).

Визначення вмісту інсуліноподібного фактору росту (IGF-1) в сироватці крові. Вміст IGF-1 визначали імуноферментним методом за набором «m/r IGF-1-ELISA (IGFBP-blocked)» (Mediagnost, Німеччина) відповідно до інструкції фірми-виробника.

В лунки планшетів, на стінках яких адсорбовані антитіла до IGF-1, додавали по 50 мкл кон'югату біотинильованих анти-IGF-1, 50 мкл стандартних розчинів (з відомими концентраціями IGF-1 – 0; 0,5; 2,5; 6,0; 12,0; 18,0 пг/мл), контрольних проб та проб сироватки крові, герметизували адгезивною плівкою, інкубували 1 год. при 18-25°C на шейкері (350 rpm). Лунки відмивали від надлишку незв'язаних реагентів і вносили по 100 мкл ензимного кон'югату (стрептавідин-пероксидаза хрину), герметизували адгезивною плівкою, інкубували 30 хвилин при 18-25°C на шейкері (350 rpm). Лунки відмивали від надлишку реагентів, вносили 100 мкл хромогену – тетраметилбензидину (ТМВ-субстрату), інкубували 30 хв. при 18-25°C в темноті, реакцію зупиняли 100 мкл стоп-розчину і фотометрували при 450 нм (диференційний фільтр 630 нм) на автоматичному аналізаторі STAT FAX 303/PLUS. При обчисленні результатів враховували фактор розведення проб. Коефіцієнт варіації < 10%, аналітична чутливість методу < 0,029 нг/мл IGF-1.

Визначення вмісту фактору некрозу пухлин (TNF α) в гомогенатах печінки та нирок.

Вміст TNF α визначали за набором Rat TNF α Immunoassay (ELISA Quantikine, USA) відповідно до інструкції фірми виробника. В лунки планшетів, на стінках яких адсорбовані антитіла до TNF α додавали по 50 мкл буферного розчину, 50 мкл стандартних розчинів, контрольних та дослідних проб, герметизували адгезивною плівкою, інкубували 120 хв при 22 °C. Лунки відмивали від надлишку незв'язаних реагентів, вносили по 100 мкл ензимного кон'югату, герметизували адгезивною плівкою, інкубували 120 хв при 22 °C. Лунки відмивали від надлишку реагентів, вносили 100 мкл ТМВ-субстрату, інкубували 30 хв у темряві, додавали 100 мкл стоп-розчину для зупинки реакції. Детекцію проводили при 450 нм (диференційний фільтр 630 нм) на фотооптичному аналізаторі Stat Fax 303/Plus (США). Чутливість методу \leq 50 пг/мл, коефіцієнт варіації \leq 10 %.

2.2.3 Цитофлуориметричний метод

Дослідження виконані в науково-дослідній лабораторії функціональної морфології та генетики розвитку Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (свідоцтво про атестацію № 050/15).

Визначення вмісту ДНК в ядрах клітин печінки та кіркової речовини нирок щурів. Суспензії ядер з клітин печінки та кіркової речовини нирок щурів були отримані за допомогою наборів для дослідження ядерної ДНК CyStain DNA Step 1 відповідно до їх інструкцій. Дані набори дозволяють виконувати екстракцію ядер та маркувати ядерну ДНК діамідинофеніліндолом (DAPI). Враховуючи той факт, що регенерація різних ділянок печінки відбувається неоднаково [255], ми проводили забір зразків тканини печінки та кіркової речовини нирок для проведення досліджень проточної цитометрії з аналогічної ділянки в усіх піддослідних тварин. Також для виготовлення ядерних суспензій використовувались одноразові фільтри CellTrics 50 мкм фірми Partec (Німеччина).

Проточний аналіз виконувався на багатофункціональному науково-дослідному проточному цитометрі "Partec PAS" фірми Partec (Німеччина). Для збудження флуоресценції DAPI застосовувалось УФ-випромінювання.

Аналіз клітинного циклу виконувався засобами програмного забезпечення FloMax Partec (Німеччина) у повній цифровій відповідності згідно математичної моделі, де визначались:

G0G1 - процентне співвідношення клітин у фазі G0G1 до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК = 2с);

S - процентне співвідношення клітин у фазі синтезу ДНК до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК > 2с та < 4с.);

G2 + M – процентне співвідношення клітин у фазі G2 + M до всіх клітин клітинного циклу (ДНК = 4с);

IP - індекс проліферації визначали як суму показників S + G2 + M;

BP – блок проліферації розраховували як співвідношення показників S та G2 + M ($S / G2 + M$)

Визначення фрагментації ДНК (як однієї з ознак апоптозу) було виконано шляхом виділення ділянки SUB-G0G1 на ДНК-гістограмах – RN2 перед піком G0G1, яка вказує на ядра клітин з вмістом ДНК <2с.

2.2.4 Гістологічні методи

Гістологічні дослідження проведені на базі Вінницького обласного патолого-анатомічного бюро (ліцензія МОЗ України АЕ № 638623 від 23.04.2015, № 240). Матеріалом для морфологічних досліджень слугували фрагменти печінки та нирок, які фіксували в 10 % розчині забуференого нейтрального формаліну (рН=7,0), щоб запобігти розкладанню. Час фіксації становив 2 доби. В подальшому шматочки тканини проводили через батарею спиртів зростаючої концентрації для дегідратації, та заключали в парафін. Виготовлення серійних парафінових зрізів товщиною 4-6 мкм проводили на санному мікротомі. Подальше виготовлення гістологічних препаратів здійснювалося за загальноприйнятою методикою [12]. Забарвлення препаратів здійснювали гематоксиліном і еозином для аналізу ступеня ушкодження та репаративної регенерації тканини печінки й нирок щурів в умовах ПАУ та на фоні медикаментозної корекції. Печінку також забарвлювали суданом – III для виявлення жирової інфільтрації органу. Гістологічні препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа SEO SCAN та фотодокументували за допомогою відеокамери Vision CCD Camera з системою виводу зображення з гістологічних препаратів.

2.2.5 Статистичні методи

Для формування бази даних було використано редактор електронних таблиць Microsoft Excel 2010. Обробка результатів виконувались методом

варіаційної статистики, що було основою для узагальнення результатів. Обробку даних під час статистичного аналізу проводили за допомогою офісного пакета Microsoft Excel та пакету Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США).

Оцінювали правильність розподілу ознак за кожним з отриманих варіаційних рядів, середні значення кожної ознаки та середню похибку. Також вираховували показники медіани та перцентилі (P₅-P₉₅). Для перевірки нормальності розподілу користувались критерієм Шапіро-Уїлка. Статистична оцінка достовірності різниці між середніми показниками у випадку нормального розподілу проводилась з використанням параметричного t-критерія Стюдента, а якщо розподіл відхилявся від нормального користувались непараметричним U-критерієм Манна-Уїтні. Розбіжності вважалися вірогідними при $p \leq 0,05$. Аналіз кореляцій між показниками проводили за допомогою статистики Спірмена [15]. Інтерпретація коефіцієнта кореляції проводилася виходячи з рівня сили зв'язку: $r > 0,01 \leq 0,29$ – слабкий позитивний зв'язок, $r > 0,30 \leq 0,69$ – помірний (середньої сили) позитивний зв'язок, $r > 0,70 \leq 1,00$ – сильний позитивний зв'язок, $r > -0,01 \leq -0,29$ – слабкий негативний зв'язок, $r > -0,30 \leq -0,69$ – помірний (середньої сили) негативний зв'язок, $r > -0,70 \leq -1,00$ – сильний негативний зв'язок.

Резюме до розділу 2.

Використані експериментальні моделі та методи дослідження дозволяють об'єктивно та комплексно оцінити значення системи H₂S в механізмах гепато- та нефропротекторної дії кверцетину за умов ГАУ та створити підґрунтя для пошуку нових методів фармакокорекції алкогольного ураження печінки та нирок.

Основні результати розділу висвітлені в наступних публікаціях: [49, 63].

РОЗДІЛ 3

ВМІСТ IGF-1 В СИРОВАТЦІ КРОВІ ТА СТАН СИСТЕМИ H_2S /ЦГЛ В
ТКАНИНАХ ПЕЧІНКИ Й НИРОК ЗА ГОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО
УРАЖЕННЯ І НА ТЛІ МЕТАБОЛІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ

Інсуліноподібний фактор росту (IGF-1) є важливою сигнальною системою в печінці та нирках, що асоціюється зі здатністю регулювати фізіологічні функції та метаболічні процеси (виявляє антиоксидантну, цитопротекторну дії, зменшує чутливість рецепторів до інсуліну, активує протеосинтез та ліполіз в печінці, стимулює клубочкову фільтрацію, реабсорбцію води, йонів натрію, фосфат-аніонів та синтез кальцитріолу в нирках), а також стимулювати регенерацію тканин і органів [156, 260]. Показано, що на тлі гострої токсичної та ішемічної нефропатії вміст IGF-1 вірогідно зростає, тоді як зміни рівня IGF-1 за гострих уражень печінки залишаються до кінця невивченими. Поряд з цим в літературі існує цілий ряд публікацій у яких наведені переконливі докази наявності у IGF-1 потужних гепато- та нефропротекторних властивостей на різних експериментальних моделях гострого та хронічного ураження печінки й нирок [129, 156].

Важливу роль в регуляції функціонування печінки та нирок в нормі та при патології відіграє ще одна сигнальна система - H_2S /ЦГЛ. Показано, що H_2S виявляє властивості антиоксиданта, цитопротектора, мембраностабілізатора, вазодилататора, антиагреганта, збільшує чутливість рецепторів в печінці до інсуліну, стимулює процеси фільтрації та реабсорбції в нирках, регулює кислотно-лужну рівновагу [116, 284]. На сьогодні практично відсутні дані щодо ролі системи H_2S в механізмах пошкодження та регенерації тканин печінки та нирок за гострого алкогольного ураження. Існують лише поодинокі публікації у яких показано, що донори H_2S виявляють гепатопротекторні властивості за гострого алкогольного гепатиту [117]. Поряд з цим недослідженим залишається питання щодо наявності ймовірних

взаємозв'язків між двома сигнальними системами (IGF-1 та H₂S) за гострого алкогольного ураження печінки та нирок.

Метою цього розділу було оцінити зміни сироваткового рівня сигнальної молекули IGF-1 та параметрів метаболізму H₂S в печінці та нирках щурів за ГАУ і на тлі застосованої терапії.

3.1 Дослідження сироваткового рівня IGF-1 у щурів за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції

Результати дослідження сироваткового рівня IGF-1 у щурів контрольної групи, а також за умов ГАУ і на тлі застосованого лікування наведені в табл. 3.1 та рис. 3.1.

Встановлено, що у щурів контрольної групи вміст IGF-1 у сироватці крові є невисоким, його медіана становила 262 (95 % СІ 217-305) нг/мл, а інтерквартильний інтервал P₂₅-P₇₅ перебував у діапазоні 255-283 нг/мл.

ГАУ спричиняло вірогідне зростання середньої величини сироваткового рівня IGF-1 на 23,9 % порівняно з показником контрольної групи тварин. За цих умов медіана сироваткового рівня IGF-1 становила 325 (95 % СІ 250-390) нг/мл, а інтерквартильний інтервал P₂₅-P₇₅ знаходився у межах 292-355 нг/мл.

Таблиця 3.1

Вплив ГАУ на вміст IGF-1 в сироватці крові щурів (M±m)

№ з/п	Групи тварин	n	IGF-1, нг/мл	p
1	Контроль	10	264±9,81	<0,001
2	ГАУ	20	327±9,99	

Примітка. p – достовірність відмінностей між контрольною групою та тваринами з ГАУ

Застосована терапія відрізнялась за впливом на сироватковий рівень IGF-1. Так, за умов введення кверцетину середній показник рівня IGF-1 в сироватці вірогідно не відрізнявся від групи нелікованих тварин з ГАУ: медіана становила 306 (95 % CI 262-338) нг/мл, а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходився у межах 293-327 нг/мл.

Використання NaHS спричиняло вірогідне зростання середньої величини рівня IGF-1 в сироватці крові на 13,2 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами, а також на 21,6 % ($p < 0,05$) відносно групи щурів, які отримували лікування кверцетином. У групі тварин «ГАУ + NaHS» медіана сироваткового рівня IGF-1 становила 378 (95 % CI 314-419) нг/мл, а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходився у межах 339-395 нг/мл.

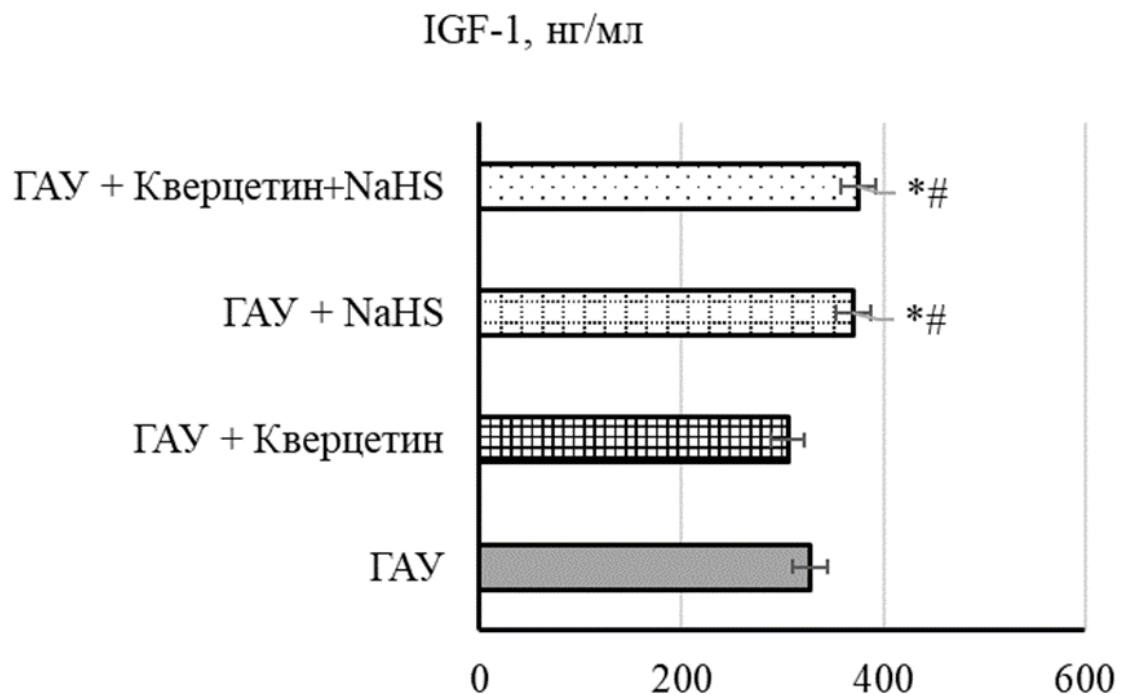


Рис 3.1 Рівень IGF-1 в сироватці крові щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції.

Примітки: 1. * - $p < 0,05$ відносно нелікованих тварин з ГАУ; 2. # - $p < 0,05$ відносно групи тварин «ГАУ + Кверцетин»

Застосування кверцетину в комбінації з NaHS викликало подібні зміни сироваткового рівня IGF-1 до таких у тварин, лікованих лише NaHS. За середнім показником рівень IGF-1 в сироватці крові був більшим на 14,7 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин, на 23,0 % перевищував показник в групі «ГАУ + Кверцетин» та вірогідно не відрізнявся від групи «ГАУ + NaHS». У групі тварин «ГАУ + Кверцетин + NaHS» медіана сироваткового рівня IGF-1 становила 374 (95 % CI 321-429) нг/мл, а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходився у межах 363-388 нг/мл.

Отже, інтрагастральне введення 40 % етанолу протягом 7 діб супроводжувалось вірогідним зростанням сироваткового рівня IGF-1, що ймовірно є компенсаторно-захисною реакцією у відповідь на ГАУ. За умов використання NaHS та його комбінації з кверцетином на тлі ГАУ відмічалась більш виразна активація IGF-1-сигнальної системи, що може бути одним із чинників їх органопротекторної дії. В той же час на тлі монотерапії кверцетином активність IGF-1-сигнальної системи вірогідно не відрізнялась від нелікованих тварин з ГАУ.

3.2 Визначення вмісту H_2S , активності ЦГЛ та швидкості утилізації H_2S в тканинах печінки й нирок та оцінка їх зв'язку з сироватковим рівнем IGF-1 у щурів за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції

Дослідження вмісту H_2S показало (табл. 3.2), що у контрольній групі в тканинах печінки та нирок медіана рівня H_2S становила відповідно 6,71 (95 % CI 4,13-7,90) та 3,53 (95 % CI 2,50-4,17) нмоль/мг протеїну, а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходився у межах 4,53-7,39 та 3,07-3,93 нмоль/мг протеїну.

Введення етанолу протягом 1 тижня супроводжувалось формування дефіциту H_2S : середній показник рівня H_2S в тканинах печінки та нирок щурів був меншим відповідно на 35,1 та 28,1 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем. Статистичний аналіз показав, що у групі нелікованих тварин з ГАУ в тканинах печінки та нирок медіана рівня H_2S становила відповідно 4,04 (95 % CI 2,54-

5,33) та 2,45 (95 % СІ 1,59-3,48) нмоль/мг протеїну, а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходився у межах 3,23-4,70 та 2,00-2,90 нмоль/мг протеїну

Таблиця 3.2

Вплив ГАУ на вміст H_2S в печінці та нирках щурів ($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	H_2S , нмоль/мг протеїну	
			печінка	нирки
1	Контроль	10	6,12±0,49	3,45±0,20
2	ГАУ	20	3,97±0,21*	2,48±0,14*

Примітка. * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) між контрольною групою та тваринами з ГАУ

Застосована фармакотерапія з різною ефективністю зменшувала дефіцит H_2S в тканинах за ГАУ (рис. 3.2). Використання монотерапії кверцетином з найменшою ефективністю зменшувало дефіцит H_2S в печінці та нирках. У групі «ГАУ + Кверцетин» середня величина рівня H_2S в тканинах печінки та нирок була більшою відповідно на 22,4 та 19,0 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами: медіана становила відповідно 4,84 (95 % СІ 3,66-6,09) та 2,99 (95 % СІ 2,07-3,79) нмоль/мг протеїну, а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходився у діапазонах 4,31-5,42 та 2,58-3,28 нмоль/мг протеїну.

Застосування NaHS за ГАУ більш ефективно коригувало рівень H_2S в тканинах ніж монотерапія кверцетином. У групі «ГАУ + NaHS» середня величина рівня H_2S в тканинах печінки та нирок була більшою відповідно на 37,5 та 29,0 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами: медіана становила відповідно 5,59 (95 % СІ 3,63-6,91) та 3,07 (95 % СІ 2,32-4,18) нмоль/мг протеїну, а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходився у діапазонах 4,57-6,31 та 2,85-3,61 нмоль/мг протеїну.

Найбільшу ефективність відновлювати запаси H_2S в тканинах за ГАУ виявляла комбінація кверцетину з NaHS. У групі «ГАУ + Кверцетин + NaHS»

середній показник рівня H_2S в тканинах печінки та нирок перевищував відповідно на 50,6 та 41,1 % ($p < 0,05$) нелікованих тварин, а також був більшим на 23,0 та 18,6 % ($p < 0,05$) порівняно з тваринами, лікованими кверцетином. За цих умов медіана рівня H_2S в печінці та нирках становила відповідно 5,89 (95 % СІ 3,96-7,88) та 3,78 (95 % СІ 2,42-4,24) нмоль/мг протеїну, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ знаходився у діапазонах 5,33-6,86 та 3,03-4,06 нмоль/мг протеїну.

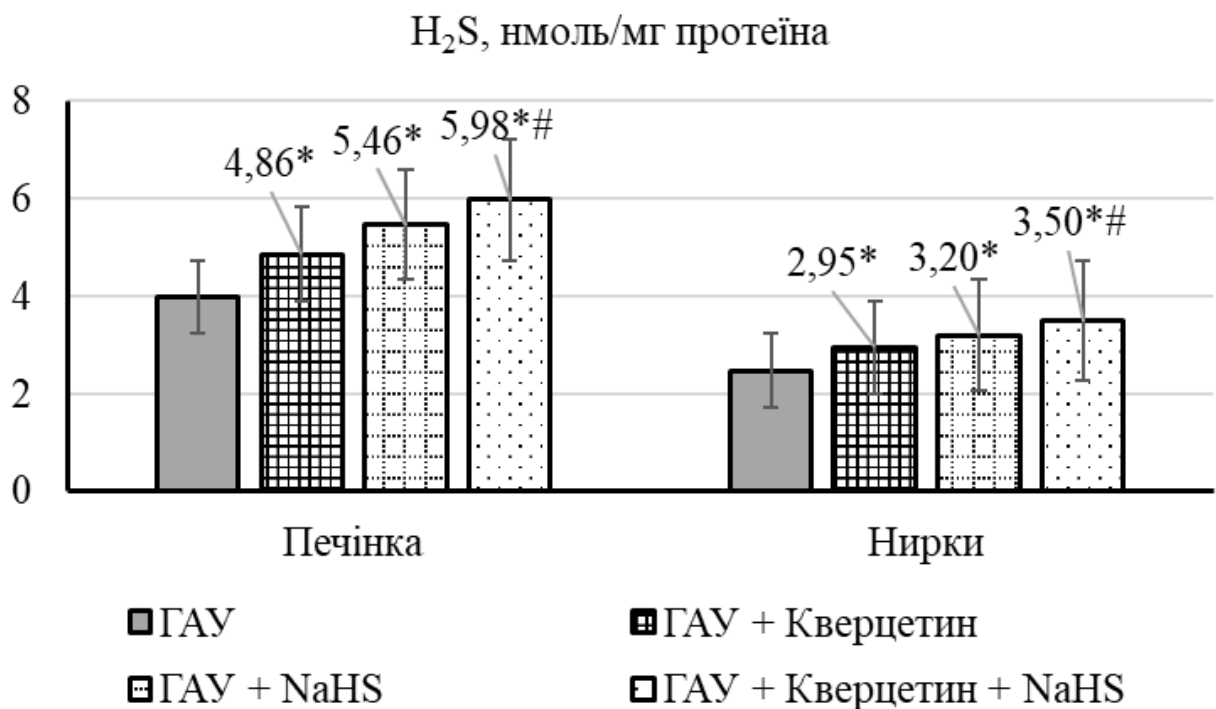


Рис 3.2 Рівень H_2S в печінці та нирках щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції.

Примітки: 1. * - $p < 0,05$ відносно нелікованих тварин з ГАУ; 2. # - $p < 0,05$ відносно групи тварин «ГАУ + Кверцетин»

Важливим чинником, який впливає на рівень H_2S в тканинах є активність ферментів, які забезпечують його синтез. Основним H_2S -синтезуючим ферментом в печінці та нирках є ЦГЛ, яка забезпечує продукцію H_2S в реакції десульфурування цистеїну. Тому подальші дослідження

присвячені вивченню змін активності ЦГЛ в печінці та нирках щурів контрольної групи і на тлі ГАУ (табл. 3.3).

З'ясувалось, що в контрольній групі тварин медіана десульфуразної активності ЦГЛ в печінці та нирках становила відповідно 3,07 (95% СІ 2,39-3,87) та 1,78 (95% СІ 1,48-2,19) нмоль/хв·мг протеїну, а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходився у діапазонах 2,84-3,55 та 1,70-2,08 нмоль/хв·мг протеїну.

ГАУ не викликало вірогідних змін H_2S -синтезуючої активності ЦГЛ в печінці та нирках відносно контрольної групи: медіана становила відповідно 3,13 (95% СІ 1,71-4,04) та 1,78 (95% СІ 1,34-2,29) нмоль/хв·мг протеїну, а інтерквартильний розмах P_{25} - P_{75} знаходився у діапазонах 2,48-3,72 та 1,47-2,05 нмоль/хв·мг протеїну.

Таблиця 3.3

Вплив ГАУ на активність ЦГЛ в печінці та нирках щурів ($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	ЦГЛ, нмоль/хв·мг протеїну	
			печінка	нирки
1	Контроль	10	3,15±0,17	1,84±0,09
2	ГАУ	20	3,02±0,19	1,78±0,08

Використання метаболічних коректорів відрізнялось за впливом на десульфуразну активність ЦГЛ в органах щурів за ГАУ (рис. 3.3). Так, застосування кверцетину не викликало вірогідних змін активності ЦГЛ в печінці та нирках щурів: медіана становила відповідно 3,06 (95% СІ 2,17-3,77) та 1,76 (95% СІ 1,40-2,31) нмоль/хв·мг протеїну, а інтерквартильний розмах P_{25} - P_{75} знаходився у діапазонах 2,64-3,46 та 1,53-2,06 нмоль/хв·мг протеїну.

Введення NaHS за ГАУ супроводжувалось статистично достовірним зростанням H_2S -синтезуючої активності ЦГЛ в печінці та нирках відповідно на 29,1 та 19,1 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин, а також на 27,9 та 17,1 % ($p < 0,05$) порівняно з монотерапією кверцетином: медіана становила

відповідно 3,79 (95% СІ 3,27-4,69) та 2,13 (95% СІ 1,80-2,41) нмоль/хв·мг протеїну, а інтерквартильний розмах P_{25} - P_{75} знаходився у діапазонах 3,40-4,29 та 1,96-2,30 нмоль/хв·мг протеїну.

Комбінація кверцетину з NaHS також збільшувала активність системи H_2S /ЦГЛ за ГАУ, причому її ефективність була співставною з такою у тварин, лікованих лише NaHS. Встановлено, що у групі тварин «ГАУ + Кверцетин + NaHS» десульфуразна активність ЦГЛ в тканинах печінки та нирок була вірогідно більшою відповідно на 30,8 та 20,8 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин, а також перевищувала на 29,5 та 18,8 % ($p < 0,05$) відносно тварин групи «ГАУ + кверцетин». За цих умов медіана десульфуразної активності ЦГЛ в печінці та нирках становила відповідно 4,02 (95% СІ 3,06-4,80) та 2,07 (95% СІ 1,79-2,59) нмоль/хв·мг протеїну, а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходився у діапазонах 3,45-4,40 та 1,94-2,41 нмоль/хв·мг протеїну.

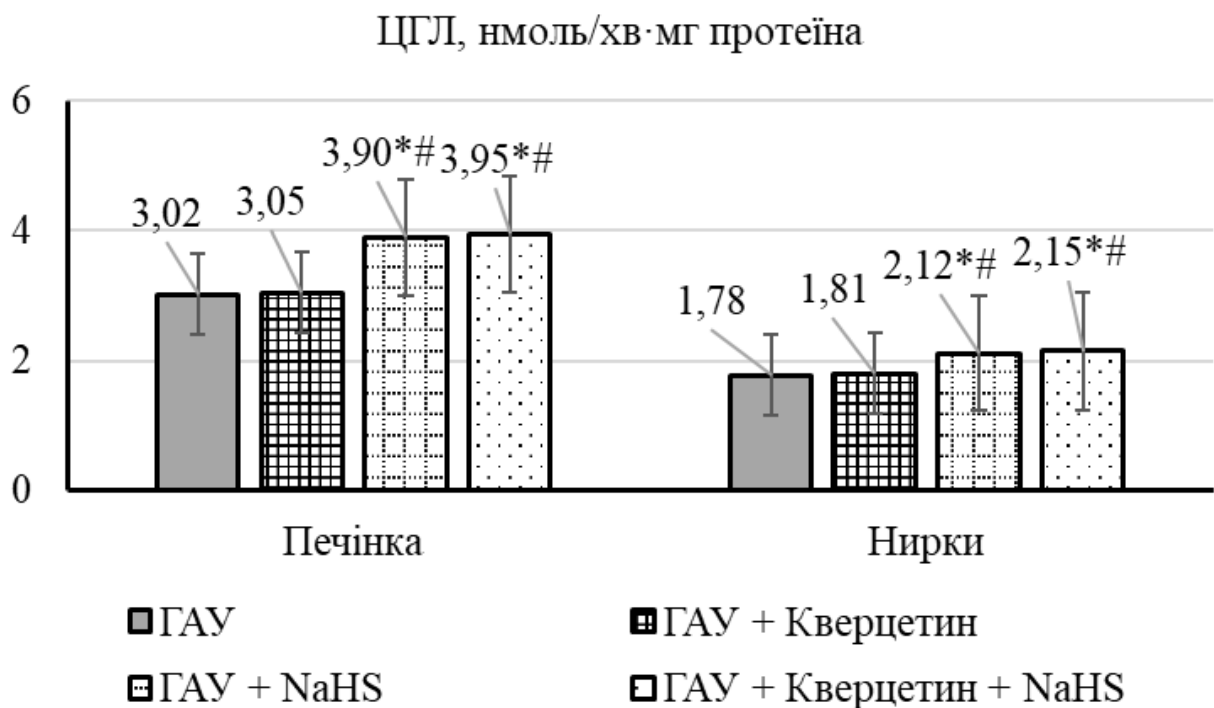


Рис 3.3 Активність ЦГЛ в печінці та нирках щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції.

Примітки: 1. * - $p < 0,05$ відносно нелікованих тварин з ГАУ; 2. # - $p < 0,05$ відносно групи тварин «ГАУ + Кверцетин»

Відомо, що процеси синтезу H_2S в тканинах знаходяться в динамічній рівновазі з процесами його окиснювальної деградації, тому в подальшому нами досліджено зміни швидкості утилізації H_2S в тканинах щурів дослідних груп (табл. 3.4 та рис. 3.4).

Виявилось, що у щурів контрольної групи показники медіани швидкості утилізації H_2S в печінці та нирках становлять відповідно 1,22 (95% СІ 0,85-1,49) та 0,774 (95% СІ 0,590-0,884) нмоль $S^{2-}/xв \cdot мг$ протеїну, а інтерквартильний розмах $P_{25}-P_{75}$ знаходився у діапазонах 1,04-1,37 та 0,669-0,845 нмоль $S^{2-}/xв \cdot мг$ протеїну.

Інтрагастральне введення етанолу протягом 1 тижня супроводжувалось посиленням окиснювальної деградації H_2S про що доказово свідчило зростання швидкості утилізації H_2S в печінці та нирках щурів відповідно на 61,7 та 49,9 % ($p < 0,05$) відносно контрольної групи. За цих умов медіана швидкості утилізації H_2S в печінці та нирках становила відповідно 2,00 (95% СІ 1,18-2,61) та 1,11 (95% СІ 0,76-1,51) нмоль $S^{2-}/xв \cdot мг$ протеїну, а інтерквартильний розмах $P_{25}-P_{75}$ знаходився у діапазонах 1,61-2,30 та 0,94-1,36 нмоль $S^{2-}/xв \cdot мг$ протеїну.

Таблиця 3.4

Вплив ГАУ на швидкість утилізації H_2S в печінці та нирках щурів ($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	Швидкість утилізації H_2S , нмоль $S^{2-}/xв \cdot мг$ протеїну	
			печінка	нирки
1	Контроль	10	1,20±0,08	0,754±0,036
2	ГАУ	20	1,94±0,11*	1,13±0,06*

Примітка. * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) між контрольною групою та тваринами з ГАУ

Фармакотерапія ГАУ мала депримуєчий вплив на швидкість утилізації H_2S в тканинах щурів, однак її ефективність залежала від застосованого коректора (рис. 3.4).

Найменшу здатність сповільнювати окисну деградацію H_2S в тканинах щурів виявляв кверцетин. У групі тварин «ГАУ + Кверцетин» відмічалось зменшення швидкості утилізації H_2S в печінці та нирках щурів відповідно на 16,5 та 15,9 % ($p < 0,05$) відносно контрольної групи: медіана становила відповідно 1,62 (95% СІ 1,23-2,02) та 0,939 (95% СІ 0,786-1,180) нмоль S^{2-} /хв·мг протеїну, а інтерквартильний розмах P_{25} - P_{75} знаходився у діапазонах 1,37-1,87 та 0,836-1,03 нмоль S^{2-} /хв·мг протеїну.

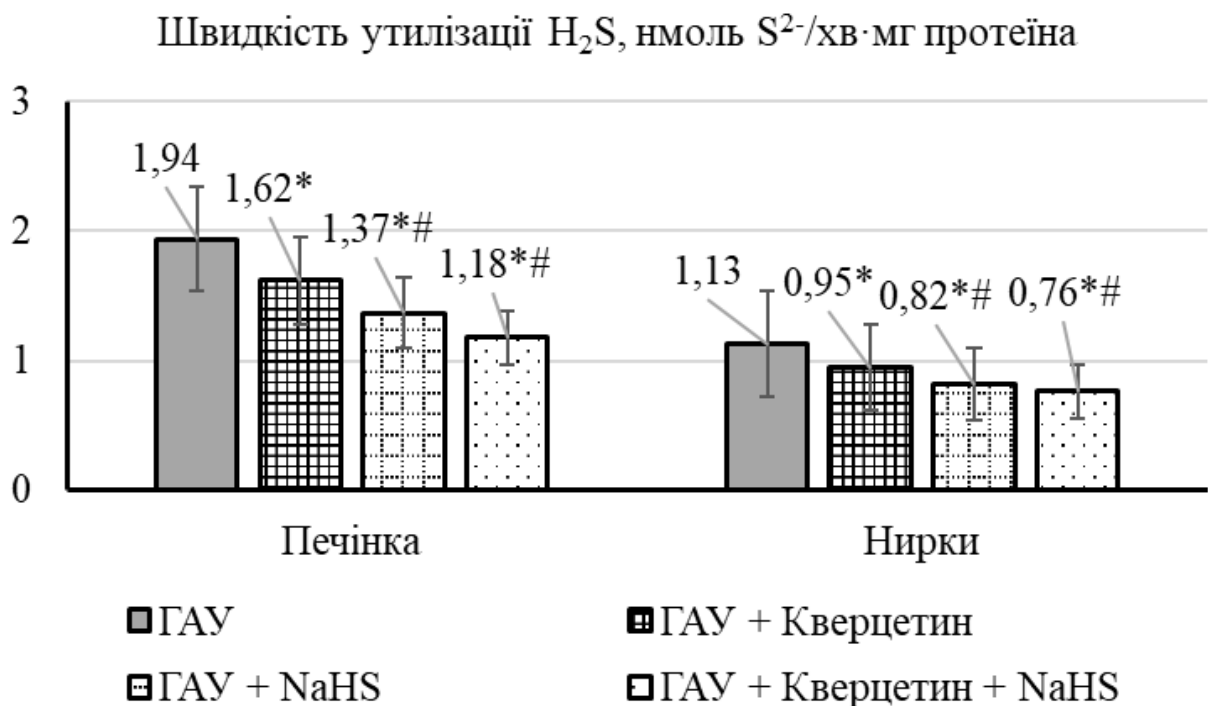


Рис 3.4 Швидкість утилізації H_2S в печінці та нирках щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції.

Примітки: 1. * - $p < 0,05$ відносно нелікованих тварин з ГАУ; 2. # - $p < 0,05$ відносно групи тварин «ГАУ + Кверцетин»

Використання NaHS за ГАУ виявляло більшу здатність сповільнювати окисну деградацію H_2S в тканинах щурів порівняно з монотерапією

кверцетином. У групі тварин «ГАУ + NaHS» відмічалось зменшення швидкості утилізації H_2S в печінці та нирках щурів відповідно на 29,4 та 27,4 % ($p < 0,05$) відносно контрольної групи, а також на 15,4 та 13,7 % ($p < 0,05$) порівняно з монотерапією кверцетином: медіана становила відповідно 1,38 (95% CI 1,01-1,68) та 0,831 (95% CI 0,625-0,999) нмоль $S^{2-}/хв \cdot мг$ протеїну, а інтерквартильний розмах $P_{25}-P_{75}$ знаходився у діапазонах 1,28-1,49 та 0,734-0,906 нмоль $S^{2-}/хв \cdot мг$ протеїну.

Комбінація кверцетину та NaHS показала найбільш виразний коригуючий вплив на швидкість окиснювальної деградації H_2S в тканинах щурів за ГАУ. У групі тварин «ГАУ + Кверцетин + NaHS» відмічалось зменшення швидкості утилізації H_2S в печінці та нирках щурів відповідно на 39,2 та 32,4 % ($p < 0,05$) відносно контрольної групи, а також на 27,2 та 19,6 % ($p < 0,05$) порівняно з монотерапією кверцетином: медіана становила відповідно 1,18 (95% CI 0,89-1,42) та 0,761 (95% CI 0,635-0,931) нмоль $S^{2-}/хв \cdot мг$ протеїну, а інтерквартильний розмах $P_{25}-P_{75}$ знаходився у діапазонах 1,04-1,36 та 0,678-0,828 нмоль $S^{2-}/хв \cdot мг$ протеїну.

В подальшому нами проведений аналіз матриці інтеркореляцій між сироватковим рівнем IGF-1 та маркерами обміну H_2S в печінці та нирках нелікованих тварин з ГАУ (табл. 3.5). Дані проведеного кореляційного аналізу засвідчили, що за ГАУ між рівнем IGF-1 в сироватці крові щурів та вмістом H_2S виникали слабкі статистично недостовірні обернені кореляції, а з швидкістю утилізації H_2S в печінці та нирках слабкі прямі невірогідні взаємозв'язки. За цих умов між сироватковим рівнем IGF-1 та десульфуразною активністю ЦГЛ в печінці та нирках щурів були зареєстровані помірної сили обернені кореляції, які також не досягали статистичної значимості. Таким чином, за умов тижневого введення етанолу збільшення вмісту сигнальної молекули IGF-1 в сироватці крові не має вірогідної асоціації з формуванням дефіциту H_2S в печінці й нирках та збільшенням швидкості його окиснювальної деградації.

Таблиця 3.5

Матриця інтеркореляцій між сироватковим рівнем IGF-1 та показниками метаболізму H_2S в печінці та нирках нелікованих тварин з ГАУ ($M \pm m$; $n=20$)

№ з/п	Показники		IGF-1, нг/мл	p
1	H_2S , нмоль/мг протеїну	печінка	$r_s = -0,15$	$>0,05$
		нирки	$r_s = -0,10$	$>0,05$
2	ЦГЛ, нмоль/хв·мг протеїну	печінка	$r_s = -0,30$	$>0,05$
		нирки	$r_s = -0,31$	$>0,05$
3	Швидкість утилізації H_2S , нмоль S^2 /хв·мг протеїну	печінка	$r_s = 0,21$	$>0,05$
		нирки	$r_s = 0,18$	$>0,05$

Примітка. p – достовірність коефіцієнту кореляції r_s

Результати кореляційного аналізу між сироватковим рівнем IGF-1 та параметрами метаболізму H_2S в печінці та нирках тварин з ГАУ, які отримували фармакокорекцію, наведені в табл. 3.6. Встановлено, що в групах лікованих тварин з ГАУ між рівнем IGF-1 в сироватці крові та показниками обміну H_2S відмічались зміна направленості, сили та достовірності кореляцій порівняно з нелікованими щурами. За цих умов між сироватковим рівнем IGF-1 та вмістом H_2S , десульфуразною активністю ЦГЛ в тканинах щурів виникали середньої сили статистично достовірні прямі кореляції, а з швидкістю утилізації H_2S в печінці та нирках - помірної сили обернені вірогідні взаємозв'язки. Отримані результати до певної міри можуть слугувати доказом того, що стимулюючий вплив метаболічних коректорів на сигнальну систему IGF-1 за ГАУ тісно супряжено з їх здатністю поповнювати запаси H_2S , збільшувати H_2S -синтезуючу активність ЦГЛ та зменшувати швидкість окисної деградації H_2S в печінці та нирках щурів.

Таблиця 3.6

Матриця інтеркореляцій між сироватковим рівнем IGF-1 та показниками метаболізму H_2S в печінці та нирках щурів з ГАУ, яким проводили метаболічну корекцію ($M \pm m$; $n=36$)

№ з/п	Показники		IGF-1, нг/мл	p
1	H_2S , нмоль/мг протеїну	печінка	$r_s=0,58$	$<0,001$
		нирки	$r_s=0,49$	$<0,001$
2	ЦГЛ, нмоль/хв·мг протеїну	печінка	$r_s=0,40$	$<0,05$
		нирки	$r_s=0,35$	$<0,05$
3	Швидкість утилізації H_2S , нмоль S^{2-} /хв·мг протеїну	печінка	$r_s=-0,43$	$<0,01$
		нирки	$r_s=-0,39$	$<0,01$

Примітка. p – достовірність коефіцієнту кореляції r_s

Резюме до розділу 3.

Проведені дослідження засвідчили, що інтрагастральне введення 40 % етанолу протягом 7 діб супроводжувалось вірогідним зростанням сироваткового вмісту сигнальної молекули IGF-1. Поряд з цим відмічались пертурбації метаболізму H_2S в тканинах печінки та нирок щурів, а саме формувався дефіцит H_2S на тлі статистично достовірного зростання швидкості окиснювальної деградації H_2S , при цьому H_2S -синтезуюча активність ЦГЛ вірогідно не змінювалась. За результатами кореляційного аналізу не було виявлено вірогідних зв'язків між порушеннями в сигнальній системі IGF-1 та змінами метаболізму H_2S в тканинах печінки та нирок щурів за умов тижневого введення алкоголю.

Застосована фармакотерапія за ГАУ з різною ефективністю стримувала порушення в системах IGF-1 та H_2S /ЦГЛ в печінці та нирках щурів. Найменшу коригуючу дію виявляв кверцетин: вірогідно не впливав на рівень IGF-1 в сироватці крові, збільшував запаси H_2S в тканинах печінки та нирок,

зменшував швидкість утилізації H_2S та не змінював десульфуразну активність ЦГЛ. Донор H_2S (NaHS) випереджав кверцетин за здатністю коригувати сироватковий рівень IGF-1 та порушення метаболізму H_2S в печінці та нирках – викликав вірогідне зростання рівня IGF-1, більш ефективно ніж кверцетин зменшував дефіцит H_2S , сповільнював швидкість його утилізації, а також вірогідно збільшував H_2S -синтезуючу активність ЦГЛ. Найбільшу коригуючу дію на системи IGF-1 та H_2S /ЦГЛ виявляла комбінація кверцетину та NaHS. Не виключено, що вплив на ці сигнальні системи може інтегруватись в механізми органопротекторної дії кверцетину та NaHS.

Основні результати розділу висвітлені в наступних публікаціях: [55, 68].

РОЗДІЛ 4

БІОХІМІЧНІ ТА ЦИТОФЛУОРИМЕТРИЧНІ ПАРАМЕТРИ ФУНКЦІОНУВАННЯ ПЕЧІНКИ Й НИРОК ЗА ГОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО УРАЖЕННЯ І НА ТЛІ МЕТАБОЛІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ

Вживання алкоголю є важливим етіологічним фактором ураження печінки та нирок [23, 269]. Гепато-та нефротоксична дія алкоголю реалізується через різноманітні механізми: оксидативний стрес, запалення, апоптоз, порушення ліпідного обміну, фіброгенез та ін [177]. Враховуючи патогенетичні ланки розвитку алкогольної хвороби з метою фармакокорекції уражень печінки та нирок широко використовується біофлавоноїди, в тому числі кверцетин, який пригнічує продукцію активних форм кисню, посилює антиоксидантний захист, виявляє антиапоптотичні, протизапальні та ендотеліотропні властивості [298, 303].

В попередньому розділі нами показано, що донор гідроген сульфід NaHS за ГАУ має активуючий вплив на сигнальні системи IGF-1 і $\text{H}_2\text{S}/\text{ЦГЛ}$, які залучені до регуляції фізіологічних та метаболічних процесів у тканинах печінки та нирок, а також задіяні в процесах регенерації органів. Залишається невивченим вплив донору гідроген сульфід на основні механізми гепато- та нефропротекторної дії кверцетину за ГАУ.

Метою дослідження було оцінити вплив кверцетину, NaHS та їх комбінації на основні біохімічні маркери ураження печінки (активність АЛТ, ГГТП, вміст загального білка в сироватці крові) та нирок (діурез, кліренс креатиніну, екскреція білку з сечею), активність запалення (рівень $\text{TNF}\alpha$ в печінці та нирках), жирової інфільтрації (рівень тригліцеридів в печінці), оксидативного стресу (вміст малонового діальдегіду, активність СОД в печінці, нирках та сироватці крові), апоптозу та проліферації клітин печінки та нирок у щурів на моделі ГАУ.

4.1 Дослідження біохімічних маркерів стану печінки та оцінка їх зв'язку з рівнем IGF-1 і H_2S у щурів за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції

Дослідження інтенсивності цитолізу гепатоцитів у щурів дослідних груп проводили за активністю АЛТ в сироватці крові (табл. 4.1). Встановлено, що в контрольній групі щурів медіана сироваткової активності АЛТ становила 18,0 (95% СІ 17,7-18,7) мкмоль/хв·л, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ знаходився в межах 17,8-18,4 мкмоль/хв·л.

За ГАУ реєструвалась індукція цитолізу гепатоцитів про що свідчило вірогідне зростання активності АЛТ в сироватці крові на 27,6 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем. За цих умов медіана сироваткової активності АЛТ становила 22,9 (95% СІ 20,1-27,2) мкмоль/хв·л, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ знаходився в межах 20,8-24,7 мкмоль/хв·л.

Застосована фармакотерапія відрізнялась за здатністю зменшувати цитоліз гепатоцитів при ГАУ. Використання кверцетину вірогідно зменшувало активність цитолізу гепатоцитів на 10,0 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин: медіана сироваткової активності АЛТ становила 20,7 (95% СІ 18,2-24,0) мкмоль/хв·л, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ знаходився в межах 19,5-22,6 мкмоль/хв·л.

NaHS випереджав кверцетин за антицитолітичною активністю при ГАУ. За цих умов середній показник активності АЛТ в сироватці крові був вірогідно меншим на 12,8 % ніж у нелікованих тварин: медіана становила 20,4 (95% СІ 18,3-21,8) мкмоль/хв·л, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ знаходився в межах 19,4-21,0 мкмоль/хв·л.

Найбільшу ефективність щодо зменшення уражень плазматичних мембран гепатоцитів виявляла комбінація кверцетину та NaHS. В групі тварин «ГАУ + Кверцетин + NaHS» середній показник активності АЛТ в сироватці крові був вірогідно меншим на 16,0 % ніж у нелікованих тварин: медіана становила 19,9 (95% СІ 17,5-20,5) мкмоль/хв·л, а інтерквартильний інтервал

P_{25} - P_{75} знаходився в межах 18,5-20,1 мкмоль/хв·л. Кореляційний аналіз надав підтвердження того, що антицитолітична дія кверцетину та NaHS частково асоціюється з їх здатністю збільшувати рівень IGF-1 в сироватці крові та вміст H_2S в печінці.

Таблиця 4.1

Активність АЛТ в сироватці крові щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції ($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	АЛТ, мкмоль/хв·л	Кореляція з сироватковим рівнем IGF-1	Кореляція з рівнем H_2S в печінці
1	Контроль	10	18,1±0,12	$r_s = -0,43$ ($p < 0,001$)	$r_s = -0,50$ ($p < 0,001$)
2	ГАУ	20	23,1±0,56*		
3	ГАУ + Кверцетин	12	20,9±0,61*#		
4	ГАУ + NaHS	12	20,1±0,37*#		
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	19,4±0,33*#&		

Примітки:

- * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника в контрольній групі тварин;
- # - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
- & - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

Дослідження інтенсивності холестазу у щурів дослідних груп проводили за активністю ГГТП в сироватці крові (табл. 4.2). Встановлено, що в контрольній групі щурів медіана сироваткової активності ГГТП становила 0,680 (95% СІ 0,336-0,919) мккат/л, а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходився в межах 0,495-0,742 мккат/л.

Введення етанолу протягом 1 тижня супроводжувалось розвитком холестазу про що свідчило вірогідне зростання активності ГГТП в сироватці крові на 84,4 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем. За цих умов медіана сироваткової активності ГГТП становила 1,16 (95% СІ 0,575-1,77) мккат/л, а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходився в межах 0,852-1,52 мккат/л.

Таблиця 4.2

Активність ГГТП в сироватці крові щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції ($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	ГГТП, мккат/л	Кореляція з сироватковим рівнем IGF-1	Кореляція з рівнем H_2S в печінці
1	Контроль	10	0,640±0,066	$r_s = -0,26$ ($p < 0,05$)	$r_s = -0,37$ ($p < 0,01$)
2	ГАУ	20	1,18±0,10*		
3	ГАУ + Кверцетин	12	0,920±0,038*#		
4	ГАУ + NaHS	12	0,790±0,048#&		
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	0,715±0,056#&		

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
3. & - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

Використання різних коректорів з різною ефективністю зменшувало ознаки розвитку холестазу за ГАУ. Застосування кверцетину вірогідно зменшувало активність ГГТП в сироватці крові на 22,0 % ($p < 0,05$) відносно

нелікованих тварин: медіана становила 0,912 (95% СІ 0,733-1,11) мккат/л, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ знаходився в межах 0,844-1,01 мккат/л.

NaHS випереджав кверцетин за антихолестатичною активністю при ГАУ. За цих умов середній показник активності ГГТП в сироватці крові був вірогідно меншим на 33,1 % ніж у нелікованих тварин: медіана становила 0,793 (95% СІ 0,574-1,02) мккат/л, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ знаходився в межах 0,651-0,929 мккат/л.

Найбільшу здатність зменшувати виразність холестазу виявляла комбінація кверцетину та NaHS. В групі тварин «ГАУ + Кверцетин + NaHS» середній показник активності ГГТП в сироватці крові був вірогідно меншим на 39,4 % ніж у нелікованих тварин: медіана становила 0,691 (95% СІ 0,489-1,03) мккат/л, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ знаходився в межах 0,577-0,815 мккат/л.

За результатами кореляційного аналізу антихолестатична дія кверцетину та NaHS супряжена з їх впливом на сигнальні системи IGF-1 та H_2S в печінці.

Дослідження білоксинтезуючої функції печінки у щурів дослідних груп проводили за вмістом загального білка в сироватці крові (табл. 4.3). Встановлено, що в контрольній групі щурів медіана сироваткового рівня загального білка становила 82,2 (95% СІ 72,6-86,5) г/л, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ знаходився в межах 79,7-84,5 г/л.

ГАУ супроводжувалось зменшенням білоксинтезуючої функції печінки про що доказово свідчило вірогідне зменшення вмісту загального білка в сироватці крові на 17,8 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем. За цих умов медіана сироваткового вмісту загального білка становила 68,0 (95% СІ 58,8-74,2) г/л, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ знаходився в межах 61,9-70,8 г/л.

Застосування різних коректорів за ГАУ нормалізувало протеосинтез в печінці, причому їх ефективність була співставною. В групі «ГАУ + Кверцетин» вміст загального білку був вірогідно більшим на 23,5 % порівняно з нелікованими тваринами: медіана становила 81,6 (95% СІ 77,2-88,0) г/л, а

інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ знаходився в межах 77,8-86,6 г/л. У тварин, які отримували лікування NaHS вміст загального білку був вірогідно більшим на 22,6 % порівняно з нелікованими тваринами: медіана становила 82,3 (95% CI 76,0-88,8) г/л, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ знаходився в межах 78,9-83,4 г/л. В групі «ГАУ + Кверцетин + NaHS» рівень загального білку був вірогідно більшим на 21,9 % порівняно з нелікованими тваринами: медіана становила 79,8 (95% CI 76,3-89,1) г/л, а інтерквартильний інтервал $P_{25}-P_{75}$ знаходився в межах 78,1-84,0 г/л.

Кореляційний аналіз показав, що стимулюючий вплив фармакотерапії на протеосинтез за ГАУ асоціюється зі здатністю коректорів стимулювати експресію IGF-1 та збільшувати запаси H_2S в печінці щурів.

Таблиця 4.3

Вміст загального білка в сироватці крові щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції ($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	Загальний білок, г/л	Кореляція з сироватковим рівнем IGF-1	Кореляція з рівнем H_2S в печінці
1	Контроль	10	81,1±1,61	$r_s = 0,29$ ($p < 0,05$)	$r_s = 0,27$ ($p < 0,05$)
2	ГАУ	20	66,7±1,22*		
3	ГАУ + Кверцетин	12	82,4±1,29#		
4	ГАУ + NaHS	12	81,8±1,27#		
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	81,3±1,33#		

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ.

Стан ліпідного обміну в печінці щурів дослідних груп оцінювали за рівнем тригліцеридів (табл. 4.4). Встановлено, що у щурів контрольної групи медіана вмісту тригліцеридів в печінці дорівнювала 18,9 (95% СІ 14,8-22,0) мкмоль/г тканини, а інтерквартильний розмах $P_{25}-P_{75}$ знаходився в діапазоні 17,0-20,2 мкмоль/г тканини.

ГАУ викликало розвиток жирового гепатозу доказом чого було зростання вмісту тригліцеридів у печінці на 27,6 % ($p < 0,05$) відносно контрольної групи тварин: медіана становила 23,8 (95% СІ 18,6-28,7) мкмоль/г тканини, а інтерквартильний розмах $P_{25}-P_{75}$ знаходився в діапазоні 20,4-27,0 мкмоль/г тканини.

Використані метаболічні коректори відрізнялись за здатністю зменшувати порушення ліпідного обміну в печінці на тлі ГАУ. Так, застосування кверцетину вірогідно не впливало на рівень тригліцеридів у печінці щурів: медіана становила 21,3 (95% СІ 18,6-25,5) мкмоль/г тканини, а інтерквартильний розмах $P_{25}-P_{75}$ знаходився в діапазоні 20,3-24,4 мкмоль/г тканини.

Використання NaHS виявляло ліпотропну дію за ГАУ про що доказово свідчило зниження рівня печінкових тригліцеридів на 11,9 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами. За цих умов медіана вмісту тригліцеридів в печінці становила 20,7 (95% СІ 17,3-23,9) мкмоль/г тканини, а інтерквартильний розмах $P_{25}-P_{75}$ знаходився в діапазоні 18,4-22,5 мкмоль/г тканини.

За умов введення NaHS в комбінації з кверцетином на тлі ГАУ ліпотропна активність була вищою ніж за монотерапії NaHS. В групі тварин «ГАУ + Кверцетин + NaHS» вміст печінкових тригліцеридів був вірогідно меншим на 16,5 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами: медіана становила 19,8 (95% СІ 17,0-22,5) мкмоль/г тканини, а інтерквартильний розмах $P_{25}-P_{75}$ знаходиться в діапазоні 17,9-21,6 мкмоль/г тканини. За цих умов середній показник рівня тригліцеридів у тканинах печінки статистично вірогідно не відрізнявся від контрольної групи тварин

Результати кореляційного аналізу засвідчили, що здатність використаних коректорів чинити ліпотропну дію до певної міри супряжено з їх впливом на сигнальні системи IGF-1 та H₂S в печінці.

Таблиця 4.4

Вміст тригліцеридів у печінці щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції
(M±m)

№ з/п	Групи тварин	n	Тригліцериди, мкмоль/г тканини	Кореляція з сироватковим рівнем IGF-1	Кореляція з рівнем H ₂ S в печінці
1	Контроль	10	18,5±0,83	r _s = -0,30 (p<0,05)	r _s = -0,35 (p<0,01)
2	ГАУ	20	23,6±0,89*		
3	ГАУ + Кверцетин	12	21,9±0,75*		
4	ГАУ + NaHS	12	20,8±0,75*#		
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	19,7±0,61#&		

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей (p<0,05) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей (p<0,05) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
3. & - достовірність відмінностей (p<0,05) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

Активність запального процесу в печінці щурів дослідних груп оцінювали за рівнем прозапального цитокіну TNFα (табл. 4.5). Встановлено, що у щурів контрольної групи медіана вмісту TNFα в печінці відповідала 1,18 (95% СІ 0,78-1,68) нмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах P₂₅-P₇₅ знаходився в діапазоні 1,11-1,49 нмоль/мг протеїну.

Моделювання ГАУ супроводжувалось розвитком запальної реакції в печінці доказом чого було зростання вмісту TNF α в тканинах печінки в 2,7 рази ($p < 0,05$) відносно контрольної групи тварин: медіана становила 3,34 (95% CI 2,52-4,60) нмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах P₂₅-P₇₅ знаходився в діапазоні 2,65-3,94 нмоль/мг протеїну.

Таблиця 4.5

Вміст TNF α у печінці щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції (M \pm m)

№ з/п	Групи тварин	n	TNF α , нмоль/мг протеїну	Кореляція з сироватковим рівнем IGF-1	Кореляція з рівнем H ₂ S в печінці
1	Контроль	10	1,25 \pm 0,10	r _s = -0,37 (p < 0,01)	r _s = -0,44 (p < 0,001)
2	ГАУ	20	3,40 \pm 0,18*		
3	ГАУ + Кверцетин	12	2,50 \pm 0,15*#		
4	ГАУ + NaHS	12	2,14 \pm 0,14*#		
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	1,73 \pm 0,12*#&		

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
3. & - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

Застосована фармакотерапія виявляла протизапальну активність в печінці, однак її ефективність залежала від обраного коректора. Використання кверцетину на тлі ГАУ спричиняло вірогідне зменшення рівня TNF α в тканинах печінки на 26,5 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин: медіана

становила 2,52 (95% CI 1,73-3,25) нмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах P_{25} - P_{75} знаходився в діапазоні 2,12-2,81 нмоль/мг протеїну.

Введення NaHS виявляло більш виразну протизапальну активність ніж монотерапія кверцетином. У групі тварин «ГАУ + NaHS» реєструвалось статистично достовірне зменшення рівня TNF α в тканинах печінки на 37,1 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин: медіана становила 2,03 (95% CI 1,49-2,89) нмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах P_{25} - P_{75} знаходився в діапазоні 1,88-2,50 нмоль/мг протеїну.

Застосування NaHS в комбінації з кверцетином на тлі ГАУ характеризувалось найбільш виразною протизапальною активністю в печінці. В групі тварин «ГАУ + Кверцетин + NaHS» відмічалось вірогідне зниження рівня TNF α в тканинах печінки на 49,1 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин: медіана становила 1,71 (95% CI 1,13-2,29) нмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах P_{25} - P_{75} знаходився в діапазоні 1,49-2,12 нмоль/мг протеїну. За цих умов середній показник рівня TNF α в тканинах печінки був вірогідно меншим на 30,8 % ($p < 0,05$) порівняно з групою тварин, які отримували лікування лише кверцетином.

Результати кореляційного аналізу засвідчили, що серед молекулярних мішеней протизапальної активності в печінці застосованої фармакотерапії є сигнальні системи, асоційовані з IGF-1 та H₂S.

Активність вільнорадикального окиснення ліпідів оцінювали за рівнем вторинних продуктів ліпопероксидації (малонового діальдегіду) в печінці щурів дослідних груп (табл. 4.6). З'ясувалось, що у щурів контрольної групи рівень МДА в печінці був низьким, його медіана відповідала 12,5 (95% CI 11,7-13,5) мкмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах P_{25} - P_{75} знаходився в діапазоні 12,2-13,1 нмоль/мг протеїну.

Інтрагастральне введення етанолу протягом тижня призводило до гіперактивації процесів пероксидації ліпідів про що доказово свідчило зростання вмісту МДА в тканинах печінки в 3,2 рази ($p < 0,05$) відносно контрольної групи тварин: медіана становила 38,6 (95% CI 36,3-42,1)

мкмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах P_{25} - P_{75} знаходився в діапазоні 37,6-40,7 нмоль/мг протеїну.

Застосування коректорів мало депримуєчий вплив на активність процесів ліпопероксидації в печінці, причому виразність антиоксидантної дії визначалась обраним коректором.

Таблиця 4.6

Вміст МДА у печінці щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції ($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	МДА, мкмоль/мг протеїну	Кореляція з сироватковим рівнем IGF-1	Кореляція з рівнем H_2S в печінці
1	Контроль	10	12,6±0,22	$r_s = -0,52$ ($p < 0,001$)	$r_s = -0,60$ ($p < 0,001$)
2	ГАУ	20	39,1±0,44*		
3	ГАУ + Кверцетин	12	30,1±0,40*#		
4	ГАУ + NaHS	12	23,2±0,32*#&		
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	18,8±0,29*#&		

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
3. & - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

Використання кверцетину за ГАУ викликало вірогідне зменшення рівня МДА в тканинах печінки на 23,0 % ($p < 0,05$) відносно групи нелікованих тварин: медіана становила 29,9 (95% СІ 28,5-32,1) мкмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах P_{25} - P_{75} знаходився в діапазоні 29,1-31,2 нмоль/мг протеїну.

Застосування NaHS характеризувалось більш виразною антиоксидантною активністю в печінці ніж монотерапія кверцетином. У групі тварин «ГАУ + NaHS» відмічалось статистично достовірне зменшення рівня МДА в тканинах печінки на 40,7 % ($p < 0,05$) відносно нелікованої групи тварин, а також на 22,9 % ($p < 0,05$) порівняно з монотерапією кверцетином: медіана становила 23,0 (95% СІ 21,8-25,1) мкмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах P_{25} - P_{75} знаходився в діапазоні 22,7-23,5 мкмоль/мг протеїну.

Введення NaHS в комбінації з кверцетином на тлі ГАУ характеризувалось найбільш виразною антиоксидантною дією в печінці. В групі тварин «ГАУ + Кверцетин + NaHS» відмічалось вірогідне зниження рівня МДА в тканинах печінки на 51,9 % ($p < 0,05$) відносно нелікованої групи тварин, а також на 37,5 % ($p < 0,05$) порівняно з монотерапією кверцетином: медіана становила 19,1 (95% СІ 17,3-20,0) мкмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах P_{25} - P_{75} знаходився в діапазоні 18,2-19,4 нмоль/мг протеїну. Поряд з цим середній показник рівня МДА в тканинах печінки був вірогідно меншим на 19,0 % ($p < 0,05$) порівняно з групою тварин, які отримували лікування лише NaHS. За даними кореляційного аналізу нами показано, що антиоксидантна дія застосованих коректорів може опосередковуватись через вплив на системи IGF-1 та H_2S в печінці щурів.

Стан антиоксидантної системи в печінці щурів дослідних груп оцінювали за активністю СОД (табл. 4.7). Встановлено, що у щурів контрольної групи медіана активності СОД в печінці дорівнювала 88,7 (95% СІ 73,6-94,6) у.о./мг протеїну, а інтерквартильний розмах P_{25} - P_{75} знаходився в діапазоні 79,6-93,4 у.о./мг протеїну.

ГАУ супроводжувалось депримуєчим впливом на антиоксидантну систему доказом чого було зменшення активності СОД у тканинах печінки на 35,0 % ($p < 0,05$) відносно контрольної групи тварин: медіана становила 57,0 (95% СІ 45,6-65,8) у.о./мг протеїну, а інтерквартильний розмах P_{25} - P_{75} знаходився в діапазоні 51,1-60,6 у.о./мг протеїну.

Використані метаболічні коректори відрізнялись за здатністю стимулювати антиоксидантну ланку в печінці на тлі ГАУ. Так, застосування кверцетину викликало збільшення активності СОД в тканинах печінки на 25,9 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин: медіана становила 70,6 (95% СІ 62,6-77,9) у.о./мг протеїну, а інтерквартильний розмах P_{25} - P_{75} знаходився в діапазоні 67,7-73,8 у.о./мг протеїну.

Таблиця 4.7

Активність СОД у печінці щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції ($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	СОД, у.о./мг протеїну	Кореляція з сироватковим рівнем IGF-1	Кореляція з рівнем H_2S в печінці
1	Контроль	10	86,2 \pm 2,64	$r_s = 0,47$ ($p < 0,001$)	$r_s = 0,59$ ($p < 0,001$)
2	ГАУ	20	56,0 \pm 1,48*		
3	ГАУ + Кверцетин	12	70,5 \pm 1,53*#		
4	ГАУ + NaHS	12	76,2 \pm 1,74*#&		
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	82,5 \pm 2,20#&		

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
3. & - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

Використання NaHS більш ефективно ніж кверцетин посилювало антиоксидантний захист. В групі тварин «ГАУ + NaHS» реєструвалось підвищення активності СОД на 36,1 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами. За цих умов медіана активності СОД в печінці становила 76,9 (95%

СІ 68,8-84,7) у.о./мг протеїну, а інтерквартильний розмах P_{25} - P_{75} знаходився в діапазоні 70,5-80,3 у.о./мг протеїну.

За умов введення NaHS в комбінації з кверцетином на тлі ГАУ антиоксидантна дія була найвищою. В групі тварин «ГАУ + Кверцетин + NaHS» активність СОД в печінці була вищою на 47,3 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами, а також на 17,0 % ($p < 0,05$) відносно монотерапії кверцетином: медіана становила 82,1 (95% СІ 73,3-93,8) у.о./мг протеїну, а інтерквартильний розмах P_{25} - P_{75} знаходиться в діапазоні 75,9-88,6 у.о./мг протеїну. За цих умов середній показник активності СОД у тканинах печінки статистично вірогідно не відрізнявся від контрольної групи тварин.

Результати кореляційного аналізу засвідчили, що здатність використаних коректорів чинити активуючу дію на ферментну антиоксидантну може опосередковуватись через сигнальні системи IGF-1 та H_2S в печінці.

Дослідження змін рівня МДА та активності СОД в сироватці крові показало, що характер і направленість змін співпадають з такими в тканинах печінки (табл. 4.8).

Встановлено, що на тлі ГАУ в сироватці крові реєструвалось вірогідне посилення активності вільнорадикального окиснення ліпідів про що свідчить зростання рівня МДА на 79,1 % ($p < 0,05$), а також відмічалось зменшення антиоксидантного захисту доказом чого є зниження активності СОД на 26,3 % ($p < 0,05$) відносно контрольної групи.

За умов використання кверцетину, NaHS та особливо їх комбінації реєструвалось зменшення рівня МДА в сироватці крові відповідно на 31,8; 37,4 та 44,6 % ($p < 0,05$) та підвищення активності СОД в сироватці крові відповідно на 25,5; 29,1 та 34,1 % ($p < 0,05$) відносно контрольної групи. Отримані результати ще раз підтверджують той факт, що за ГАУ найвища антиоксидантна активність зареєстрована саме у комбінованій терапії, яка включала кверцетин та NaHS.

Таблиця 4.8

Вміст МДА та активність СОД в сироватці крові щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції ($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	МДА, мкмоль/л	СОД, у.о.
1	Контроль	10	3,88±0,15	78,3±1,00
2	ГАУ	20	6,95±0,28*	57,7±1,16*
3	ГАУ + Кверцетин	12	4,74±0,41*#	72,4±2,16*#
4	ГАУ + NaHS	12	4,35±0,23#	74,5±1,20*#
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	3,85±0,17#&	77,4±1,11#&

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
3. & - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

4.2 Дослідження біохімічних маркерів функціонального стану нирок та оцінка їх зв'язку з рівнем IGF-1 і H_2S у щурів за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції

Результати дослідження діурезу та кліренсу креатиніну у щурів дослідних груп наведених в табл. 4.9. Встановлено, що ГАУ не викликає вірогідних змін діурезу та швидкості клубочкової фільтрації. Застосування коректорів за ГАУ також не супроводжується статистично достовірними змінами фільтраційної функції нирок.

Таблиця 4.9

Діурез та кліренс креатиніну у щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції
($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	Діурез, мл/6 год.	Кліренс креатиніну, мл/хв
1	Контроль	10	5,60±0,17	0,460±0,013
2	ГАУ	20	5,80±0,15	0,497±0,021
3	ГАУ + Кверцетин	12	5,71±0,19	0,490±0,019
4	ГАУ + NaHS	12	5,90±0,18	0,470±0,010
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	5,98±0,16	0,480±0,016

З метою оцінки тубулярної функції у щурів дослідних груп нами досліджено рівень протеїнурії (табл. 4.10). Виявлено, що у щурів контрольної групи екскреція білка з сечею була низькою, медіана становила 0,947 (95% СІ 0,888-1,00) мг/6 год., а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходився в діапазоні 0,909-0,977 мг/6 год.

ГАУ супроводжувалось пошкодженням тубулярного апарату доказом чого було вірогідне зростання екскреції білку з сечею на 52,4 % ($p < 0,05$) відносно контрольної групи: показник медіани становив 1,44 (95% СІ 1,32-1,57) мг/6 год., а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходився в діапазоні 1,37-1,52 мг/6 год.

Фармакотерапія ГАУ з різною ефективністю зменшувала виразність тубулярних пошкоджень. Найменшу ефективність щодо корекції тубулярної дисфункції виявляв кверцетин: екскреція білка з сечею зменшувалась на 11,1 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин, показник медіани становив 1,29 (95% СІ 1,09-1,48) мг/6 год., а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходився в діапазоні 1,20-1,36 мг/6 год.

NaHS виявляв більш виразну тубулопротекторну дію ніж кверцетин: екскреція білка з сечею зменшувалась на 20,8 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих

тварин, а також на 10,9 % ($p < 0,05$) відносно монотерапії кверцетином, показник медіани становив 1,16 (95% СІ 0,90-1,31) мг/6 год., а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходився в діапазоні 1,02-1,29 мг/6 год.

Найбільш виразну тубулопротекторну активність виявляла комбінація кверцетину та NaHS: екскреція білка з сечею зменшувалась на 23,6 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин, а також на 14,1 % ($p < 0,05$) відносно монотерапії кверцетином, показник медіани становив 1,10 (95% СІ 0,880-1,33) мг/6 год., а інтерквартильний інтервал P_{25} - P_{75} знаходився в діапазоні 0,980-1,26 мг/6 год.

Проведений кореляційний аналіз засвідчив, що тубулопротекторна дія використаних коректорів асоціюється з їх впливом на сигнальну систему IGF-1 та метаболізм H_2S в нирках.

Таблиця 4.10

Екскреція білка з сечею у щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції ($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	Білок сечі, мг/6 год.	Кореляція з сироватковим рівнем IGF-1	Кореляція з рівнем H_2S в нирках
1	Контроль	10	0,945±0,014	$r_s = -0,33$ ($p < 0,01$)	$r_s = -0,40$ ($p < 0,01$)
2	ГАУ	20	1,44±0,02*		
3	ГАУ + Кверцетин	12	1,28±0,04*#		
4	ГАУ + NaHS	12	1,14±0,05*#&		
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	1,10±0,05*#&		

Примітки:

- * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника в контрольній групі тварин;
- # - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
- & - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

Результати дослідження ниркового рівня прозапального цитокіну TNF α в досліджуваних групах тварин наведені у табл. 4.11. З'ясувалось, що у контролі рівень TNF α був низьким, показник медіани становив 0,546 (95% СІ 0,363-0,626) нмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах (P₂₅-P₇₅) знаходився в межах 0,457-0,588 нмоль/мг протеїну.

Таблиця 4.11

Вміст TNF α у нирках щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції (M \pm m)

№ з/п	Групи тварин	n	TNF α , нмоль/мг протеїну	Кореляція з сироватковим рівнем IGF-1	Кореляція з рівнем H ₂ S в нирках
1	Контроль	10	0,520 \pm 0,031	r _s = -0,34 (p<0,01)	r _s = -0,49 (p<0,001)
2	ГАУ	20	1,19 \pm 0,10*		
3	ГАУ + Кверцетин	12	0,926 \pm 0,075*#		
4	ГАУ + NaHS	12	0,845 \pm 0,060*#		
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	0,738 \pm 0,045*#&		

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей (p<0,05) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей (p<0,05) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
3. & - достовірність відмінностей (p<0,05) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

Моделювання гострого алкогольного ураження ініціювало розвиток запального процесу в нирках про що свідчило зростання ниркового рівня TNF α в 2,3 рази (p<0,05) порівняно з контролем: показник медіани становив

1,17 (95% CI 0,570-1,90) нмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах (P₂₅-P₇₅) знаходився в межах 0,840-1,51 нмоль/мг протеїну.

Застосована фармакотерапія відрізнялась за протизапальною активністю в нирках щурів при ГАУ. Протизапальна дія кверцетину в нирках була найменш виразною: рівень TNF α в нирках був меншим на 22,2 % (p<0,05) порівняно з нелікованими тваринами: показник медіани становив 0,898 (95% CI 0,589-1,31) нмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах (P₂₅-P₇₅) знаходився в межах 0,715-1,10 нмоль/мг протеїну.

За протизапальною активністю в нирках NaHS випереджав кверцетин. В групі «ГАУ + NaHS» середній показник рівня TNF α в нирках був меншим на 29,0 % (p<0,05) порівняно з нелікованими тваринами: показник медіани становив 0,939 (95% CI 0,535-1,07) нмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах (P₂₅-P₇₅) знаходився в межах 0,706-0,976 нмоль/мг протеїну.

Найвища протизапальна дія в нирках зафіксована у комбінації кверцетину з NaHS: середній показник рівня TNF α в нирках був меншим на 38,0 % (p<0,05) порівняно з нелікованими тваринами, а також на 20,3 % (p<0,05) відносно монотерапії кверцетином: показник медіани становив 0,744 (95% CI 0,485-0,928) нмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах (P₂₅-P₇₅) знаходився в межах 0,661-0,880 нмоль/мг протеїну.

За результатами кореляційного аналізу протизапальна активність досліджуваних коректорів корелює з підвищенням сироваткового рівня IGF-1 та ниркового вмісту H₂S.

Результати дослідження ниркового рівня вторинного продукту ліпопероксидації МДА в досліджуваних групах тварин наведені у табл. 4.12. З'ясувалось, що у контрольній групі тварин рівень МДА був низьким, показник медіани становив 2,82 (95% CI 1,90-3,43) мкмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах (P₂₅-P₇₅) знаходився в межах 2,44-3,18 мкмоль/мг протеїну.

Введення етанолу протягом 1 тижня спричиняло активацію вільнорадикального окиснення ліпідів в нирках про що свідчило зростання

ниркового рівня МДА в 2,0 рази ($p < 0,05$) порівняно з контролем: показник медіани становив 5,39 (95% СІ 3,38-7,61) мкмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах ($P_{25}-P_{75}$) знаходився в межах 4,47-6,65 мкмоль/мг протеїну.

Таблиця 4.12

Вміст МДА у нирках щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції ($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	МДА, мкмоль/мг протеїну	Кореляція з сироватковим рівнем IGF-1	Кореляція з рівнем H_2S в нирках
1	Контроль	10	2,75±0,18	$r_s = -0,49$ ($p < 0,001$)	$r_s = -0,58$ ($p < 0,001$)
2	ГАУ	20	5,51±0,32*		
3	ГАУ + Кверцетин	12	4,42±0,28*#		
4	ГАУ + NaHS	12	3,60±0,24*#&		
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	3,35±0,21*#&		

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
3. & - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

Введення коректорів з різною ефективністю стримувало наростання швидкості вільнорадикального окиснення ліпідів в нирках за ГАУ. Антиоксидантна дія кверцетину в нирках була найменш виразною: рівень МДА в нирках був меншим на 19,8 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами: показник медіани становив 4,19 (95% СІ 3,18-5,89) мкмоль/мг

протеїну, а інтерквартильний розмах (P_{25} - P_{75}) знаходився в межах 3,78-5,03 мкмоль/мг протеїну.

Застосування NaHS за антиоксидантною дією в нирках випереджало кверцетин. В групі «ГАУ + NaHS» середній показник рівня МДА в нирках був меншим на 34,7 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами: показник медіани становив 3,70 (95% CI 2,41-4,72) мкмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах (P_{25} - P_{75}) знаходився в межах 2,98-4,07 мкмоль/мг протеїну.

Найвища антиоксидантна дія в нирках зареєстрована у комбінації кверцетину з NaHS: середній показник рівня МДА в нирках був меншим на 39,2 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами, а також на 24,2 % ($p < 0,05$) відносно монотерапії кверцетином: показник медіани становив 3,52 (95% CI 2,33-4,27) мкмоль/мг протеїну, а інтерквартильний розмах (P_{25} - P_{75}) знаходився в межах 2,83-3,87 мкмоль/мг протеїну.

Дані кореляційного аналізу засвідчили, що антиоксидантна активність досліджуваних коректорів тісно асоціюється з підвищенням сироваткового рівня IGF-1 та запасів H_2S в нирках.

Результати дослідження активності антиоксидантного ензиму СОД в нирках досліджуваних груп тварин наведені у табл. 4.13. З'ясувалось, що у контрольній групі тварин показник медіани активності СОД в нирках становив 41,8 (95% CI 35,4-46,5) у.о./мг протеїну, а інтерквартильний розмах (P_{25} - P_{75}) знаходився в межах 38,6-44,8 у.о./мг протеїну.

Однотижневе введення етанолу супроводжувалось депресією ферментативної антиоксидантної ланки про що свідчило зменшення активності СОД на 29,9 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем: показник медіани становив 29,0 (95% CI 26,2-31,8) у.о./мг протеїну, а інтерквартильний розмах (P_{25} - P_{75}) знаходився в межах 27,3-31,3 у.о./мг протеїну.

Застосовані коректори з різною ефективністю стримувало падіння активності антиоксидантного захисту в нирках за ГАУ. Антиоксидантна дія кверцетину в нирках була найменшою серед коректорів: активність СОД в

нирках була вищою на 18,9 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами: показник медіани становив 34,7 (95% СІ 31,9-37,3) у.о./мг протеїну, а інтерквартильний розмах ($P_{25}-P_{75}$) знаходився в межах 33,4-35,7 у.о./мг протеїну.

Таблиця 4.13

Активність СОД у нирках щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції ($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	СОД, у.о./мг протеїну	Кореляція з сироватковим рівнем IGF-1	Кореляція з рівнем H_2S в нирках
1	Контроль	10	41,5±1,35	$r_s = 0,42$ ($p < 0,001$)	$r_s = 0,57$ ($p < 0,001$)
2	ГАУ	20	29,1±0,49*		
3	ГАУ + Кверцетин	12	34,6±0,56*#		
4	ГАУ + NaHS	12	37,7±0,68*#&		
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	39,6±1,30#&		

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
3. & - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

Використання NaHS перевищувало кверцетин за антиоксидантною дією в нирках. В групі «ГАУ + NaHS» середній показник активності СОД в нирках був більшим на 29,6 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами: показник медіани становив 37,8 (95% СІ 34,9-41,0) у.о./мг протеїну, а інтерквартильний розмах ($P_{25}-P_{75}$) знаходився в межах 35,0-39,5 у.о./мг протеїну.

Комбінація кверцетину з NaHS характеризувалась найбільшою здатністю стимулювати антиоксидантний потенціал нирок за ГАУ: середній показник активності СОД в нирках був більшим на 36,1 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами, а також на 14,5 % ($p < 0,05$) відносно монотерапії кверцетином: показник медіани становив 39,6 (95% СІ 33,2-45,6) у.о./мг протеїну, а інтерквартильний розмах (P_{25} - P_{75}) знаходився в межах 36,2-43,5 у.о./мг протеїну.

Результати кореляційного аналізу засвідчили, що збільшення антиоксидантного потенціалу нирок за використання коректорів корелює зі зростанням сироваткового рівня IGF-1 та запасів H_2S в нирках.

4.3 Зміни показників клітинного циклу в печінці щурів та їх зв'язок з рівнем IGF-1 і H_2S у щурів за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції

Активність апоптозу в печінці щурів дослідних груп оцінювали за часткою клітин печінки з фрагментованою ДНК у фазі SubG0G1 (табл. 4.14). Встановлено, що частка клітин печінки з фрагментованою ДНК була низькою, показник медіани становив 4,09 (95% СІ 3,68-4,77) %, а інтерквартильний розмах (P_{25} - P_{75}) знаходився в межах 3,70-4,36 %.

ГАУ супроводжувалось індукцією апоптозу клітин печінки про що свідчить вірогідне збільшення частки клітин з фрагментованою ДНК у фазі SubG0G1 на 37,9 % ($p < 0,05$) відносно контрольної групи: показник медіани становив 5,74 (95% СІ 5,28-6,12) %, а інтерквартильний розмах (P_{25} - P_{75}) знаходився в межах 5,41-6,01 %.

Метаболічна фармакокорекція з різною ефективністю стримувала індукцію апоптозу в печінці щурів за ГАУ. Найменшу антиапоптотичну дію виявляв кверцетин: частка клітин з фрагментованою ДНК у фазі SubG0G1 була вірогідно меншою на 15,1 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин: показник

медіани становив 4,85 (95% CI 4,48-5,25) %, а інтерквартильний розмах (P₂₅-P₇₅) знаходився в межах 4,52-5,12 %.

Таблиця 4.14

Активність апоптозу в печінці щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції
(M±m)

№ з/п	Групи тварин	n	SubG0G1, %	Кореляція з сироватковим рівнем IGF-1	Кореляція з рівнем H ₂ S в печінці
1	Контроль	10	4,14±0,22	r _s = -0,50 (p<0,001)	r _s = -0,52 (p<0,001)
2	ГАУ	20	5,71±0,17*		
3	ГАУ + Кверцетин	12	4,85±0,16*#		
4	ГАУ + NaHS	12	4,51±0,14#		
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	4,22±0,24#&		

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей (p<0,05) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей (p<0,05) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
3. & - достовірність відмінностей (p<0,05) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

Антиапоптотична дія в NaHS в печінці щурів з ГАУ була вищою ніж у кверцетину: частка клітин з фрагментованою ДНК у фазі SubG0G1 була вірогідно меншою на 21,0 % (p<0,05) відносно нелікованих тварин. За цих умов показник медіани становив 4,63 (95% CI 4,07-4,72) %, а інтерквартильний розмах (P₂₅-P₇₅) знаходився в межах 4,56-4,69 %.

Найвища антиапоптотична дія в печінці була зафіксована у комбінації кверцетину з NaHS: частка клітин з фрагментованою ДНК у фазі SubG0G1 була вірогідно меншою на 26,1 % (p<0,05) відносно нелікованих тварин. За цих

умов показник медіани становив 4,39 (95% CI 3,56-4,71) %, а інтерквартильний розмах (P_{25} - P_{75}) знаходився в межах 3,82-4,68 %. Кореляційний аналіз надав докази того, що антиапоптотична дія коректорів у печінці за ГАУ асоціюється з активуючим впливом на сигнальні системи IGF-1 та H_2S в печінці.

Результати дослідження параметрів клітинного циклу в печінці щурів дослідних груп наведені у табл. 4.15.

Таблиця 4.15

Параметри клітинного циклу в печінці щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції ($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	S, %	G2 + M, %
1	Контроль	10	0,894±0,100	30,8±2,50
2	ГАУ	20	1,34±0,10*	27,2±3,39
3	ГАУ + Кверцетин	12	1,11±0,09	31,5±2,86
4	ГАУ + NaHS	12	1,02±0,05#	37,6±2,70#
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	0,850±0,027#&	39,8±2,52*#&

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
3. & - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

Встановлено, що за ГАУ відмічалось вірогідне зростання частки клітин у фазі синтезу S на 49,9% ($p < 0,05$), а також на рівні тенденції зменшувалась частка клітин в постсинтетичному періоді та мітозі G2 + M на 11,6 % ($p > 0,05$) порівняно з контролем. Використання кверцетину за ГАУ вірогідно не змінювало відносний розподіл клітин у фазах S та G2 + M порівняно з нелікованими тваринами. В той же час, застосування NaHS спричиняло

вірогідне зменшення частки клітин у фазі S на 23,9 % ($p < 0,05$) та збільшення частки клітин у фазі G2 + M на 38,7 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин. Найбільш виразний коригуючий вплив на розподіл клітин печінки у різних фазах клітинного циклу був зареєстрований саме у комбінації кверцетину та NaHS: відмічалось вірогідне зменшення частки клітин у фазі S на 36,6 % ($p < 0,05$) та збільшення частки клітин у фазі G2 + M на 46,3 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин.

Дослідження проліферативної активності клітин печінки дослідних груп проводили на основі визначення індексу проліферації (табл. 4.16). Встановлено, що індекс проліферації клітин печінки у щурів контрольної групи був низьким, показник медіани становив 32,5 (95% CI 26,0-38,6) %, а інтерквартильний розмах (P_{25} - P_{75}) знаходився в межах 27,1-33,1 %.

ГАУ не викликало вірогідних змін індексу проліферації клітин печінки відносно контрольної групи: показник медіани становив 29,4 (95% CI 19,5-37,3) %, а інтерквартильний розмах (P_{25} - P_{75}) знаходився в межах 26,1-30,5 %.

Застосована фармакотерапія відрізнялась за впливом на проліферативну активність клітин печінки за ГАУ. Застосування кверцетину вірогідно не впливало на індекс проліферації порівняно з нелікованими тваринами: показник медіани становив 32,7 (95% CI 25,4-40,4) %, а інтерквартильний розмах (P_{25} - P_{75}) знаходився в межах 29,3-34,8 %.

Використання NaHS спричиняло вірогідне зростання індексу проліферації на 35,3 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами: показник медіани становив 37,4 (95% CI 31,4-44,8) %, а інтерквартильний розмах (P_{25} - P_{75}) знаходився в межах 36,5-44,0 %.

Найбільшу здатність стимулювати процеси проліферації клітин печінки за ГАУ виявляла комбінація кверцетину та NaHS – реєструвалось достовірне підвищення індексу проліферації на 42,4 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами. Здатність коректорів стимулювати проліферативну активність клітин печінки за ГАУ частково реалізується через вплив на сигнальні системи IGF-1 та H_2S в печінці.

Таблиця 4.16

Індекс проліферації клітин печінки щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції (M±m)

№ з/п	Групи тварин	n	IP, %	Кореляція з сироватковим рівнем IGF-1	Кореляція з рівнем H ₂ S в печінці
1	Контроль	10	31,7±2,54	r _s = 0,62 (p<0,001)	r _s = 0,43 (p<0,001)
2	ГАУ	20	28,6±3,42		
3	ГАУ + Кверцетин	12	32,6±2,91		
4	ГАУ + NaHS	12	38,6±2,72#		
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	40,7±2,53*#&		

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей (p<0,05) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей (p<0,05) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
3. & - достовірність відмінностей (p<0,05) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

Дослідження показника блоку проліферації (табл. 4.17) показало, що на тлі ГАУ цей показник вірогідно зростав на 79,8 % (p<0,05) відносно контрольної групи. Застосування кверцетину вірогідно не впливало на показник блоку проліферації. Натомість, введення NaHS та, особливо, комбінації кверцетину з NaHS спричиняло вірогідне зменшення блоку проліферації відповідно на 47,8 та 58,9 % (p<0,05) відносно нелікованих тварин, що асоціювалось зі стимулюючим впливом на системи IGF-1 та H₂S.

Таблиця 4.17

Блок проліферації клітин печінки щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції
(M±m)

№ з/п	Групи тварин	n	ВР	Кореляція з сироватковим рівнем IGF-1	Кореляція з рівнем H ₂ S в печінці
1	Контроль	10	0,029±0,004	r _s = -0,64 (p<0,001)	r _s = -0,48 (p<0,001)
2	ГАУ	20	0,053±0,009*		
3	ГАУ + Кверцетин	12	0,036±0,004		
4	ГАУ + NaHS	12	0,028±0,002#&		
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	0,022±0,001#&		

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей (p<0,05) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей (p<0,05) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
3. & - достовірність відмінностей (p<0,05) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

4.4 Параметри клітинного циклу в нирках щурів та їх зв'язок з рівнем IGF-1 і H₂S у щурів за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції

Дослідження цитофлуориметричного показника апоптозу клітин нирок (табл. 4.18) показало, що на тлі моделювання ГАУ реєструється гіперактивація запрограмованої загибелі клітин про що свідчить вірогідне зростання частки клітин з фрагментованою ДНК у фазі SubG0G1 на 31,9 % (p<0,05) порівняно з контрольною групою.

Таблиця 4.18

Активність апоптозу в нирках щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції
($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	SubG0G1, %	Кореляція з сироватковим рівнем IGF-1	Кореляція з рівнем H_2S в нирках
1	Контроль	10	2,41±0,08	$r_s = -0,48$ ($p < 0,001$)	$r_s = -0,54$ ($p < 0,001$)
2	ГАУ	20	3,18±0,15*		
3	ГАУ + Кверцетин	12	2,75±0,13*#		
4	ГАУ + NaHS	12	2,63±0,12#		
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	2,39±0,09#&		

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
3. & - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

Використані коректори з різною ефективністю зменшували активність апоптозу клітин нирок. Серед обраних коректорів антиапоптотична дія кверцетину виявилась найменшою: зменшення частки клітин у фазі SubG0G1 становило 13,5 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин. NaHS виявляв більш виразну антиапоптотичну дію в нирках за ГАУ: зменшення частки клітин у фазі SubG0G1 становило 17,3 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин. Найвища антиапоптотична активність була зареєстрована у комбінації кверцетину та NaHS: зменшення частки клітин у фазі SubG0G1 становило 24,9 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин. На основі кореляційного аналізу

встановлено, що антиапоптотична дія обраних коректорів корелює зі зростанням сироваткового рівня IGF-1 та ниркового вмісту H_2S .

Результати дослідження параметрів клітинного циклу в нирках щурів дослідних груп наведені у табл. 4.19.

Таблиця 4.19

Параметри клітинного циклу в нирках щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції ($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	S, %	G2 + M, %
1	Контроль	10	0,762±0,071	6,61±0,47
2	ГАУ	20	1,24±0,17*	6,96±0,61
3	ГАУ + Кверцетин	12	0,980±0,067*	7,70±0,48
4	ГАУ + NaHS	12	0,842±0,064#	9,12±0,44*#&
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	0,791±0,050#&	9,63±0,46*#&

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
3. & - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

З'ясувалось, що ГАУ супроводжувалось статистично достовірним зростанням частки клітин у фазі синтезу S на 62,2 % ($p < 0,05$), тоді як частка клітин в постсинтетичному періоді та мітозі G2 + M вірогідно не змінювалась порівняно з контролем. Використання кверцетину за ГАУ вірогідно не змінювало розподіл клітин у фазах S та G2 + M порівняно з нелікованими тваринами. В той же час, застосування NaHS спричиняло вірогідне зменшення частки клітин у фазі S на 31,9 % ($p < 0,05$) та збільшення частки клітин у фазі

G2 + M на 31,1 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин. Найбільш виразний коригуючий вплив на розподіл клітин печінки у різних фазах клітинного циклу був зареєстрований саме у комбінації кверцетину та NaHS: відмічалось вірогідне зменшення частки клітин у фазі S на 36,0 % ($p < 0,05$) та збільшення частки клітин у фазі G2 + M на 38,4 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин.

Зміни проліферативної активності клітин нирок щурів досліджуваних груп представлені в табл. 4.20.

Таблиця 4.20

Індекс проліферації клітин нирок щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції
($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	IP, %	Кореляція з сироватковим рівнем IGF-1	Кореляція з рівнем H_2S в нирках
1	Контроль	10	7,37±0,50	$r_s = 0,57$ ($p < 0,001$)	$r_s = 0,45$ ($p < 0,001$)
2	ГАУ	20	8,19±0,72		
3	ГАУ + Кверцетин	12	8,68±0,45		
4	ГАУ + NaHS	12	9,96±0,43*#&		
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	10,4±0,49*#&		

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
3. & - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

За умов модельованої патології вірогідних змін проліферативного потенціалу клітин нирок нами не зафіксовано. Також, не виявлено достовірних змін активності проліферації клітин нирок на тлі застосування

кверцетину. Натомість, введення NaHS викликало статистично достовірне зростання індексу проліферації клітин нирок на 21,6 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин. Поєднання NaHS з кверцетином більш ефективно стимулювало проліферативну активність клітин нирок: індекс проліферації вірогідно зростав на 27,2 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин, що асоціювалось з впливом коректорів на сигнальні системи IGF-1 та H_2S .

Результати оцінки змін блоку проліферації клітин нирок у щурів досліджуваних груп наведені в табл. 4.21.

Таблиця 4.21

Блок проліферації клітин нирок щурів за ГАУ і на тлі метаболічної корекції
($M \pm m$)

№ з/п	Групи тварин	n	ВР	Кореляція з сироватковим рівнем IGF-1	Кореляція з рівнем H_2S в нирках
1	Контроль	10	0,117±0,011	$r_s = -0,60$ ($p < 0,001$)	$r_s = -0,47$ ($p < 0,001$)
2	ГАУ	20	0,178±0,021*		
3	ГАУ + Кверцетин	12	0,131±0,015		
4	ГАУ + NaHS	12	0,093±0,008#&		
5	ГАУ + Кверцетин + NaHS	12	0,082±0,004*#&		

Примітки:

1. * - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника в контрольній групі тварин;
2. # - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі нелікованих тварин з ГАУ;
3. & - достовірність відмінностей ($p < 0,05$) відносно показника у групі «ГАУ + Кверцетин».

Виявилось, що ГАУ супроводжується вірогідним зростанням блоку проліферації на 53,0 % ($p < 0,05$) відносно контрольної групи. Застосування

кверцетину вірогідно не впливало на показник блоку проліферації відносно нелікованих тварин. Натомість, введення NaHS та, особливо, комбінації кверцетину з NaHS спричиняло вірогідне зменшення блоку проліферації відповідно на 26,8 та 47,6 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин, що супряжено зі стимулюючим впливом на системи IGF-1 та H_2S в нирках.

Резюме до розділу 4.

Інтрагастральне введення 40 % етанолу щурам протягом 1 тижня супроводжувалось виразними патохімічними змінами в печінці та нирках, які характеризувались розвитком цитолізу гепатоцитів, холестазу, жирового гепатозу, пригніченням білоксинтезуючої функції печінки, формуванням тубулярної дисфункції в нирках, індукцією запалення, оксидативного стресу, апоптозу, а також порушенням процесів проліферації в печінці та нирках.

Застосована фармакотерапія за ГАУ з різною ефективністю коригувала вказані патохімічні зміни в нирках та печінки: найбільшу ефективність виявляла комбінація кверцетину та NaHS, їй поступалась монотерапія NaHS, а найменшу дію показав кверцетин. За результатами кореляційного аналізу показано, що виразність гепато- та нефропротекторної активності обраних коректорів тісно корелювала з їх впливом на сигнальні системи IGF-1 та H_2S .

Основні результати розділу висвітлені в наступних публікаціях: [54, 55, 57, 62, 68].

РОЗДІЛ 5

МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ТА НИРОК ЗА ГОСТРОГО
АЛКОГОЛЬНОГО УРАЖЕННЯ І НА ТЛІ МЕТАБОЛІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ5.1 Гістологічні зміни тканин печінки щурів за гострого алкогольного
ураження і на тлі метаболічної корекції

При гістологічному дослідженні тканини печінки щурів контрольної групи встановлені загальні особливості її структурної організації. Зовні орган вкритий сполучнотканинною капсулою, від якої всередину паренхіми врастають окремі її прошарки, формуючи строму. Встановлено, що в даній групі експериментальних тварин печінка зберігала радіальну будову печінкових балок. Останні представлені анастомозуючими рядами гепатоцитів, між якими розміщені жовчні каналці. Гепатоцити печінкових трабекул мали полігональну форму. Цитоплазма їх забарвлена рівномірно, містила помірну кількість жирових включень та глікогену. Ядра гепатоцитів мали округлу форму, 1-2 ядерця, хроматин їх був компактним, розміщувався дифузно у вигляді грудочок. Між печінковими балками спостерігали синусоїдні гемокапіляри. Ендотеліоцити стінок синусоїдних капілярів мали сплющену форму, в цитоплазмі їх відмічали наявність фенестр. В окремих полях зору чітко візуалізувались перисинусоїдні простори. Вони локалізувались між стінками гепатоцитів і синусоїдів (рис. 5.1). Характерною була наявність клітин Купфера, що розміщувались між ендотеліоцитами, а відростки їх подекуди проникали в простори Діссе. В останніх також виявляли клітини Іто, цитоплазма яких була збагачена ліпідними краплями. Відростки цих клітин контактували зі стінками синусоїдів та гепатоцитів. Слід зазначити, що в контрольній групі тварин просвіти центральних вен, міжчасточкових артерій та вен були не розширені і володіли ознаками помірного кровонаповнення (рис. 5.2).

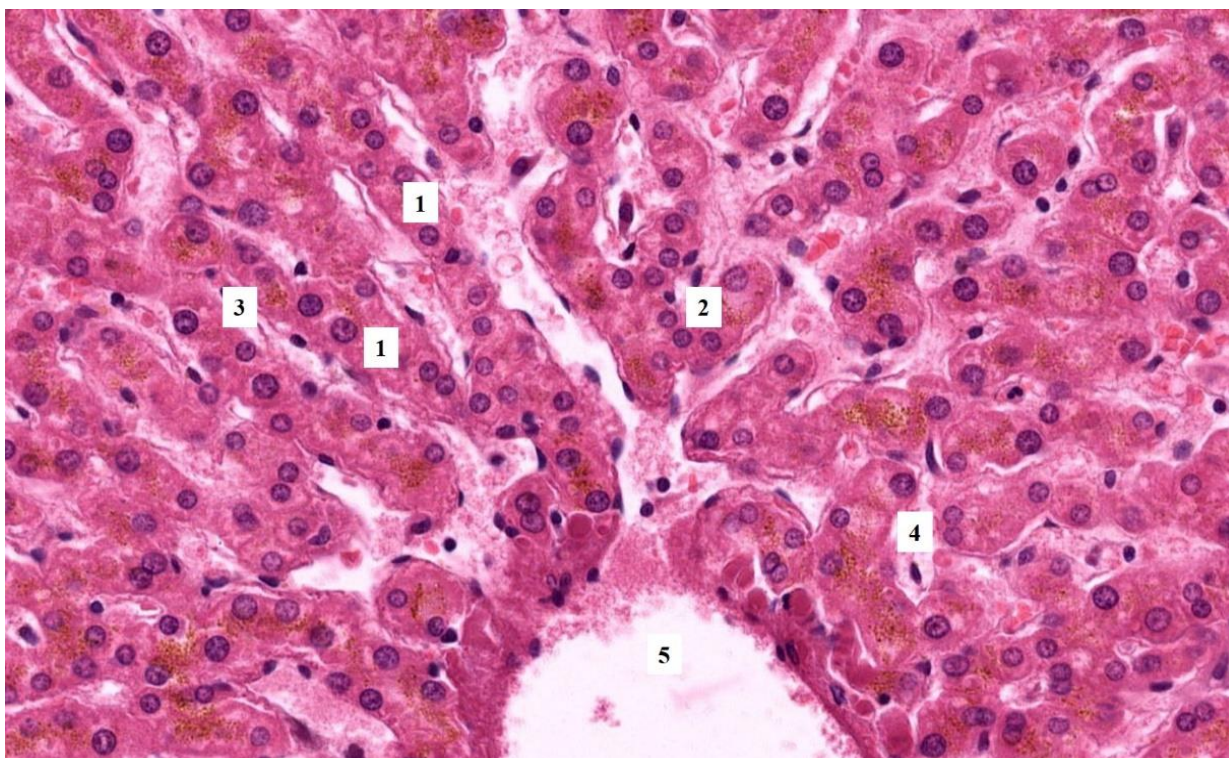


Рис. 5.1 Структурна організація печінки щура контрольної групи. Печінкові балки (1), гепатоцити (2), перисинусоїдний простір (3), синусоїдний капіляр (4), центральна вена (5). Зabarвлення гематоксиліном та еозином. х 400.

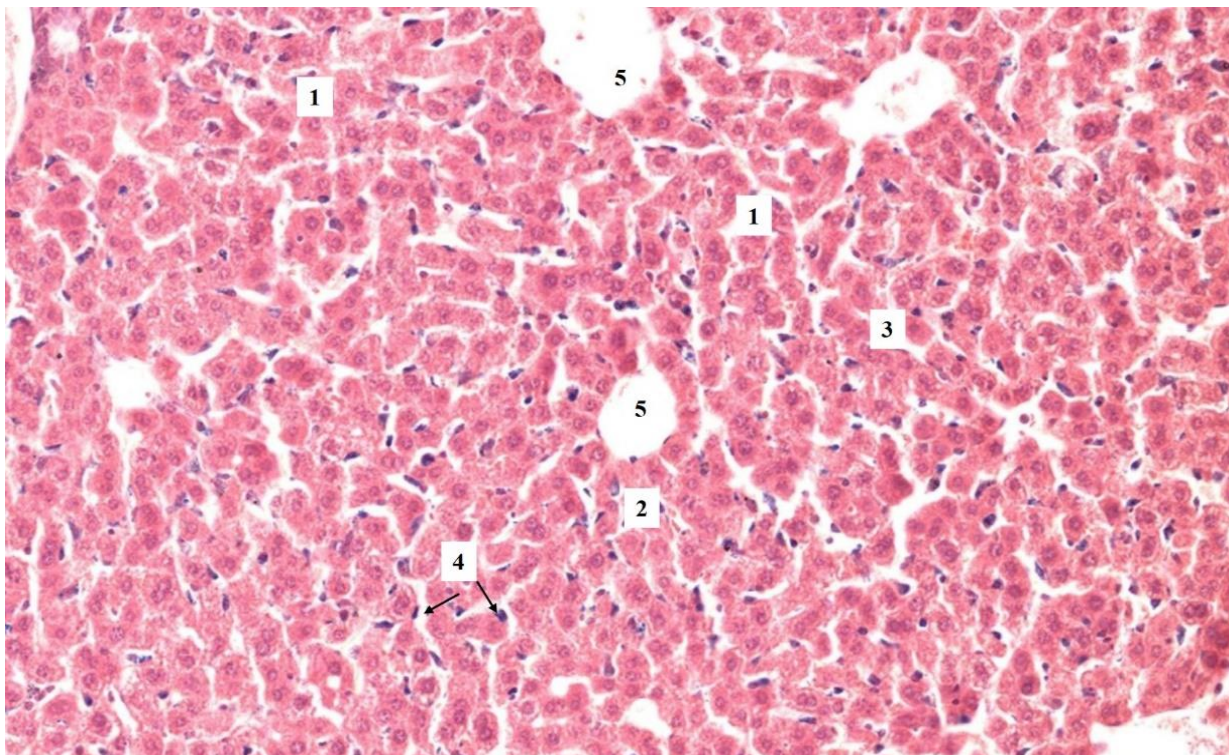


Рис. 5.2 Гістологічна будова печінки інтактного щура. Гепатоцити (1), печінкові пластинки (2), перисинусоїдні простори (3), клітини Купфера (4), центральна вена (5). Зabarвлення гематоксиліном та еозином. х 200.

За умов ГАУ при морфологічному дослідженні в піддослідних щурів відмічали наявність вогнищевих порушень часточкової структури печінки. Зазначені зміни проявлялись у вигляді дисконкомплексації гепатоцитів. Радіальне розташування печінкових пластинок в більшості полів зору порушувалось. Гепатоцити втрачали класичну форму, були гіпертрофованими, поліморфними. Характерною ознакою була наявність мілковогніщевих крововиливів, а в міжчасточкових судинах спостерігали явища сладжу еритроцитів. Встановлені зміни відмічали як в центральних, так і в периферичних відділах часточок. Портальні тракти за зазначених умов подекуди містили гістіоцитарні елементи. Просвіти центральних вен були дещо розширеними з ознаками повнокрів'я та помірним набряком ендотеліоцитів їх внутрішньої оболонки (рис. 5.3).

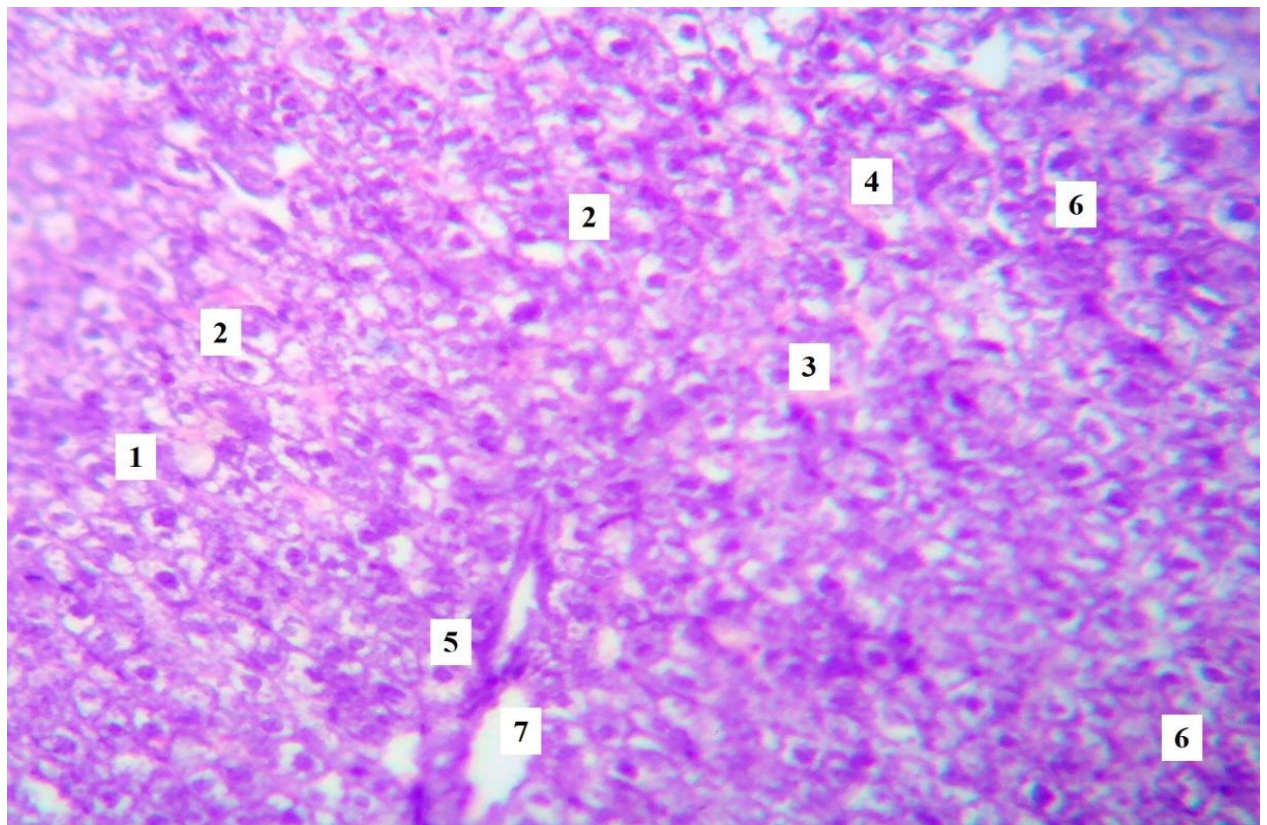


Рис. 5.3. Морфологічні зміни печінки щура за умов ГАУ. Порушення радіальної структури печінкових пластинок (1), дистрофія гепатоцитів (2), крововиливи (3), сладжі еритроцитів в міжчасточкових судинах (4), портальні тракти (5), гістіоцитарна інфільтрація (6), центральна вена (7). Зabarвлення гематоксиліном та еозином. х 200.

Цитоплазма гепатоцитів мала нерівномірне забарвлення, заповнена мілкими округлими вакуолями, що, ймовірно свідчить про накопичення в них ліпідів та розвиток жирової інфільтрації (рис. 5.4).

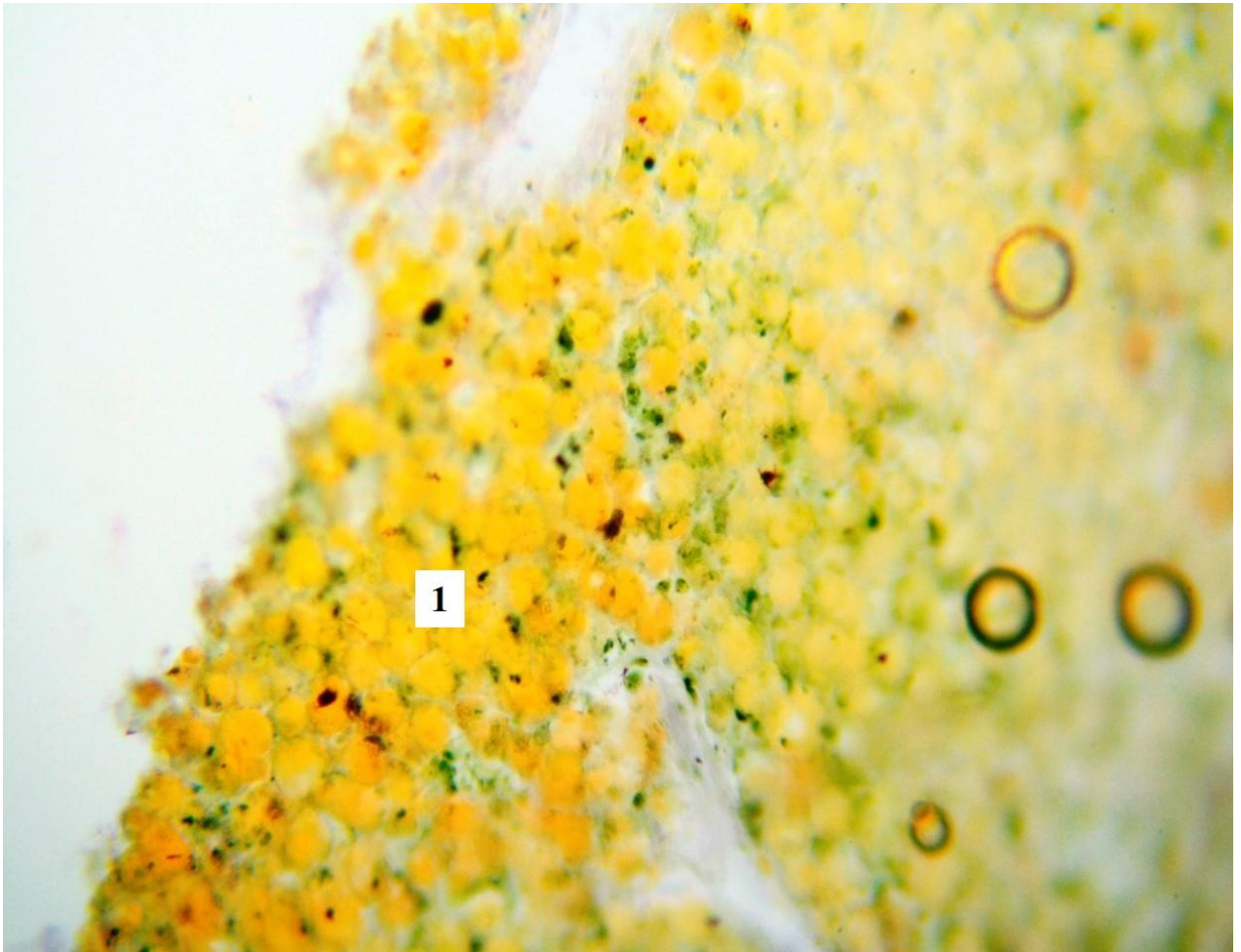


Рис. 5.4. Жирова дистрофія гепатоцитів щура за умов ГАУ. Краплі жиру в цитоплазмі гепатоцитів різних розмірів (1). Забарвлення судан III. x 400.

За умов ГАУ та медикаментозної корекції кверцетином в печінці щурів відмічали часткове відновлення балкової структури в перипортальних зонах. Однак в більшості полів зору спостерігали порушення цитоархітектоніки органу. В проміжних ділянках часточок при гістологічному дослідженні встановлено хаотичне розміщення гепатоцитів. Ядра цих клітин розміщувались ексцентрично, проявляли ознаки різного ступеня забарвлення, хроматин мав примембранне розташування. Характерним було розширення перисинусоїдних просторів, внаслідок набряку в них елементів сполучної

тканини (ймовірно колагенових волокон), що призводило до вираженого звуження синусоїдних капілярів. Відмічали наявність також гістіолейкоцитарної інфільтрації в перипортальних зонах та поодинокі вогнищеві крововиливи. Просвіти центральних вен були не розширеними, з ознаками помірного кровонаповнення (рис. 5.5).

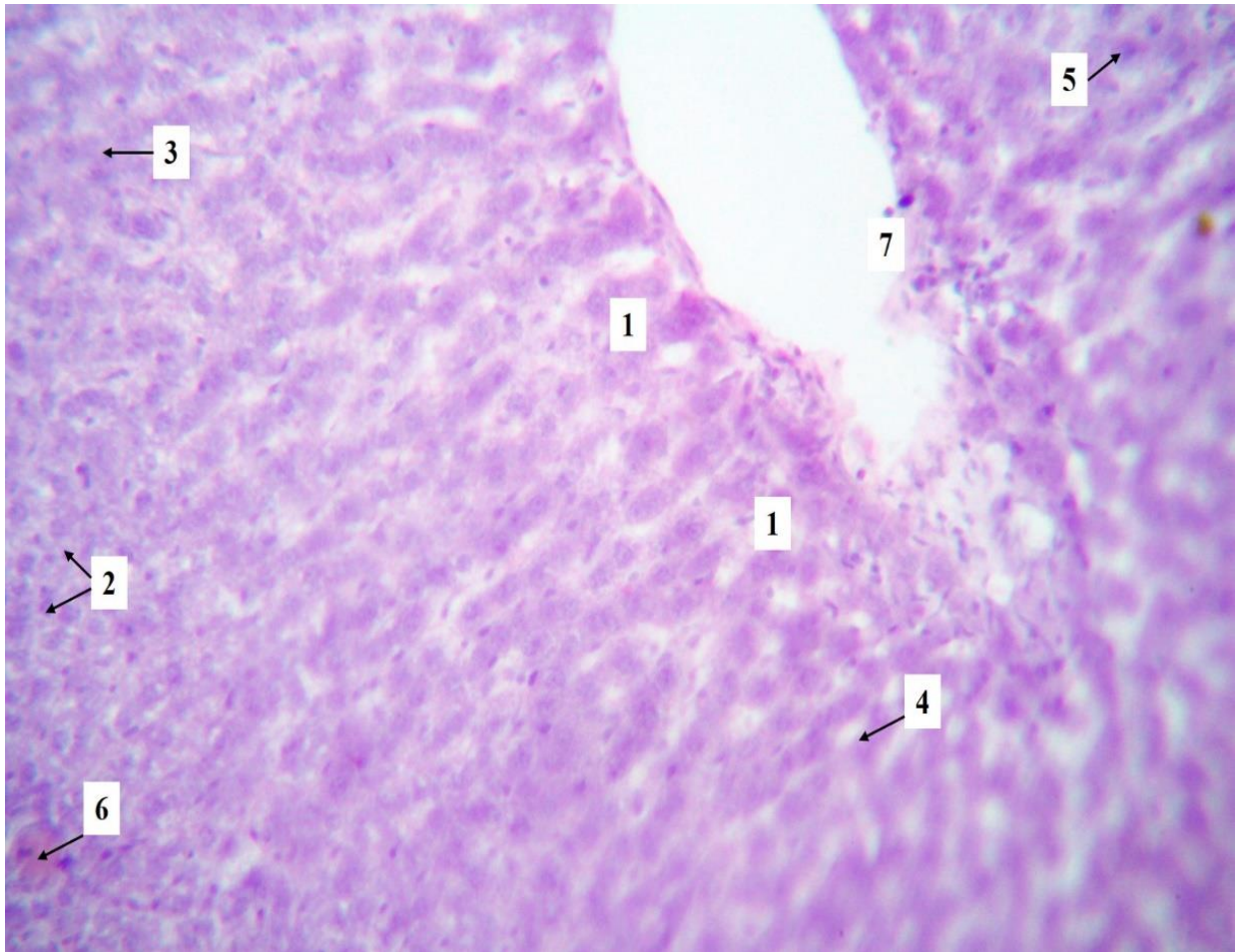


Рис. 5.5. Структурні зміни тканини печінки щура за ГАУ та медикаментозній корекції кверцетином. Печінкові пластинки (1), дисконкомплексція гепатоцитів (2), гіпертрофовані, вакуолізовані гепатоцити (3), перисинусоїдні простори (4), гістіолейкоцитарна інфільтрація (5), вогнищеві крововиливи (6), центральна вена (7). Зabarвлення гематоксиліном та еозином. x 100.

Гепатоцити були гіпертрофовані, вакуолізовані, що в даному випадку є свідченням жирової інфільтрації органу, інтенсивність якої практично не відрізнялась від нелікованих тварин з ГАУ (рис. 5.6).

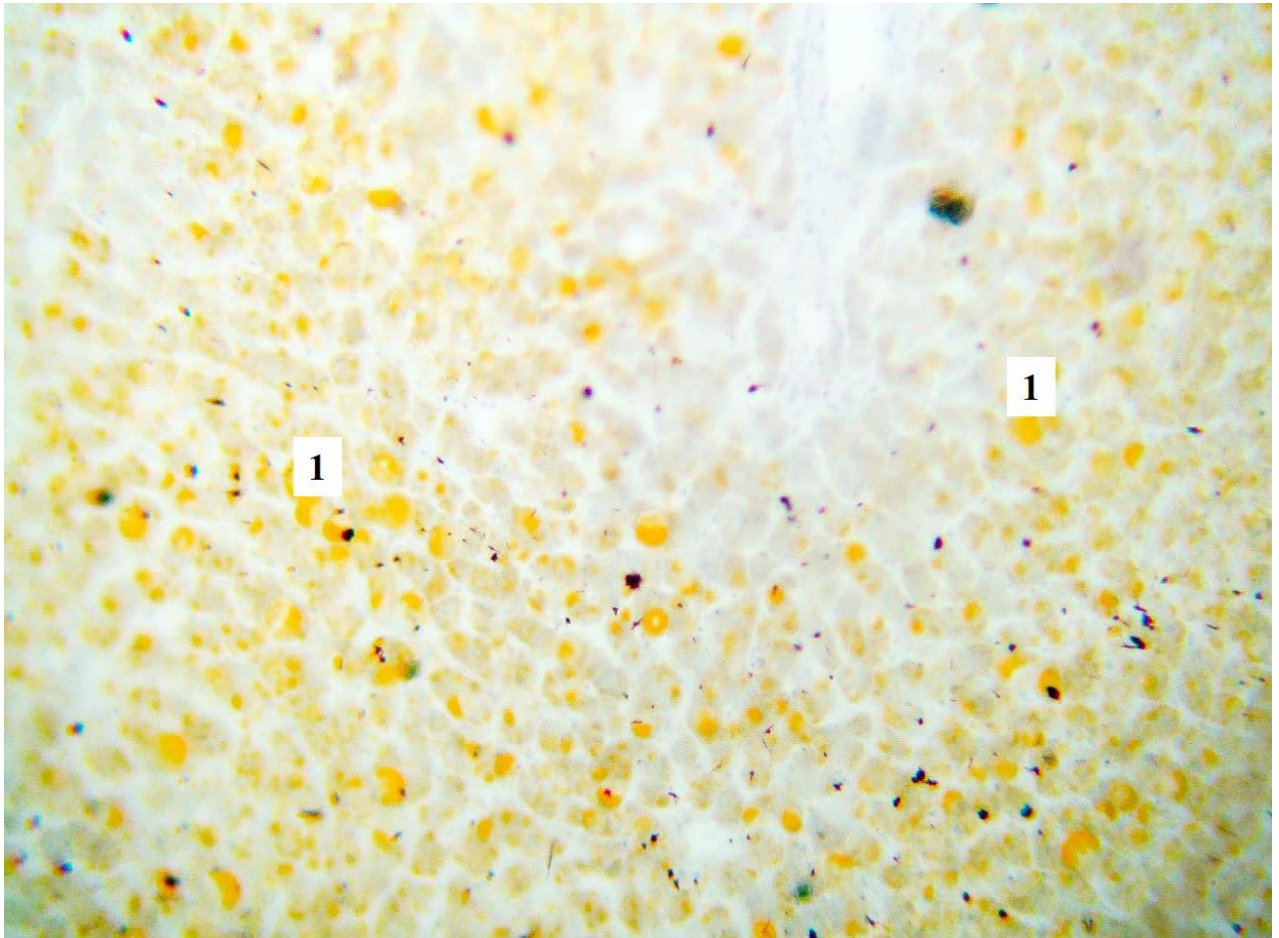


Рис. 5.6. Жирова інфільтрація гепатоцитів щура з гострим алкогольним ураженням та корекцією кверцетином. Краплі жиру різних розмірів в цитоплазмі гепатоцитів (1). Забарвлення судан III. x 200.

Морфологічні дослідження печінки щурів за умов медикаментозної корекції NaHS на фоні ГАУ встановили, що в більшості полів зору радіальна структура печінкових балок збережена. Цитоплазма гепатоцитів була зернистою, однак виявляли також ознаки її ущільнення і гомогенізації. Перисинусоїдні просвіти не розширені. Відмічали лише невеликі вогнища дисконкомплексації та хаотичного розміщення клітин печінки на периферії часточок. Цитоплазма таких гепатоцитів була більш світлою, містила вакуолі, а ядра їх були зміщені до полюсів клітин. Просвіти центральних вен були не розширені, але повнокрівні. подекуди спостерігали ділянки гістіолейкоцитарної інфільтрації (рис. 5.7).

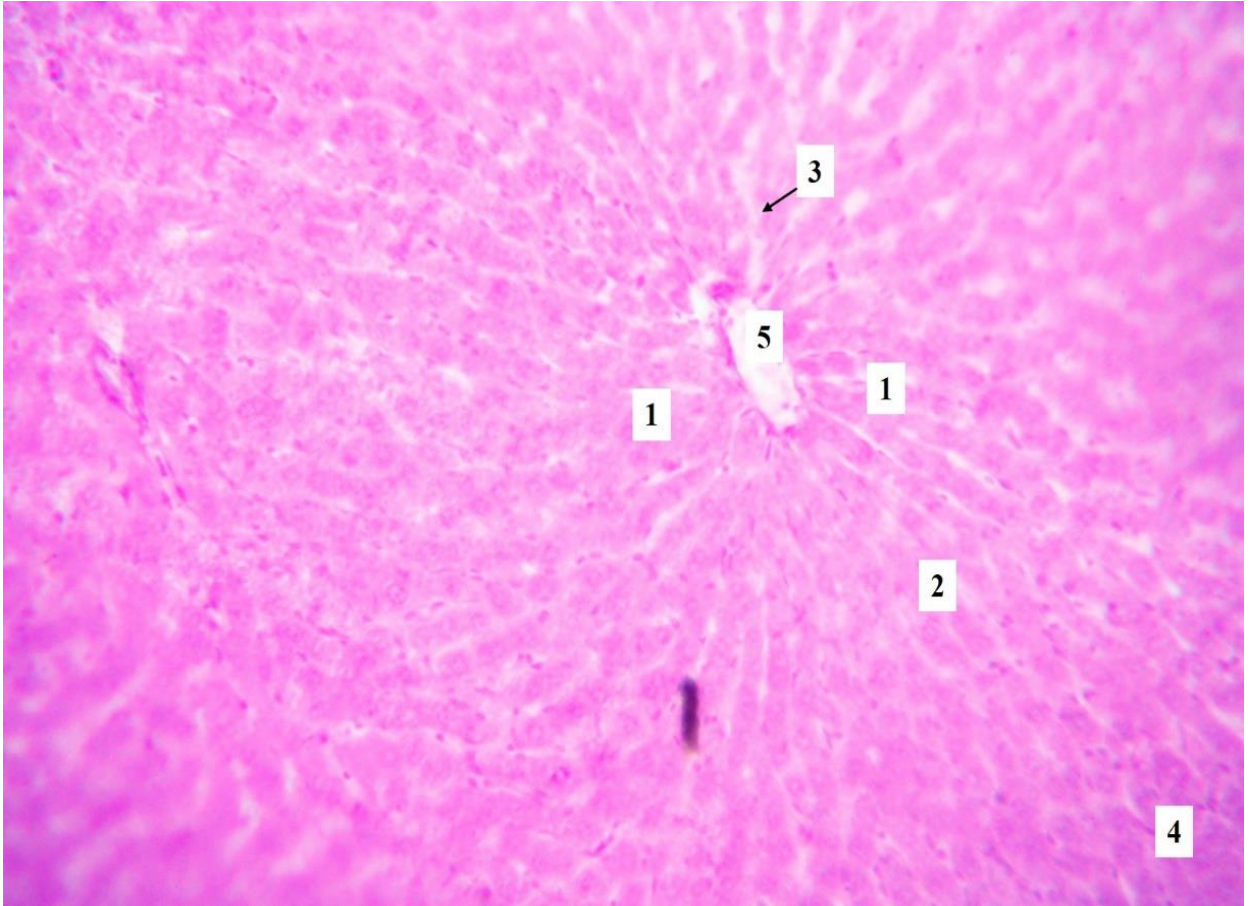


Рис. 5.7. Гістологічні зміни будови печінки щура за ГАУ та корекції NaHS. Печінкові пластинки (1), гепатоцити (2), перисинусоїдні простори (3), гістіолімфоцитарна інфільтрація (4), центральна вена (5). Забарвлення гематоксилином та еозином. х 100.

Застосування щурам комбінованої корекції ГАУ кверцетином та NaHS супроводжувалось більш ефективним покращенням структурної організації печінки ніж монотерапія. Зокрема, як і в попередній групі тварин були наявні ознаки відновлення радіального розміщення печінкових балок в перипортальних зонах. Гепатоцити тут мали світлу цитоплазму, не містили вакуоль. Необхідно відмітити, що для них характерним був високий ядерно-цитоплазматичний індекс, що свідчить про їх значний потенціал до регенерації. Крім того, спостерігали наявність диплоїдних клітин, що також підтверджує думку щодо відновних можливостей органу. В периферичних

ділянках часточок все ще виявляли клітини печінки, що мали хаотичне розміщення. В окремих полях зору спостерігали перипортальну гістіолімфоцитарну інфільтрацію. Просвіти центральних вен були не розширені, повнокрівні (рис. 5.8).

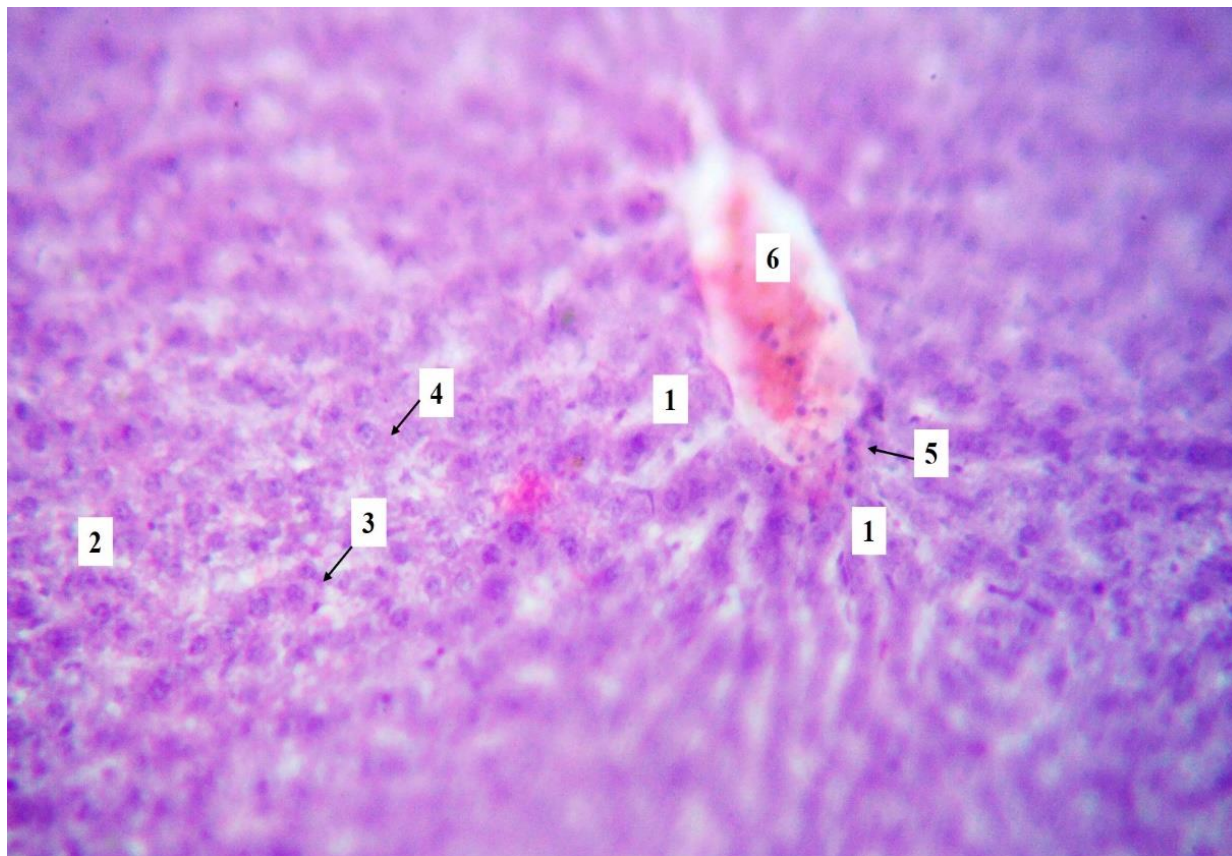


Рис. 5.8. Мікроскопічні зміни структурної організації печінки щура з ГАУ та корекцією кверцетином і NaHS. Радіальне розміщення печінкових балок в перипортальних зонах (1), хаотичне розміщення гепатоцитів на периферії часточок (2), диплоїдні гепатоцити (3), вакуольна дистрофія гепатоцитів (4), гістіолімфоцитарна інфільтрація (5), повнокрів'я центральної вени (6). Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 100.

Цитоплазма гепатоцитів була зернистою, містила вакуолі, однак кількість їх була значно меншою ніж у групі експериментальних тварин, яким не проводили медикаментозну корекцію (рис. 5.9). Таким чином комбінація кверцетину та NaHS виявляла найбільш виразну гепатопротекторну активністю за ГАУ, що характеризувалось зменшенням запалення, жирової

інфільтрації, відновленням радіального розміщення печінкових балок та збільшенням регенераторного потенціалу гепатоцитів.

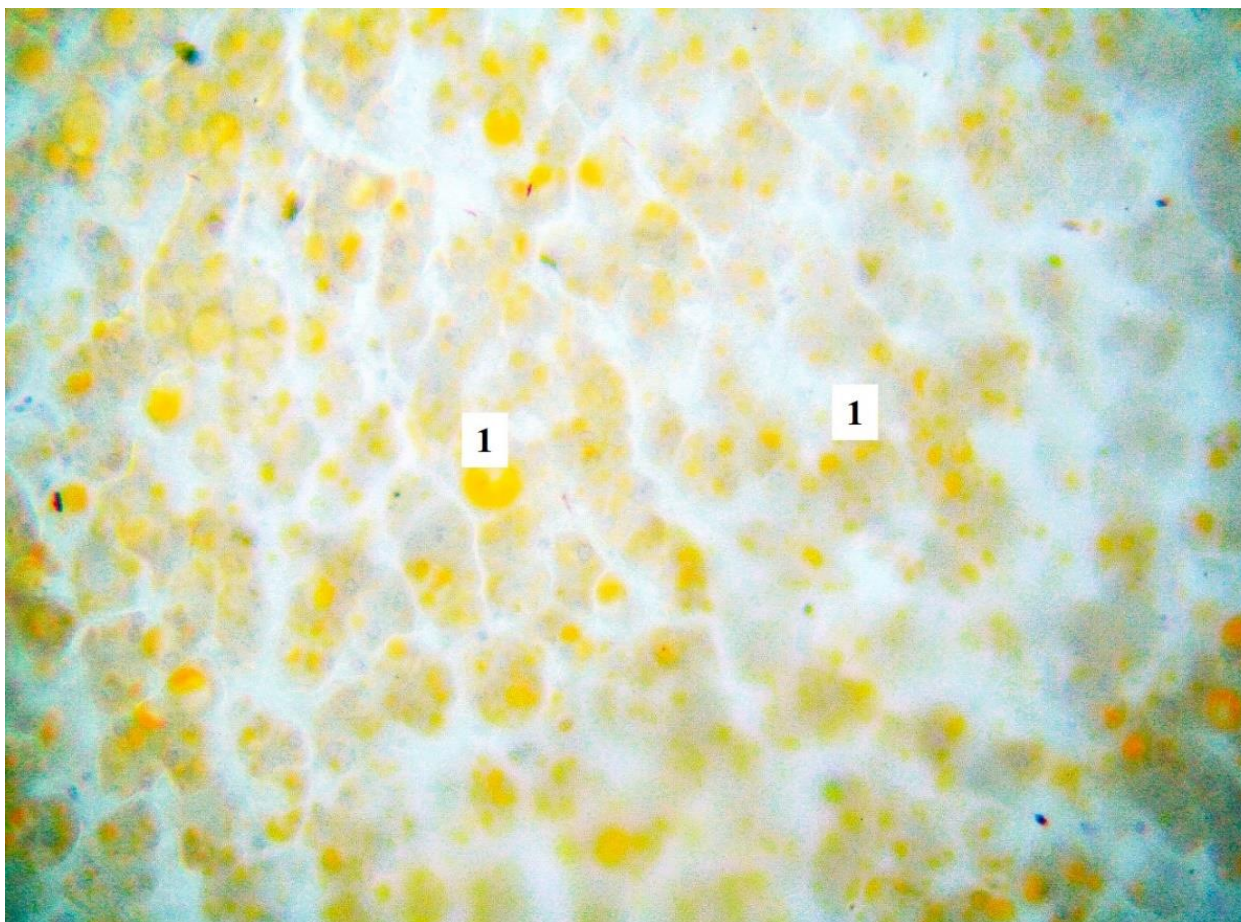


Рис. 5.9. Жирова дистрофія гепатоцитів щура за умов ГАУ та корекції кверцетином і NaHS. Краплі жиру різних розмірів в цитоплазмі окремих гепатоцитів (1). Забарвлення судан III. x 400.

5.2 Гістологічні зміни тканин нирок щурів за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції

Мікроскопічні дослідження нирок тварин групи контролю виявили ознаки характерної морфологічної організації органу. Зовні вони вкриті капсулою, що представлена щільною волокнистою сполучною тканиною. Паренхіма нирок розділена на кіркову та мозкову речовину. На гістологічних препаратах кіркова речовина має більш темне забарвлення, в ній чітко визначаються ниркові тільця, звивисті та прямі трубочки нефронів. Мозкова

речовина є світлішою, в її складі переважають прямі трубочки. Необхідно відмітити, що мозкова речовина вростає в кіркову у вигляді так званих променів Фаррейна, в той час, як з кіркової в мозкову речовину проникають стовпи Бертена.

Нефрони нирки утворені капсулою, судинним клубочком, що разом формують ниркове тільце та сукупністю канальців. Останні поділяються на проксимальні звивисті і прямі, петлю Генле та прямі і звивисті дистальні. Судинні клубочки представлені системою капілярів. Між капілярами клубочків відмічали мезангіальні клітини. Зовні клубочки вкриті капсулою Боумена, яка складається з зовнішнього та внутрішнього листків. Зовнішній листок капсули клубочка побудований з одношарового плоского епітелію, що розміщений на базальній мембрані. Внутрішній листок містить подоцити, які мають відростки – цитотрабекули. Між листками капсули Боумена відмічали наявність нерозширених сечових просторів (рис. 5.10).

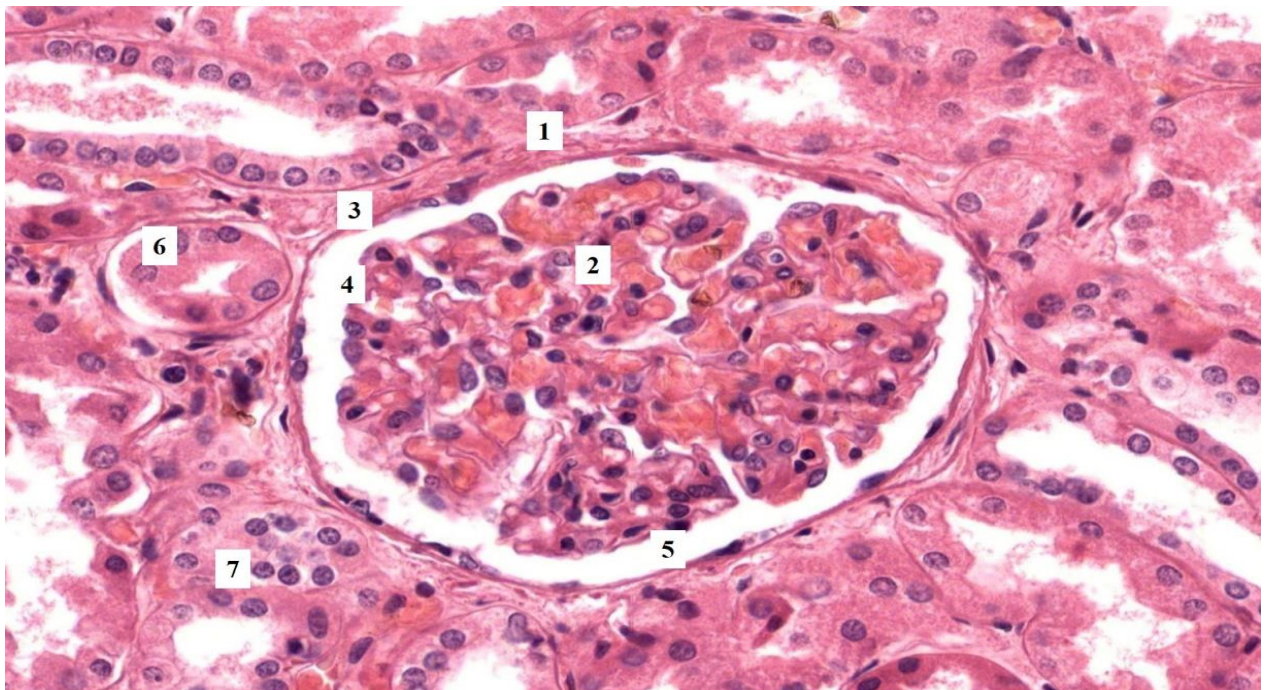


Рис. 5.10. Структурна організація нирки інтактного щура. Ниркове тільце (1), судинний клубочок (2), зовнішній листок капсули клубочка (3), внутрішній листок капсули клубочка (4), сечовий простір (5), проксимальні звивисті трубочки (6), дистальні звивисті трубочки (7). Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 400.

Проксимальні каналці нефрона у щурів контрольної групи зсередини вкриті одношаровим циліндричним епітелієм. Епітеліоцити містили базальну посмугованість, цитоплазма їх забарвлена оксифільно, ядра нормохромні. На апікальній поверхні цих клітин зосереджені мікрворсинки, що формують щітчкову облямівку. Просвіти проксимальних каналців нефронів були не розширеними. Дистальні трубочки нефронів вистилені одношаровим циліндричним епітелієм, що не містить щітчкової облямівки. Цитоплазма клітин є більш світлою, в порівнянні з такою в проксимальних каналцях. Ядра епітеліоцитів округлі, нормохромні. Просвіти дистальних трубочок не розширені, вільні. Міжчасточкові кровоносні судини були не розширеними, помірно повнокровними (рис. 5.10).

Дослідження нирок щурів, в яких моделювали ГАУ на світлооптичному рівні виявляли низку порушень їх морфології. Судинні клубочки ниркових тілець мали переважно однакові розміри. Просвіти капсули Боумена були не розширені, візуалізували наявність обох її листків. Однак спостерігали ниркові тільця з початковими ознаками фрагментації, в яких відмічали вогнища руйнування зовнішньої та внутрішньої стінок капсули з виходом формених елементів крові за межі тільця. В окремих полях зору виявляли також незначне ущільнення судинних клубочків ниркових тілець без змін розмірів сечового простору. Проксимальні звивисті каналці нефронів були вистелені одношаровим циліндричним епітелієм. Цитоплазма епітеліоцитів мала ознаки набряку, іноді містила зернистість. Ядра цих клітин метахроматичні. Спостерігали вогнища десквамації епітеліоцитів в просвіти проксимальних каналців. Останні характеризувались також наявністю клітинного детриту та подекуди геморагічного вмісту. Дистальні трубочки нефронів також вистилені циліндричним епітелієм, клітини якого були набряклими. Ядра їх мали крайове розташування хроматину та нерівномірне його забарвлення. В просвітах дистальних каналців спостерігали наявність вмісту. Судини кіркової та мозкової речовини характеризувались ознаками нерівномірного кровонаповнення, містили складжі еритроцитів (рис. 5.11).

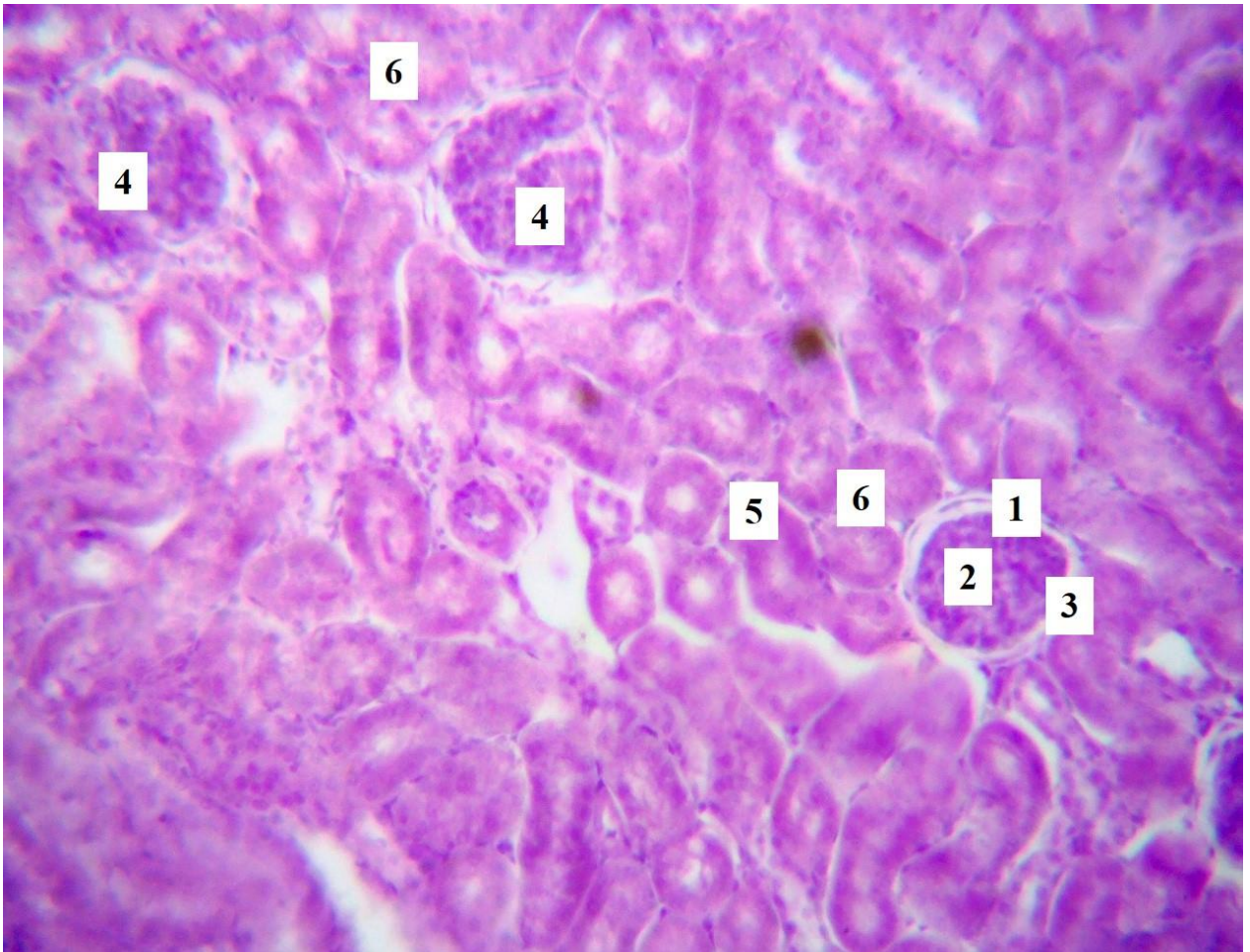


Рис. 5.11. Гістологічні зміни тканини нирки щура за ГАУ. Ниркове тільце (1), судинний клубочок (2), сечовий простір (3), фрагментація ниркового тільця (4), проксимальні звивисті трубочки (5), дистальні звивисті трубочки (6). Забарвлення гематоксиліном та еозином. х 200.

У щурів, що отримували в якості медикаментозної корекції кверцетин на тлі ГАУ при гістологічному дослідженні встановлено, що ниркові тільця були майже однакових розмірів, сечові простори їх не розширені. Судинні клубочки характеризувались ознаками ущільнення. Мезангіальні елементи не візуалізувались. Подекуди спостерігали явища руйнування листків капсули Боумена та фіброзу. Стінки звивистих канальців майже в усіх полях зору були набряклими. Епітеліоцити їх внутрішньої стінки мали просвітлену, вакуолізовану цитоплазму. Ядра цих клітин в переважній більшості були нормохромними, однак відмічали також блідо забарвлені ядра з розрідженим хроматином. Слід відмітити, що звивисті канальці володіли ознаками

дистрофії епітеліального вистилення, а просвіти їх були заповнені клітинними елементами, ймовірно, внаслідок часткового відшарування епітеліоцитів від базальної мембрани. Характерними також були вогнища лейкоцитарної інфільтрації, що розміщувались навколо ниркових тілець та іноді звивистих каналців (рис. 5.12).

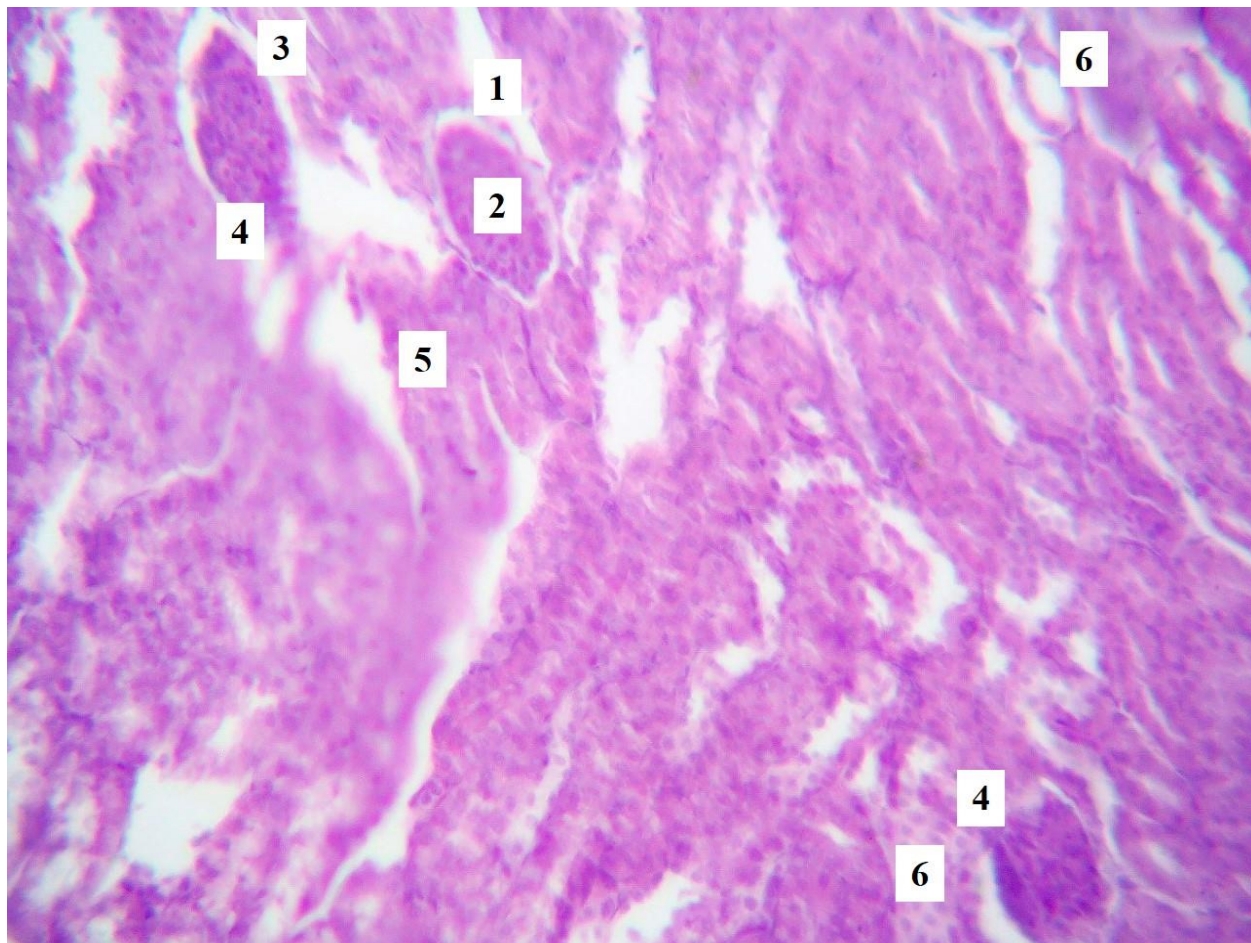


Рис. 5.12. Структурні зміри нирки щура за умов ГАУ та медикаментозної корекції кверцетином. Ниркове тільце (1), ущільнений судинний клубочок (2), сечовий простір (3), руйнування листків капсули Боумена (4), проксимальні звивисті каналці (5), лейкоцитарна інфільтрація (6). Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 200.

За умов медикаментозної корекції NaHS у щурів з ГАУ ниркові тільця були переважно однакових розмірів, проте деякі з них характеризувались морфологічними змінами. Зокрема, виявляли ниркові тільця з початковими ознаками їх фрагментації. Судинні клубочки більшості з них були ущільнені.

Характерними є локальні деструктивні зміни листків капсули Боумена. Сечові простори за даних умов були не розширені, вільні (рис. 5.13).

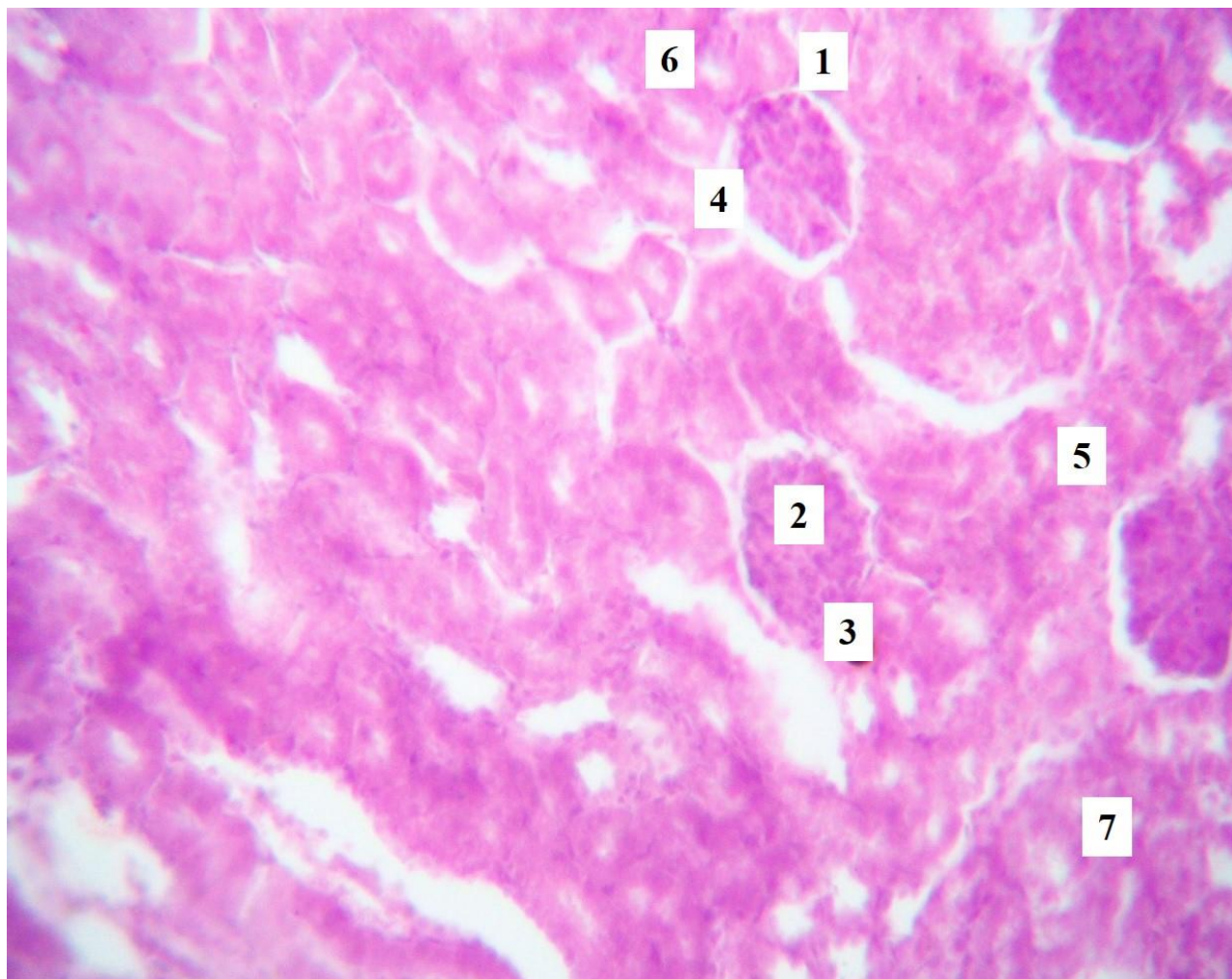


Рис. 5.13. Гістологічні зміни тканини нирки щура з ГАУ та корекцією NaHS. Ниркове тільце (1), ущільнений судинний клубочок (2), локальні деструктивні зміни капсули Боумена (3), сечовий простір (4), проксимальні звивисті каналці (5), дистальні звивисті каналці (6), гістіолейкоцитарна інфільтрація (7). Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 200.

Окремі звивисті каналці нефронів мали набряклі стінки. Епітеліоцити їх володіли світлою, вакуолізованою цитоплазмою, а ядра мали бліде забарвлення та розріджений хроматин. Просвіти окремих звивистих каналців були звужені, інших – розширені та містили клітинний детрит. Відмічали також, що прояви дистрофії їх дещо зменшувались, в порівнянні з тваринами

без корекції. Необхідно зазначити, що все ще виявляли вогнища гістіолейкоцитарної інфільтрації (рис. 5.13).

У групі експериментальних тварин, яким вводили кверцетин в комбінації з NaHS на фоні ГАУ морфологічні дослідження виявили найбільш виразні покращення структурної організації нирок (рис. 5.14).

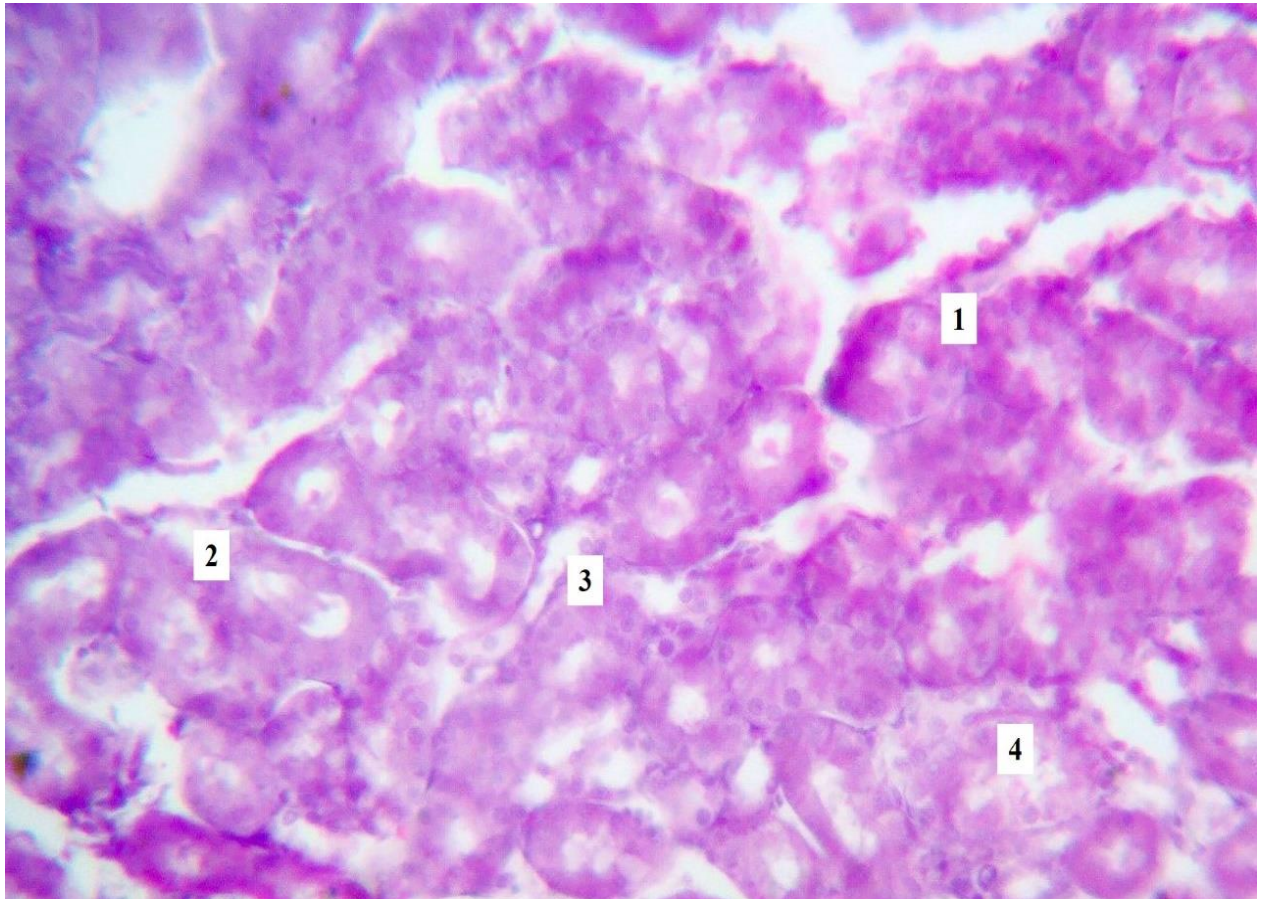


Рис. 5.14. Морфологічні зміни нирки щура на фоні ГАУ та медикаментозної корекції кверцетином і NaHS. Проксимальні звивисті канальці (1), дистальні звивисті канальці (2), епітеліоцити звивистих канальців (3), клітинний детрит в просвіті звивистих канальців (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. х 200.

На гістологічних препаратах ниркові тільця мали однакові розміри, сечові простори їх були не розширені, вільні. Листки капсули Боумена добре візуалізувались, не володіли проявами деструктивних змін. Капіляри судинних клубочків характеризувались помірним їх кровонаповненням. На відміну від щурів, яким не проводили медикаментозну корекцію та при

корекції кверцетином, в даній групі тварин відмічали виразні зменшення проявів дистрофії епітелію звивистих каналців. Епітеліоцити їх мали дещо ущільнену цитоплазму, лише окремі з них були набряклими, зернистими, ядра їх нормохромні. Просвіти звивистих каналців переважно не мали вмісту, лише подекуди спостерігали наявність в них клітинного детриту (рис. 5.14).

Резюме до розділу 5.

Підсумовуючи результати даного розділу нами показано, що за умов ГАУ в печінці й нирках експериментальних щурів спостерігається розвиток виражених гістологічних змін їх структурних компонентів. Так, в печінці зазначені морфологічні зміни проявлялись у вигляді порушень її часточкової будови, радіального впорядкування печінкових балок, дисконкомплексації, запалення, гіпертрофії та жирової інфільтрації гепатоцитів. В нирках дослідних тварин виявляли ознаки фрагментації ниркових тілець, руйнування зовнішнього та внутрішнього листків капсули Боумена, ущільнення судинних клубочків, набряк цитоплазми епітеліоцитів каналців нефронів, дистрофію епітелію каналців та його десквамацію в просвіт трубочок.

Застосована фармакотерапія розрізнялась за ефективністю корекції морфологічних змін в печінці та нирках за ГАУ. Так, при використанні кверцетину відмічали певні покращення гістологічної організації вказаних органів. Зокрема, в печінці спостерігали часткове відновлення балкової структури, дещо знижувався ступінь жирової інфільтрації гепатоцитів. В тканині нирок щурів виявлено ущільнення судинних клубочків, проте ниркові тільця мали переважно однакові розміри, сечові простори їх були не розширені, незначно зменшувалась вираженість деструкції стінок капсули клубочка.

За умов використання в якості коректора ГАУ NaHS структурні порушення в тканинах печінки та нирок були менш виразними ніж за монотерапії кверцетином. Зокрема відзначали збереженість радіальної структури печінкових балок. Вогнища дисконкомплексації гепатоцитів були

незначними. Ниркові тільця характеризувались однаковими розмірами. Сечові простори залишались вільними. Прояви дистрофії звивистих канальців зменшувались.

Найбільш виразні покращення гістологічної структури печінки та нирок за ГАУ відмічалось за використання комбінації кверцетину та NaHS: в печінці тварин відмічались ознаки відновлення радіального розміщення печінкових балок, зменшувалась виразність запалення, знижувались прояви жирової інфільтрації, гепатоцити мали високий ядерно-цитоплазматичний індекс, що свідчило про їх значний потенціал до відновлення; в нирках щурів за даних умов не спостерігали руйнування листків капсули Боумена, ознаки дистрофії епітелію звивистих канальців були мінімальними.

Основні результати розділу висвітлені в наступних публікаціях: [61, 64, 65, 66, 67].

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Зловживання алкоголю є причиною щорічної загибелі близько 3 мільйонів осіб, що складає 5,3 % від усіх випадків летальності [289]. Тривала алкоголізація супроводжується соціальними, психіатричними проблемами, а також веде до ураження багатьох органів: мозку, серця, печінки, нирок та ін [165]. Особливо сприйнятливим до етанол-індукованого пошкодження є печінка, адже вона є основним місцем метаболізму алкоголю в організмі [268]. Алкогольне ураження печінки проявляється накопиченням жиру в гепатоцитах і спостерігається у 90 % осіб, що зловживають алкоголем [269]. Тривале вживання алкоголю прискорює перехід алкогольного ожиріння печінки в алкогольний гепатит, який поряд зі стеатозом характеризується розвитком гіпертрофії гепатоцитів, інфільтрацією нейтрофілів та можливим виникнення фіброзу [191].

Ураження нирок за алкоголізації зустрічається значно рідше, ніж розвиток алкогольного гепатиту. Проте існує ряд клінічних та експериментальних досліджень у яких наголошено, що етиловий спирт є важливим етіологічним фактором ураження нирок [23]. Досить часто алкогольна нефропатія розвивається на тлі ураження печінки, що асоціюється з розвитком гепато-ренального синдрому, який значно ускладнює перебіг та прогноз захворювання [77].

Механізми алкогольного ураження печінки та нирок тісно пов'язані та представлені основними ланками, такими як: пряма гепато- та нефротоксичність етанолу [266], посилення продукції активних форм кисню (АФК), що веде до розвитку оксидативного стресу [264], індукція синтезу прозапальних та профіброгенних цитокінів [102, 132, 227], розвиток ендотоксемії [29, 273] та ін. Однак, питання молекулярних механізмів гепато-

та нефротоксичної дії алкоголю залишається відкритим, що стримує розробку ефективних засобів фармакокорекції.

Важливою сигнальною системою, яка регулює процеси регенерації, апоптозу, проліферації клітин печінки та нирок є інсуліноподібний фактор росту (IGF-1). Поряд з цим ця сигнальна молекула залучена до регуляції численних фізіологічних та метаболічних процесів в печінці та нирках [156, 260]. Дотепер залишається невивченим питання щодо залученості системи IGF-1 до ГАУ печінки й нирок та механізмів фармакокорекції.

Останнім часом увагу науковців привертає сигнальна молекула H_2S , яка залучена до регуляції багатьох фізіологічних процесів, а порушення її продукції лежить в основі патогенезу багатьох захворювань [116, 284]. На сьогодні практично відсутні дані щодо ролі системи H_2S у розвитку ГАУ внутрішніх органів. Проте існує інформація, що донори H_2S зменшують утворення токсичного ацетальдегіду, знижують накопичення ліпідів в печінці, активність запалення, цитолізу гепатоцитів та оксидативного стресу [120, 167, 240].

Найпопулярнішим серед біофлавоноїдів, що застосовуються при алкогольному ушкодженні печінки та нирок, є кверцетин, який пригнічує продукцію АФК, посилює антиоксидантний захист, зменшує запальні процеси та регулює вміст оксиду азоту [128]. На сьогодні практично відсутня інформація щодо можливої ролі сигнальних систем IGF-1 та H_2S у реалізації гепато- та нефропротекторної дії кверцетину за алкоголізації. Не вивченим також залишається питання здатності донорів H_2S впливати на гепато- та нефропротекторну дію кверцетину за ГАУ.

Метою нашого дослідження було оцінити роль IGF-1 та H_2S в механізмах гострого алкогольного ураження тканин печінки та нирок і на цій основі обґрунтувати нові шляхи метаболічної гепато- та нефропротекції.

Досліди проведені на 116 білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях. Усі лабораторні тварини утримувались на стандартному харчовому раціоні віварію ВНМУ ім. М.І. Пирогова при звичайному світловому й

температурному режимі. Всі етапи досліджень виконані за загальними етичними принципами експериментів на тваринах згідно Першого національного конгресу України з біоетики (Київ, 2001), «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), а також Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження», що було засвідчено комісією з біоетики ВНМУ ім. М.І. Пирогова (протокол № 8 від 25 жовтня 2018 р., протокол №7 від 01 листопада 2023 р.). Тварини були розподілені випадковим чином на п'ять груп. Щурі 1 групи (контроль) утримувались за стандартних умов віварію та протягом 7 днів отримували інтрагастрально за допомогою металевого зонда з оливою дистильовану воду з розрахунку 20 мл/кг маси тіла та 0,9 % розчин NaCl інтраперитонеально в дозі 0,1 мл/кг маси тіла. Тваринам 2-5 груп моделювали ГАУ шляхом інтрагастрального введення 40% етанолу у дозі 20 мл/кг протягом 7 днів [49]. В якості метаболічної корекції ГАУ тваринам 3-ої групи вводили кверцетин («Корвітин» ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», м. Київ) у вигляді свіжоприготовленого розчину (на 0,9 % розчині NaCl) інтраперитонеально в дозі 100 мг/кг маси тіла (з розрахунку 0,1 мл на 100 г маси) 1 раз на добу протягом 7 діб [221]; тваринам 4-ої групи вводили донор гідроген сульфід $\text{NaHS}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (Sigma, США) у вигляді свіжоприготовленого розчину (на 0,9 % розчині NaCl) інтраперитонеально в дозі 3 мг/кг маси (з розрахунку 0,1 мл на 100 г маси щура) 1 раз на добу протягом 7 діб [159]; тваринам 5-ої групи вводили одночасно кверцетин та $\text{NaHS}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (доза, шляхи та тривалість введення наведені вище).

Дослідження вмісту IGF-1 в сироватці крові та стану системи H_2S /ЦГЛ в тканинах печінки й нирок за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції (розділ 3).

Вивчення сироваткового рівня IGF-1 показало, що ГАУ спричиняло вірогідне зростання середньої величини рівня IGF-1 в сироватці крові на 23,9 % ($p < 0,05$) порівняно з показником контрольної групи тварин. Застосована

терапія відрізнялась за впливом на сироватковий рівень IGF-1. Так, за умов введення кверцетину середній показник рівня IGF-1 в сироватці вірогідно не відрізнявся від групи нелікованих тварин з ГАУ. Використання NaHS спричиняло вірогідне зростання середньої величини рівня IGF-1 в сироватці крові на 13,2 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами, а також на 21,6 % ($p < 0,05$) відносно групи щурів, які отримували лікування кверцетином. Застосування кверцетину в комбінації з NaHS викликало подібні зміни сироваткового рівня IGF-1 до таких у тварин, лікованих лише NaHS. За середнім показником рівень IGF-1 в сироватці крові був більшим на 14,7 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин, на 23,0 % перевищував показник в групі «ГАУ + Кверцетин» та вірогідно не відрізнявся від групи «ГАУ + NaHS».

Відомо, що інсуліноподібний фактор росту (IGF-1) є важливою сигнальною системою в печінці та нирках, що асоціюється зі здатністю регулювати фізіологічні функції та метаболічні процеси (виявляє антиоксидантну, цитопротекторну дії, зменшує чутливість рецепторів до інсуліну, активує протеосинтез та ліполіз в печінці, стимулює клубочкову фільтрацію, реабсорбцію води, йонів натрію, фосфат-аніонів та синтез кальцитріолу в нирках), а також стимулювати регенерацію тканин і органів [156, 260]. Показано, що на тлі гострої токсичної та ішемічної нефропатії вміст IGF-1 вірогідно зростає, тоді як зміни рівня IGF-1 за гострих уражень печінки залишаються до кінця невивченими. Поряд з цим в літературі існує цілий ряд публікацій у яких наведені переконливі докази наявності у IGF-1 потужних гепато- та нефропротекторних властивостей на різних експериментальних моделях гострого та хронічного ураження печінки й нирок [129, 156].

Таким чином, зростання сироваткового рівня IGF-1, зареєстроване нами на тлі ГАУ, ймовірно є наслідком активації компенсаторно-захисних реакцій організму у відповідь на гостре пошкодження тканин і органів етанолом. В той же час за умов корекції ГАУ NaHS та його комбінацією з кверцетином відмічалась більш масштабна активація IGF-1-сигнальної системи, що може бути одним із чинників їх органопротекторної дії.

Гостре алкогольне ураження супроводжується пертурбаціями обміну H_2S в печінці та нирках щурів. У групі тварин «ГАУ» реєструється вірогідне зниження вмісту H_2S в печінці та нирках відповідно на 35,1 та 28,1 % ($p < 0,05$) відносно тварин контрольної групи. Поряд з цим відмічається достовірне зростання загальної швидкості утилізації H_2S в печінці на 61,7 % ($p < 0,05$), а в нирках на 49,9 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем. За цих умов не було виявлено вірогідних відмінностей H_2S -синтезуючої активності ЦГЛ в печінці та нирках щурів відносно контрольної групи.

Проведені дослідження показали, що у патогенез ГАУ печінки та нирок до певної міри інтегруються порушення обміну H_2S . В літературі нами не знайдено даних щодо причетності системи H_2S до механізмів ураження нирок та печінки за ГАУ. Однак, існують літературні повідомлення щодо ролі H_2S у патогенезі ураження печінки та нирок іншої етіології (неалкогольна жирова хвороба, цироз печінки, цукровий діабет та ін.), а також за хронічного алкогольного гепатиту [43, 74, 80, 81, 141, 183, 256]. Поряд з цим показано, що розлади метаболізму H_2S залучені до патогенезу алкогольної кардіоміопатії [8].

Застосовані коректори вірогідно зменшували порушення метаболізму H_2S в печінці та нирках щурів за ГАУ, хоча їх ефективність була різною. Найменшу здатність коригувати метаболізм H_2S в печінці та нирках щурів виявляв кверцетин. У групі тварин «ГАУ + Кверцетин» в печінці та нирках щурів рівень H_2S був вірогідно вищим відповідно на 22,4 та 19,0 % ($p < 0,05$), активність ЦГЛ достовірно не відрізнялась, а швидкість утилізації H_2S була меншою відповідно на 16,5 та 15,9 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами з ГАУ. Здатність кверцетину впливати на метаболізм H_2S в печінці та нирках щурів за умов алкогольного ураження нами не було знайдено в літературі. Проте існують поодинокі публікації в яких показано стимулюючий вплив кверцетину на рівень H_2S в серцево-судинній системі та нирках щурів за різних патологічних станів [7, 37].

Застосування донора гідроген сульфіда NaHS справляло більш виразний коригуючий вплив на обмін H_2S за ГАУ: в печінці та нирках щурів рівень H_2S був вірогідно вищим відповідно на 37,5 та 29,0 % ($p < 0,05$), активність ЦГЛ була вірогідно більшою відповідно на 29,1 та 19,1 % ($p < 0,05$), а швидкість утилізації H_2S була меншою відповідно на 29,4 та 27,4 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами з ГАУ. В літературі існують дані, що застосування NaHS збільшує експресію та активність H_2S -синтезуючих ферментів, в тому числі ЦГЛ та супроводжується збільшенням рівня H_2S в печінці, нирках, серці та інших органах за різних патологічних станів [46, 47, 80, 288].

Найвища здатність нормалізувати метаболізм H_2S в печінці та нирках щурів за ГАУ була зареєстрована у комбінації «Кверцетин + NaHS». За цих умов в печінці та нирках щурів рівень H_2S був вірогідно вищим відповідно на 50,6 та 41,1 % ($p < 0,05$), активність ЦГЛ була вірогідно більшою відповідно на 30,8 та 20,8 % ($p < 0,05$), а швидкість утилізації H_2S була меншою відповідно на 39,2 та 32,4 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами з ГАУ.

Проведений кореляційний аналіз показав, що між сироватковим рівнем IGF-1 та вмістом H_2S , десульфуразною активністю ЦГЛ в тканинах печінки та нирок лікованих щурів з ГАУ виникали середньої сили статистично достовірні прямі кореляції, а з швидкістю утилізації H_2S в печінці та нирках - помірної сили обернені вірогідні взаємозв'язки. Отримані результати до певної міри можуть слугувати доказом того, що стимулюючий вплив метаболічних коректорів на сигнальну систему IGF-1 за ГАУ тісно супряжено з їх здатністю поповнювати запаси H_2S , збільшувати H_2S -синтезуючу активність ЦГЛ та зменшувати швидкість окисної деградації H_2S в печінці та нирках щурів.

Дослідження біохімічних маркерів ураження печінки та нирок за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції (розділ 4).

Інтрагастральне введення етанолу протягом 1 тижня супроводжується розвитком цитолізу гепатоцитів (активність АЛТ в сироватці крові зростає на 27,6 %, $p < 0,05$, відносно контролю), холестазу (активність ГГТП в сироватці

крові зростає на 84,4 %, $p < 0,05$, відносно контролю), жирового гепатозу (вміст тригліцеридів у печінці зростає на 27,6 %, $p < 0,05$, відносно контролю) пригніченням білоксинтезуючої функції печінки (сироватковий рівень загального білка зменшується на 17,8 %, $p < 0,05$, відносно контролю), а також формуванням тубулярної дисфункції в нирках (зростає протеїнурія на 52,4 %, $p < 0,05$, відносно контролю). Отримані результати не суперечать даним літератури відповідно до яких алкогольне ураження печінки характеризується розвитком холестатичного гепатиту та стеатозу печінки, а пошкодження нирок – тубулоінтерстиційними порушеннями [93, 77, 212].

Застосовані коректори з різною ефективністю коригували пошкодження печінки та нирок за ГАУ. Найменшу ефективність виявляв кверцетин: спричиняв зменшення в сироватці крові активності АЛТ, ГГТП відповідно на 10,0 та 22,0% ($p < 0,05$), збільшення сироваткового рівня загального білка на 23,5 % ($p < 0,05$), зниження рівня печінкових тригліцеридів на 7,20 % ($p > 0,05$) відносно нелікованих тварин. Застосування NaHS супроводжувалось більш виразними гепато- та нефропротекторними ефектами порівняно з кверцетином: зменшення в сироватці крові активності АЛТ, ГГТП становило відповідно 12,8 та 33,1 % ($p < 0,05$), збільшення сироваткового рівня загального- 22,6 % ($p < 0,05$), зниження рівня печінкових тригліцеридів - 11,9 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин. Комбінація кверцетину та NaHS характеризувалась найбільш виразною антицитолітичною, антихолестатичною, ліпотропною дією в печінці та тубулопротекторною дією в нирках: зменшення в сироватці крові активності АЛТ, ГГТП становило відповідно 16,0 та 39,4 % ($p < 0,05$), а зниження рівня печінкових тригліцеридів - 16,5 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин. Наявність у кверцетину гепатопротекторної дії за алкогольного ураження печінки документується в ряді публікацій [103, 185, 196]. В той же час на сьогодні відсутні літературні дані щодо нефропротекторної дії кверцетину за ГАУ, хоча існує багато публікацій щодо здатності цього поліфенолу покращувати функціонування нирок за гострого та хронічного ураження

нирок неалкогольної етіології [119]. Інформація щодо впливу донорів гідроген сульфїду на функціональний стан органів за алкогольного ураження є досить обмеженою, існують лише поодинокі дані щодо їх гепато- та кардіопротекторної дії за хронічного алкогольного ураження [117, 188].

Проведений кореляційний аналіз показав, що гепато- та нефропротекторна активність кверцетину й NaHS, асоціюється з їх впливом на сигнальні системи IGF-1 та H₂S (коефіцієнти кореляції між рівнями IGF-1 в сироватці крові, вмістом H₂S в тканинах, а також біохімічними маркерами ураження печінки та нирок становлять $r_s = |0,26-0,50|$, $p < 0,05$).

Дослідження біохімічних маркерів запалення та оксидативного стресу в печінці та нирках за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції (розділ 4).

За ГАУ в печінці та нирках щурів відмічається індукція запальної реакції та оксидативного стресу: вірогідно зростають рівні TNF α відповідно в 2,72 та 2,29 рази ($p < 0,05$), МДА в 3,10 та 2,0 рази ($p < 0,05$), а також зменшується активність СОД на 35,0 та 29,8 % ($p < 0,05$) відносно контролю.

Серед причин інтенсифікації оксидативного стресу за алкогольного ураження печінки та нирок можна виділити наступні [205]: 1) індукція ферментів метаболізму етанолу - алкогольдегідрогенази, цитохрому CYP2E1, альдегіддегідрогенази, що асоціюється зі збільшення продукції АФК - супероксидного-аніон радикалу, гідроксильного радикалу, гідроген пероксиду; 2) індукція НАДФН-оксидази посилює синтез супероксидного-аніон радикалу; 3) зменшення вмісту глутатіону, активності СОД пригнічує інактивацію АФК.

Розвиток запальної реакції на тлі алкоголізації є наслідком активації макрофагів та клітин Купфера під впливом ацетальдегіду, що сприяє вивільненню прозапальних цитокінів. Поряд з цим ацетальдегід через взаємодію з толл-подібними рецепторами 4 типу (TLR4) викликає активацію ядерного фактору NF- κ B, що запускає каскад запальної реакції [165].

Запропонована терапія виявляла протизапальну та антиоксидантну активності за ГАУ, хоча ефективність залежала від обраного коректора. За протизапальною та антиоксидантною діями NaHS перевершував кверцетин, а найбільшу ефективність виявляла комбінація «Кверцетин + NaHS». В групі тварин «ГАУ + Кверцетин» в печінці та нирках реєструється вірогідне зменшення рівнів TNF α відповідно на 26,5 та 22,2 % ($p < 0,05$), МДА на 23,0 та 19,8 % ($p < 0,05$), а також збільшення активності СОД на 25,9 та 18,9 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами. У тварин, які отримували NaHS, в печінці та нирках відмічається вірогідне зменшення рівнів TNF α відповідно на 37,1 та 29,0 % ($p < 0,05$), МДА на 40,6 та 34,7 % ($p < 0,05$), а також збільшення активності СОД на 36,1 та 29,6 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами. За умов застосування кверцетину разом з NaHS в печінці та нирках зафіксоване вірогідне зменшення рівнів TNF α відповідно на 49,1 та 38,0 % ($p < 0,05$), МДА на 51,9 та 39,2 % ($p < 0,05$), а також збільшення активності СОД на 47,3 та 36,1 % ($p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами.

Відомо, що антиоксидантна дія кверцетину опосередковується через різноманітні молекулярні механізми [294, 312]: 1) виявляє прямі антиоксидантні ефекти, адже є скавенджером АФК; 2) збільшує вміст ендogenous антиоксиданту глутатіону, а також збільшує активність антиоксидантних ферментів - СОД, пероксидази та каталази. В той же час антиоксидантні властивості донора гідроген сульфіда NaHS [Sun, H. J., 2019] пов'язані з його відновними властивостями, а також здатністю посилювати експресію ядерного фактору Nrf2.

Протизапальна активність кверцетину та донору гідроген сульфіду асоціюється з їх впливом на сигнальні системи - регулятори запалення [256, 312], а саме вони інгібують експресію ядерного фактору NF- κ B, мітоген-активованої протеїнкінази (МАРК), а також стимулюють γ -рецептори активатори проліферації пероксисом.

За результатами кореляційного аналізу нами встановлено, що антиоксидантна та протизапальна активність застосованих коректорів за ГАУ

до певної міри пов'язано з їх здатність збільшувати сироватковий рівень IGF-1 та поповнювати тканинні запаси H_2S (коефіцієнти кореляції між рівнем IGF-1 в сироватці крові, вмістом H_2S в печінці й нирках, а також біохімічними маркерами запалення і оксидативного стресу становлять $r_s = |0,34-0,60|$, $p < 0,05$).

Дослідження показників клітинного циклу в печінці та нирках за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції (розділ 4).

ГАУ супроводжується індукцією апоптозу клітин печінки та нирок про що доказово свідчить вірогідне зростання частки клітин з фрагментованою ДНК у фазі $SUBG_0G_1$ відповідно на 37,9 та 32,0 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою. Поряд з цим вірогідно зростала частка клітин у синтетичній фазі клітинного циклу (в печінці та нирках відповідно на 49,9 та 62,2 %, $p < 0,05$, порівняно з контролем), достовірно не змінювалась кількість клітин у постсинтетичній фазі та мітозі, а також зростав показник блоку проліферації (в печінці та нирках відповідно на 79,8 та 53,0 %, $p < 0,05$, порівняно з контролем).

Використання кверцетину, NaHS та їх комбінації у тварин на тлі ГАУ відрізнялось за впливом на процеси проліферації та апоптозу клітин печінки та нирок. Застосування монотерапії кверцетином викликало зменшення частки клітин у фазі $SUBG_0G_1$ відповідно на 15,1 та 13,5 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин, що свідчить про антиапоптотичну дію біофлавоноїда. За цих умов статистично достовірно не змінювалась проліферативна активність клітин печінки та нирок порівняно з нелікованими тваринами.

Введення NaHS за ГАУ поряд з антиапоптотичною дією, яка була вищою ніж у кверцетину (частка клітин у фазі $SUBG_0G_1$ в печінці та нирках була меншою відповідно на 21,0 та 17,3 %, $p < 0,05$, відносно нелікованих тварин), супроводжувалось посиленням проліферативної активності клітин печінки та нирок (зменшувався показник блоку проліферації відповідно на 47,8 та 47,6 %, $p < 0,05$, відносно нелікованих тварин).

Найвища антиапоптотична активність та здатність стимулювати проліферацію клітин печінки та нирок за ГАУ зафіксована у комбінації «Кверцетин + NaHS»: частка клітин у фазі SUBG₀G₁ була меншою відповідно на 26,1 та 23,0 % ($p < 0,05$), а показник блоку проліферації – на 58,9 та 53,8 % ($p < 0,05$) порівняно з тваринами, які не отримували лікування.

За результатами кореляційного аналізу показано, що вплив коректорів на процеси регенерації та апоптозу клітин печінки та нирок за ГАУ частково асоціюються з сигнальними системами IGF-1 та H₂S (коефіцієнти кореляції між сироватковим рівнем IGF-1, вмістом H₂S в тканинах, а також параметрами клітинного циклу становлять $r_s = |0,43-0,64|$, $p < 0,05$).

Вивчення морфологічного стану печінки та нирок за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції (розділ 5).

Встановлено, що за умов ГАУ в печінці й нирках експериментальних щурів спостерігається розвиток виражених гістологічних змін їх структурних компонентів. Так, в печінці зазначені морфологічні зміни проявлялись у вигляді порушень її часточкової будови, радіального впорядкування печінкових балок, дисконкомплексації, запалення, гіпертрофії та жирової інфільтрації гепатоцитів. Виявлені нами зміни структури печінки за ГАУ не суперечать даним літератури при проведенні подібних дослідженнях [93, 132]. Розвиток жирового гепатозу на тлі алкоголізації асоціюється з порушеннями метаболізму жирних кислот, а також пошкодженням мембран мітохондрій АФК [212]. Ще однією із причин змін морфології печінки є підвищення чутливості клітинних структур до гіпоксії на тлі застосування алкоголю [162]. В нирках тварин на тлі ГАУ виявляли ознаки фрагментації ниркових тілець, руйнування зовнішнього та внутрішнього листків капсули Боумена, ущільнення судинних клубочків, набряк цитоплазми епітеліоцитів каналців нефронів, дистрофію епітелію каналців та його десквамацію в просвіт трубочок. Отримані результати підтверджують дані літератури про те, що типовими морфологічними проявами гістологічних змін в нирках за алкогольної хвороби є тубулоінтерстиційні ураження та втрата капілярів [77].

Застосована фармакотерапія розрізнялась за ефективністю корекції морфологічних змін в печінці та нирках за ГАУ. Так, при використанні кверцетину відмічали певні покращення гістологічної організації вказаних органів. Зокрема, в печінці спостерігали часткове відновлення балкової структури, дещо знижувався ступінь жирової інфільтрації гепатоцитів. В тканині нирок щурів виявлено ущільнення судинних клубочків, проте ниркові тільця мали переважно однакові розміри, сечові простори їх були не розширені, незначно зменшувалась вираженість деструкції стінок капсули клубочка. Нефро- та гепатопротекторні властивості кверцетину асоціюються з його протизапальною й антиоксидантною властивостями, а також здатністю регулювати процеси проліферації та диференціації клітин через сигнальний шлях Akt-кінази [103, 118].

За умов використання в якості коректора гострого алкогольного ураження NaHS структурні порушення в тканинах печінки та нирок були менш виразними ніж за монотерапії кверцетином. Зокрема відзначали збереженість радіальної структури печінкових балок. Вогнища дисконкомплексації гепатоцитів були незначними. Ниркові тільця характеризувались однаковими розмірами. Сечові простори залишались вільними. Прояви дистрофії звивистих каналців зменшувались. Вказані ефекти NaHS асоціюється з його здатністю пригнічувати продукцію АФК, зменшувати швидкість вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів, збільшувати антиоксидантний потенціал, знижувати активність цитохрому P-450 2E1, зменшувати активність запального процесу через інгібування експресії ядерного фактору NF- κ B [277, 304].

Найбільш виразні покращення гістологічної структури печінки та нирок за ГАУ відмічалось за використання комбінації кверцетину та NaHS: в печінці тварин відмічались ознаки відновлення радіального розміщення печінкових балок, зменшувалась виразність запалення, знижувались прояви жирової інфільтрації, гепатоцити мали високий ядерно-цитоплазматичний індекс, що свідчило про їх значний потенціал до відновлення; в нирках щурів

за даних умов не спостерігали руйнування листків капсули Боумена, ознаки дистрофії епітелію звивистих каналців були мінімальними.

Результати гістологічного дослідження вказують на доцільність використання донорів H_2S з метою потенціювання гепато- та ренопротективної дії кверцетину за ГАУ.

На основі проведених досліджень та даних літератури нами створено узагальнюючу схему молекулярних механізмів гепато- та нефропротекторної активності комбінації кверцетину та $NaHS$ за ГАУ (рис. 6.1).

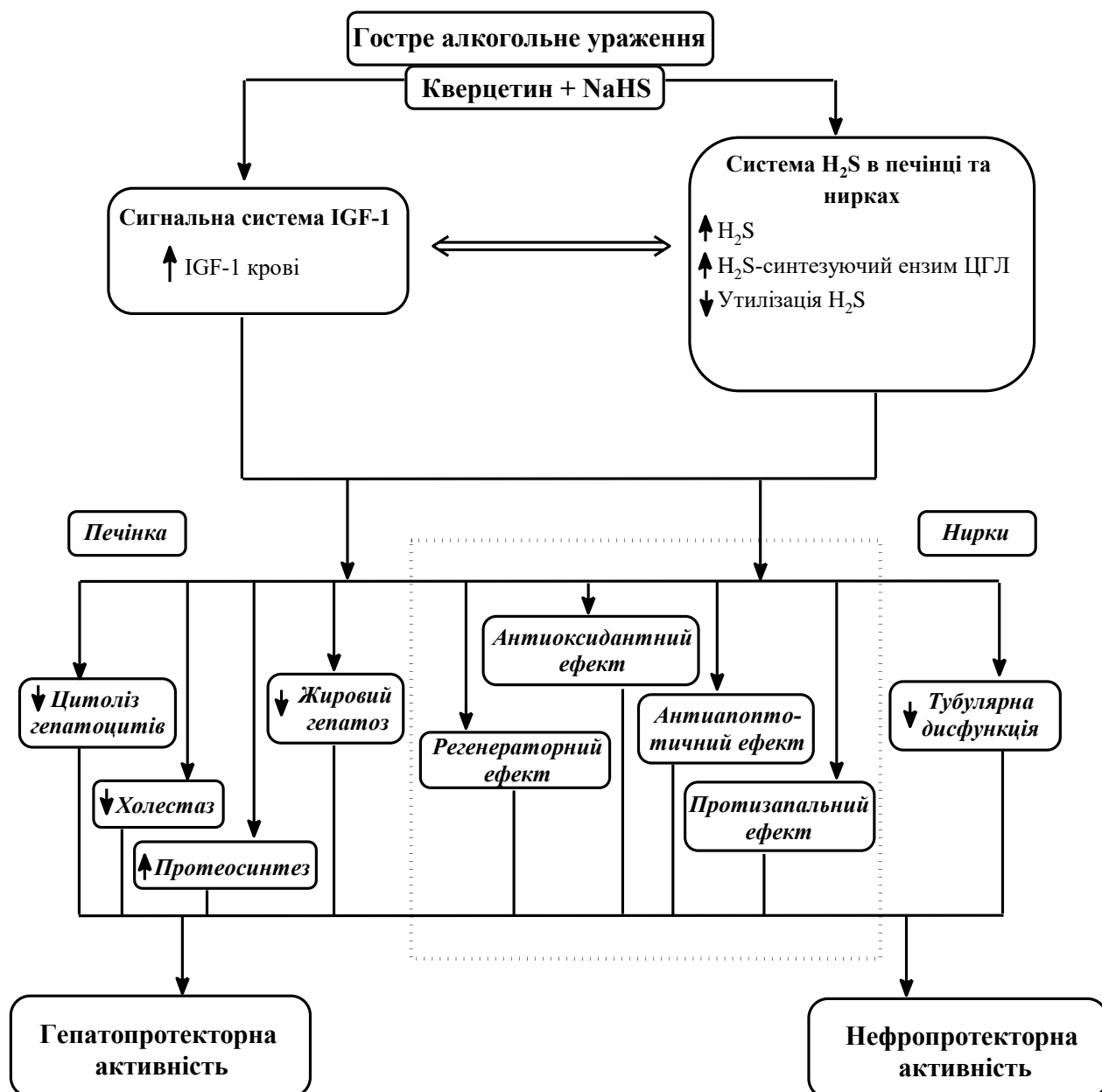


Рис. 6.1 Схема молекулярних механізмів гепато-та нефропротекторної активностей комбінації кверцетину та $NaHS$ за ГАУ.

За ГАУ комбінація кверцетину та NaHS виявляє потужні гепато- та нефропротекторні властивості: зменшує виразність цитолізу гепатоцитів, холестазу, жирового гепатозу, порушень протеосинтезу в печінці, тубулярної дисфункції в нирках, а також виявляють протизапальні, антиоксидантні, антиапоптотичні ефекти і посилюють процеси регенерації в печінці та нирках.

Захисні ефекти комбінації кверцетину та NaHS щодо печінки й нирок за ГАУ тісно пов'язані зі стимулюючим впливом на систему H_2S (збільшується рівень H_2S , десульфуразна активність ЦГЛ, зменшується швидкість утилізації H_2S), а також активуючою дією на сигнальну систему, асоційовану з IGF-1.

Резюме до розділу 6.

Результати проведених біохімічних, імуноферментних, цитофлуориметричних та гістологічних досліджень експериментально обґрунтовують необхідність використання донорів H_2S з метою оптимізації фармакотерапії ГАУ печінки та нирок препаратом із групи біофлаваноїдів кверцетином.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та досягнуто вирішення наукової задачі - на основі встановлення ролі інсуліноподібного фактора росту (IGF-1) та гідроген сульфїду (H_2S) в механізмах гострого алкогольного ураження тканин печінки й нирок обґрунтувати нові підходи метаболічної гепато- та нефропротекції шляхом застосування кверцетину в поєднанні з донором H_2S .

1. Розвиток гострого алкогольного ураження печінки та нирок супроводжується статистично достовірним зростанням сироваткового рівня IGF-1 на 23,9 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою тварин. За цих умов застосування кверцетину вірогідно не впливає на рівень IGF-1 в сироватці крові, тоді як введення NaHS та його комбінації з кверцетином викликає його достовірне підвищення відповідно на 13,2 та 14,7 % ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин.

2. За умов гострого алкогольного ураження в тканинах печінки та нирок реєструються порушення метаболізму H_2S : вірогідно зменшується рівень H_2S відповідно на 35,1 та 28,1 %, зростає швидкість його утилізації на 61,7 та 49,9 % ($p < 0,05$), але достовірно не змінюється H_2S -синтезуюча активність цистатіонін- γ -ліази відносно контрольної групи. Застосована метаболічна терапія з різною ефективністю зменшує алкоголь-асоційовані порушення обміну H_2S в печінці та нирках, що супряжено зі збільшенням сироваткового рівня IGF-1 ($r_s = |0,39-0,58|$, $p < 0,05$). Введення NaHS та, особливо, його комбінації з кверцетином найбільш ефективно коригують розлади метаболізму H_2S , тоді як монотерапія кверцетином значно поступається їм. У групі тварин, які отримували лікування кверцетином та NaHS, в тканинах печінки та нирок реєструється вірогідне зростання рівня H_2S (відповідно на 50,6 та 41,1 %, $p < 0,05$), активності цистатіонін- γ -ліази (відповідно на 30,8 та

20,8 %, $p < 0,05$), а також зменшення швидкості утилізації H_2S (відповідно на 39,2 та 32,4 %, $p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами.

3. Використання кверцетину в комплексі з NaHS найбільш ефективно коригує біохімічні ознаки гострого алкогольного ураження печінки та нирок: відмічається зменшення виразності цитолізу гепатоцитів (сироваткова активність АЛТ зменшується на 16,0 %, $p < 0,05$), холестазу (сироваткова активність ГГТП зменшується на 39,4 %, $p < 0,05$), жирового гепатозу (вміст тригліцеридів зменшується на 16,5 %, $p < 0,05$), тубулярної дисфункції в нирках (рівень протеїнуриї знижується на 23,6 %, $p < 0,05$), запалення (рівень $TNF\alpha$ в печінці та нирках зменшується відповідно на 49,1 та 38,0 %, $p < 0,05$) та оксидативного стресу (вміст МДА в печінці та нирках зменшується відповідно на 51,9 та 39,2 %, $p < 0,05$) порівняно з нелікованими тваринами, що асоціюється зі зростанням сироваткового рівня IGF-1 ($r_s = |0,39-0,58|$, $p < 0,05$) та збільшенням вмісту H_2S в печінці та нирках ($r_s = |0,39-0,58|$, $p < 0,05$). В той же час ізольоване використання в якості коректора NaHS та, особливо, кверцетину поступається комбінованій терапії за вказаними ефектами.

4. Гостре алкогольне ураження характеризується зміною параметрів клітинного циклу в печінці та нирках: зростає активність апоптозу (збільшується частка клітин з фрагментованою ДНК відповідно на 37,9 та 32,0 %, $p < 0,05$), а також розвивається блок проліферації (зростає співвідношення кількості клітин у фазі S до їх кількості у фазах G2 + M відповідно на 79,8 та 53,0 % $p < 0,05$) порівняно з контролем. Використання кверцетину зменшує активність апоптозу клітин печінки та нирок (відповідно на 15,1 та 13,5 %, $p < 0,05$, відносно нелікованих тварин), але вірогідно не впливає на блок проліферації. Введення NaHS супроводжується антиапоптотичною дією, яка є вищою ніж у кверцетину (частка клітин з фрагментованою ДНК в печінці та нирках була меншою відповідно на 21,0 та 17,3 %, $p < 0,05$, відносно нелікованих тварин), а також посиленням проліферації клітин печінки та нирок (зменшується показник блоку проліферації відповідно на 47,8 та 47,6 %, $p < 0,05$, відносно нелікованих тварин). За використання комбінації кверцетину

та NaHS антиапоптотична дія та здатність посилювати проліферативну активність в печінці та нирках є найвищими, що тісно супряжено зі зростанням сироваткового рівня IGF-1 ($r_s = |0,48-0,64|$, $p < 0,05$) та збільшенням вмісту H_2S в печінці та нирках ($r_s = |0,45-0,54|$, $p < 0,05$).

5. За гострого алкогольного ураження печінки та нирок спостерігається ряд характерних гістологічних змін: в печінці порушується часточкова будова, радіальне впорядкування печінкових балок, виникають ознаки запалення, розвивається жировий гепатоз; в нирках відмічається фрагментація ниркових тілець, ущільнення судинних клубочків, ознаки запалення, набряк цитоплазми та дистрофія епітеліоцитів каналців нефронів. Застосована терапія зменшує ініційовані алкоголем гістологічні зміни в печінці та нирках, хоча її ефективність залежить від обраного коректора. Найбільшу здатність коригувати гістологічні зміни в органах тварин виявляє комбінація кверцетину та NaHS, їй поступається монотерапія NaHS, а найменша ефективність зареєстрована у кверцетину.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Анохіна, Г. А., Харченко, В. В. (2019) Клініко-біохімічне обґрунтування ентеросорбційної терапії при хронічних токсичних захворюваннях печінки. *Гепатологія*. (2), 36-37 https://health-ua.com/multimedia/userfiles/files/2019/Gastro_2_2019/Gastro_2_2019_str_36_37.pdf
2. Антофійчук, Т., Хухліна, О., & Антофійчук, М. (2021). Оптимізація лікування хворих на алкогольний стеатогепатит із урахуванням коморбідних анемічних станів та контамінації Н. рулогі. *Буковинський медичний вісник*, 25(3 (99)), 3-11 DOI: 10.24061/2413- 0737.XXV.3.99.2021.1
3. Бабкіна, О. П., Шевченко, Л. А., & Матюхін, Д. О. (2018). Особливості змін біохімічних показників крові травмованих жінок за наявності та відсутності алкогольної інтоксикації. *Український журнал медицини, біології та спорту*, (3, № 4), 8-12 <https://doi.org/10.26693/jmbs03.04.008>
4. Байляк, М. М., Семчишин, Г. М., & Лушак, В. І. (2006). Участь каталази і супероксиддисмутази у відповіді *Saccharomyces cerevisiae* на дію пероксиду водню в експоненційній фазі росту. *Укр. біохім. журн*, 78(2), 79-85. <http://ua.ukrbiochemjournal.org/magarchive>
5. Біловол О. М., Князькова І. І. (2019). Клінічна фармакологія гепатопротекторів. *Ліки України*, (5(231), 19–26. [https://doi.org/10.37987/1997-9894.2019.5\(231\).186600](https://doi.org/10.37987/1997-9894.2019.5(231).186600)
6. Вірстюк, Н. Г., & Кобітович, І. М. (2017). Маркери запалення та ендогенної інтоксикації у хворих на алкогольний цироз печінки на тлі загострення хронічного бронхіту. *Прикарпатський вісник НТШ. Пульс*, (8), 85-94. http://nbuv.gov.ua/UJRN/SGastro_2017_5_8
7. Волощук, Н.І., Конюх, С.А., Денисюк, О.М., & Саєнко, А.В. (2019). Дослідження впливу геністеїну, ресвератролу та кверцетину на показники обміну гідроген сульфід у нирках і маркери функціонального стану нирок в

умовно здорових щурів. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 13 (3), 187-196 <https://doi.org/10.33250/13.03.187>

8. Волощук, Н. І., Руденко, К. В., Матяш, О. Р., & Денисюк, О. М. (2022). Патобіохімічні аспекти алкогольної кардіоміопатії. Роль гідроген сульфїду в механізмах кардіоцитопротекції (огляд літератури). *Запорізький медичний журнал*, 24(2), 219-229. DOI: 10.14739/2310-1210.2022.2.242826

9. Волощук, Н. І., Таран, І. В. (2011). Гостра токсичність гідроген сульфїду та його вплив на протизапальний ефект диклофенаку в експерименті. *Медична хімія*, 13(4), 88-90. <http://ojs.tdmu.edu.ua/index.php/med-chem/article/view/385>

10. Геруш, І. В., Ференчук, Є. О. (2019). Гідроген сульфід і мітохондрія. *Biopolymers and Cell*, 35(1), 3-15. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000998>

11. Говоруха, О. Ю., & Шнайдерман, О. Ю. (2016). Значення взаємодії перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантних систем в розвитку патологічних процесів. *Експериментальна і клінічна медицина*, 73(4), 10-14. <https://esm.knmu.edu.ua/article/view/558/536>

12. Горальський, Л. П., Хомич, В. Т., & Кононський, О. І. (2011). Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології. Житомир: Полісся <http://ir.znau.edu.ua/handle/123456789/3788>

13. Горошко, О. М., Драчук, В. М., & Заморський, І. І. (2016). Морфологічні зміни у нирках при їх експериментальному гострому пошкодженні за умов застосування ліпосомальних препаратів. *Вісник проблем біології і медицини*, (2 (2)), 53-57. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vpbm_2016_2%282%29__12

14. Грицишин, Л. Є., Фіра, Л. С., & Лихацький, П. Г. (2020). Application of glutargin hepatoprotector to remove side action of cytostatics under experimental carcinogenesis. *Sciences of Europe*, (48-2), 26-33 <https://www.europe-science.com/wp-content/uploads/2021/11/VOL-2-No-48-2020.pdf>

15. Грузева, Т. С., Лехан, В. М., Огнєв, В. А., Галієнко, Л. І., & Крячкова, Л. В. (2020). Біостатистика: підручник (за заг. ред. Грузевої Т. С.). Вінниця: Нова Книга. <https://nk.in.ua/pdf/1989.pdf>

16. Денефіль, О. В., Костюк, О. А., & Костюк, А. А. (2020). Зміни показників про- та антиоксидантного статусу в крові та серці високо- та низькоемоційних щурів при етаноловому гепатиті. *Art of Medicine*, 4(№1 (13)), 81 - 86. DOI: 10.21802/artm.2020.1.13.81
17. Дереча, Л. М. (2007). Алкоголь та його дія на організм: огляд літератури. *Вісник Харківського національного університету імені ВН Каразіна*. Серія: Біологія, (6), 7-16. [http://seriesbiology.univer.kharkov.ua/ukr/6\(2007\)/pdf/7.pdf](http://seriesbiology.univer.kharkov.ua/ukr/6(2007)/pdf/7.pdf)
18. Діденко, В. І., Кленіна, І. А., Татарчук, О. М., & Петішко, О. П. (2019). Зв'язок імунологічних та біохімічних показників у хворих на хронічні дифузні захворювання печінки залежно від етіологічних факторів розвитку стеатозу і фіброзу печінки. *Гастроентерологія*, (53,№ 2), 115-122 DOI:10.22141/2308-2097.53.2.2019.168985
19. Діденко, В., Татарчук О., Меланіч, С., & Петішко, О. (2020). Особливості показників функціонального стану печінки, імунної ланки, цитокінової регуляції та вуглеводного обміну у хворих на токсичні хронічні дифузні захворювання печінки. *Гастроентерологія*, 54 (2), 88–95. <https://doi.org/10.22141/2308-2097.54.2.2020.206226>
20. Дорогой А. П. (2016). Алкогольна кардіоміопатія і алкогольна хвороба печінки: проблеми та наслідки вживання алкоголю. *Український кардіологічний журнал*, 1, 22-31. <https://ucardioj.com.ua/index.php/UJC/issue/view/20>
21. Дроговоз, С. М., Міщенко, О. Я., Калько, К. О., Богдан, Н. С., Геруш, О. В., Міщенко, О. Я., & Калько, Є. А. (2019). Циркадіанні ритми розвитку експериментального парацетамолового гепатиту та впливу гепатопротекторів на активність прооксидантно/антиоксидантних та цитолітичних процесів. *Клінічна фармація*. 23 (2). 15-24. DOI: <https://doi.org/10.24959/cphj.19.1485>
22. Заїчко, Н. В., Ольховський, О. С., Юрченко, П. О., Мельник, А. В., & Штатко, О. І. (2014). Спосіб визначення утилізації H₂S в органах тварин (Патент України на корисну модель № 87884). Державна служба

<https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=197439>

23. Земляний, Ст М., Брін, Ст Б., Гаглоєва, Е. М., & Соколовський, Н. Ст (2020). Експериментальна модель алкогольної нефропатії у щурів. *Вісник нових медичних технологій*, 27 (4), 79-81. DOI: 10.24411/1609-2163-2020-16742
24. Зинь А. (2012). Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз і мембранний транспорт у живих організмах. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. (60). 21–39. file:///C:/Users/PK/Downloads/8349-16260-1-PB.pdf
25. Калько К. О. (2017). Циркадіанна залежність впливу антралю на показники вуглеводного обміну в умовах гострого парацетамолового гепатиту. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку : матеріали V наук.-практ. конф., м. Харків, 23 берез. 2017 р. - X., 2017. - С. 211-213*. <http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/12949>
26. Калько, К. О. (2017). Хронофармакологічне дослідження активності гепатопротекторних засобів: *автореф. дис. на здоб. наук. ступеня канд. фармацевт. наук: 14.03.05. НФаУ. Харків, 22 с.* <http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/15711>
27. Качур О. І., Фіра Л. С., Лихацький П. Г. (2019). Зміни показників ендогенної інтоксикації у щурів за експериментального канцерогенезу та застосування ентеросорбції. *Ukrainian biopharmaceutical journal*, (2 (59)), 44-49. DOI: <https://doi.org/10.24959/ubphj.19.216>
28. Кіка, В., & Макаренко, О. (2022). Розвиток оксидативного стресу у лабораторних щурів за алкогольної інтоксикації. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, 87, 130-138. <http://dx.doi.org/10.30970/vlubs.2022.87.11>
29. Кіка, В. В., Макаренко, О. А., Новікова, Ж. О., Кіка, В. В., Макаренко, А. А., & Новікова, Ж. А. (2021). Розвиток запалення в травному тракті щурів після тривалого введення алкоголю. *Український журнал медицини, біології*

та спорту [Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sports]– Том 6, № 6 (34) <https://doi.org/10.26693/jmbs06.06.253>

30. Кислова, О. В. (2019). Інгібування амідами заміщених бензойних кислот цитоплазматичної алкогольдегідрогенази нечінки щурів. *Вісник Київського національного університету технологій та дизайну. Серія: Технічні науки*, (3), 88-93. <http://jml.knutd.edu.ua/index.php/bknutdt/article/view/395>

31. Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайфетдінова Г.А. Науковопрактичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Державний фармакологічний центр МОЗ України. – Київ, 2002. – 155 с

32. Копаниця О. М., Ліснянська Н. В., Бучко П. І. (2020). Особливості процесів вільнорадикального окиснення у тканинах організму в нормі й при застосуванні полісахаридів. *Вісник медичних і біологічних досліджень*, (1), 67–73. <https://doi.org/10.11603/bmbr.2706-6290.2020.1.10906>

33. Крайдашенко, О. В., Свинтозельський, О. О., Красько, М. П., Долінна, М. О., Саржевська, А. В., & Самура, Т. О. (2018). *Клінічна фармація, навч.-метод. посіб. для студентів вищ. навч. закладів. С. 215*

34. Луцзяк В.І., Багнюкова Т.В., Луцзяк О.В. (2004). Показники оксидативного стресу. Тіобарбітурактивні продукти і карбонільні групи білків. *Укр. біохім. Журнал*, 26, 136-141

35. Ляшевич, А. М., & Лупаїна, І. С. (2021). Вплив корвітину на склад холатів жовчі самців щурів в умовах хронічного соціального стресу. *Український журнал медицини, біології та спорту*, 6(4 (32)), 186-192. <https://doi.org/10.26693/jmbs06.04.186>

36. Макаренко, О. А., Кіка, В. В., & Мудрик, Л. М. (2021). Дисбаланс антиоксидантно-прооксидантної системи у кістковій тканині щелеп щурів при тривалому введенні етанолу. *Вісник Одеського національного університету. Біологія*, 26(1(48)), 105–114. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2021.1\(48\).232849](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2021.1(48).232849)

37. Мельник А.В., & Волощук Н.І. (2017). Вплив біофлавоноїдів на індуквані гіпергомоцистеїнемією зміни метаболізму гідроген сульфід у

міокарді та аорті самців та самок щурів. *Світ медицини та біології*, 59(1), 129-133 <https://womab.com.ua/smb-2017-01/6490>

38. Мельник, А. В. &, Пентюк, О. О. (2009) Активність ензимів синтезу гідроген сульфід у нирках щурів. *Укр. біохім. журнал*, 81(4), 12-22. <http://ubj.biochemistry.org.ua/index.php/journalarchiveac/2009ad/qq4/2608>

39. Молодцов В.Є. (2020). Деякі особливості патогенезу алкогольного гепатиту та алкогольного цирозу печінки за поєднання з артеріальною гіпертензією. *Клінічна та експериментальна патологія*, 19(2), 19-27. <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XIX.2.72.2020.3>

40. Молодцов, В. Є., Россоха, З. І., Молодцов, В. Е., Россоха, З. И., Федив, А. И., & Федів, О. І. (2019). Особливості міжгенних та ген-факторних взаємодій у патогенетичних механізмах розвитку алкогольного гепатиту та алкогольного цирозу печінки. *Клінічна та експериментальна патологія* 18, № 2 (2019): 49-57 DOI:10.24061/1727- 4338.XVIII.2.68.2019.236

41. Мостбауер, Г. В. (2019). Алкогольна кардіоміопатія: сучасний стан проблеми. http://ir.librarynmu.com/bitstream/123456789/961/1/ZU2019-3__31-33%2C41-43.pdf

42. Мустафіна, Галія Міркатівна, et al. (2020). Сучасні погляди на функціональну морфологію та репаративні властивості печінки. *Вісник проблем біології і медицини*. Випуск 2 (156), 43-48 <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2020-2-156-43-48>

43. Микитенко А.О., Акімов О.Є., Єрошенко Г.А., & Непорада К.С. (2022). Роль сульфідного аніону у розвитку оксидативного стресу печінки за умов хронічного алкогольного гепатиту. *Світ медицини та біології*, 81(3), 223-226. DOI 10.26724/2079-8334-2022-3-81-223-226

44. Олійник, А. В., Козак, М. Р., Заїченко, О. С., & Влізло, В. В. (2012). Гідроперекиси ліпідів і ТБК-активні продукти в органах мишей за дії ад'ювантів—полімера МГ-4 і гідроксиду алюмінію. *Біологія тварин*, (14, № 1-2), 174-178 <https://vpbim.com.ua/knowledgebase-category/issue-1-part-1-117/>

45. Павловський, С.А. (2017). Роль прозапальних цитокінів ФНП- α , ІЛ-6 і С-реактивного білка в патогенезі неалкогольної жирової хвороби печінки. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії*, 17 (4-2 (60)), 198-201. <https://visnykumsa.com.ua/index.php/journal/issue/archive>
46. Паламарчук, І.В. Вплив екзогенного гідроген сульфідіду на експресію та активність цистатіонін-гама-ліази в міокарді щурів за стрептозотоцинового діабету. *Мат. XIV Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2017»* (С. 220 – 221). м. Вінниця, 26 - 28 квітня 2017 р.
47. Паламарчук, І.В., Струтинська, О.Б, Мельник., А.В., & Заїчко, Н.В. (2020). Вплив метформіну та його поєднання з натрій гідрогенсульфідом на стан системи H₂S та асоційовані біохімічні порушення в міокарді та нирках щурів за стрептозотозин-індукованого діабету. *Вісник проблем біології і медицини*, 3 (157), 133-137. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2020-3-157-133-137>
48. Пархоменко В.В., Гопко О.Ф., Скрипник І.М. (2020). Підвищення ефективності антиоксидантної та цитопротекторної терапії у хворих на нпзп-гастропатію з супутньою ішемічною хворобою серця. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*, 20(1), 111-114. DOI 10.31718/2077-1096.20.1.111
49. Пат. 108687 Україна МПК G01N 33/576 (2006.01). Спосіб моделювання гострого алкогольного гепатиту у щурів / Н.А.Рикало, І.В.Романенко; власник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. - №01 01093; заявл. 08.02.2016; опублік. 25.07.2016, Бюл. №14. – 4с. <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=225693>
50. Пат. 23996 Україна МПК C08F271/02. Спосіб одержання корвітину / Максютіна Н.П., Мойбенко О.О., Пилипчук П.Б.; опублік. 15.12.2000, Бюл. №7 - 4с.

51. Петішко, О., Діденко, В., Кленіна І., Татарчук О., & Коненко І.С. (2020). Діагностичні маркери прогресування фіброзних змін печінки у пацієнтів із хронічними дифузними захворюваннями печінки алкогольного генезу. *Вісник медичних і біологічних досліджень*, (3), 47-52. <https://doi.org/10.11603/bmbr.2706-6290.2020.3.11295>
52. Поготова, Г. А., Горчакова, Н. О., Беленічев, І. Ф., & Чекман, І. С. (2015). Гепатотропні засоби: оргднопротекторна дія (огляд літератури). *Вісник проблем біології і медицини*, 1(1), 19-28. <https://vpbim.com.ua/knowledgebase-category/issue-1-part-1-117/>
53. Прилипко, Л. Б. (2017). Клініко-патогенетичні особливості хронічного панкреатиту: залежність зовнішньосекреторної недостатності від вираженості запальної відповіді організму. *Проблеми клінічної педіатрії*, (1-2), 41-44. http://nbuv.gov.ua/UJRN/pkr_2017_1-2_10.
54. Рикало, Н. А., Романенко, І. В. (2022). Медикаментозна корекція синдромів цитолізу та холестазу при гострому алкогольному гепатиті в експерименті. *Актуальні проблеми транспортної медицини*, 2 (68), 128-137. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6814980>
55. Рикало Н.А., Романенко І.В. (2022). Можливості реалізації антифіброзного та протизапального ефектів метаболічної терапії при гострих алкогольних розладах в експериментальних умовах. *Запорізький медичний журнал*, 24 (4), 396–401. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2022.4.255267>
56. Рикало, Н. А. (2011). Патогенез хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей: вікові особливості, патогенетична терапія (експериментально-клінічне дослідження) (Doctoral dissertation, Вінниця). <https://repository.tdmu.edu.ua/handle/123456789/17582>
57. Рикало, Н. А., Романенко, І. В. (2017). Визначення показників оксидативного стресу та антиоксидантної системи в сироватці крові щурів при гострому алкогольному гепатиті та за умов його медикаментозної корекції. *Актуальні проблеми сучасної медицини*, 17 (4), 51-54. https://www.pdmu.edu.ua/old/journal/journal2/journal2stat4_1_60_2017.php

58. Рикало, Н., Романенко, І. (2016). Патоморфологічні зміни печінки та біохімічні зміни сироватки крові при гострому алкогольному гепатиті в умовах експерименту. *Експериментальна і клінічна медицина*, 71(2), 156-160 <https://esm.knmu.edu.ua/article/view/684>
59. Рикало, Н. А., & Романенко, І. В. (2014). Сучасні погляди на патогенез гострого алкогольного гепатиту і можливості його лікування. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 18(2), 641-645
60. Римаренко, Н. В., Гордієнко, А. І., & Хіміч, Н. В. (2012). Особливості експресії рецепторів до ендотоксину і балансу цитокінів у дітей, хворих на гнійні менінгіти, що протікають на тлі ендотоксинемії кишкового походження. *Таврический медико-биологический вестник*. Т. 15, № 1 (57), 200-205. <http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/44971>
61. Рикало, Н. А., Романенко, І. В. Структурні зміни печінки при гострому алкогольному гепатиті та за умов медикаментозної корекції. *XVII «Читання ім. В.В. Підвисоцького»: бюлетень XVII читань ім. В.В. Підвисоцького (С. 146)*. м. Одеса, 24-25 травня 2018 року.
62. Рикало Н.А., Романенко І.В. Вплив Корвітину та глутаргіну на показники оксидативного стресу та антиоксидантної системи щурів при гострому алкольному гепатиті. «Сучасні аспекти клінічної фармакології на тлі доказової медицини»: збірник матеріалів міжнародної науково - практичної конференції (С. 248-250). м. Вінниця, 16-17 листопада 2017 року.
63. Рикало Н.А., Романенко І.В. Розробка експериментальної моделі гострого алкогольного гепатиту у щурів. «Теоретичні та практичні аспекти розвитку сучасної медицини»: збірник матеріалів міжнародної науково - практичної конференції (С. 96-97). м. Львів, 26 червня 2015 року.
64. Романенко І.В. Порівняльна ефективність застосування l-аргініну - l-глутамату на гістоструктуру печінки та нирок щурів з гострим алкогольним ураженням. «XXVI Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених»: матеріали конгресу (С. 196). м. Тернопіль, 13-15 квітня 2022 року.

65. Романенко І.В. Вплив різних доз етанолу на гістоструктуру печінки щурів. *«Перший крок в науку -2019»*: збірник матеріалів XVI науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (С. 438). м. Вінниця, 7-9 квітня 2022 року.
66. Романенко І.В. Структурні зміни епітелію звивистих каналців нирок щурів обумовлені токсичною дією етанолу та на тлі медикаментозної корекції. *«Перший крок в науку -2019»*: збірник матеріалів XVI науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (С. 460-461). м. Вінниця, 18 квітня 2019 року.
67. Романенко І.В., Мельник А.В., Піліпонова В.В. (2023). Гістологічні зміни в тканинах печінки та нирок щурів при гострому алкогольному ураженні та метаболічній корекції. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 27 (3), 377-383. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2023-27\(3\)-04](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2023-27(3)-04)
68. Романенко, І.В., Мельник, А.В. (2023). Гепато- та нефропротекторна дія донора гідроген сульфід, кверцетину та їхньої комбінації за гострого алкогольного ураження. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 17(5), 328-337. <https://doi.org/10.33250/17.04.328>
69. Рябоконт, О. В., Фурик, О. О. (2014). Динаміка клінікобіохімічних та імунологічних параметрів у хворих на гострий гепатит В із супутнім хронічним вживанням алкоголю в гепатотоксичних дозах. *Актуальна інфектологія*, (1), 48-51 DOI: 10.22141/2312-413x.5.6.2017.122142
70. Самогальська, О. Є., Лобанець, Н. В., Сидорівський, А. М., & Куліковський, Л. Л. (2015). Клінікогемодинамічні аспекти алкогольного цирозу печінки. *Сучасна гастроентерологія*, (2), 37-41. http://sgastro.vitapol.com.ua/svizhij_nomer.php?nid=82
71. Самогальська, О. Є., Шманько, О. В., Лобанець, Н. В. (2019). Особливості перебігу алкогольного цирозу печінки в поєднанні з хронічним панкреатитом. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*, (3), 129-132. <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2019.v.i3.10506>

72. Сатаева, Т. П., Лазарев, К. Л., Захарова, А. Н., & Житова, В. А. (2009). Состояние компенсаторных процессов в единственной почке и уровень перекисного окисления липидов и белков при введении в организм этанола в эксперименте. *Світ медицини та біології*, 5 (3-1), 145-149
73. Свінціцький, А. С., Соловійова, Г. А., Динник, Н. В., Богомаз, В. М., & Бака, О. М. (2016). Неінвазивна діагностика ступеня стеатозу та фіброзу печінки при неалкогольній жировій хворобі печінки. *Сучасна гастроентерологія*, (2), 106-113. http://nbuv.gov.ua/UJRN/SGastro_2016_2_14
74. Струтинська, О.Б., & Мельник, А.В. (2023). Роль системи гідроген сульфід у механізмах нефропротекторної дії метформіну за стрептозотоциніндукованого діабету. *Вісник медичних і біологічних досліджень*, 15(1), 15-21. <https://doi.org/10.11603/bmbr.2706-6290.2023.1.13352>.
75. Скірак З.С., Андрейчин С.М. (2014). Динаміка показників ендогенної інтоксикації в умовах гострого токсичного алкогольного гепатиту. *Клінічна та експериментальна патологія*, 13(3), 167-170
DOI: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XIII.3.49.2014.33>
76. Сливка Н.А., Вірстюк Н.Г., Давиденко І.С., Мартинюк Г.А., Бевз Т.І. (2018). Морфологічні зміни нирок при гепаторенальному синдромі на тлі алкогольного цирозу печінки. *Клінічна та експериментальна патологія*, 17(4), 71-75. <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XVII.4.66.2018.12>
77. Сливка Н.А., Вірстюк Н.Г., Мартинюк Г.А., Плеш І.А., Бевз Т.І. (2019). Індекс резистентності як маркер ниркової функції при гепаторенальному синдромі. *Буковинський медичний вісник [Буковина Medical Herald]*, 23(1 (89)), 81-86. DOI: 10.24061/2413-0737. XXIII.1.89.2019.12
78. Сова В.А. (2021). Алкогольна хвороба печінки: фокус на L-орнітин-L-аспартат. *Терапевтика*, 2(2), 30-34. <https://doi.org/10.31793/2709-7404.2021.2-2.30>
79. Степанов, Ю. М., Діденко, В. І., Коненко, І. С. & Татарчук, О. М. (2019). Взаємозв'язки між ультразвуковими, імунологічними змінами при

прогресуванні стеатозу та фіброзу печінки у хворих на хронічні дифузні захворювання печінки різної етіології. *Патологія*, 16(2), 222–230. doi: <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2019.2.177167>

80. Струтинська, О.Б., & Мельник, А.В. (2022). Роль модуляторів обміну гідроген сульфід у модифікації нефропротекторної дії метформіну за стрептозотозин-індукованого діабету. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 16(6), 387-396. <https://doi.org/10.33250/16.06.387>.

81. Струтинська, О.Б., & Мельник, А.В. (2022). Вплив метформіну та його комбінації з модуляторами обміну гідроген сульфід на рівень глікемії і стан системи H_2S у нирках щурів при стрептозотозиніндукованому діабеті. *Медична та клінічна хімія*, 24(4), 5-12. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2022.i4.13565>.

82. Ткач, С. М., Дорофєєв, А. Е., & Чеверда, Т. Л. (2021). Роль кишкового мікробіому та кишкового бар'єра при захворюваннях печінки: Огляд літератури. *Сучасна гастроентерологія*, (3), 77-86. DOI: <https://doi.org/10.30978/MG-2021-3-77>

83. Федевич, В. С., Мицик, Ю. О., & Борис, Ю. Б. (2019). Молекулярні маркери VEGF, TNF- α та TNF- β у хворих на рак сечового міхура стадії T3N0M0 та їх зв'язок зі ступенем неоплазії пухлини. *Український журнал медицини, біології та спорту*, (4, № 5), 202-207. DOI: 10.26693/jmbs04.05.202

84. Фейса, С. В. (2019). Стан перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту у пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою печінки та супутнім гіпотиреозом. *Фізіологічний журнал*, 65(2), 89-96. https://fz.kiev.ua/journals/2019_V.65/2019-2/2019-2-89-96.pdf

85. Філіппова, О. Ю. (2019). Динаміка змін показників ліпопероксидації та антиоксидантного захисту під впливом комплексного лікування у пацієнтів з коморбідним переченням неалкоголь. *Запорізький медичний журнал*, 21 (3), 321-327 DOI: 10.14739/2310-1210.2019.3.169015

86. Харченко, О., Гавриш, Л., & Остапченко, Л. (2006). Токсична дія етанолу та його продуктів на організм. *Вісник НАН України*, (3), 57-64

87. Черняшова В.В. (2018). Особливості перебігу метаболічних процесів у печінці при гострому експериментальному перитоніті та застосуванні L-аргініну та L-аргініну-L-глутамату, *Вісник наукових досліджень*, (3), 119-120. <https://doi.org/10.11603/2415-8798,2015,3,5212>
88. Шиш, А. М., Максимчук, О. В., Розова, К. В., Французова, С. Б., Чащин, М. О., & Мойбенко, О. О. (2014). Ультраструктурні зміни міокарда щурів при експериментальному цукровому діабеті та можливості їх корекції препаратами метаболітного типу дії. *Вісник морфології*, (20, № 2), 334-339. https://www.vnmu.edu.ua/downloads/journal/v_morf/visn_morf_2014-2.pdf
89. Щербаківа, В. М. (2013). Морфологія тканевих структур почек белых крыс на светооптическом уровне при острой алкогольной интоксикации в эксперименте. *Буковинський медичний вісник*, (17, № 3 (1)), 186-187. http://sudmed.bsmu.edu.ua/files/2013_conf_part1.pdf
90. Яровенко, Л. О. (2016). Особливості фрагментації ядерної ДНК клітин печінки у щурів на тлі хронічної алкогольної інтоксикації та за умов застосування кверцетину і L-аргініну L-глутамату. *Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України*, (1) https://nd.nubip.edu.ua/2016_1/6.pdf
91. Abdelhalim, M. A. K., Qaid, H. A., Al-Mohy, Y., & Al-Ayed, M. S. (2018). Effects of quercetin and arginine on the nephrotoxicity and lipid peroxidation induced by gold nanoparticles in vivo. *International journal of nanomedicine*, 13, 7765–7770. <https://doi.org/10.2147/IJN.S183281>
92. Abdel-Wahab, A. F., Bamous, G. A., Al-Harizy, R. M., ElSawy, N. A., Shahzad, N., Ibrahim, I. A., & Ghamdi, S. (2018). Renal protective effect of SGLT2 inhibitor dapagliflozin alone and in combination with irbesartan in a rat model of diabetic nephropathy. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 103, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.176>
93. Abdulkadir, A., Mbajiorgu, E. F., & Nyirenda, T. (2018). Effects of concurrent chloroquine and ethanol administration on the rat kidney

- morphology. *The Pan African medical journal*, 29, 49. <https://doi.org/10.11604/pamj.2018.29.49.12471>
94. Adams D. H. (2007). Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease. *Gut*, 56(8), 1175. <https://doi.org/10.1136/gut.2007.121533>
95. Adewale, A., & Ifudu, O. (2014). Kidney injury, fluid, electrolyte and acid-base abnormalities in alcoholics. *Nigerian medical journal: journal of the Nigeria Medical Association*, 55(2), 93–98. <https://doi.org/10.4103/0300-1652.129631>
96. Abe, K., & Kimura, H. (1996). The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 16(3), 1066–1071. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-03-01066.1996>
97. Albakri, A. (2018). Alcoholic cardiomyopathy: A review of literature on clinical status and meta-analysis of diagnostic and clinical management methods. DOI:[10.15761/CMI.1000165](https://doi.org/10.15761/CMI.1000165)
98. Andrianova, N. V., Buyan, M. I., Zorova, L. D., Pevzner, I. B., Popkov, V. A., Babenko, V. A., Silachev, D. N., Plotnikov, E. Y., & Zorov, D. B. (2019). Kidney Cells Regeneration: Dedifferentiation of Tubular Epithelium, Resident Stem Cells and Possible Niches for Renal Progenitors. *International journal of molecular sciences*, 20(24), 6326. <https://doi.org/10.3390/ijms20246326>
99. Arab, J. P., Sehrawat, T. S., Simonetto, D. A., Verma, V. K., Feng, D., Tang, T., Dreyer, K., Yan, X., Daley, W. L., Sanyal, A., Chalasani, N., Radaeva, S., Yang, L., Vargas, H., Ibacache, M., Gao, B., Gores, G. J., Malhi, H., Kamath, P. S., & Shah, V. H. (2020). An Open-Label, Dose-Escalation Study to Assess the Safety and Efficacy of IL-22 Agonist F-652 in Patients With Alcohol-associated Hepatitis. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 72(2), 441–453. <https://doi.org/10.1002/hep.31046>
100. Bakalarz, D., Korbut, E., Yuan, Z., Yu, B., Wójcik, D., Danielak, A., Magierowska, K., Kwiecień, S., Brzozowski, T., Marcinkowska, M., Wang, B., & Magierowski, M. (2021). Novel Hydrogen Sulfide (H₂S)-Releasing BW-HS-101 and Its Non-H₂S Releasing Derivative in Modulation of Microscopic and Molecular

Parameters of Gastric Mucosal Barrier. *International journal of molecular sciences*, 22(10), 5211. <https://doi.org/10.3390/ijms22105211>

101. Banerjee, R. (2017). Catalytic promiscuity and heme-dependent redox regulation of H₂S synthesis. *Current Opinion in Chemical Biology.*, 37, 115–121. doi: 10.1016/j.cbpa.2017.02.021

102. Barbier, L., Ferhat, M., Salamé, E., Robin, A., Herbelin, A., Gombert, J. M., Silvain, C., & Barbarin, A. (2019). Interleukin-1 Family Cytokines: Keystones in Liver Inflammatory Diseases. *Frontiers in immunology*, 10, 2014. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02014>

103. Bartekova, M., Radosinska, J., Pancza, D., Barancik, M., & Ravingerova, T. (2016). Cardioprotective effects of quercetin against ischemia-reperfusion injury are age-dependent. *Physiological research*, 65 Suppl 1, S101–S107. <https://doi.org/10.33549/physiolres.933390>

104. Beaudoin, J. J., Long, N., Liangpunsakul, S., Puri, P., Kamath, P. S., Shah, V., Sanyal, A. J., Crabb, D. W., Chalasani, N. P., Urban, T. J., & TREAT Consortium (2017). An exploratory genome-wide analysis of genetic risk for alcoholic hepatitis. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 52(11), 1263–1269. <https://doi.org/10.1080/00365521.2017.1359664>

105. Beltowski J. (2010). Hypoxia in the renal medulla: implications for hydrogen sulfide signaling. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 334(2), 358–363. <https://doi.org/10.1124/jpet.110.166637>

106. Bhatia, M., Sidhapuriwala, J., Moochhala, S. M., & Moore, P. K. (2005). Hydrogen sulphide is a mediator of carrageenan-induced hindpaw oedema in the rat. *British journal of pharmacology*, 145(2), 141–144. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706186>

107. Bulle, S., Reddy, V. D., Hebbani, A. V., Padmavathi, P., Challa, C., Puvvada, P. K., Repalle, E., Nayakanti, D., Aluganti Narasimhulu, C., & Nallanchakravarthula, V. (2016). Nephro-protective action of *P. santalinus* against alcohol-induced biochemical alterations and oxidative damage in rats. *Biomedicine*

- & *pharmacotherapy* = *Biomedecine & pharmacotherapie*, 84, 740–746.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.09.103>
108. Calvert, J. W., Coetzee, W. A., & Lefer, D. J. (2010). Novel insights into hydrogen sulfide--mediated cytoprotection. *Antioxidants & redox signaling*, 12(10), 1203–1217. <https://doi.org/10.1089/ars.2009.2882>
109. Campollo O. (2019). Alcohol and the Liver: The Return of the Prodigal Son. *Annals of hepatology*, 18(1), 6–10. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0012.7854>
110. Cao, X., & Bian, J. S. (2016). The role of hydrogen sulfide in renal system. *Frontiers in pharmacology*, 7, 385. DOI:10.3389/fphar.2016.00385
111. Cardoso de Sousa, M., Vegian, M., Biserra, M. A., Costa, B., Camargo, S., Rode, S. M., Ramos, C. J., Dias de Oliveira, L., & de Vasconcellos, L. (2018). Influence of Chronic Alcohol Use on Osteoblastic Differentiation of Bone Marrow Cells, Bone Properties, and Hepatic and Renal Morphology of Rats. *The Scientific World Journal*, 2018, 2494918. <https://doi.org/10.1155/2018/2494918>
112. Carpenter, R. W., Treloar Padovano, H., Emery, N. N., & Miranda, R., Jr (2019). Rate of alcohol consumption in the daily life of adolescents and emerging adults. *Psychopharmacology*, 236(11), 3111–3124. <https://doi.org/10.1007/s00213-019-05262-8>
113. Clemens, M. M., McGill, M. R., & Apte, U. (2019). Mechanisms and biomarkers of liver regeneration after drug-induced liver injury. *Advances in pharmacology* (San Diego, Calif.), 85, 241–262. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2019.03.001>
114. Chandini, Mathai P. J. (2017). Haematological Parameters in Patients with Alcohol Dependence Syndrome. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 16, 11–16. Doi: 10.9790/0853-1605011116 191
115. Chang, B., Xu, M. J., Zhou, Z., Cai, Y., Li, M., Wang, W., Feng, D., Bertola, A., Wang, H., Kunos, G., & Gao, B. (2015). Short- or long-term high-fat diet feeding plus acute ethanol binge synergistically induce acute liver injury in mice: an important role for CXCL1. *Hepatology* (Baltimore, Md.), 62(4), 1070–1085. <https://doi.org/10.1002/hep.27921>

116. Chen, C.J., Cheng, M.C., Hsu, C.N., & Tain, Y.L. (2023). Sulfur-Containing Amino Acids, Hydrogen Sulfide, and Sulfur Compounds on Kidney Health and Disease. *Metabolites*, 13(6). doi: 10.3390/metabo13060688.
117. Chen, L. Y., Chen, Q., Cheng, Y. F., Jin, H. H., Kong, D. S., Zhang, F., Wu, L., Shao, J. J., & Zheng, S. Z. (2016). Diallyl trisulfide attenuates ethanol-induced hepatic steatosis by inhibiting oxidative stress and apoptosis. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 79, 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.01.009>
118. Chen, X., Li, H., Wang, Z., Zhou, Q., Chen, S., Yang, B., Yin, D., He, H., & He, M. (2020). Quercetin protects the vascular endothelium against iron overload damages via ROS/ADMA/DDAHII/eNOS/NO pathway. *European journal of pharmacology*, 868, 172885. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172885>
119. Chen, Y.Q., Chen, H.Y., Tang, Q.Q., Li, Y.F., Liu, X.S., Lu, F.H., & Gu, Y.Y. (2022). Protective effect of quercetin on kidney diseases: From chemistry to herbal medicines. *Front Pharmacol*. doi: 10.3389/fphar.2022.968226.
120. Contreras-Zentella, M. L., Villalobos-García, D., & Hernández-Muñoz, R. (2022). Ethanol Metabolism in the Liver, the Induction of Oxidant Stress, and the Antioxidant Defense System. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11(7), 1258. <https://doi.org/10.3390/antiox11071258>
121. Cooper, C. E., & Brown, G. C. (2008). The inhibition of mitochondrial cytochrome oxidase by the gases carbon monoxide, nitric oxide, hydrogen cyanide and hydrogen sulfide: chemical mechanism and physiological significance. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 40(5), 533–539. <https://doi.org/10.1007/s10863-008-9166-6>
122. Cortez-Pinto, H. (2012). Increasing burden of alcoholic liver disease in Europe. Postgraduate course syllabus. Alcoholic liver disease. In *EASL the international liver congress* (p. 11).
123. Correia, M. J., Pimpão, A. B., Fernandes, D. G. F., Morello, J., Sequeira, C. O., Calado, J., Antunes, A. M. M., Almeida, M. S., Branco, P., Monteiro, E. C., Vicente, J. B., Serpa, J., & Pereira, S. A. (2022). Cysteine as a Multifaceted Player

- in Kidney, the *Cysteine-Related Thiolo*me and Its Implications for Precision Medicine. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(4), 1416. <https://doi.org/10.3390/molecules27041416>
124. Costa-Valle, M. T., Tonieto, B. D., Altknecht, L., Cunha, C. D., Fão, N., Cestonaro, L. V., Göethel, G., Garcia, S. C., Leal, M. B., Dallegrave, E., & Arbo, M. D. (2018). Energy drink and alcohol combination leads to kidney and liver alterations in rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 355, 138–146. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2018.06.024>
125. Crabb, D. W., Im, G. Y., Szabo, G., Mellinger, J. L., & Lucey, M. R. (2020). Diagnosis and Treatment of Alcohol-Associated Liver Diseases: 2019. *Practice Guidance From the American Association for the Study of Liver Diseases. Hepatology (Baltimore, Md.)*, 71(1), 306–333. <https://doi.org/10.1002/hep.30866>
126. D'Andrea G. (2015). Quercetin: A flavonol with multifaceted therapeutic applications? *Fitoterapia*, 106, 256–271. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2015.09.018>
127. Dasarathy, S., Mitchell, M. C., Barton, B., McClain, C. J., Szabo, G., Nagy, L. E., Radaeva, S., & McCullough, A. J. (2020). Design and rationale of a multicenter defeat alcoholic steatohepatitis trial: (DASH) randomized clinical trial to treat alcohol-associated hepatitis. *Contemporary clinical trials*, 96, 106094. <https://doi.org/10.1016/j.cct.2020.106094>
128. Demkovych, A., Bondarenko, Y., & Hasiuk, P. (2019). Effects of quercetin on antioxidant potential in the experimental periodontitis development. *Interventional medicine & applied science*, 11(1), 60–64. <https://doi.org/10.1556/1646.11.2019.06>
129. Dichtel, L.E., Cordoba-Chacon, J., & Kineman, R.D. (2022). Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor 1 Regulation of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Clin Endocrinol Metab*, 107(7), 1812-1824. doi: 10.1210/clinem/dgac088
130. Dilek, N., Papapetropoulos, A., Toliver-Kinsky, T., & Szabo, C. (2020). Hydrogen sulfide: An endogenous regulator of the immune system.

- Pharmacological research*, 161, 105119.
<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.105119>
131. Dong, Y. S., Wang, J. L., Feng, D. Y., Qin, H. Z., Wen, H., Yin, Z. M., Gao, G. D., & Li, C. (2014). Protective effect of quercetin against oxidative stress and brain edema in an experimental rat model of subarachnoid hemorrhage. *International journal of medical sciences*, 11(3), 282–290. <https://doi.org/10.7150/ijms.7634>
132. Elgendy, S. A., Baloza, S. H., Mohammed, L. A., Nasr, H. E., Osama El-Shaer, N., Ghamry, H. I., Althobaiti, S. A., Shukry, M., Soliman, M. M., & Elnoury, H. A. (2022). Ameliorative Impacts of Wheat Germ Oil against Ethanol-Induced Hepatic and Renal Dysfunction in Rats: Involvement of Anti-Inflammatory, Anti-Apoptotic, and Antioxidant Signaling Pathways. *Life (Basel, Switzerland)*, 12(10), 1671. <https://doi.org/10.3390/life12101671>
133. Elkomy, N., Ibrahim, I., Elshazly, S. M., & El-Fayoumi, H. M. (2018). Ameliorative effects of clonidine on ethanol induced kidney injury in rats: Potential role for imidazoline-1 receptor. *European journal of pharmacology*, 824, 148–156. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.02.001>
134. El-Mas, M. M., & Abdel-Rahman, A. A. (2019). Role of Alcohol Oxidative Metabolism in Its Cardiovascular and Autonomic Effects. *Advances in experimental medicine and biology*, 1193, 1–33. https://doi.org/10.1007/978-981-13-6260-6_1
135. European Association for the Study of the Liver. Electronic address: easloffice@easloffice.eu, & European Association for the Study of the Liver (2018). EASL Clinical Practice Guidelines: Management of alcohol-related liver disease. *Journal of hepatology*, 69(1), 154–181. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.03.018>
136. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. (1986). Strasburg: Council of Europe, 123
137. Eymael, J., & Smeets, B. (2016). Origin and fate of the regenerating cells of the kidney. *European journal of pharmacology*, 790, 62–73. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.07.030>

138. Fan, H. N., Chen, N. W., Shen, W. L., Zhao, X. Y., & Zhang, J. (2015). Endogenous hydrogen sulfide is associated with angiotensin II type 1 receptor in a rat model of carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis. *Molecular medicine reports*, 12(3), 3351–3358 <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.3873>
139. Fan, Z., Yun, J., Yu, S., Yang, Q., & Song, L. (2019). Alcohol Consumption Can be a "Double-Edged Sword" for Chronic Kidney Disease Patients. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 25, 7059–7072. <https://doi.org/10.12659/MSM.916121>
140. Fang, Y. L., Chen, H., Wang, C. L., & Liang, L. (2018). Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescence: From "two hit theory" to "multiple hit model". *World journal of gastroenterology*, 24(27), 2974–2983. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i27.2974>
141. Feliers, D., Lee, H. J., & Kasinath, B. S. (2016). Hydrogen Sulfide in Renal Physiology and Disease. *Antioxidants & redox signaling*, 25(13), 720–731. <https://doi.org/10.1089/ars.2015.6596>
142. Figueredo V. M., Gupta S. (2014). Alcohol and lipids. *OA Alcohol.*, 2(1), 3–8. URL: www.oapublishinglondon.com/article/1223.
143. Forman, H. J., & Zhang, H. (2021). Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature reviews. Drug discovery*, 20(9), 689–709. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00233-1>
144. Filiopoulos, V., Hadjiyannakos, D., & Vlassopoulos, D. (2012). New insights into uric acid effects on the progression and prognosis of chronic kidney disease. *Renal failure*, 34(4), 510–520. <https://doi.org/10.3109/0886022X.2011.653753>
145. García-Ruiz, C., & Fernández-Checa, J. C. (2018). Mitochondrial Oxidative Stress and Antioxidants Balance in Fatty Liver Disease. *Hepatology communications*, 2(12), 1425–1439. <https://doi.org/10.1002/hep4.1271>
146. Gemici, B., Elsheikh, W., Feitosa, K. B., Costa, S. K., Muscara, M. N., & Wallace, J. L. (2015). H₂S-releasing drugs: anti-inflammatory, cytoprotective and

- chemopreventative potential. *Nitric oxide: biology and chemistry*, 46, 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2014.11.010>
147. Geng, B., Yang, J., Qi, Y., Zhao, J., Pang, Y., Du, J., & Tang, C. (2004). H₂S generated by heart in rat and its effects on cardiac function. *Biochemical and biophysical research communications*, 313(2), 362–368. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.11.130>
148. Gilgenkrantz H. (2010). Rodent models of liver repopulation. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 640, 475–490. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-688-7_26
149. Gilgenkrantz, H., & Collin de l'Hortet, A. (2018). Understanding Liver Regeneration: From Mechanisms to Regenerative Medicine. *The American journal of pathology*, 188(6), 1316–1327. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2018.03.008>
150. Giuffrè, A., & Vicente, J.B. (2018). Hydrogen Sulfide Biochemistry and Interplay with Other Gaseous Mediators in Mammalian Physiology. *Oxid Med Cell Longev*. doi: 10.1155/2018/6290931
151. Goel, A., & Daugherty, T. (2021). Selection Criteria for Liver Transplantation for Acute Alcohol-Associated Hepatitis. *Clinics in liver disease*, 25(3), 635–644. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2021.03.007>
152. Gonzales G. B. (2017). In vitro bioavailability and cellular bioactivity studies of flavonoids and flavonoid-rich plant extracts: questions, considerations and future perspectives. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 76(3), 175–181. <https://doi.org/10.1017/S0029665116002858>
153. Gubern, M., Andriamihaja, M., Nübel, T., Blachier, F., & Bouillaud, F. (2007). Sulfide, the first inorganic substrate for human cells. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 21(8), 1699–1706. <https://doi.org/10.1096/fj.06-7407com>
154. Greuter, T., Malhi, H., Gores, G. J., & Shah, V. H. (2017). Therapeutic opportunities for alcoholic steatohepatitis and nonalcoholic steatohepatitis: exploiting similarities and differences in pathogenesis. *JCI insight*, 2(17), e95354. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.95354>

155. Guengerich F. P. (2020). Cytochrome P450 2E1 and its roles in disease. *Chemico-biological interactions*, 322, 109056. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109056>
156. Haffner, D., Grund, A., & Leifheit-Nestler, M. (2021). Renal effects of growth hormone in health and in kidney disease. *Pediatr Nephrol*, 36(8), 2511-2530. doi: 10.1007/s00467-021-05097-6. Epub 2021 Jun 18
157. Han D., Johnson H.S., Rao M.P. (2017). Mitochondrial remodeling in the liver following chronic alcohol feeding to rats. *Free Radic Biol Med.*, 102, 100-110. Doi: 10.1016/j. freeradbiomed.2016.11.020
158. Han, K. H., Hashimoto, N., & Fukushima, M. (2016). Relationships among alcoholic liver disease, antioxidants, and antioxidant enzymes. *World journal of gastroenterology*, 22(1), 37–49. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i1.37>
159. Hashmi, S. F., Rathore, H. A., Sattar, M. A., Johns, E. J., Gan, C. Y., Chia, T. Y., & Ahmad, A. (2021). Hydrogen Sulphide Treatment Prevents Renal Ischemia-Reperfusion Injury by Inhibiting the Expression of ICAM-1 and NF-kB Concentration in Normotensive and Hypertensive Rats. *Biomolecules*, 11(10). <https://doi:10.3390/biom11101549>
160. Hillmer, A. T., Nadim, H., Devine, L., Jatlow, P., & O'Malley, S. S. (2020). Acute alcohol consumption alters the peripheral cytokines IL-8 and TNF- α . *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 85, 95–99. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2019.11.005>
161. Hoffmann, K., Nagel, A. J., Tanabe, K., Fuchs, J., Dehlke, K., Ghamarnejad, O., Lemekhova, A., & Mehrabi, A. (2020). Markers of liver regeneration-the role of growth factors and cytokines: a systematic review. *BMC surgery*, 20(1), 31. <https://doi.org/10.1186/s12893-019-0664-8>
162. Hosseini, N., Shor, J., & Szabo, G. (2019). Alcoholic Hepatitis: A Review. *Alcohol and alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 54(4), 408–416. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agz036>
163. Hosseini, S. M., Taghiabadi, E., Abnous, K., Hariri, A. T., Pourbakhsh, H., & Hosseinzadeh, H. (2017). Protective effect of thymoquinone, the active constituent of *Nigella sativa* fixed oil, against ethanol toxicity in rats. *Iranian journal of basic*

- medical sciences*, 20(8), 927–939. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2017.9116>
164. Hwang, S., Ren, T., & Gao, B. (2020). Obesity and binge alcohol intake are deadly combination to induce steatohepatitis: A model of high-fat diet and binge ethanol intake. *Clinical and molecular hepatology*, 26(4), 586–594. <https://doi.org/10.3350/cmh.2020.0100>
165. Hyun, J., Han, J., Lee, C., Yoon, M., & Jung, Y. (2021). Pathophysiological Aspects of Alcohol Metabolism in the Liver. *International journal of molecular sciences*, 22(11), 5717. <https://doi.org/10.3390/ijms22115717>
166. Im G. Y. (2019). Acute Alcoholic Hepatitis. *Clinics in liver disease*, 23(1), 81–98. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2018.09.005>
167. Iciek, M., Górny, M., Bilska-Wilkosz, A., & Kowalczyk-Pachel, D. (2018). Is aldehyde dehydrogenase inhibited by sulfur compounds? In vitro and in vivo studies. *Acta biochimica Polonica*, 65(1), 125–132. https://doi.org/10.18388/abp.2017_2324
168. Jasnos, K., Magierowski, M., Kwiecień, S., & Brzozowski, T. (2014). Tlenek węgla w fizjologii organizmu człowieka--rola w układzie pokarmowym [Carbon monoxide in human physiology--its role in the gastrointestinal tract]. *Postepy higieny i medycyny doświadczalnej (Online)*, 68, 101–109. <https://doi.org/10.5604/17322693.1087527>
169. Jeon, S., & Carr, R. (2020). Alcohol effects on hepatic lipid metabolism. *Journal of lipid research*, 61(4), 470–479. <https://doi.org/10.1194/jlr.R119000547>
170. Jin, M., Ande, A., Kumar, A., & Kumar, S. (2013). Regulation of cytochrome P450 2e1 expression by ethanol: role of oxidative stress-mediated pkc/jnk/sp1 pathway. *Cell death & disease*, 4(3), e554. <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.78>
171. Ju, Y., Fu, M., Stokes, E., Wu, L., & Yang, G. (2017). H₂S-Mediated Protein S-Sulfhydration: A Prediction for Its Formation and Regulation. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(8), 1334. <https://doi.org/10.3390/molecules22081334>
172. Ju, Y., Untereiner, A., Wu, L., & Yang, G. (2015). H₂S-induced S-sulfhydration of pyruvate carboxylase contributes to gluconeogenesis in liver

- cells. *Biochimica et biophysica acta*, 1850(11), 2293–2303.
<https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2015.08.003>
173. Kawabata, K., Mukai, R., & Ishisaka, A. (2015). Quercetin and related polyphenols: new insights and implications for their bioactivity and bioavailability. *Food & function*, 6(5), 1399–1417.
<https://doi.org/10.1039/c4fo01178c>
174. Kępką, A., Chojnowska, S., Śnitko, R., Zwierz, K., & Waszkiewicz, N. (2016). Renal carnitine excretion following abstinence after chronic drinking. *Advances in medical sciences*, 61(1), 160–163.
<https://doi.org/10.1016/j.advms.2015.11.002>
175. Kirpich, I. A., Feng, W., Wang, Y., Liu, Y., Beier, J. I., Arteel, G. E., Falkner, K. C., Barve, S. S., & McClain, C. J. (2013). Ethanol and dietary unsaturated fat (corn oil/linoleic acid enriched) cause intestinal inflammation and impaired intestinal barrier defense in mice chronically fed alcohol. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 47(3), 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2013.01.005>
176. Kliaritskaia, I. L., & Stilidi, E. I. (2013). Eksperimental'naia i klinicheskaia gastroenterologiiia = Experimental & clinical gastroenterology, (4), 13–20.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24294778/>
177. Kong, L. Z., Chandimali, N., Han, Y. H., Lee, D. H., Kim, J. S., Kim, S. U., Kim, T. D., Jeong, D. K., Sun, H. N., Lee, D. S., & Kwon, T. (2019). Pathogenesis, Early Diagnosis, and Therapeutic Management of Alcoholic Liver Disease. *International journal of molecular sciences*, 20(11), 2712.
<https://doi.org/10.3390/ijms20112712>
178. Kramann, R., Kusaba, T., & Humphreys, B. D. (2015). Who regenerates the kidney tubule? *Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 30(6), 903–910. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfu281>
179. Kranzler, H. R., Zhou, H., Kember, R. L., Vickers Smith, R., Justice, A. C., Damrauer, S., ... & Gelernter, J. (2019). Genome-wide association study of alcohol consumption and use disorder in 274,424 individuals from multiple

populations. *Nature communications*, *10*(1), 1499. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09480-8>

180. Kumar, R., & Banerjee, R. (2021). Regulation of the redox metabolome and thiol proteome by hydrogen sulfide. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, *56*(3), 221–235. <https://doi.org/10.1080/10409238.2021.1893641>

181. Lamas-Paz, A., Hao, F., Nelson, L. J., Vázquez, M. T., Canals, S., Gómez Del Moral, M., Martínez-Naves, E., Nevzorova, Y. A., & Cubero, F. J. (2018). Alcoholic liver disease: Utility of animal models. *World journal of gastroenterology*, *24*(45), 5063–5075. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i45.5063>

182. Landry, A. P., Roman, J., & Banerjee, R. (2021). Structural perspectives on H₂S homeostasis. *Current opinion in structural biology*, *71*, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2021.05.010>

183. Latchoumycandane, C., Nagy, L. E., & McIntyre, T. M. (2015). Myeloperoxidase formation of PAF receptor ligands induces PAF receptor-dependent kidney injury during ethanol consumption. *Free radical biology & medicine*, *86*, 179–190. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.05.020>

184. Li, L., Salto-Tellez, M., Tan, C. H., Whiteman, M., & Moore, P. K. (2009). GYY4137, a novel hydrogen sulfide-releasing molecule, protects against endotoxic shock in the rat. *Free radical biology & medicine*, *47*(1), 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.04.014>

185. Lee, Y.J., Beak, S.Y., Choi, I., & Sung, J.S. (2017). Quercetin and its metabolites protect hepatocytes against ethanol-induced oxidative stress by activation of Nrf2 and AP-1. *Food Sci Biotechnol*, *27*(3), 809-817. doi: 10.1007/s10068-017-0287-8

186. Lee, E. K., Shin, Y. J., Park, E. Y., Kim, N. D., Moon, A., Kwack, S. J., Son, J. Y., Kacew, S., Lee, B. M., Bae, O. N., & Kim, H. S. (2017). Selenium-binding protein 1: a sensitive urinary biomarker to detect heavy metal-induced nephrotoxicity. *Archives of toxicology*, *91*(4), 1635–1648. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1832-6>

187. Li, W., Li, L., & Hui, L. (2020). Cell Plasticity in Liver Regeneration. *Trends in cell biology*, 30(4), 329–338. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.01.007>
188. Liang, B., Xiao, T., Long, J., Liu, M., Li, Z., Liu, S., & Yang, J. (2017). Hydrogen sulfide alleviates myocardial fibrosis in mice with alcoholic cardiomyopathy by downregulating autophagy. *International journal of molecular medicine*, 40(6), 1781–1791. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3191>
189. Little, M. H., & Kairath, P. (2017). Does Renal Repair Recapitulate Kidney Development? *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 28(1), 34–46. <https://doi.org/10.1681/ASN.2016070748>
190. Liu, J., He, H., Wang, J., Guo, X., Lin, H., Chen, H., Jiang, C., Chen, L., Yao, P., & Tang, Y. (2020). Oxidative stress-dependent frataxin inhibition mediated alcoholic hepatocytotoxicity through ferroptosis. *Toxicology*, 445, 152584. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2020.152584>
191. Liu, S. Y., Tsai, I. T., & Hsu, Y. C. (2021). Alcohol-Related Liver Disease: Basic Mechanisms and Clinical Perspectives. *International journal of molecular sciences*, 22(10), 5170. <https://doi.org/10.3390/ijms22105170>
192. Liu, M., Dou, Y., Sun, R., Zhang, Y., & Liu, Y. (2015). Molecular mechanisms for alcoholic hepatitis based on analysis of gene expression profile. *Hepatitis monthly*, 15(5), e27336. [https://doi.org/10.5812/hepatmon.15\(5\)2015.27336](https://doi.org/10.5812/hepatmon.15(5)2015.27336)
193. Liu, W., Liang, L., Zhang, Q., Li, Y., Yan, S., Tang, T., Ren, Y., Mo, J., Liu, F., Chen, X., & Lan, T. (2021). Effects of andrographolide on renal tubulointerstitial injury and fibrosis. Evidence of its mechanism of action. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 91, 153650. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153650>
194. Liu, Y., & Tie, L. (2019). Apolipoprotein M and sphingosine-1-phosphate complex alleviates TNF- α -induced endothelial cell injury and inflammation through PI3K/AKT signaling pathway. *BMC cardiovascular disorders*, 19(1), 279. <https://doi.org/10.1186/s12872-019-1263-4>
195. Liu, Y., Verma, V. K., Malhi, H., Gores, G. J., Kamath, P. S., Sanyal, A.,

- Chalasan, N., Gao, B., & Shah, V. H. (2017). Lipopolysaccharide downregulates macrophage-derived IL-22 to modulate alcohol-induced hepatocyte cell death. *American journal of physiology. Cell physiology*, *313*(3), C305–C313. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00005.2017>
196. Liu, X., Zhang, Y., Liu, L., Pan, Y., Hu, Y., Yang, P., & Lia, o M.(2020). Protective and therapeutic effects of nanoliposomal quercetin on acute liver injury in rats. *BMC Pharmacol Toxicol*, *21*(1). doi: 10.1186/s40360-020-0388-5
197. Louvet, A., & Mathurin, P. (2015). Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, *12*(4), 231–242. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.35>
198. Louvet, A., Thursz, M. R., Kim, D. J., Labreuche, J., Atkinson, S. R., Sidhu, S. S., O'Grady, J. G., Akriviadis, E., Sinakos, E., Carithers, R. L., Jr, Ramond, M. J., Maddrey, W. C., Morgan, T. R., Duhamel, A., & Mathurin, P. (2018). Corticosteroids Reduce Risk of Death Within 28 Days for Patients With Severe Alcoholic Hepatitis, Compared With Pentoxifylline or Placebo-a Meta-analysis of Individual Data From Controlled Trials. *Gastroenterology*, *155*(2), 458–468.e8. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.05.011>
199. Lowicka E., Beltowski J. (2007). Hydrogen sulfide (H₂S) – the third gas of interest for pharmacologists. *Pharmacological Reports*. Vol. 59. Issue 1. P. 4-24. http://if-pan.krakow.pl/pjp/pdf/2007/1_4.pdf
200. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of biological chemistry*, *193*(1), 265–275. [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(19\)52451-6/pdf](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(19)52451-6/pdf)
201. Luedde, T., Kaplowitz, N., & Schwabe, R. F. (2014). Cell death and cell death responses in liver disease: mechanisms and clinical relevance. *Gastroenterology*, *147*(4), 765–783. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.07.018>
202. Luo, Z. L., Tang, L. J., Wang, T., Dai, R. W., Ren, J. D., Cheng, L., Xiang, K., & Tian, F. Z. (2014). Effects of treatment with hydrogen sulfide on methionine-choline deficient diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in rats. *Journal of*

- gastroenterology and hepatology*, 29(1), 215–222.
<https://doi.org/10.1111/jgh.12389>
203. Magierowska, K., Brzozowski, T., & Magierowski, M. (2018). Emerging role of carbon monoxide in regulation of cellular pathways and in the maintenance of gastric mucosal integrity. *Pharmacological research*, 129, 56–64.
<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.01.008>
204. Malaguarnera, G., Giordano, M., Nunnari, G., Bertino, G., & Malaguarnera, M. (2014). Gut microbiota in alcoholic liver disease: pathogenetic role and therapeutic perspectives. *World journal of gastroenterology*, 20(44), 16639–16648.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i44.16639>
205. Malnick, S.D.H., Alin, P., Somin, M., & Neuman, M.G. (2022). Fatty Liver Disease-Alcoholic and Non-Alcoholic: Similar but Different. *Int J Mol Sci*, 23(24). doi: 10.3390/ijms232416226.
206. Liu, X., Zhang, Y., Liu, L., Pan, Y., Hu, Y., Yang, P., & Lia, o M.(2020). Protective and therapeutic effects of nanoliposomal quercetin on acute liver injury in rats. *BMC Pharmacol Toxicol*, 21(1). doi: 10.1186/s40360-020-0388-5
207. Mani, S., Cao, W., Wu, L., & Wang, R. (2014). Hydrogen sulfide and the liver. *Nitric oxide: biology and chemistry*, 41, 62–71.
<https://doi.org/10.1016/j.niox.2014.02.006>
208. Manna FA, Abdel-Wahhab KG. Physiological potential of cytokines and liver damages. *Hepatoma Research*. 2016; 2: 131-43.
<http://dx.doi.org/10.20517/2394-5079.2015.58>
209. Mansouri, A., Gattolliat, C. H., & Asselah, T. (2018). Mitochondrial Dysfunction and Signaling in Chronic Liver Diseases. *Gastroenterology*, 155(3), 629–647. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.06.083>
210. Mard, S. A., Neisi, N., Solgi, G., Hassanpour, M., Darbor, M., & Maleki, M. (2012). Gastroprotective effect of NaHS against mucosal lesions induced by ischemia-reperfusion injury in rat. *Digestive diseases and sciences*, 57(6), 1496–1503. <https://doi.org/10.1007/s10620-012-2051-5>

211. Marot, A., Singal, A. K., Moreno, C., & Deltenre, P. (2020). Granulocyte colony-stimulating factor for alcoholic hepatitis: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *JHEP reports: innovation in hepatology*, 2(5), 100139. <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2020.100139>
212. Mathur, M., Yeh, Y. T., Arya, R. K., Jiang, L., Pornour, M., Chen, W., Ma, Y., Gao, B., He, L., Ying, Z., Xue, B., Shi, H., Choi, Y., & Yu, L. (2023). Adipose lipolysis is important for ethanol to induce fatty liver in the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism murine model of chronic and binge ethanol feeding. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 77(5), 1688–1701. <https://doi.org/10.1002/hep.32675>
213. McCarter, K. D., Li, C., Li, J., Xu, G., & Sun, H. (2019). Influence of low-dose alcohol consumption on post-ischemic inflammation: Role of cystathionine γ -lyase. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 76, 81–89. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2018.08.005>
214. McCarthy, E. T., Zhou, J., Eckert, R., Genochio, D., Sharma, R., Oni, O., De, A., Srivastava, T., Sharma, R., Savin, V. J., & Sharma, M. (2015). Ethanol at low concentrations protects glomerular podocytes through alcohol dehydrogenase and 20-HETE. *Prostaglandins & other lipid mediators*, 116-117, 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2014.10.006>
215. Mihara, M., & Uchiyama, M. (1978). Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*, 86(1), 271–278. doi: 10.1016/0003-2697(78)90342-1
216. Miles, S. L., McFarland, M., & Niles, R. M. (2014). Molecular and physiological actions of quercetin: need for clinical trials to assess its benefits in human disease. *Nutrition reviews*, 72(11), 720–734. <https://doi.org/10.1111/nure.12152>
217. Moreau, R., & Rautou, P. E. (2014). G-CSF therapy for severe alcoholic hepatitis: targeting liver regeneration or neutrophil function? *The American journal of gastroenterology*, 109(9), 1424–1426. <https://doi.org/10.1038/ajg.2014.250>

218. Mutlu, E., Keshavarzian, A., Engen, P., Forsyth, C. B., Sikaroodi, M., & Gillevet, P. (2009). Intestinal dysbiosis: a possible mechanism of alcohol-induced endotoxemia and alcoholic steatohepatitis in rats. *Alcoholism, clinical and experimental research*, 33(10), 1836–1846. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2009.01022.x>
219. Nadia, R., Iryna, R. Effect of corvitin on oxidative stress and the state of the antioxidant system of rats with acute ethanol-induced injury of the liver. “*Science and practice of today*”: abstracts of IX International Scientific and Practical Conference (P. 365). Ankara, Turkey November 16-19, 2020.
220. Nagappan, A., Jung, D. Y., Kim, J. H., Lee, H., & Jung, M. H. (2018). Gomisin N Alleviates Ethanol-Induced Liver Injury through Ameliorating Lipid Metabolism and Oxidative Stress. *International journal of molecular sciences*, 19(9), 2601. <https://doi.org/10.3390/ijms19092601>
221. Nakhaee, S., Farrokhfall, K., Miri-Moghaddam, E., Foadoddini, M., Askari, M., & Mehrpour, O. (2021). The effects of quercetin on seizure, inflammation parameters and oxidative stress in acute on chronic tramadol intoxication. *BMC pharmacology & toxicology*, 22, 59. <https://doi.org/10.1186/s40360-021-00532-8>
222. Ngowi, E. E., Sarfraz, M., Afzal, A., Khan, N. H., Khattak, S., Zhang, X., Li, T., Duan, S. F., Ji, X. Y., & Wu, D. D. (2020). Roles of Hydrogen Sulfide Donors in Common Kidney Diseases. *Frontiers in pharmacology*, 11, 564281. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.564281>
223. Niederreiter L. Cytokines and fatty liver diseases. *Liver Research*. 2018. Vol. 2(1). P. 14–20 <https://doi.org/10.1016/j.livres.2018.03.003>
224. Omelchenko-Seliukova Anna. (2021). the dynamic of indicators of lipid peroxidation and antioxidant protection status in patients with polytrauma and alcohol withdrawal syndrome complicated by alcohol delirium. *World Science*, (11(72)). https://doi.org/10.31435/rsglobal_ws/30122021/7729
225. Pacher, P., Schulz, R., Liaudet, L., & Szabó, C. (2005). Nitrosative stress and pharmacological modulation of heart failure. *Trends in pharmacological sciences*, 26(6), 302–310. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2005.04.003>

226. Pan, L. L., Liu, X. H., Gong, Q. H., Yang, H. B., & Zhu, Y. Z. (2012). Role of cystathionine γ -lyase/hydrogen sulfide pathway in cardiovascular disease: a novel therapeutic strategy? *Antioxidants & redox signaling*, *17*(1), 106–118. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4349>
227. Parola, M., & Pinzani, M. (2019). Liver fibrosis: Pathophysiology, pathogenetic targets and clinical issues. *Molecular aspects of medicine*, *65*, 37–55. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2018.09.002>
228. Patel, R. V., Mistry, B. M., Shinde, S. K., Syed, R., Singh, V., & Shin, H. S. (2018). Therapeutic potential of quercetin as a cardiovascular agent. *European journal of medicinal chemistry*, *155*, 889–904. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.06.053>
229. Paul, B. D., & Snyder, S. H. (2015). H₂S: A Novel Gasotransmitter that Signals by Sulfhydration. *Trends in biochemical sciences*, *40*(11), 687–700. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2015.08.007>
230. Petrasek J, Szabo G (2016) Treatment of alcoholic liver disease including emerging therapies, novel targets, and liver transplantation In Chalasani N, Szabo G (eds). *Alcoholic and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease*. New York: Springer International Publishing, 291–311. ISBN: 978-3-319-20537-3.
231. Pichette, J., & Gagnon, J. (2016). Implications of Hydrogen Sulfide in Glucose Regulation: How H₂S Can Alter Glucose Homeostasis through Metabolic Hormones. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2016*, 3285074. <https://doi.org/10.1155/2016/3285074>
232. Pleniceanu, O., Omer, D., Harari-Steinberg, O., & Dekel, B. (2018). Renal lineage cells as a source for renal regeneration. *Pediatric research*, *83*(1-2), 267–274. <https://doi.org/10.1038/pr.2017.255>
233. Prasad, J., Baitharu, I., Sharma, A. K., Dutta, R., Prasad, D., & Singh, S. B. (2013). Quercetin reverses hypobaric hypoxia-induced hippocampal neurodegeneration and improves memory function in the rat. *High altitude medicine & biology*, *14*(4), 383–394. <https://doi.org/10.1089/ham.2013.1014>

234. Qiao, Y., Liu, L., Yin, L., Xu, L., Tang, Z., Qi, Y., Mao, Z., Zhao, Y., Ma, X., & Peng, J. (2021). Retraction Note: FABP4 contributes to renal interstitial fibrosis via mediating inflammation and lipid metabolism. *Cell death & disease*, *12*(9), 801. <https://doi.org/10.1038/s41419-021-04084-x>
235. Qu, Z., Jiang, Y., Wu, B. Q., Duan, Y. F., Sun, Z. D., & Luo, G. H. (2014). Cystathionine-gamma-lyase inhibitor attenuates acute lung injury induced by acute pancreatitis in rats. *Archives of medical science: AMS*, *10*(4), 825–829. <https://doi.org/10.5114/aoms.2014.44873>
236. Rachakonda, V., Bataller, R., & Duarte-Rojo, A. (2020). Recent advances in alcoholic hepatitis. *F1000Research*, *9*, F1000 Faculty Rev-97. <https://doi.org/10.12688/f1000research.20394.1>
237. Ragy, M. M., Ali, F. F., & Toni, N. D. M. (2019). Comparing the preventive effect of sodium hydrosulfide, leptin, and curcumin against L-arginine induced acute pancreatitis in rats: role of corticosterone and inducible nitric oxide synthase. *Endocrine regulations*, *53*(4), 221–230. <https://doi.org/10.2478/enr-2019-0022>
238. Randi, E. B., Casili, G., Jacquemai, S., & Szabo, C. (2021). Selenium-Binding Protein 1 (SELENBP1) Supports Hydrogen Sulfide Biosynthesis and Adipogenesis. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, *10*(3), 361. <https://doi.org/10.3390/antiox10030361>
239. Rattan, P., & Shah, V. H. (2022). Review article: current and emerging therapies for acute alcohol-associated hepatitis. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 10.1111/apt.16969. Advance online publication. <https://doi.org/10.1111/apt.16969>
240. Read, E., Zhu, J., & Yang, G. (2021). Disrupted H₂S Signaling by Cigarette Smoking and Alcohol Drinking: Evidence from Cellular, Animal, and Clinical Studies. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, *10*(1), 49. <https://doi.org/10.3390/antiox10010049>
241. Rikalo N.A. & Romanenko, I. V. (2018). Morphological changes in kidney tissues of rats with acute ethanol-induced injury and after drug correction. *Journal*

of Education, Health and Sport. *Journal of Education, Health and Sport*. 8(2), 272-279

242. Roorda, M., Miljkovic, J. L., van Goor, H., Henning, R. H., & Bouma, H. R. (2021). Spatiotemporal regulation of hydrogen sulfide signaling in the kidney. *Redox biology*, 43, 101961. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101961>

243. Schutgens, F., Rookmaaker, M. B., Blokzijl, F., van Boxtel, R., Vries, R., Cuppen, E., Verhaar, M. C., & Clevers, H. (2017). Troy/TNFRSF19 marks epithelial progenitor cells during mouse kidney development that continue to contribute to turnover in adult kidney. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(52), E11190–E11198. <https://doi.org/10.1073/pnas.1714145115>

244. Sehrawat, T. S., Liu, M., & Shah, V. H. (2020). The knowns and unknowns of treatment for alcoholic hepatitis. *The lancet. Gastroenterology & hepatology*, 5(5), 494–506. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(19\)30326-7](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(19)30326-7)

245. Setshedi, M., Wands, J. R., & Monte, S. M. (2010). Acetaldehyde adducts in alcoholic liver disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 3(3), 178–185. <https://doi.org/10.4161/oxim.3.3.12288>

246. Shasthry, S. M., & Sarin, S. K. (2016). New treatment options for alcoholic hepatitis. *World journal of gastroenterology*, 22(15), 3892–3906. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i15.3892>

247. Shen, Z., Li, Y., Yu, C., Shen, Y., Xu, L., Xu, C., & Xu, G. (2010). A cohort study of the effect of alcohol consumption and obesity on serum liver enzyme levels. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 22(7), 820–825. <https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e3283328b86>

248. Shen, F., Zhao, C. S., Shen, M. F., Wang, Z., & Chen, G. (2019). The role of hydrogen sulfide in gastric mucosal damage. *Medical gas research*, 9(2), 88–92. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.260650>

249. Shibuya, N., Mikami, Y., Kimura, Y., Nagahara, N., & Kimura, H. (2009). Vascular endothelium expresses 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase and produces

- hydrogen sulfide. *Journal of biochemistry*, 146(5), 623–626.
<https://doi.org/10.1093/jb/mvp111>
250. Shukla SD, Restrepo R, Aroor AR, Liu X, Lim RW, Franke JD, Ford DA, Korthuis RJ, (2019) Binge Alcohol Is More Injurious to Liver in Female than in Male Rats: Histopathological, Pharmacologic, and Epigenetic Profiles, *J Pharmacol Exp Ther*, Sep;370(3):390-398, DOI: <https://doi.org/10.1124/jpet.119.258871>
251. Sidhapuriwala, J., Li, L., Sparatore, A., Bhatia, M., & Moore, P. K. (2007). Effect of S-diclofenac, a novel hydrogen sulfide releasing derivative, on carrageenan-induced hindpaw oedema formation in the rat. *European journal of pharmacology*, 569(1-2), 149–154. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.05.003>
252. Singh, V., Keisham, A., Bhalla, A., Sharma, N., Agarwal, R., Sharma, R., & Singh, A. (2018). Efficacy of Granulocyte Colony-Stimulating Factor and N-Acetylcysteine Therapies in Patients With Severe Alcoholic Hepatitis. *Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*, 16(10), 1650–1656.e2. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.01.040>
253. Singh, S. B., & Lin, H. C. (2015). Hydrogen Sulfide in Physiology and Diseases of the Digestive Tract. *Microorganisms*, 3(4), 866–889. <https://doi.org/10.3390/microorganisms3040866>
254. Stickel, F., Datz, C., Hampe, J., & Bataller, R. (2017). Pathophysiology and Management of Alcoholic Liver Disease: Update 2016. *Gut and liver*, 11(2), 173–188. <https://doi.org/10.5009/gnl16477>
255. Sun, L., Chow, P. K. H., Fook-Chong, S. M. C., Chew, M., Aw, S. E., & Soo, K. C. (1999). Liver regeneration after partial hepatectomy is non-uniform: flow cytometric bromodeoxyuridine incorporation and cell cycle studies in a porcine model. *Research in Experimental Medicine*, 198, 229-236. <https://doi.org/10.1007/s004330050106>
256. Sun, H. J., Wu, Z. Y., Cao, L., Zhu, M. Y., Liu, T. T., Guo, L., Lin, Y., Nie, X. W., & Bian, J. S. (2019). Hydrogen Sulfide: Recent Progression and Perspectives

- for the Treatment of Diabetic Nephropathy. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *24*(15), 2857. <https://doi.org/10.3390/molecules24152857>
257. Szabo G. (2017). Clinical Trial Design for Alcoholic Hepatitis. *Seminars in liver disease*, *37*(4), 332–342. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1608788>
258. Szabo, G., & Bala, S. (2010). Alcoholic liver disease and the gut-liver axis. *World journal of gastroenterology*, *16*(11), 1321–1329. <https://doi.org/10.3748/wjg.v16.i11.1321>
259. Szalay, C. I., Erdélyi, K., Kökény, G., Lajtár, E., Godó, M., Révész, C., Kaucsár, T., Kiss, N., Sárközy, M., Csont, T., Krenács, T., Szénási, G., Pacher, P., & Hamar, P. (2015). Oxidative/Nitrative Stress and Inflammation Drive Progression of Doxorubicin-Induced Renal Fibrosis in Rats as Revealed by Comparing a Normal and a Fibrosis-Resistant Rat Strain. *PloS one*, *10*(6), e0127090. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127090>
260. Takahashi, Y. (2017). The Role of Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor-I in the Liver. *Int J Mol Sci*, *18*(7). doi: 10.3390/ijms18071447
261. Tamizhselvi, R., Koh, Y. H., Sun, J., Zhang, H., & Bhatia, M. (2010). Hydrogen sulfide induces ICAM-1 expression and neutrophil adhesion to caerulein-treated pancreatic acinar cells through NF-kappaB and Src-family kinases pathway. *Experimental cell research*, *316*(9), 1625–1636. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2010.02.044>
262. Tamizhselvi, R., Moore, P. K., & Bhatia, M. (2007). Hydrogen sulfide acts as a mediator of inflammation in acute pancreatitis: in vitro studies using isolated mouse pancreatic acinar cells. *Journal of cellular and molecular medicine*, *11*(2), 315–326. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2007.00024>
263. Tan, G., Pan, S., Li, J., Dong, X., Kang, K., Zhao, M., Jiang, X., Kanwar, J. R., Qiao, H., Jiang, H., & Sun, X. (2011). Hydrogen sulfide attenuates carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity, liver cirrhosis and portal hypertension in rats. *PloS one*, *6*(10), e25943. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025943>

264. Tan, H. K., Yates, E., Lilly, K., & Dhanda, A. D. (2020). Oxidative stress in alcohol-related liver disease. *World journal of hepatology*, *12*(7), 332–349. <https://doi.org/10.4254/wjh.v12.i7.332>
265. Tao, Y., Wang, M., Chen, E., & Tang, H. (2017). Liver Regeneration: Analysis of the Main Relevant Signaling Molecules. *Mediators of inflammation*, 2017, 4256352. <https://doi.org/10.1155/2017/4256352>
266. Teschke R. (2018). Alcoholic Liver Disease: Alcohol Metabolism, Cascade of Molecular Mechanisms, Cellular Targets, and Clinical Aspects. *Biomedicines*, *6*(4), 106. <https://doi.org/10.3390/biomedicines6040106>
267. Teschke R. (2019). Alcoholic Liver Disease: Current Mechanistic Aspects with Focus on Their Clinical Relevance. *Biomedicines*, *7*(3), 68. <https://doi.org/10.3390/biomedicines7030068>
268. Thomes, P. G., Rasineni, K., Saraswathi, V., Kharbanda, K. K., Clemens, D. L., Sweeney, S. A., Kubik, J. L., Donohue, T. M., Jr, & Casey, C. A. (2021). Natural Recovery by the Liver and Other Organs after Chronic Alcohol Use. *Alcohol research: current reviews*, *41*(1), 05. <https://doi.org/10.35946/arcr.v41.1.05>
269. Thursz, M., Kamath, P. S., Mathurin, P., Szabo, G., & Shah, V. H. (2019). Alcohol-related liver disease: Areas of consensus, unmet needs and opportunities for further study. *Journal of hepatology*, *70*(3), 521–530. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.10.041>
270. Tirapelli, L. F., Martins-Oliveira, A., Batalhão, M. E., Tirapelli, D. P., Carnio, E. C., Tanus-Santos, J. E., Queiroz, R. H., Padovan, C. M., & Tirapelli, C. R. (2012). Ethanol consumption increases the expression of endothelial nitric oxide synthase, inducible nitric oxide synthase and metalloproteinases in the rat kidney. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, *64*(1), 68–76. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2011.01396.x>
271. Tkachenko, V., Kovalchuk, Y., Bondarenko, N., Bondarenko, O., Ushakova, G., & Shevtsova, A. (2018). The Cardio- and Neuroprotective Effects of Corvitin and 2-Oxoglutarate in Rats with Pituitrin-Isoproterenol-Induced Myocardial

- Damage. *Biochemistry research international*, 2018, 9302414.
<https://doi.org/10.1155/2018/9302414>
272. Trebicka, J., Krag, A., Gansweid, S., Schiedermaier, P., Strunk, H. M., Fimmers, R., Strassburg, C. P., Bendtsen, F., Møller, S., Sauerbruch, T., & Spengler, U. (2013). Soluble TNF-alpha-receptors I are prognostic markers in TIPS-treated patients with cirrhosis and portal hypertension. *PloS one*, 8(12), e83341.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083341>
273. Varga, Z. V., Matyas, C., Paloczi, J., & Pacher, P. (2017). Alcohol Misuse and Kidney Injury: Epidemiological Evidence and Potential Mechanisms. *Alcohol research: current reviews*, 38(2), 283–288.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28988579>
274. Vovkun, T., Yanchuk, P., Shtanova, L., Veselskiy, S., Filimonova, N., Shalamay, A., & Vedmid, V. (2018). Watersoluble quercetin modulates the choleresis and bile lipid ratio in rats. *Gen. Physiol. Biophys*, 37, 111-120.
doi: <https://doi.org/10.15407/ubj91.06.112>
275. Vrolijk MF, van Essen H, Opperhuizen A, Bast A, Janssen BJ. (2019). Haemodynamic effects of the flavonoid quercetin in rats revis-ited. *Br J Pharmacol*. Dec 26. doi: 10.1111/bph.14955
276. Wang, Y., Guan, M., Zhao, X., & Li, X. (2018). Effects of garlic polysaccharide on alcoholic liver fibrosis and intestinal microflora in mice. *Pharmaceutical biology*, 56(1), 325–332.
<https://doi.org/10.1080/13880209.2018.1479868>
277. Wang, Y., Jia, J., Ao, G., Hu, L., Liu, H., Xiao, Y., Du, H., Alkayed, N. J., Liu, C. F., & Cheng, J. (2014). Hydrogen sulfide protects blood-brain barrier integrity following cerebral ischemia. *Journal of neurochemistry*, 129(5), 827–838.
<https://doi.org/10.1111/jnc.12695>
278. Wang, Y., Lu, M., Xiong, L., Fan, J., Zhou, Y., Li, H., Peng, X., Zhong, Z., Wang, Y., Huang, F., Chen, W., Yu, X., & Mao, H. (2020). Drp1-mediated mitochondrial fission promotes renal fibroblast activation and fibrogenesis. *Cell death & disease*, 11(1), 29. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-2218-5>

279. Wang R. (2003). The gasotransmitter role of hydrogen sulfide. *Antioxidants & redox signaling*, 5(4), 493–501. <https://doi.org/10.1089/152308603768295249>
280. Wang R. (2002). Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 16(13), 1792–1798. <https://doi.org/10.1096/fj.02-0211hyp>
281. Whiteman, M., & Winyard, P. G. (2011). Hydrogen sulfide and inflammation: the good, the bad, the ugly and the promising. *Expert review of clinical pharmacology*, 4(1), 13–32. <https://doi.org/10.1586/ecp.10.134>
282. Wiliński B., Wiliński J., Somogyi E., Piotrowska J. & Góralaska M. (2011). Amlodipine affects endogenous hydrogen sulfide tissue concentrations in different mouse organs. *Folia Med Cracov*, 51(1-4), 29-35. <https://core.ac.uk/download/pdf/322849008.pdf>
283. Wilson, P. C., & Humphreys, B. D. (2020). Kidney and organoid single-cell transcriptomics: the end of the beginning. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)*, 35(2), 191–197. <https://doi.org/10.1007/s00467-018-4177-y>
284. Wu, D. D., Wang, D. Y., Li, H. M., Guo, J. C., Duan, S. F., & Ji, X. Y. (2019). Hydrogen Sulfide as a Novel Regulatory Factor in Liver Health and Disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 3831713. <https://doi.org/10.1155/2019/3831713>
285. Wu, D., Wang, J., Li, H., Xue, M., Ji, A., & Li, Y. (2015). Role of Hydrogen Sulfide in Ischemia-Reperfusion Injury. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015, 186908. <https://doi.org/10.1155/2015/186908>
286. Wu, D., Zheng, N., Qi, K., Cheng, H., Sun, Z., Gao, B., Zhang, Y., Pang, W., Huangfu, C., Ji, S., Xue, M., Ji, A., & Li, Y. (2015). Exogenous hydrogen sulfide mitigates the fatty liver in obese mice through improving lipid metabolism and antioxidant potential. *Medical gas research*, 5(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s13618-014-0022-y>
287. Wu, S., Li, M., Xu, F., Li, G. Q., Han, B., He, X. D., Li, S. J., He, Q. H., Lai, X. Y., Zhou, S., Zheng, Q. Y., Guo, B., Chen, J., Zhang, K. Q., & Xu, G. L. (2020).

- Fibrinogen-like protein 2 deficiency aggravates renal fibrosis by facilitating macrophage polarization. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 130, 110468. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110468>
288. Wu, W., Hou, C.L., Mu, X.P., Sun, C., Zhu, Y.C., Wang, M.J., & Lv, Q.Z. (2017). H₂S Donor NaHS Changes the Production of Endogenous H₂S and NO in D-Galactose-Induced Accelerated Ageing. *Oxid Med Cell Longev*. doi: 10.1155/2017/5707830
289. Wu, X., Fan, X., Miyata, T., Kim, A., Cajigas-Du Ross, C. K., Ray, S., Huang, E., Taiwo, M., Arya, R., Wu, J., & Nagy, L. E. (2023). Recent Advances in Understanding of Pathogenesis of Alcohol-Associated Liver Disease. *Annual review of pathology*, 18, 411–438. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-031521-030435>
290. Wu, Y., Song, P., Yuan, X., & Li, D. (2021). Exploring the Effect of Dapagliflozin on Alcoholic Kidney Injury and Renal Interstitial Fibrosis in Rats Based on TIMP-1/MMP-24 Pathway. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2021, 6538189. <https://doi.org/10.1155/2021/6538189>
291. Xi, B., Veeranki, S. P., Zhao, M., Ma, C., Yan, Y., & Mi, J. (2017). Relationship of Alcohol Consumption to All-Cause, Cardiovascular, and Cancer-Related Mortality in U.S. Adults. *Journal of the American College of Cardiology*, 70(8), 913–922. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.06.054>
292. Xie, G., Zhong, W., Zheng, X., Li, Q., Qiu, Y., Li, H., Chen, H., Zhou, Z., & Jia, W. (2013). Chronic ethanol consumption alters mammalian gastrointestinal content metabolites. *Journal of proteome research*, 12(7), 3297–3306. <https://doi.org/10.1021/pr400362z>
293. Xu, D. Q., Gao, C., Niu, W., Li, Y., Wang, Y. X., Gao, C. J., Ding, Q., Yao, L. N., Chai, W., & Li, Z. C. (2013). Sodium hydrosulfide alleviates lung inflammation and cell apoptosis following resuscitated hemorrhagic shock in rats. *Acta pharmacologica Sinica*, 34(12), 1515–1525. <https://doi.org/10.1038/aps.2013.96>

294. Xu, D., Hu, M. J., Wang, Y. Q., & Cui, Y. L. (2019). Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *24*(6), 1123. <https://doi.org/10.3390/molecules24061123>
295. Xu, L., Yu, Y., Sang, R., Li, J., Ge, B., & Zhang, X. (2018). Protective Effects of Taraxasterol against Ethanol-Induced Liver Injury by Regulating CYP2E1/Nrf2/HO-1 and NF- κ B Signaling Pathways in Mice. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2018*, 8284107. <https://doi.org/10.1155/2018/8284107>
296. Yamada, Y., Endou, M., Morikawa, S., Shima, J., & Komatshzaki, N. (2018). Lactic Acid Bacteria Isolated from Japanese Fermented Fish (Funa-Sushi) Inhibit Mesangial Proliferative Glomerulonephritis by Alcohol Intake with Stress. *Journal of nutrition and metabolism*, *2018*, 6491907. <https://doi.org/10.1155/2018/6491907>
297. Yamamoto, T., Moriwaki, Y., & Takahashi, S. (2005). Effect of ethanol on metabolism of purine bases (hypoxanthine, xanthine, and uric acid). *Clinica Chimica Acta*, *356*(1-2), 35-57.
298. Yan, J., Nie, Y., Luo, M., Chen, Z., & He, B. (2021). Natural Compounds: A Potential Treatment for Alcoholic Liver Disease? *Frontiers in pharmacology*, *12*, 694475. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.694475>
299. Yang, G., Zhao, K., Ju, Y., Mani, S., Cao, Q., Puukila, S., Khaper, N., Wu, L., & Wang, R. (2013). Hydrogen sulfide protects against cellular senescence via S-sulfhydration of Keap1 and activation of Nrf2. *Antioxidants & redox signaling*, *18*(15), 1906–1919. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4645>
300. Yang W, Yang G, Jia X, Wu L, Wang R (2005). Activation of KATPchannels by H2S in rat insulin-secreting cells and the underlying mechanisms. *J Physiol* *569*: 519–531. <https://doi.org/10.1113/jphys-iol.2005.097642>
301. Yang, H., Yang, T., Heng, C., Zhou, Y., Jiang, Z., Qian, X., Du, L., Mao, S., Yin, X., & Lu, Q. (2019). Quercetin improves nonalcoholic fatty liver by ameliorating inflammation, oxidative stress, and lipid metabolism in db/db mice. *Phytotherapy research: PTR*, *33*(12), 3140–3152. <https://doi.org/10.1002/ptr.6486>

302. Yin, J., Tu, C., Zhao, J., Ou, D., Chen, G., Liu, Y., & Xiao, X. (2013). Exogenous hydrogen sulfide protects against global cerebral ischemia/reperfusion injury via its anti-oxidative, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects in rats. *Brain research*, 1491, 188–196. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.10.046>
303. Yu, X., Xu, Y., Zhang, S., Sun, J., Liu, P., Xiao, L., Tang, Y., Liu, L., & Yao, P. (2016). Quercetin Attenuates Chronic Ethanol-Induced Hepatic Mitochondrial Damage through Enhanced Mitophagy. *Nutrients*, 8(1), 27. <https://doi.org/10.3390/nu8010027>
304. Yuan, Y., Zheng, J., Zhao, T., Tang, X., & Hu, N. (2017). Hydrogen sulfide alleviates uranium-induced acute hepatotoxicity in rats: Role of antioxidant and antiapoptotic signaling. *Environmental toxicology*, 32(2), 581–593. <https://doi.org/10.1002/tox.22261>
305. Zaichko N. V., Melnik A. V., Yoltukhivskyy M. M., Olhovskiy A. S. Hydrogen sulfide: metabolism, biological and medical role. *Ukrainian Biochemical Journal*. 2014. Vol. 86. Issue 5. P. 5-25. <https://doi.org/10.15407/ubj86.05.005>
306. Zanardo, R. C., Brancalone, V., Distrutti, E., Fiorucci, S., Cirino, G., & Wallace, J. L. (2006). Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 20(12), 2118–2120. <https://doi.org/10.1096/fj.06-6270fje>
307. Zheng, Z., Li, C., Shao, G., Li, J., Xu, K., Zhao, Z., Zhang, Z., Liu, J., & Wu, H. (2021). Hippo-YAP/MCP-1 mediated tubular maladaptive repair promote inflammation in renal failed recovery after ischemic AKI. *Cell death & disease*, 12(8), 754. <https://doi.org/10.1038/s41419-021-04041-8>
308. Zemlyanyy, St M., Brin, St B., Hahloyeva, E. M., & Sokolovs'kyu, N. St. (2020). Експериментальна модель алкобольної нефропатії у щурів. *Вісник нових медичних технологій [Herald of new medical technologies]*, 27 (4), 79-81
309. Zeng, H., Guo, X., Zhou, F., Xiao, L., Liu, J., Jiang, C., Xing, M., & Yao, P. (2019). Quercetin alleviates ethanol-induced liver steatosis associated with improvement of lipophagy. *Food and chemical toxicology: an international journal*

- published for the British Industrial Biological Research Association, 125, 21–28.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.12.028>
310. Zeng, T., Zhang, C. L., Song, F. Y., Zhao, X. L., Yu, L. H., Zhu, Z. P., & Xie, K. Q. (2013). The activation of HO-1/Nrf-2 contributes to the protective effects of diallyl disulfide (DADS) against ethanol-induced oxidative stress. *Biochimica et biophysica acta*, 1830(10), 4848–4859.
<https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.06.028>
311. Zhang, M., Wu, X., Xu, Y., He, M., Yang, J., Li, J., Li, Y., Ao, G., Cheng, J., & Jia, J. (2017). The cystathionine β -synthase/hydrogen sulfide pathway contributes to microglia-mediated neuroinflammation following cerebral ischemia. *Brain, behavior, and immunity*, 66, 332–346. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.07.156>
312. Zhang, X., Tang, Y., Lu, G., & Gu, J. (2023). Pharmacological Activity of Flavonoid Quercetin and Its Therapeutic Potential in Testicular Injury. *Nutrients*, 15(9). doi: 10.3390/nu15092231
313. Zhao, X., Wang, C., Dai, S., Liu, Y., Zhang, F., Peng, C., & Li, Y. (2022). Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1 α -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2022, 4591134. <https://doi.org/10.1155/2022/4591134>
314. Zhao, X., Wang, J., Deng, Y., Liao, L., Zhou, M., Peng, C., & Li, Y. (2021). Quercetin as a protective agent for liver diseases: A comprehensive descriptive review of the molecular mechanism. *Phytotherapy research: PTR*, 35(9), 4727–4747. <https://doi.org/10.1002/ptr.7104>
315. Zhao, K., Li, H., Li, S., & Yang, G. (2014). Regulation of cystathionine gamma-lyase/H₂S system and its pathological implication. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*, 19(8), 1355–1369. <https://doi.org/10.2741/4286>
316. Zhu, X., Zhang, F., Zhou, L., Kong, D., Chen, L., Lu, Y., & Zheng, S. (2014). Diallyl trisulfide attenuates carbon tetrachloride-caused liver injury and fibrogenesis and reduces hepatic oxidative stress in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 387(5), 445–455. <https://doi.org/10.1007/s00210-014-0959-3>

ДОДАТОК А
СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Романенко, І.В., Мельник, А.В. (2023). Гепато- та нефропротекторна дія донора гідроген сульфїду, кверцетину та їхньої комбінації за гострого алкогольного ураження. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 17(5), 328-337. <https://doi.org/10.33250/17.04.328>
2. Романенко, І.В., Мельник, А.В., & Піліпонова, В.В. (2023). Гістологічні зміни в тканинах печінки та нирок щурів при гострому алкогольному ураженні та метаболічній корекції. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 27(3), 377-383. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2023-27\(3\)-04](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2023-27(3)-04)
3. Рикало, Н.А., & Романенко, І.В. (2022). Можливості реалізації антифіброзного та протизапального ефектів метаболічної терапії при гострих алкогольних розладах в експериментальних умовах. *Запорізький медичний журнал*, 24(4), 396–401. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2022.4.255267>
4. Рикало, Н.А., & Романенко, І.В. (2022). Медикаментозна корекція синдромів цитолізу та холестазу при гострому алкогольному гепатиті в експерименті. *Актуальні проблеми транспортної медицини*, 2 (68), 128-137. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6814980>
5. Рикало, Н.А., & Романенко, І.В. (2017). Визначення показників оксидативного стресу та антиоксидантної системи в сироватці крові щурів при гострому алкогольному гепатиті та за умов його медикаментозної корекції. *Актуальні проблеми сучасної медицини*, 17 (4), 51-54.

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

6. Rikalo, N.A. & Romanenko, I.V. (2018). Morphological changes in kidney tissues of rats with acute ethanol-induced injury and after drug correction. *Journal of Education, Health and Sport*, 8(2), 272-279

7. Рикало, Н.А., & Романенко, І.В. (2016). Патоморфологічні зміни печінки та біохімічні зміни сироватки крові при гострому алкогольному гепатиті в умовах експерименту. *Експериментальна і клінічна медицина*, 71(2), 156-160
<https://esm.knmu.edu.ua/article/view/684>
8. Рикало, Н.А., & Романенко, І.В. (2016). *Спосіб моделювання гострого алкогольного гепатиту у щурів* (Пат. 108687 Україна МПК G01N 33/576 (2006.01). Державна служба інтелектуальної власності України.
<https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=225693>
9. Рикало, Н. А., & Романенко, І. В. (2014). Сучасні погляди на патогенез гострого алкогольного гепатиту і можливості його лікування. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 18(2), 641-645

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

10. Романенко І.В. (2022). Порівняльна ефективність застосування l-аргініну - l-глутамату на гістоструктуру печінки та нирок щурів з гострим алкогольним ураженням. *Матеріали XXVI Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених, м. Тернопіль, 13-15 квітня 2022 р., (с. 196)*
<https://rmv.tdmu.edu.ua/congresses/kongres-2022>
11. Романенко І.В. (2022). Вплив різних доз етанолу на гістоструктуру печінки щурів. *Матеріали XIX науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку -2022», м. Вінниця, 7-9 квітня 2022 р., (с. 438)*
<file:///C:/Users/PK/Downloads/%D0%B7%D0%B1%D1%96%D1%80%D0%BD%D0%B8%D0%BA%202023>
12. Rykalo, N. & Romanenko, I. (2020). Effect of corvitin on oxidative stress and the state of the antioxidant system of rats with acute ethanol-induced injury of the liver. *Abstracts of IX International Scientific and Practical Conference, Ankara, Turkey November 16-19, 2020 (p. 365)*. <https://isg-konf.com/science-and-practice-of-today-en/>
13. Романенко І.В. (2019). Структурні зміни епітелію звивистих каналців нирок щурів обумовлені токсичною дією етанолу та на тлі медикаментозної

корекції. *Матеріали XVI науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку -2019», м. Вінниця, 18 квітня 2019р., (с. 460-461)*

14. Рикало, Н.А., & Романенко, І.В. (2018). Структурні зміни печінки при гострому алкогольному гепатиті та за умов медикаментозної корекції. *Бюлетень XVII читань ім. В.В. Підвисоцького, м. Одеса, 24-25 травня 2018 р., (с. 146) <https://core.ac.uk/download/pdf/237164281.pdf#page=146>*

15. Рикало Н.А., & Романенко І.В. (2017). Вплив Корвітину та глутаргіну на показники оксидативного стресу та антиоксидантної системи щурів при гострому алкогольному гепатиті. *Збірник матеріалів міжнародної науково - практичної конференції «Сучасні аспекти клінічної фармакології на тлі доказової медицини», м. Вінниця, 16-17 листопада 2017р., (с. 248-250)*

16. Рикало Н.А., & Романенко І.В. (2015). Розробка експериментальної моделі гострого алкогольного гепатиту у щурів. *Збірник матеріалів міжнародної науково - практичної конференції «Теоретичні та практичні аспекти розвитку сучасної медицини», м. Львів, 26 червня 2015р., (96-97).*

АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. XXVI Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених (Тернопіль, 13-15 квітня 2022 р., форма участі – публікація тез).
2. XIX науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку - 2022» (Вінниця, 7-9 квітня 2022 р., форма участі – усна доповідь та публікація тез).
3. The IX th International scientific and practical conference «Science and practice of today» (Ankara, Turkey, November 16-19, 2020, форма участі - публікація тез).
4. XVI науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку - 2019» (Вінниця, 18 квітня 2019 р., форма участі – публікація тез).

5. XVII читання ім. В.В. Підвисоцького (Одеса, 24-25 травня 2018 р., форма участі - публікація тез).
6. Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні аспекти клінічної фармакології на тлі доказової медицини» (Вінниця, 16-17 листопада 2017р., форма участі – публікація тез).
7. Науково-практична конференція «Теоретичні та практичні аспекти розвитку сучасної медицини» (Львів, 26 червня 2015, форма участі – публікація тез).

ДОДАТОК Б-1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти з наукової роботи
Вінницького національного медичного університету
імені М.І. Пирогова
д.мед.н., проф.

« 27 »

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ



Олег ВЛАСЕНКО

1. Назва пропозиції: механізми гострого алкогольного ураження печінки й нирок та нові підходи до фармакокорекції

2. Установа, її адреса, виконавці: Вінницький національний медичний університет, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, Романенко Ірина Володимирівна.

3. Джерело інформації:

1. Романенко І.В., Мельник А.В., Піліпонова В.В. (2023). Гістологічні зміни в тканинах печінки та нирок щурів при гострому алкогольному ураженні та метаболічній корекції. Вісник Вінницького національного медичного університету, 27 (3), 377-383.

2. Рикало Н.А., Романенко І.В. (2022). Можливості реалізації антифіброзного та протизапального ефектів метаболічної терапії при гострих алкогольних розладах в експериментальних умовах. Запорізький медичний журнал, 24 (4), 396–401.

3. Рикало, Н. А., & Романенко, І. В. (2017). Визначення показників оксидативного стресу та антиоксидантної системи в сироватці крові щурів при гострому алкогольному гепатиті та за умов його медикаментозної корекції. *Актуальні проблеми сучасної медицини*, 17 (4), 51-54.

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра медичної та біологічної хімії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова

5. Форма впровадження: використовується під час проведення лекцій та практичних занять на кафедрі при вивченні розділів «Біохімія печінки» та «Біохімія нирок та сечі. Водно-мінеральний обмін».

6. Ефективність впровадження: підвищення якості знань студентів з питань механізмів гострого алкогольного ураження печінки й нирок та нових підходів до фармакокорекції.

7. Зауваження та пропозиції. Не виносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри медичної та біологічної хімії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, протокол №4 від 23.11.2023

Відповідальний за впровадження:

В.о. завідувача кафедри медичної та біологічної хімії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, д.мед.н., професор

Андрій МЕЛЬНИК

ДОДАТОК Б-2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти з наукової роботи
Вінницького національного медичного університету
імені М.І. Пирогова
д.мед.н., проф.

« 27 »

листопада



Олег В. ЛАСЕНКО

2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції: механізми гострого алкогольного ураження печінки й нирок та нові підходи до фармакокорекції

2. Установа, її адреса, виконавці: Вінницький національний медичний університет, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, Романенко Ірина Володимирівна.

3. Джерело інформації:

1. Романенко І.В., Мельник А.В., Піліпонова В.В. (2023). Гістологічні зміни в тканинах печінки та нирок щурів при гострому алкогольному ураженні та метаболічній корекції. Вісник Вінницького національного медичного університету, 27 (3), 377-383.

2. Рикало Н.А., Романенко І.В. (2022). Можливості реалізації антифіброзного та протизапального ефектів метаболічної терапії при гострих алкогольних розладах в експериментальних умовах. Запорізький медичний журнал, 24 (4), 396–401.

3. Рикало, Н. А., & Романенко, І. В. (2017). Визначення показників оксидативного стресу та антиоксидантної системи в сироватці крові щурів при гострому алкогольному гепатиті та за умов його медикаментозної корекції. *Актуальні проблеми сучасної медицини*, 17 (4), 51-54.

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра патофізіології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова

5. Форма впровадження: використовується під час проведення лекцій та практичних занять на кафедрі при вивченні розділів «Патофізіологія печінки. Печінкова недостатність» та «Патофізіологія нирок. Ниркова недостатність».

6. Ефективність впровадження: підвищення якості знань студентів з питань механізмів гострого алкогольного ураження печінки й нирок та нових підходів до фармакокорекції.

7. Зауваження та пропозиції. Не виносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри патофізіології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, протокол №4 від 12.10.2023

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патофізіології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова,
к.мед.н., доц.

Вікторія ПІЛІПОНОВА

ДОДАТОК Б-3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти з наукової роботи
Вінницького національного медичного університету
імені М.І. Пирогова
д.мед.н., проф.

« 27 »



Олег ВЛАСЕНКО

2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ



- 1. Назва пропозиції:** механізми гострого алкогольного ураження печінки й нирок та нові підходи до фармакокорекції
- 2. Установа, її адреса, виконавці:** Вінницький національний медичний університет, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, Романенко Ірина Володимирівна.
- 3. Джерело інформації:**
1. Романенко І.В., Мельник А.В., Піліпонова В.В. (2023). Гістологічні зміни в тканинах печінки та нирок щурів при гострому алкогольному ураженні та метаболічній корекції. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 27 (3), 377-383.
 2. Рикало Н.А., Романенко І.В. (2022). Можливості реалізації антифіброзного та протизапального ефектів метаболічної терапії при гострих алкогольних розладах в експериментальних умовах. *Запорізький медичний журнал*, 24 (4), 396–401.
 3. Рикало, Н. А., & Романенко, І. В. (2017). Визначення показників оксидативного стресу та антиоксидантної системи в сироватці крові щурів при гострому алкогольному гепатиті та за умов його медикаментозної корекції. *Актуальні проблеми сучасної медицини*, 17 (4), 51-54.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра фармакології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова
- 5. Форма впровадження:** в науково-педагогічному процесі на кафедрі при вивченні розділу «Засоби, що впливають на виконавчі органи».
- 6. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань студентів з питань механізмів гострого алкогольного ураження печінки й нирок та нових підходів до фармакокорекції.
- 7. Зауваження та пропозиції.** Не виносилися.
- Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, протокол №4 від 2 листопада 2023 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакології Вінницького
національного медичного університету імені М.І.
Пирогова,
д.мед.н., професор



Наталія ВОЛОЦУК

ДОДАТОК Б-4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор закладу вищої освіти з наукової роботи
 Тернопільського національного медичного
 університету ім. І.Я. Горбачевського
 заслужений діяч науки і техніки України,
 д.б.н., професор  Іван КЛЮЧ
 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції: механізми гострого алкогольного ураження печінки й нирок та нові підходи до фармакокорекції

2. Установа, її адреса, виконавці: Вінницький національний медичний університет, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, Романенко Ірина Володимирівна.

3. Джерело інформації: 1. Романенко І.В., Мельник А.В., Піліпонова В.В. (2023). Гістологічні зміни в тканинах печінки та нирок щурів при гострому алкогольному ураженні та метаболічній корекції. Вісник Вінницького національного медичного університету, 27 (3), 377-383. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2023-27\(3\)-04](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2023-27(3)-04). 2. Рикало Н.А., Романенко І.В. (2022). Можливості реалізації антифіброзного та протизапального ефектів метаболічної терапії при гострих алкогольних розладах в експериментальних умовах. Запорізький медичний журнал, 24 (4), 396–401. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2022.4.255267>. 3. Рикало, Н. А., Романенко, І. В. (2017). Визначення показників оксидативного стресу та антиоксидантної системи в сироватці крові щурів при гострому алкогольному гепатиті та за умов його медикаментозної корекції. *Актуальні проблеми сучасної медицини*, 17 (4), 51-54. https://www.pdmu.edu.ua/old/journal/journal2/journal2stat4_1_60_2017.php

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського.

5. Форма впровадження: використовується під час проведення лекцій та практичних занять на кафедрі при вивченні розділів «Патофізіологія печінки. Печінкова недостатність» та «Патофізіологія нирок. Нефритичний та нефротичний синдроми».

6. Ефективність впровадження: підвищення якості знань студентів з питань механізмів гострого алкогольного ураження печінки й нирок і підходів корекції.

7. Зауваження та пропозиції. Не виносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського, протокол № 9 від 31.10.2023.


Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології
 Тернопільського національного медичного
 університету ім. І.Я. Горбачевського,
 д.мед.н., професор



Ольга ДЕНЕФІЛЬ

ДОДАТОК Б-5



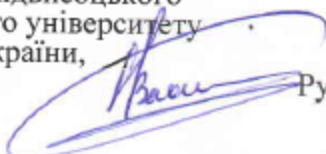
 «ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з науково-педагогічної
 роботи Одеського національного
 медичного університету, к.мед.н., доцент
 Едуард БУРЯЧКІВСЬКИЙ
 « » _____ 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції:** механізми гострого алкогольного ураження печінки й нирок та нові підходи до фармакокорекції
 2. **Установа, її адреса, виконавці:** Вінницький національний медичний університет, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, Романенко Ірина Володимирівна.
 3. **Джерело інформації:**
 1. Романенко І.В., Мельник А.В., Піліпонова В.В. (2023). Гістологічні зміни в тканинах печінки та нирок щурів при гострому алкогольному ураженні та метаболічній корекції. Вісник Вінницького національного медичного університету, 27 (3), 377-383. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2023-27\(3\)-04](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2023-27(3)-04)
 2. Рикало Н.А., Романенко І.В. (2022). Можливості реалізації антифіброзного та протизапального ефектів метаболічної терапії при гострих алкогольних розладах в експериментальних умовах. Запорізький медичний журнал, 24 (4), 396–401. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2022.4.255267>
 3. Рикало, Н. А., Романенко, І. В. (2017). Визначення показників оксидативного стресу та антиоксидантної системи в сироватці крові щурів при гострому алкогольному гепатиті та за умов його медикаментозної корекції. *Актуальні проблеми сучасної медицини*, 17 (4), 51-54. https://www.pdmu.edu.ua/old/journal/journal2/journal2stat4_1_60_2017.php
 4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету.
 5. **Форма впровадження:** використовується під час проведення лекцій та практичних занять на кафедрі при вивченні розділів «Патофізіологія печінки. Печінкова недостатність» та «Патофізіологія нирок. Ниркова недостатність».
 6. **Ефективність впровадження:** підвищення якості знань студентів з питань механізмів гострого алкогольного ураження печінки й нирок та нових підходів до фармакокорекції.
 7. **Зауваження та пропозиції.** Не виносилися.
- Обговорено та затверджено на засіданні кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету, протокол №3 від 20.10.2023 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри загальної та клінічної
 патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького
 Одеського національного медичного університету
 Заслужений діяч науки і техніки України,
 д.мед.н., професор


 Руслан ВАСТЬЯНОВ

ДОДАТОК Б-6



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти з наукової роботи
Дніпровського державного медичного університету
д.мед.н., проф.

Олександр ГУДАР'ЯН

_____ 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції:** механізми гострого алкогольного ураження печінки й нирок та нові підходи до фармакокорекції
 2. **Установа, її адреса, виконавці:** Вінницький національний медичний університет, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, Романенко Ірина Володимирівна.
 3. **Джерело інформації:**
 1. Романенко І.В., Мельник А.В., Піліпонова В.В. (2023). Гістологічні зміни в тканинах печінки та нирок шурів при гострому алкогольному ураженні та метаболічній корекції. Вісник Вінницького національного медичного університету, 27 (3), 377-383. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2023-27\(3\)-04](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2023-27(3)-04)
 2. Рикало Н.А., Романенко І.В. (2022). Можливості реалізації антифіброзного та протизапального ефектів метаболічної терапії при гострих алкогольних розладах в експериментальних умовах. Запорізький медичний журнал, 24 (4), 396-401. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2022.4.255267>
 3. Рикало, Н. А., Романенко, І. В. (2017). Визначення показників оксидативного стресу та антиоксидантної системи в сироватці крові шурів при гострому алкогольному гепатиті та за умов його медикаментозної корекції. *Актуальні проблеми сучасної медицини*, 17 (4), 51-54. https://www.pdmu.edu.ua/old/journal/journal2/journal2stat4_1_60_2017.php
 4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету.
 5. **Форма впровадження:** використовується під час проведення лекцій та практичних занять на кафедрі при вивченні розділів «Патофізіологія печінки. Печінкова недостатність» та «Патофізіологія нирок. Ниркова недостатність».
 6. **Ефективність впровадження:** підвищення якості знань студентів з питань механізмів гострого алкогольного ураження печінки й нирок та нових підходів до фармакокорекції.
 7. **Зауваження та пропозиції.** Не виносилися.
- Обговорено та затверджено на засіданні кафедри патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету, протокол № 5 від 16.07 2023

Відповідальний за впровадження:

В. о. завідувача кафедри патологічної анатомії,
судової медицини та патологічної фізіології
Дніпровського державного медичного університету
д.мед.н., професор.

Олександра ПОСЛАВСЬКА

ДОДАТОК Б-7

«Затверджую»

Директор ННЦ

«Інститут біології та медицини»

Київського національного

університету імені Тараса Шевченка

Остапченко Л.І.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції: механізми гострого алкогольного ураження печінки й нирок та нові підходи до фармакокорекції

2. Установа, її адреса, виконавці: Вінницький національний медичний університет, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, Романенко Ірина Володимирівна.

3. Джерело інформації:

1. Романенко І.В., Мельник А.В., Піліпонова В.В. (2023). Гістологічні зміни в тканинах печінки та нирок щурів при гострому алкогольному ураженні та метаболічній корекції. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 27 (3), 377-383.

2. Рикало Н.А., Романенко І.В. (2022). Можливості реалізації антифіброзного та протизапального ефектів метаболічної терапії при гострих алкогольних розладах в експериментальних умовах. *Запорізький медичний журнал*, 24 (4), 396–401.

3. Рикало, Н. А., & Романенко, І. В. (2017). Визначення показників оксидативного стресу та антиоксидантної системи в сироватці крові щурів при гострому алкогольному гепатиті та за умов його медикаментозної корекції. *Актуальні проблеми сучасної медицини*, 17 (4), 51-54.

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра клінічної медицини ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка

5. Форма впровадження: використовується під час проведення лекцій та практичних занять на кафедрі.

6. Ефективність впровадження: підвищення якості знань студентів з питань механізмів гострого алкогольного ураження печінки й нирок та нових підходів до фармакокорекції.

7. Зауваження та пропозиції. Не виносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри клінічної медицини ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, протокол №3 від 24.11.2023

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри клінічної медицини ННЦ
«Інститут біології та медицини» Київського
національного університету імені Тараса
Шевченка

д.мед.н., професор

Олександр МАЄВСЬКИЙ