

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова  
Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**КІКА ВЛАДИСЛАВ ВОЛОДИМИРОВИЧ**

УДК 57.084:611.018.4:615.099:612.393(043.5)

**ДИСЕРТАЦІЯ**

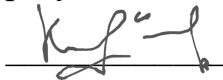
**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ КІСТКОВОЇ  
ТКАНИНИ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ  
ІНТОКСИКАЦІЇ**

091 Біологія

09 Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

 В. В. Кіка

Науковий керівник: Макаренко Ольга Анатоліївна, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, завідувач кафедри фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти ОНУ імені І. І. Мечникова

Одеса – 2024

## АНОТАЦІЯ

*Кіка В. В.* Експериментальне дослідження стану кісткової тканини за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації.

Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 091 Біологія – Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, 2024.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню стану кісткової тканини у лабораторних щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією, а також обґрунтуванню комплексної профілактики порушень, які є наслідком інтоксикації.

Для реалізації мети і виконання завдань дисертаційної роботи проведено дві серії експериментів на лабораторних щурах. Щурів під час досліджень утримували згідно правил роботи з експериментальними тваринами, що встановлені Директивою Європейського парламенту та Ради (2010/63/EU), наказом Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 р. № 249. Тварини під час проведення експериментів знаходилися на постійному харчовому та питному режимі віварію ОНУ імені І. І. Мечникова.

Завданням першого етапу роботи було дослідження стану деяких кісток у щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією за морфометричними параметрами, показниками антиоксидантної системи, маркерами ремоделювання. Також у тварин визначали стан слизових оболонок травного тракту за показниками всмоктування, засвоєння кальцію, запалення, антиоксидантного захисту, перекисного окиснення ліпідів, ступеня дисбіозу. Для з'ясування головної ланки патогенезу остеодистрофії при алкогольній інтоксикації висновки дослідження робили на підставі різниці отриманих даних у осіб різної статі.

Дослід проводили на 14 самцях і 14 самках, поділених порівну на інтактну та дослідну групи. Інтактні групи отримували воду, дослідні групи замість води отримували розчин етанолу. Розчин алкоголю був єдиним джерелом рідини для тварин. Початкова концентрація спирту 5 %, далі збільшували концентрацію на 2 % кожні 10 днів (протягом 50 днів), протягом наступних 58 днів тварини вживали 15 % розчин спирту. Тривалість експерименту – 108 днів.

Отримані результати показали, що тривале введення щурам етанолу посилює атрофію альвеолярного відростку на 15,0 % у самців та на 18,0 % у самиць, що свідчить про активацію резорбції кісткової тканини щелеп. Хронічне вживання алкоголю призвело до збільшення кількості каріозних уражень на 34,1 % у самців і на 40,0 % у самок ( $p < 0,02$ ). В стегнових кістках і поперекових хребцях алкоголізованих самок встановлена тенденція до збільшення вмісту мінерального компонента і зменшення вмісту органічного компонента. Щільність кісток самок не змінювалась, але порушилось співвідношення мінерального та органічного компонента у кістковій тканині. У самців такого перерозподілу не відбулося.

Дослідження активності антиоксидантних ферментів у кістковій тканині обох статей виявило їх зміну внаслідок прийому алкоголю: спостерігали зріст активності каталази на 33,3-38,6 %, падіння активності супероксиддисмутази на 15,6-18,3 % і глутатіоноредуктази – на 33,1-39,4 %. У кістковій тканині самиць порушення активності усіх ферментів було значнішим, що супроводжувалось вираженим розвитком перекисного окиснення ліпідів, а саме – збільшенням вмісту малонового діальдегіду на 75,3 %, що було статистично вище, ніж у самців ( $p < 0,001$ ).

Навпаки, підвищення маркерів резорбції (активності елстази та кислій фосфатази) у щелепах внаслідок алкоголізації достовірно більш виражено у самців на тлі зменшення показника кісткоутворення (активності лужної фосфатази), яке було також значнішим у щелепах самців.

Тому більш виражені порушення стану антиоксидантно-прооксидантної системи в кістковій тканині алкоголізованих самиць можуть пояснити значнішу атрофію альвеолярного відростку щелеп та зміни в співвідношенні мінерального та органічного компонентів в стегнових кістках та поперекових хребцях, а значить і погіршення якості кісткової тканини самок.

Дослідження всмоктування, екскреції та засвоєння кальцію встановило зниження абсорбції цього елемента у тонкій кишці алкоголізованих тварин однаково у обох статей. При цьому у самців кількість виведеного кальцію була статистично менше ніж у самок, що розглядається як компенсаторна реакція на зниження його всмоктування у тонкій кишці. А у самок внаслідок хронічної алкоголізації констатували гірше засвоєння кальцію, так як при зменшенні всмоктування у тонкій кишці цей елемент в більшій кількості ніж у самців виводився з сечею і калом.

Хронічна алкогольна інтоксикація викликала запальні та дисбіотичні явища у травному тракті тварин, чим можна пояснити порушення всмоктування і засвоєння кальцію. Так, встановлено активацію кислій фосфатази (на 22,7-58,6 %) разом з еластазою (на 20,0-55,5 %) як у всіх слизових оболонках шлунково-кишкового тракту, так і особливо у печінці щурів (57,4-112,6 %), що свідчить про розвиток запалення, яке більшою мірою виражено у самців. Запалення носило генералізований характер, оскільки активність еластази суттєво зростала у сироватці алкоголізованих щурів.

Хронічне введення етанолу щурам сприяло також розвитку дисбіозу у травному тракті, що супроводжувалось суттєвим зниженням антимікробного фактору активності лізоциму (на 26,4-70,0 %) та зростанням активності уреаз (на 21,3-139,5 %). Найбільш значущі зміни виявлено у слизовій оболонці шлунку тих щурів обох статей, де зареєстровано найвища активність уреаз при повній відсутності лізоциму.

В слизових оболонках травного тракту, печінці та сироватці крові щурів внаслідок тривалого вживання етанолу встановили зниження активності антиоксидантного ферменту каталази, що супроводжувалося суттєвим збільшенням вмісту малонового діальдегіду (на 16,1-25,0 %). Отримані результати вказують на пригнічення антиоксидантного захисту та розвиток оксидативного стресу внаслідок хронічного вживання алкоголю, що більшою мірою було виражено у самок щурів.

Оскільки оксидативний стрес у травному тракті, збільшення екскреції кальцію та зменшення його засвоєння значніше виражено у алкоголізованих самок, а ступінь активації запальних та дисбіотичних процесів – з деякою перевагою у самців, саме оксидативний стрес при хронічній алкогольній інтоксикації є причиною погіршення засвоєння кальцію, що робить додатковий негативний вклад у розвиток алкогольної остеодистрофії.

Виснаження антиоксидантного захисту і розвиток оксидативного стресу за умов хронічної алкоголізації зареєстровано також в головному мозку щурів.

На підставі встановлення розвитку оксидативного стресу у кістковій та травній системах внаслідок хронічної алкогольної інтоксикації, обґрунтували дві схеми корекції прооксидантного впливу етанолу за допомогою комплексів препаратів з вмістом неферментних антиоксидантів (кверцетин, аскорбінова кислота) і кофакторів антиоксидантних ферментів (цинк, марганець, селен). Враховуючі збільшення екскреції кальцію внаслідок алкогольної інтоксикації, основою першого комплексу обрали кальцій з раковин устриць з вітаміном D, основу другого комплексу склав препарат Мінерол та вітаміни D і C для кращого засвоєння кальцію.

На наступному етапі досліджували ефективність застосування запропонованих комплексів при тривалій алкоголізації щурів. Експеримент проводили на самках щурів, так як на першому етапі було встановлено більш виражені патологічні зміни у кістковій та травній системах самок.

Тварини були випадковим чином поділені на чотири групи: інтактну та три групи з алкогольною інтоксикацією, двом з яких вводили мінерально-вітамінний комплекс на основі кальцію з раковин устриць 500 мг/кг або комплекс на основі препарату Мінерол 1000 мг/кг. Тварини поступово адаптувались до прийому алкоголю: перші 7 днів – 8 % розчин, наступні 7 днів – до 16 %, далі до кінця досліджу – 25 % розчин етанолу. Тривалість експерименту становила 104 дні.

Профілактичну остеопротекторну ефективність запропонованих комплексів для корекції встановлених порушень оцінювали у кістках щурів за морфометричними параметрами, показниками антиоксидантної системи, маркерами ремоделювання. Також у тварин визначали стан слизових оболонок травного тракту за показниками запалення, антиоксидантного захисту, перекисного окиснення ліпідів, ступеня дисбіозу.

Результати досліджень другого етапу підтвердили негативний вплив хронічного введення етанолу на якість кісткової тканини, а саме – посилення резорбційних процесів, більш значне у щелепах і в деякій мірі – у стегнових кістках самок щурів. Показники поперекових хребців тварин були незмінними. Біохімічні дослідження кісткової тканини виявили наявність оксидативного стресу (зниження активності антиоксидантних ферментів, накопичення малонового діальдегіду), активацію деструктивних ферментів в кістках при одночасному гальмуванні маркеру кісткоутворення, зниження вмісту кальцію у щелепах і стегнових кістках алкоголізованих тварин. Тривале вживання етанолу також викликало порушення у печінці та слизових оболонках травного тракту тварин: оксидативний стрес, запалення, посилення мікробної контамінації, холестаза, порушення метаболізму ліпідів.

Введення шурам з хронічною алкогольною інтоксикацією мінерально-вітамінного комплексу на основі кальцію з раковин устриць ефективно попереджувало розвиток порушень у кістках тварин, тобто виявило виражені антиоксидантні та остеопротекторні властивості. Навпаки, при вживанні

комплексу «Мінерол» погіршився стан стегнових кісток та не змінилися показники ремоделювання та антиоксидантного захисту у кістковій тканині.

Профілактичне застосування комплексів з метою корекції порушень, які індукує алкогольна інтоксикація, виявило загальний антиоксидантний вплив комплексів, а також гепатопротекторну дію в умовах тривалого надходження етанолу. Використання обох комплексів у самиць на тлі хронічної алкогольної інтоксикації сприяло ефективному зменшенню проявів оксидативного стресу, запалення, мікробної контамінації в слизових оболонках травного тракту.

Порівняння профілактичної ефективності комплексів показало, що мінерально-вітамінний комплекс на основі раковин устриць краще попереджував розвиток порушень у кістковій тканині та сироватці крові алкоголізованих щурів ніж Мінеролом. У слизових оболонках травного тракту та печінці тварин при хронічній алкогольній інтоксикації мінерально-вітамінний комплекс і Мінерол мали однакову коригуючу дію.

Загальний висновок досліджень стосується виражених антиоксидантних властивостей запропонованих комплексів, що доказує обґрунтовану патогенетичну профілактику, використання якої ефективно припиняло головну ланку патогенезу алкогольної інтоксикації – оксидативний стрес у кістковій та травній системах щурів.

**Ключові слова:** щури, хронічна алкогольна інтоксикація, кісткова тканина, остеодистрофія, оксидативний стрес, травний тракт, біохімічні показники, запалення, дисбіоз, засвоєння кальцію, лікувально-профілактичний комплекс, антиоксиданти.

## SUMMARY

Kika V.V. Experimental research of the bone tissue quality with chronic alcohol intoxication.

Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for obtaining the scientific degree of Candidate of Biological Sciences (Doctor of Philosophy) in the specialty 091 Biology Odesa I. I. Mechnikov National University, Odesa, 2024.

The dissertation is devoted to the study of bone tissue in laboratory rats with chronic alcohol intoxication, as well as the substantiation of the comprehensive prevention of disorders resulting from intoxication.

The aim of the first stage of the work was to study the condition of some bones in rats with chronic alcohol intoxication by morphometric parameters, parameters of the antioxidant system, and markers of remodeling. The condition of the mucous membranes of the digestive tract was also studied in animals in accordance with the indicators of absorption, calcium absorption, inflammation, antioxidant defense, lipid peroxidation, and the degree of dysbiosis. To determine the main link in the pathogenesis of osteodystrophy in alcohol intoxication, the study was based on the sex difference in pathological changes in the bone and digestive systems of female and male rats.

The experiment was conducted on 14 males and 14 females, divided equally into intact and experimental groups. The intact groups received water, and the experimental groups received ethanol solution. Alcoholization of animals was carried out according to the scheme when the alcohol solution is the only source of liquid for animals. The initial concentration of alcohol was 5 %, then the concentration was increased by 2 % every 10 days (for 50 days), and for the next 58 days the animals consumed a 15 % alcohol solution. The duration of the experiment was 108 days.

The results showed that prolonged ethanol administration to rats increased atrophy of the alveolar process by 15.0 % in males and 18.0 % in females,



indicating activation of jaw bone resorption. Chronic alcohol consumption increased the number of carious lesions by 34.1 % in males and 40.0 % in females ( $p < 0.02$ ). In the femurs and lumbar vertebrae of alcoholic females, there was a tendency to increase the contents of the mineral component and decrease the content of the organic component. The bone density of females did not change, but the balance of mineral and organic components in bone tissue was disturbed. No such redistribution occurred in males.

The study of the activity of antioxidant enzymes in the bone tissue of both sexes revealed their change as a result of alcohol intake: an increase in catalase activity by 33.3-38.6 %, a decrease in superoxide dismutase activity by 15.6-18.3 % and glutathione reductase activity by 33.1-39.4 % were observed. In the bone tissue of females, the impairment of the activity of all enzymes was more significant, accompanied by a pronounced development of lipid peroxidation, specifically, an increase in the content of malondialdehyde by 75.3 %, which was statistically higher than in males ( $p < 0.001$ ).

On the contrary, the increase in resorption markers (elastase and acid phosphatase activity) in the jaws due to alcoholization is significantly more expressed in males against the background of a decrease in bone formation (alkaline phosphatase activity), which was also more significant in the jaws of males.

Therefore, more significant disorders of the antioxidant-prooxidant system in the bone tissue of alcoholized females may explain the more significant atrophy of the alveolar process of the jaws and changes in the proportion of mineral and organic components in the femurs and lumbar vertebrae, and hence the deterioration of the quality of bone tissue in females.

A study of calcium excretion and absorption revealed a decrease in the absorption of this element in the small intestine of alcoholized animals in both sexes. At the same time, the amount of excreted calcium in males was statistically less than in females, which is considered a compensatory reaction to a decrease in its absorption in the small intestine. And in females, as a result of chronic

alcoholization, worse calcium absorption was noted, since with a decrease in absorption in the small intestine, this element was excreted in urine and feces in greater quantities than in males.

Chronic alcohol intoxication caused inflammatory and dysbiotic effects in the digestive tract of animals, which can explain the impaired absorption and absorption of calcium. Thus, the activation of acid phosphatase (by 22.7-58.6 %) together with elastase (by 20.0-55.5 %) was found in all mucous membranes of the gastrointestinal tract, and especially in the liver of rats (57.4-112.6 %), indicating the development of inflammation, which is more expressed in males. The inflammation was generalized, as the activity of elastase increased significantly in the serum of alcoholized rats.

Chronic administration of ethanol to rats also contributed to the development of dysbiosis in the digestive tract, which was accompanied by a significant decrease in the antimicrobial factor of lysozyme activity (by 26.4-70.0%) and an increase in urease activity (by 21.3-139.5%). The most significant changes were detected in the gastric mucosa of rats of both sexes, where the highest urease activity was recorded in the complete absence of lysozyme.

In the mucous membranes of the digestive tract, liver and blood serum of rats due to prolonged use of ethanol, a decrease in the activity of the antioxidant enzyme catalase was found, accompanied by a significant increase in the content of malondialdehyde (by 16.1-25.0%). The obtained results indicate the suppression of antioxidant defense and the development of oxidative stress due to chronic alcohol consumption, which was more pronounced in female rats.

Since oxidative stress in the digestive tract, increased calcium excretion and decreased calcium absorption are more pronounced in alcoholic females, and the degree of activation of inflammatory and dysbiotic processes is slightly higher in males, it is oxidative stress in chronic alcohol intoxication that causes impaired calcium absorption, which makes an additional negative contribution to the development of alcoholic osteodystrophy.

The decrease in antioxidant defense and the development of oxidative stress under conditions of chronic alcoholization were also recorded in the rat brain.

Based on the finding of the development of oxidative stress in the bone and digestive systems due to chronic alcohol intoxication, two methods of correction of the prooxidant effect of ethanol using complexes of drugs containing non-enzymatic antioxidants (quercetin, ascorbic acid) and cofactors of antioxidant enzymes (zinc, manganese, selenium) were substantiated. Given the increase in calcium excretion due to alcohol intoxication, the first complex was based on calcium from oyster shells with vitamin D, the second complex was based on Minerol and vitamins D and C for better calcium absorption.

The next stage was to investigate the effectiveness of the proposed complexes in the case of prolonged alcoholization of rats. The experiment was conducted on female rats, since at the first stage, more pronounced pathological changes in the bone and digestive systems of females were found.

Animals were randomly divided into four groups: intact and three groups with alcohol intoxication, two of which were administered a mineral and vitamin complex based on calcium from oyster shells 500 mg/kg or a complex based on Minerol 1000 mg/kg. The animals gradually adapted to alcohol intake: for the first 7 days - 8% solution, for the next 7 days - up to 16%, then until the end of the experiment - 25% ethanol solution. The duration of the experiment was 104 days.

The preventive osteoprotective efficacy of the proposed complexes for the correction of the established disorders was evaluated in rat bones by morphometric parameters, antioxidant system parameters, and markers of remodeling. The state of the mucous membranes of the digestive tract was also determined in animals by indicators of inflammation, antioxidant defense, lipid peroxidation, and the degree of dysbiosis.

The results of the second phase confirmed the negative effect of chronic ethanol administration on bone quality, namely, an increase in resorption processes, more significant in the jaws and to some extent in the femurs of female rats. Indicators of the lumbar vertebrae of the animals were unchanged.

Biochemical studies of bone tissue revealed the presence of oxidative stress (decreased activity of antioxidant enzymes, accumulation of malondialdehyde), activation of destructive enzymes in bones with simultaneous inhibition of bone formation markers, and decreased calcium content in the jaws and femurs of alcohol-exposed animals. Prolonged ethanol consumption also caused disorders in the liver and mucous membranes of the digestive tract of animals: oxidative stress, inflammation, increased microbial contamination, cholestasis, and lipid metabolism.

The administration of a calcium-based mineral and vitamin complex from oyster shells to shrews with chronic alcohol intoxication effectively prevented the development of bone disorders, i.e., showed pronounced antioxidant and osteoprotective properties. On the contrary, the use of the Minerol complex worsened the condition of the femurs and did not change the indicators of remodeling and antioxidant protection in bone tissue.

Prophylactic use of the complexes to correct the disorders induced by alcohol intoxication revealed the general antioxidant effect of the complexes, as well as hepatoprotective effect under conditions of prolonged ethanol intake. The use of both complexes in females with chronic alcohol intoxication contributed to an effective reduction in the manifestations of oxidative stress, inflammation, and microbial contamination in the mucous membranes of the digestive tract.

Comparison of the preventive efficacy of the complexes showed that the mineral and vitamin complex based on oyster shells better prevented the development of disorders in bone tissue and blood serum of alcoholic rats than Minerol. In the mucous membranes of the digestive tract and liver of animals with chronic alcohol intoxication, the mineral-vitamin complex and Minerol had the same corrective effect.

Based on the antioxidant properties of the components of the complexes, a reasonable pathogenetic prophylaxis was substantiated, the use of which effectively stopped the main link in the pathogenesis of alcohol intoxication - oxidative stress in the bone and digestive systems of rats.

***Key words:*** rats, chronic alcohol intoxication, bone tissue, osteodystrophy, oxidative stress, digestive tract, biochemical markers, inflammation, dysbiosis, calcium absorption, therapeutic and prophylactic complex, antioxidants.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

### *Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації*

1. Макаренко О. А., Кіка В. В., Мудрик Л. М. Дисбаланс антиоксидантно-прооксидантної системи у кістковій тканині щелеп щурів при тривалому введенні етанолу. *Вісник ОНУ, Серія: Біологія*. 2021. Том 26. Випуск 1 (48). С. 105 – 114. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2021.1\(48\).232849](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2021.1(48).232849)
2. Особливості всмоктування кальцію та стан слизової оболонки тонкої кишки у щурів при алкогольній інтоксикації / Макаренко О. А., Кіка В. В., Хромагіна Л. Н., Цевух Л. Б. *Colloquium-journal / Biology science*. 2021. Випуск 26 (113). С. 4 – 8. <https://doi.org/10.24412/2520-6990-2021-26113-4-8>
3. Кіка В. В., Макаренко О. А., Новікова Ж. О. Розвиток запалення в травному тракті щурів після тривалого введення етанолу. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2021. Том 6. Випуск 6 (34). С. 253 – 258. <https://doi.org/10.26693/jmbs06.06.253>
4. Кіка В. В., Макаренко О. А. Розвиток оксидативного стресу у лабораторних щурів за алкогольної інтоксикації. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2022. Випуск 87. С. 130 – 138. <https://doi.org/10.30970/VLUBS.2022.87.11>
5. Макаренко О. А., Карабаджак Л. І., Кіка В. В. Витривалість та показники інтоксикації головного мозку щурів на тлі хронічної алкоголізації. *Вісник ОНУ. Біологія*. 2022. Том 27. Випуск 1 (50). С. 107 – 114. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2022.1\(50\).259843](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2022.1(50).259843)
6. Prophylactic efficiency of the administration of vitamin, mineral and sorbent complexes on bone tissue in female rats against the background of chronic alcohol consumption / Makarenko O. A., Kika V. V., Khodakov I. V., Khromagina, L. M. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2023. Vol. 14 (1). P. 94 – 101. <https://doi.org/10.15421/022314>

7. Кіка В. В., Макаренко О. А. Порівняльне дослідження протизапальної та антиоксидантної ефективності профілактичних препаратів в травному тракті щурів при хронічній алкогольної інтоксикації. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2024. № 1 (75). С. 87 – 98. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10888593>

***Наукові праці, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації***

1. Макаренко О. А., Кіка В. В. Стан антиоксидантно-прооксидантної системи у кісткової тканині щелеп щурів при тривалому введенні етанолу. «42 Наукові читання імені О.О. Богомольця» : матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю / Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, 2021. С. 111 –112.
2. Кіка В. В., Ходаков І. В., Макаренко О. А. Вплив хронічного введення етанолу на морфометричні показники різних кісток лабораторних щурів. *Актуальні питання судової ветеринарії, морфології та патоморфології* : тези доповідей міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, ОДАУ, ФВМ, 17–18 червня 2021 р., Одеса / Одеський державний аграрний університет, 2021. – С. 65 – 67.
3. Кіка В. В., Макаренко О. А. Стан кісткової тканини щурів після хронічної алкоголізації. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція* : тези доповідей IV науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю, 18 листопада 2021 р. / Національний фармацевтичний університет, 2021. С. 118 – 119.
4. Макаренко О. А., Кіка В. В. Оксидативний стрес у травному тракті лабораторних щурів при тривалій алкогольній інтоксикації. *XXI читання ім. В. В. Підвисоцького*, 23 – 24 червня 2022 р. / Одеський національний медичний університет, 2022. С. 64 – 65.

5. Макаренко О.А., Карабаджак Л.І., Кіка В.В. Витривалість та показники інтоксикації головного мозку щурів при хронічній алкогольній інтоксикації. // *Modern research in world science. Proceedings of the 7th International scientific and practical conference. SPC “Sci-conf.com.ua”*. Lviv, Ukraine. 2022. Pp. 76-82. URL: <https://sci-conf.com.ua/vii-mizhnarodna-naukovo-praktichna-konferentsiya-modern-research-in-world-science-2-4-10-2022-lviv-ukrayina-arhiv/>
6. Кіка В. В., Макаренко О. А. Вплив алкоголю на стан мікробіоценозу у шлунково-кишковому тракті щурів. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації* : матеріали V науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, м. Харків, 18 травня 2023 р. / Національний фармацевтичний університет, 2023. С. 158 – 160.
7. Методи дослідження стану кишечника та кісток у лабораторних щурів. Довідник / О. А. Макаренко, Л. М. Хромагіна, І. В. Ходаков, Г. В. Майкова, Л. М. Мудрик, В. В. Кіка, Т. В. Могілевська – Одеса: видавець С.Л. Назарчук, 2022. – 81 с.



## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	20
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ 1. ПРОБЛЕМА ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ (огляд літератури) .....	28
1.1 Поширеність, метаболізм алкоголю та його вплив на шлунково- кишковий тракт .....	28
1.1.1 Статистичні дані про поширеність зловживання алкоголем .....	28
1.1.2 Метаболізм алкоголю.....	29
1.1.3 Вплив алкогольної інтоксикації на шлунково-кишковий тракт .....	33
1.2 Вплив вживання алкоголю на кісткову тканину .....	35
1.2.1 Фактори регуляції ремоделювання кісток .....	35
1.2.2 Вплив алкоголю на кісткову тканину .....	37
1.3 Профілактика алкогольної інтоксикації.....	40
1.3.1 Алкоголь і антиоксиданти .....	40
1.3.2 Роль мінералів та вітамінів у профілактиці розвитку порушень в кістковій тканині при хронічній алкогольній інтоксикації .....	44
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ, ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	48
2.1 Умови проведення експерименту.....	48
2.2 Склад профілактичних мінерально-вітамінних комплексів .....	51
2.3 Морфометричні методи дослідження .....	52
2.4 Біохімічні методи дослідження кісткової тканини.....	54
2.5 Біохімічні методи дослідження слизових оболонок травного тракту, печінки та сироватки крові .....	56
2.6 Методика дослідження всмоктування кальцію в тонкій кишці.....	59
2.7 Статистична обробка даних .....	60
РОЗДІЛ 3. ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НА КІСТКОВУ СИСТЕМУ ТА ШЛУНКОВО-КИШКОВИЙ ТРАКТ САМЦІВ ТА САМОК ЩУРІВ .....	61
3.1 Вплив хронічної алкогольної інтоксикації на стан кісткової тканини щурів .....	61
3.1.1 Ступінь атрофії альвеолярного відростку.....	61

3.1.2	Розвиток карієсу зубів при хронічній алкогольній інтоксикації .....	63
3.1.3	Щільність та вміст органічного/мінерального компонентів у стегнових кістках та поперекових хребцях .....	64
3.1.4	Біохімічні дослідження щелеп щурів при вживанні алкоголю .....	66
3.2	Вплив хронічної алкогольної інтоксикації на показники шлунково-кишкового тракту .....	71
3.2.1	Дослідження виведення, засвоєння та всмоктування кальцію у щурів при хронічній алкогольній інтоксикації .....	71
3.2.2	Дослідження активності лізоциму та уреазу в слизових оболонках ШКТ .....	74
3.2.3	Визначення активності еластази та кислотої фосфатази в ШКТ, печінці та сироватці щурів при вживанні алкоголю .....	78
3.2.4	Визначення активності каталази та концентрації МДА в ШКТ, печінці та сироватці щурів при вживанні алкоголю .....	82
3.3	Вплив хронічної алкогольної інтоксикації на стан антиоксидантно-прооксидантної системи головного мозку щурів .....	87
<b>РОЗДІЛ 4. ВИЗНАЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОФІЛАКТИКИ ПОРУШЕНЬ В КІСТКОВІЙ ТА ТРАВНІЙ СИСТЕМАХ ЩУРІВ ПРИ ХРОНІЧНІЙ АЛКОГОЛЬНІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ .....</b>		<b>90</b>
4.1	Дослідження стану кісткової тканини самок щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією на тлі використання комплексів корекції .....	90
4.1.1	Атрофія альвеолярного відростку щурів .....	90
4.1.2	Щільність та вміст мінерального та органічного компонентів в стегнових кістках та поперекових хребцях самиць щурів .....	91
4.1.3	Аналіз сироватки крові щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією після використання комплексів корекції .....	94
4.1.4	Показники ремоделювання та стан антиоксидантно-прооксидантної системи стегнових кістках щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією при використанні комплексів корекції .....	99
4.1.5	Показники ремоделювання кісткової тканини щелеп щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією на тлі використання комплексів корекції .....	104
4.2	Стан слизових оболонок травного тракту щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією на тлі використання комплексів корекції .....	107
<b>РОЗДІЛ 5. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ ДАНИХ .....</b>		<b>119</b>
<b>ВИСНОВКИ .....</b>		<b>138</b>

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	141
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ .....	168
ДОДАТОК А .....	169

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- АДГ – алкогольдегідрогеназа  
 АЛДГ – ацетальдегіддегідрогенази  
 АФО – активні форми кисигену  
 КМСК – кісткові мезенхімальні стовбурові клітини  
 МВК – мінерально-вітамінний комплекс  
 МДА – малоновий діальдегід  
 МЩКТ – мінеральна щільність кісткової тканини  
 ПТГ – паратиреоїдний гормон  
 СОД – супероксиддисмутаза  
 ШКТ – шлунково-кишковий тракт  
 АКТ – protein kinase B (протеїнкіназа B)  
 BMP – bone morphogenetic protein (кісткові морфогенетичні білки)  
 CYP2E1 – цитохром p450  
 DKK1 – dickkopf-related protein 1 (споріднений Діккопфу білок 1)  
 ERK – extracellular signal-regulated kinases (позаклітинна сигналрегульована кіназа)  
 FGF – fibroblast growth factor (фактор росту фібробластів)  
 FOXF2 - Forkhead box F2  
 HO-1 – heme oxygenase-1 (гемоксигеназа-1)  
 IGF-1 – Insulin like growth factor 1 (інсуліноподібний фактор росту-1)  
 JNK – c-Jun N-terminal kinases (c-Jun N-термінальна кіназа)  
 LPS – lipopolysaccharides (ліпополісахариди)  
 MAPK – mitogen-activated protein kinases (мітоген-активована протеїнкіназа 1)  
 NF-κB – nuclear factor-каппа B (ядерний фактор каппа-B)  
 NRF2 – nuclear factor erythroid 2-related factor (еритроїдний фактор 2)  
 OPG – osteoprotegerin (остеопротегерин)  
 PI3K – phosphoinositide 3-kinases (фосфоінозитид-3-кіназа)  
 PRAR-γ – peroxisome proliferator-activated receptors (рецептора-γ, що активується проліфератором пероксисом)  
 RANK – receptor activator for nuclear factor κB (рецептор-активатор ядерного фактору каппа-B)  
 RANKL – ліганд RANK  
 TGF β – transforming growth factor beta 1 (трансформуючий фактор росту β)  
 TLR4 – Toll like receptor 4 (Toll-подібний рецептор)  
 TNF-α – tumor necrosis factor (фактор некрозу пухлин-α)  
 WNT – signaling pathways (сигнальний шлях Wnt)

## ВСТУП

**Актуальність роботи.** Зловживання алкоголем є поширеною соціальною проблемою для багатьох країн, у тому числі й для України [115, 128]. У звіті «Global status report on alcohol and health 2018» вказано, що у світі регулярно вживають алкоголь близько 2,3 мільярда людей [105]. Опитування ESPAD («Європейське опитування учнів щодо вживання алкоголю та інших наркотичних речовин») 2019 року в Україні демонструють, що 85,7 % опитаних підлітків має досвід вживання алкоголю [10]. Міністерство охорони здоров'я України та Всесвітня організація охорони здоров'я ставлять нашу країну у п'ятірцю «лідерів» за кількістю вживаного алкоголю на людину. Використання алкогольвмісних речовин в Україні за різними оцінками досягає від 13,9 до 21 літра етанолу на людину за рік [150, 217]. У світі частка летальних випадків від етанольного ураження органів становить 2,5 млн. смертей щорічно, тобто 4 % від усієї смертності [10]. За прогнозами глобальне споживання алкоголю на душу населення у світі досягне 7-6 л до 2030 року [104].

Випитий алкоголь швидко всмоктується у травному тракті. Понад 90 % алкоголю після всмоктування транспортується до печінки через ворітну вену. У печінці алкоголь метаболізується окислювальним і неокислювальним шляхами [78, 140, 160, 214]. В печінці метаболізм етанолу може проходити за допомогою трьох ферментних шляхів: алкогольдегідрогенази (АДГ), ізоферменти цитохрому р450 (СYP2E1) і каталази. В результаті ферментативної діяльності СYP2E1 можуть утворюватися активні форми кисню (АФО), включаючи гідроксиетил, супероксидний аніон і гідроксильні радикали, які підвищують ризик пошкодження тканин.

Хоча низькі рівні АФО відіграють життєво важливу роль як вторинні передавачі сигналів та активатори генів, постійне накопичення незнешкоджених вільних радикалів призводить до широкого спектру

окислювальних ушкоджень майже всіх типів основних макромолекул, таких як ДНК, РНК, білки та ліпіди [202].

Причинами виникнення оксидативного стресу при вживанні алкоголю можуть бути збільшення швидкості утворення АФО, дефіцит антиоксидантів та інактивація ферментів антиоксидантної системи [51, 76]. Ацетальдегід, який є основним і високоактивним метаболітом етанолу, дуже токсичним продуктом і може додатково ініціювати генерацію АФО [204]. Оскільки метаболізм етанолу та його метаболітів тісно пов'язаний з генерацією АФО і розвитком оксидативного стресу, то актуальним напрямом в галузі медико-біологічних досліджень є пошук нових ефективних лікувально-профілактичних засобів, які здатні коригувати розвиток патологічних процесів за умов алкогольної інтоксикації, зокрема у кістковій тканині, шляхом блокування утворення вільних радикалів кисню.

З соціальної точки зору хронічний алкоголізм є проблемою медичною (психіатричною, терапевтичною). Однак, на сьогодні немає достатньо інформації стосовно метаболічних порушень, які є головною ланкою розвитку остеодистрофії при алкоголізмі, що важливо для створення патогенетичної профілактики та лікування наслідків вживання алкоголю. Тому існує проблема не тільки розробки схем для ефективного лікування алкогольної інтоксикації, а і оцінювання його впливу на органи й системи.

Складність досліджень за умов хронічної алкоголізації полягає в одночасному пошкодженні різних органів і тканин, тому метаболічні наслідки впливу етанолу і фармакологічну корекцію порушень доцільно починати опрацьовувати з експериментального рівня. Моделювання хронічної алкогольної інтоксикації на тваринах може допомогти у розумінні впливу алкоголю на гомеостаз кісткової тканини.

Одним із нових і недостатньо відомих напрямів у з'ясуванні наслідків алкогольної інтоксикації є дослідження впливу алкоголю на функціональний стан кісткової системи, а саме на процеси резорбції і остеогенезу. Вплив алкоголю на кісткову систему залежить від багатьох факторів (вік, тривалість

інтоксикації, концентрація вживаного етанолу тощо). Є суперечливі дані щодо впливу алкоголю на масу та мінеральну щільність кісток, але можна стверджувати про негативну дію алкоголю на гомеостаз кісткової тканини. При вживанні алкоголю знижується рівень кальцію в сироватці крові [53, 182], порушується метаболізм вітаміну D [53, 129], збільшується рівень маркерів резорбції [129, 211]. Вживання алкоголю впливає на сигнальні шляхи Wnt/ $\beta$ -катенін та RANK-RANKL-OPG, які є важливими сигнальними шляхами для гомеостазу кісткової системи [132].

Літературні відомості стосовно ремоделювання у кістковій тканині за умов хронічної алкогольної інтоксикації є неоднозначними, досить часто – суперечливими. Також важливим є питання екстраполяції результатів, отриманих в доклінічному дослідженні експерименті, на людину.

**Зв'язок з науковими програмами, планами, темами.** Дослідження дисертаційної роботи виконані в рамках наукової теми кафедри фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти Одеського національного університету імені І. І. Мечникова «Дослідження лікувально-профілактичних властивостей раковин молюсків Чорного моря», № держ. реєстрації 0119U000499 та ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії НАМН України» «Експериментальне дослідження змін тканин ротової порожнини у щурів під впливом ксенобіотиків та гіпоксії» № держ. реєстрації 0120U105477. Здобувач є співвиконавцем окремих фрагментів тем.

**Мета та завдання дослідження.** Дослідження стану кісткової тканини у лабораторних щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією, а також патогенетичне обґрунтування складу профілактичних комплексів з ціллю запобігання порушень при хронічній алкогольній інтоксикації.

Для досягнення поставленої мети були сформульовані наступні задачі:

1. Визначити особливості стану кісток за морфометричними параметрами, показниками антиоксидантної системи, маркерами ремоделювання кісткової тканини самців та самок щурів при хронічній алкогольній інтоксикації.

2. Дослідити стан слизових оболонок травного тракту у самок та самців щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією за показниками запалення, антиоксидантного захисту, ступеня дисбіозу, а також всмоктування та засвоєння кальцію.
3. Визначити показники антиоксидантно-прооксидантної системи у головному мозку щурів в умовах хронічної алкогольної інтоксикації.
4. На підставі отриманих результатів запропонувати склад комплексів корекції порушень у кістковій тканині внаслідок хронічної алкогольної інтоксикації за допомогою мінералів та вітамінів.
5. Дослідити ефективність запропонованих комплексів за здатністю попереджувати розвиток оксидативного стресу, порушень ремоделювання в кістковій тканині щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією.
6. Оцінити профілактичну дію комплексів корекції на стан слизових оболонок травного тракту і печінки у щурів з хронічної алкогольною інтоксикацією за показниками запалення та дисбіозу.

*Об'єкт дослідження:* порушення у кістковій і травній системах щурів на тлі хронічної алкогольної інтоксикації.

*Предмет дослідження:* порівняльна оцінка ефективності комплексів для профілактики порушень, обумовлених хронічною алкогольною інтоксикацією.

Методи дослідження: морфометричні, біохімічні, статистичні.

### **Наукова новизна отриманих результатів.**

Проведені дослідження на лабораторних щурах дозволили поглибити знання про патогенез порушень процесів ремоделювання у кістковій тканині при хронічній алкогольній інтоксикації.

Доведено, що головною ланкою у патогенезі порушень в кістковій системі, викликаних хронічною алкоголізацією, є розвиток оксидативного стресу, що робить внесок у структурно-функціональні зміни кісток при алкоголізмі.



Біохімічні дослідження альвеолярного відростку щелеп щурів встановили різноспрямовані процеси у кісткової тканині алкоголізованих самок та самців. У самців хронічна алкогольна інтоксикація призвела до більшої активації маркерів резорбції та суттєвого зниження остеогенезу. Моделювання алкогольній інтоксикації у самок викликало більш інтенсивний оксидативний стрес і порушення морфометричних показників кісток, що дозволяє припустити вплив естрогенів на ремоделювання в кістковій тканині в умовах вживання алкоголю.

Вперше показано, що пригнічення антиоксидантної системи у травному тракті алкоголізованих щурів викликає зниження антимікробного захисту, посилення мікробної контамінації, розвиток дисбіозу та запалення у слизових оболонках шлунково-кишкового тракту.

Доведено зниження всмоктування кальцію у слизовій оболонці тонкої кишки щурів, що може бути наслідком запалення та дисбіозу у травному тракті при хронічній алкогольній інтоксикації.

Дослідження засвоєння кальцію у алкоголізованих щурів виявили різноспрямовані процеси у самок та самців. У самців встановлено зниження екскреції кальцію з організму, як компенсаторна реакція на гальмування його всмоктування у тонкій кишці. У самок, навпаки, на тлі зменшення всмоктування у тонкій кишці цей елемент значніше ніж у самців виводився з сечею і калом.

На підставі власних результатів досліджень та даних літератури щодо розвитку оксидативного стресу у кістковій і травній системах в умовах хронічного введення алкоголю для попередження розвитку порушень було запропоновано застосування комплексів, які містять макро- та мікроелементи, кверцетин, вітаміни, цитрат кальцію з раковин устриць або сорбент.

Експериментально доведено профілактичну ефективність запропонованих комплексів корекції при порушеннях, викликаних алкогольною інтоксикацією, що призвело до нормалізації показників

антиоксидантно-прооксидантного стану, резорбції і остеогенезу у кістковій тканині, а також маркерів запалення та дисбіозу у слизових оболонках травного тракту.

### **Практичне значення отриманих результатів.**

Встановлення головної ролі оксидативного стресу у кістковій та травній системах, що викликано хронічною алкогольною інтоксикацією, дозволило обґрунтувати склад мінерально-вітамінних комплексів корекції з антиоксидантними і сорбційними властивостями.

Застосування комплексів корекції дозволило попередити оксидативні, резорбційні, запальні та дисбіотичні порушення у травній та кістковій системах щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією.

Отримані результати експериментального дослідження дають підставу рекомендувати використання запропонованих комплексів у клінічній практиці особам, які не можуть відмовитися від регулярного прийому алкоголю для запобігання розвитку оксидативного стресу та порушень у кістковій та травній системах.

**Особистий внесок здобувача.** Автором було виконано пошук та аналіз літератури за обраною темою. Разом з науковим керівником визначено мета та завдання дослідження, сформульовано висновки та практичні рекомендації. Дисертантом було самостійно проведено моделювання хронічної алкогольної інтоксикації на лабораторних щурах, введення препаратів корекції, дослідження засвоєння та всмоктування кальцію в тонкій кишці, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, в соавторстві написані статті, дисертаційна робота. Автором самостійно проведено біохімічні та морфометричні дослідження. За допомоги у проведенні морфометричних та біохімічних аналізів висловлюємо велику подяку співробітникам лабораторії біохімії ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицьової хірургії НАМН України» к.б.н. Хромагіній Л. М. та н.с. Ходакову І. В.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати дисертації були оприлюднені та обговорені на науково-практичній конференції з міжнародною участю «42 Наукові читання імені О.О. Богомольця» (Київ, 2021); міжнародній науково-практичній інтернет-конференції Одеського державного аграрного університету (Одеса, 2021); IV науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю (Харків, 2021); XXI читаннях ім. В. В. Підвисоцького (Одеса, 2022); modern research in world science. Proceedings of the 7th International scientific and practical conference, SPC “Sci-conf.com.ua” (Lviv, 2022); V науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (Харків, 2023).

**Публікації.** Матеріали дисертації опубліковані в 10 наукових працях, з них 5 статей в наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 5 тез доповідей в матеріалах наукових конференцій.

**Обсяг та структура дисертації.** Дисертація написана українською мовою на 172 сторінках друкованого тексту і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 2-х розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та додатку. Робота ілюстрована 27 таблицями та 9 рисунками. Список використаних джерел включає 219 видань (з них англомовних 182).

## РОЗДІЛ 1

### ПРОБЛЕМА ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

#### (огляд літератури)

#### **1.1 Поширеність, метаболізм алкоголю та його вплив на шлунково-кишковий тракт**

##### **1.1.1 Статистичні дані про поширеність зловживання алкоголем**

Надмірне споживання алкоголю є типовою соціальною проблемою для багатьох країн, у тому числі й для України [115, 126, 128]. Розраховуючи частку смертності від вживання алкоголем, в 2008 році в Україні становила 3,52 %, а у 2018 році - 1,83 % [142].

У 2019 році загальне споживання становило 5,5 літрів чистого спирту на душу населення у світі. Тенденції були неоднаковими в різних регіонах. В Європейському регіоні відмічався найвищий рівень вживання: 14,9 літрів на душу населення у чоловіків і 4,0 літрів на душу населення у жінок. Загалом у світі в 2019 році чоловіки споживали майже в чотири рази більше чистого спирту на душу населення, ніж жінки, а саме: 8,7 літра проти 2,2 літра [217]. Загальне споживання алкоголю по країнах ЄС у 2020 році становило 9,8 літра чистого алкоголю на дорослого, що є незначним зниженням порівняно з 10,4 літра у 2010 році [150].

Результати опитування 2019 року в Україні ESPAD («Європейське опитування учнів щодо вживання алкоголю та інших наркотичних речовин») демонструють, що переважна більшість (85,7 %) опитаних підлітків має досвід вживання алкоголю (82,7 % серед хлопців та 88,4 % серед дівчат). Майже половина (46,3 %) респондентів мають «значний» досвід вживання алкоголю [10]. В 2019 році в країнах ЄС 37 % підлітків у віці 15-16 років повідомили, що епізодично вживали алкоголь принаймні один раз за останні 30 днів [150].

За даними Держстату у 2020 році в Україні було зафіксовано 9 709 випадків смертей, пов'язаних із вживанням алкоголю, та отруєнь ним [10].

За даними «Global status report on alcohol and health 2018» регулярно вживають алкоголь близько 2,3 мільярда людей [105]. За прогнозами глобальне споживання алкоголю на душу населення досягне 7-6 л до 2030 року [104].

### **1.1.2 Метаболізм алкоголю**

Вплив алкоголю на тканини залежить від його концентрації в крові та тривалості дії. Концентрація алкоголю в крові залежить від того, як швидко алкоголь всмоктується, розподіляється, метаболізується та виводиться з організму [76]. Розуміння балансу виведення алкоголю та накопичення потенційно шкідливих побічних продуктів метаболізму, а також того, як метаболізм алкоголю впливає на інші метаболічні шляхи, є важливим для оцінки як короткострокових, так і довгострокових наслідків дії на організм вживання алкоголю.

Енергетична цінність етанолу 7,1 ккал/г [67]. Тому вживання алкоголю впливає на загальну добову потребу людини в енергії.

Перорально вживаний алкоголь швидко всмоктується у травному тракті. Етанол вільно проходить через біологічні, ефективно всмоктується по всій довжині шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Етанол вільно транспортується плазмою без участі білкового транспортера. Таким чином, тканини і клітини всього організму майже однаково піддаються впливу етанолу, а швидкість його метаболізму визначається наявністю ферментів (алкогольдегідрогенази, ацетальдегіддегідрогенази) [170, 179, 213].

Близько 2 % спожитої дози етанолу всмоктується в ротовій порожнині і стравоході, 22 % – в шлунку і 75% – в тонкому кишечнику [140].

Виведення етанолу, виміряне за зниженням його рівня в крові, відбувається з постійною швидкістю близько 0,016 г/дл/год для чоловіків і 0,018 г/дл/год для жінок. У перерахунку на кілокалорії для чоловіка вагою 80 кг це витрата 73 ккал/год, а для жінки вагою 60 кг – 55 ккал/год [94].

Лише близько 5-10 % абсорбованої дози етанолу виводиться у неметаболізованій формі з сечею (2-4 %), легені (2-4 %) і випаровування зі шкіри (1-2 %).

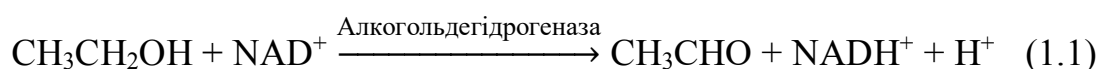
Понад 90 % випитого алкоголю після всмоктування транспортується до печінки через ворітну вену. У печінці алкоголь метаболізується окислювальним і неокислювальним шляхами [78, 140, 160, 214].

Незважаючи на те, що метаболізм етанолу відбувається переважно в печінці під дією алкогольдегідрогенази (АДГ), яка перетворює алкоголь у ацетальдегід, деякі дослідження свідчать про збільшення рівня ацетальдегіду в слині незалежно від метаболізму в печінці. Завдяки активності мікроорганізмів порожнини рота (наприклад, *Streptococcus mitis*, *S. salivarius*, *S. mutans*, *Neisseria mucosa*, *N. sicca*), які мають АДГ і можуть продукувати ацетальдегід [41, 137, 149].

Високі концентрації ацетальдегіду в слині (50-100 мкМ) можуть бути виявлені після вживання 0,5 г етанолу/кг маси тіла, тобто після вживання приблизно половини пляшки вина [185].

Окислювальний шлях є основним шляхом метаболізму алкоголю. В печінці метаболізм етанолу може проходити за допомогою трьох ферментних шляхів: АДГ, цитохрому р450 (СУР2Е1) і каталази. АДГ вважається найважливішим ферментом в метаболізмі етанолу, а значення дії СУР2Е1 і каталази вважаються другорядними альтернативними шляхами метаболізму алкоголю [76, 214].

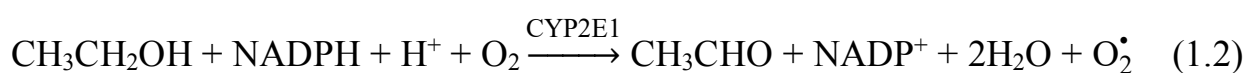
АДГ – це цинкзалежний димерний фермент, який розташований переважно в цитозолі гепатоцитів або інших клітин та перетворює спирти на альдегіди за формулою (1.1)



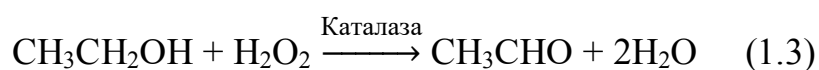
Утворений в результаті реакції NADH повторно окислюється в електронно-транспортному ланцюзі і є джерелом АТФ. Повторне окислення

NADH є лімітуючим процесом метаболізму етанолу, і висока активність електронно-транспортного ланцюгу має велике значення для виникнення симптомів гострого отруєння [78].

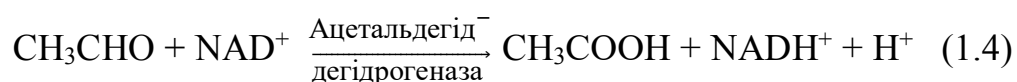
CYP2E1, локалізований на мембрані ендоплазматичного ретикулуму клітини, активується при хронічному вживанні алкоголю. В результаті ферментативної діяльності CYP2E1 утворюються ацетальдегід та активні форми кисню (АФО), включаючи гідроксиетил, супероксидний аніон і гідроксильні радикали, які підвищують ризик пошкодження тканин [108, 190] (1.2).



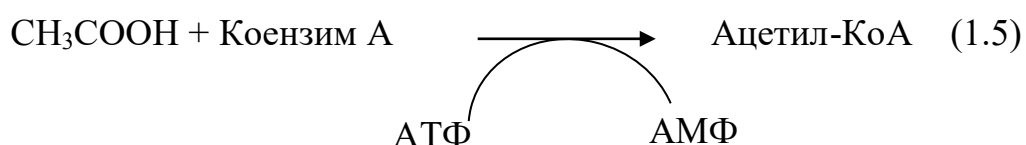
Каталаза, розташована в пероксисомах, здатна окислювати етанол *in vitro* до ацетальдегіду у присутності системи, що генерує пероксид водню ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), наприклад, ферментного комплексу NADPH-оксидази або ферменту ксантинооксидази [64] (1.3).



Ацетальдегід є хімічно активним і може неферментативно реагувати з іншими клітинними компонентами з утворенням продуктів, які є метаболічно активними та/або цитотоксичними. Концентрація ацетальдегіду підтримується на низькому рівні завдяки активності ферменту ацетальдегіддегідрогенази (АЛДГ), яка локалізована в мітохондріальному матриксі [214]. Продуктом реакції є ацетат (1.4).



Ацетат, основний продукт окислення етанолу, відіграє важливу роль як в енергетичному обміні, так і в регуляції метаболізму. Ацетат перетворюється на ацетил-КоА за допомогою АТФ-залежної ацетил-КоА-синтетази (1.5). У мітохондріях ацетил-КоА в першу чергу вступає в цикл лимонної кислоти і окислюється, але на клітинному рівні також використовується для ацетилювання білків, змінюючи активність окремих ферментів і, через ацетилювання гістонів, експресію генів [78, 160, 214].



Неокислювальний шлях становить незначну частину метаболізму алкоголю в кількісному вираженні, в результаті якого утворюються етилові ефіри жирних кислот, фосфатидилетанол, етилсульфат та етилглюкуронід [111, 145]. Наприклад, ферментативна етерифікація алкоголю жирними кислотами утворює етиловий ефір жирних кислот, а фосфоліпаза D каталізує трансфосфатидилювання фосфатидилхоліну етанолом з утворенням фосфатидилетанолу [78, 160].

Етилсульфат та етилглюкуронід – це стабільні, нелеткі та водорозчинні метаболіти, які утворюються шляхом прямого приєднання етанолу до глюкуронової кислоти за допомогою уридиндифосфоглюкуронозилтрансферази та до сульфату за допомогою цитозольних сульфотрансфераз, відповідно [111]. Як глюкуронізація, так і сульфатування етанолу можливі в легенях і печінці, а середній час появи етилглюкуроніду та етилсульфату становить приблизно 20 годин. У незначних кількостях етилглюкуронід накопичується у волоссі і наразі є одним з найнадійніших біомаркерів тривалого впливу алкоголю [78, 124]. Вказані ферменти мають низьку спорідненість до етанолу, що обмежує внесок цього альтернативного шляху в загальний метаболізм алкоголю.



### 1.1.3 Вплив алкогольної інтоксикації на шлунково-кишковий тракт

Для того, щоб етанол потрапив в кров через мембрани епітеліоцитів шляхом простої дифузії, молекулі етанолу потрібно спочатку пройти через шари кишкового бар'єру, що може призвести до зміни в різних відділах шлунково-кишкового тракту (ШКТ).

Етанол може метаболізуватись в епітеліоцитах кишечника, при чому активність АДГ в тонкій та товстій кишці вища за активність АЛДГ. Наявність CYP2E1 та його підвищений рівень у ШКТ після вживання алкоголю може призводить до накопичення ацетальдегіду [57, 95].

Етанол може зменшувати гідрофобність шару слизу, зокрема, шляхом розчинення вільних жирних кислот, які функціонують як абсорбційний бар'єр, таким чином, ймовірно, призводячи до дисфункції проникності кишечника [57, 81].

При вживанні алкоголю збільшується вміст гексози та сілової кислоти, але знижується рівень фукози в муцинах, що впливає на здатність бактерій зв'язуватись з шаром слизу та може перешкоджати прилипанню слизу до кишкового бар'єру [57, 106, 207].

Завдяки своїй здатності виробляти ендотоксин (наприклад, ліпополісахариди низької щільності (LPS), пептидоглікани), *Proteobacteria*, такі як представники роду *Escherichia*, розглядаються як потенційні ініціатори дисфункції кишкового бар'єру під час вживання алкоголю [40, 57]. Рівень LPS підвищується в портальній та системній циркуляції після вживання алкоголю [97].

Етанол та ацетальдегід впливають на щільні контакти епітеліальних клітин стінки кишечника дозозалежним чином. Етанол у концентрації до 150 мМ не впливає на цілісність або бар'єрну функцію щільних контактів [63]. При більших концентраціях етанол та ацетальдегід впливають на білки щільних контактів шляхом фосфорилування оклюдину, E-кадгерину і  $\beta$ -катеніну, що перешкоджає зв'язуванню цих білків з актиновими

філаментами [57, 90, 167]. Дослідження на моношарі клітин Caco-2 показало, що вживання алкоголю збільшує проникність моношару шляхом регуляції ядерного фактору каппа-В (NF- $\kappa$ B), myosin light-chain kinase, позаклітинної сигналрегульованої кінази (ERK1 і ERK2) [167]. Також важливу роль грає оксидативний стрес та Src-кіназа [63].

Вживання алкоголю призводить до зниження експресії в кишечнику білків Reg3 $\beta$  і Reg3 $\gamma$ , що призводить до надмірного росту кишкових бактерій як у доклінічних дослідженнях, так і у пацієнтів, які зловживають алкоголем [136]. Більшість бактерій мікробіому кишечника належить до двох філ – *Bacteroidetes* та *Firmicutes*, більшість решти відноситься до *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria* і *Verrucomicrobia* [57, 131]. Прийом етанолу збільшує кількість *Firmicutes* та знижує *Bacteroidetes*, однак ці зміни можуть бути не специфічними для алкоголізму [50, 79, 136].

При вживанні алкоголю в тонкій кишці збільшується кількість *Prevotella* [122]. В товстій кишці збільшується кількість *Proteobacteria*, можливо із-за їх резистентності до АФО [57]. Слід зауважити, що існують значні відмінності у впливах різних доз алкоголю на склад мікробіоти кишечника [107].

Алкоголь та його метаболіти можуть призводити до розвитку запалення в ШКТ [39, 173], що впливає на засвоєння ряду макро- та мікроелементів [194].

Порушення цілісності кишкового бар'єру призводить до потрапляння LPS в кровотік. Важливу роль в імунній відповіді на LPS є Toll-подібний рецептор (TLR4) [40].

Вживання алкоголю значно підвищує експресію прозапальних цитокінів, таких як фактор некрозу пухлин  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), моноцитарний хемоатрактант-1 (MCP1), білок із групи ядерних негістонових білків HMG амфотерин (Hmgb1), інтерлейкін-17 та інтерлейкін-23 в кишечнику [173].

Дослідження *in vivo* та *in vitro* свідчать про те, що запалення, опосередковане тучними клітинами, може бути одним із механізмів, за допомогою якого алкоголь сприяє канцерогенезу [97].

## **1.2 Вплив вживання алкоголю на кісткову тканину**

### **1.2.1 Фактори регуляції ремоделювання кісток**

Хімічний склад кісткової тканини: 60-70 % маси кістки – це мінеральні солі (гранули фосфату кальцію, який знаходиться в аморфному стані або кристали гідроксиапатиту). Вміст води в кістках дуже низький, від 6 до 20 %. Інші 10-20 % кісткової маси – органічні компоненти клітин та міжклітинні речовини [112].

Органічна частина кісткової тканини грає важливу роль в мінералізації кістки та в мінеральному обміні. До органічної частки кістки входять колаген (в основному, 1 типу) та неколагенові макромолекулярні сполуки (фосфопротеїни, протеоглікани, глікопротеїни, фермент лужна фосфатаза, білки остеоонектин, остеокальцин тощо).

До клітин кісткової системи відносять наступні три типи клітин: остеобласти, остеоцити та остеокласти. Остеобласти та остеоцити – послідовні стадії розвитку клітин відповідного дифферона – дифферона механоцитів: преостеобласт – остеобласт – остеоцит. Остеокласти утворюються із моноцитів крові та є однією із спеціалізованих форм макрофагів.

Як регулятор ремоделювання скелету, остеоцити секретують склеростин, негативний регулятор остеобластичного кісткоутворення, та ліганду ядерного транскрипційного фактору каппа-В (RANKL), активатор утворення та функції остеокластів [176, 198]. Остеоцити взаємодіють з остеокластами та остеобластами за допомогою різних сигнальних молекул, які включають вісь RANKL/остеопротегерин (OPG) та вісь Sost/Dkk1/Wnt [176, 196].

Взаємодія між остеобластами та остеокластами має важливе значення для ремоделювання кісткової тканини. Остеобласти та остеокласти мають прямі контакти через взаємодію між ефрінами (EFNB2-EPHB4), апоптозним антигеном 1 (Fas cell surface death receptor (FAS)-FASL) та нейроплін-1/семафорин-3А (NRP1-SEMA3A) для регуляції проліферації, диференціації клітин. В процесі резорбції кістки остеокластами вивільнюються трансформуючий фактор росту бета (TGF- $\beta$ ) та інсуліноподібний фактор росту 1 (IGF-1) з кісткового матриксу для індукції формування кісткової тканини остеобластами [120]. Остеобласти секретують макрофагальний колонієстимулюючий фактор (M-CSF), RANKL, WNT5A, які сприяють утворенню та розвитку остеокластів, а також OPG та WNT16, які пригнічують активність остеокластів [133]. І навпаки, остеокласти секретують сфінгозин-1-фосфат, CTHRC1 (collagen triple helix repeat containing 1) і C3 (complement component c), які сприяють диференціюванню остеобластів, і семафорин4D, який пригнічує диференціювання остеобластів [139, 152, 158].

Ремоделювання кісткової тканини починається, коли різні фактори (мікроперелом, зміна механічного навантаження, що сприймається остеоцитами, IGF1, TNF- $\alpha$ , паратиреоїдний гормон (ПТГ) та інтерлейкін-6 призводять до збільшення експресії RANKL, RANKL (взаємодіє зі своїм рецептором RANK) запускають диференціацію остеокластів (фаза активації) [139, 152]. Остеокласти резорбують кістку (фаза резорбції), що дозволяє вивільнити фактори, які зазвичай зберігаються в кістковому матриксі (кісткові морфогенетичні білки (BMP), фактори росту фібробластів (FGF) та TGF  $\beta$ ), що активує остеобласти [158, 195]. Остеобласти виробляють новий кістковий матрикс і сприяють його мінералізації (фаза формування), таким чином завершуючи процес ремоделювання кісткової тканини [59].

Ремоделювання кісткової тканини є складним процесом, який регулюється механічними факторами (навантаження, фізичні вправи), а також низкою ендокринних (ПТГ, гормон росту, естрогени, кальцитріол) та

паракринних сигналів (IGF-I, TGF- $\beta$ , простагландин E2-PG-E2, оксид азоту, інтерлейкін-1, інтерлейкін-6, TNF- $\alpha$ ) [118, 213].

Отже, ремоделювання – це процес постійного оновлення та перебудови кісткової тканини, який необхідний для підтримки здоров'я кісткової тканини та відбувається під впливом різних факторів. В результаті ремоделювання кістки стають більш адаптивними до мінливих умов.

### **1.2.2 Вплив алкоголю на кісткову тканину**

Моделювання хронічної алкогольної інтоксикації на тваринах може допомогти у розумінні конкретної дії алкоголю на ремоделювання кісток. Вплив алкоголю на кісткову тканину багатofакторний.

Хронічне вживання алкоголю призводить до зменшення довжини, маси, міцності кістки [60, 65, 68, 89, 1182]. Знижується також мінеральна щільність кісткової тканини (МЩКТ) [58, 182, 184, 211]. Однак не всі дослідження вказують на достовірне зниження морфометричних параметрів кісток при споживанні алкоголю, відмічаючи інші порушення гомеостазу кісткової тканини [14, 52, 100, 205]. Так, деякі дослідження, навпаки, вказують на високу МЩКТ стегнових кісток при використанні низьких доз алкоголю [175]. Ці дані свідчать про те, що патологічний вплив алкоголю на кістки оказує вплив на інші показники. Навіть при відсутності змін в МЩКТ при вживанні алкоголю, змінюються інші важливі параметри кістки, наприклад зменшується вміст колагену [100], а також знижується вміст кальцію та магнію в кістках при алкоголізмі [211]. Такі порушення у складі кісткової тканини вказують на суттєві порушення кісток, що індуковано регулярним вживанням алкоголю.

При хронічній алкогольній інтоксикації в сироватці крові знижується рівень кальцію [53, 182], порушується метаболізм вітаміну D [53, 129], знижується експресія генів остеокальцину [68] та рівень кальцитоніну [53].

При вживанні алкоголю знижується концентрація лужної фосфатази в плазмі крові молодих тварин [68]. Так як більша частина сироваткової лужної

фосфатази в період росту має скелетне походження, її зниження може відображати зниження активності остеобластів. Активність лужної фосфатази зменшується і в дорослих тварин [182].

Вживання алкоголю впливає на рівень гормонів, діючи на гіпоталамо-гіпофізарно-надниркову вісь, гіпоталамо-гіпофізарно-гонадну вісь та гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдну вісь [160]. При алкоголізмі порушується регуляція секреції гормону росту [44]. Рівні експресії рецептору ПТГ в кістковій тканині були знижені більш ніж на 40 % як після гострого, так і після хронічного вживання алкоголю [58]. Алкоголь впливає на рівень естрогену в крові, але поки що не зрозуміло, яким чином діє естроген на метаболізм кісткової тканини при регулярному вживанні алкоголю [44, 86].

При алкогольній інтоксикації в сироватці крові збільшується рівень маркерів резорбції кістки – дезоксипіридиноліну [211] та тартрат-резистентної кислої фосфатази [129]. Підвищується рівень в кістковій тканині інтерлейкіна-6 і онкостатина М, запальних цитокінів, які стимулюють резорбцію кісток [58].

При вживанні алкоголю знижується експресія генів BMP, а саме рівні BMP2, -4 і -5 та рецептора BMP2 [58].

Алкоголь інгібує проліферацію кісткових мезенхімальних стовбурових клітин (КМСК), сповільнює їхнє остеогенне диференціювання [67]. Шлях R13K/AKT є центральним регулятором остеогенезу КМСК. Алкоголь помітно знижує рівні як R13K (фосфоінозитид 3-кіназа), так і фосфорильованого AKT (сімейство протеїнкіназ B) [74].

Вживання етанолу знижує експресію miR-19a-3p, що спричиняє підвищення рівня білку FOXF2 (forkhead box F2). Як наслідок, формування кісткової тканини порушуються і сповільнюється загоєння переломів кісток. Вісь miR-19a-3p/FOXF2 відіграє ключову роль у загоєнні переломів, спричинених вживанням алкоголю, і може бути потенційною терапевтичною мішенню [41, 45]. Гостра алкогольна інтоксикація призводить до більш як двократного зниження рівня активної форми  $\beta$ -катеніну в місці перелому,

також знижується рівень ко-рецептору Wnt Lrp6 (білки, споріднені з рецепторами до ліпопротеїнів низької щільності) [46, 99, 101, 127].

Wnt/ $\beta$ -катенін, RANKL/RANK та Jagged1/Notch1 – це 3 основні шляхи, що регулюються остеобластами та впливають на щільність кісткової маси через регуляцію функцій самих остеобластів та остеокластів [84, 172].

Шлях Wnt/ $\beta$ -катенін важливий для диференціювання остеобластів та синтезу кісткового матриксу. Активація шляху відбувається завдяки зв'язуванню відповідного Wnt з ко-рецепторним комплексом взаємодіючи з Lrp5 або Lrp6.  $\beta$ -катенін накопичується в цитоплазмі і транспортується в ядро, що впливає на транскрипцію генів [66, 127].

Оксидативний стрес при вживанні алкоголю може пригнічувати сигнальний шлях Wnt/ $\beta$ -катенін в кістковій тканині [119, 211], що може бути нормалізовано лікуванням антиоксидантами [102, 127]. При вживанні алкоголю збільшується рівень іРНК склеростину в остеоцитах [58]. Склеростин, як і споріднений Діккопфу білок 1 (Dkk1), є інгібітором Wnt і збільшення його продукції остеоцитами може призвести до зниження рівня остеобластогенезу.

Вплив алкоголю на сигнальний шлях Wnt/ $\beta$ -катенін пов'язаний з впливом на сигнальний шлях RANK-RANKL-OPG, який є важливим сигнальним шляхом для остеокластогенезу. Після зв'язування RANKL з RANK на мембрані преостеокластів активуються численні молекули, включаючи c-Jun N-термінальні кінази (JNK), p38, ERK і NF- $\kappa$ B. Активованій NF- $\kappa$ B транслокується в ядро і взаємодіє з ядерним фактором-1-активованих Т-клітин (NFATc1), запускаючи транскрипцію генів остеокластів [132]. Алкогольна інтоксикація призводить до зниження рівня мРНК OPG, експресія якого регулюється передачею сигналів Wnt/ $\beta$ -катеніну [58].

У пацієнтів алкоголиків з некрозом головки стегнових кісток змінені рівні білків OPG, RANK та RANKL в результаті метилювання відповідних генів [151].

## 1.3 Профілактика алкогольної інтоксикації

### 1.3.1 Алкоголь і антиоксиданти

Хоча низькі рівні АФО відіграють життєво важливу роль як вторинні передавачі сигналів та активатори генів, постійне накопичення незнешкоджених вільних радикалів призводить до широкого спектру окислювальних ушкоджень майже всіх типів основних макромолекул, таких як ДНК, РНК, білки та ліпіди [56, 202]. В нормі людський організм має механізм антиоксидантного захисту для запобігання пошкодженням. Зокрема, ядерний фактор, споріднений з еритроїдним фактором 2 (Nrf2) є ключовим компонентом у регуляції антиоксидантного захисту та детоксикації в клітині. Активований Nrf2 (вільний від Keap1 - Kelch like ECH associated protein 1) переходить у ядро та взаємодіє з елементами антиоксидантної відповіді (ARE), що посилює експресію антиоксидантних ферментів [110]. Nrf2 відіграє важливу захисну роль проти гострого ураження печінки та підшлункової залози алкоголем [147]. Вживання алкоголю призводить до зниження рівня мРНК Nrf2 [80].

Причинами виникнення оксидативного стресу при вживанні алкоголю можуть бути збільшення швидкості утворення АФО, дефіцит антиоксидантів та інактивація ферментів антиоксидантної системи [51, 76]. Метаболізм етанолу CYP2E1 є одним із головних шляхів утворення АФО в гепатоцитах [85]. Ацетальдегід, який є основним і високоактивним метаболітом етанолу, є дуже токсичним продуктом і може додатково ініціювати генерацію АФО [204].

Оксидативний стрес при вживанні алкоголю призводить до індукції окислювального пошкодження, перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), інактивації білків, підвищеної продукції цитокінів, пошкодженню мітохондрій і ДНК, що може призвести до загибелі клітин [202, 205].

Супероксиддисмутаза (СОД) відіграє важливу роль в системі антиоксидантного захисту, перетворюючи супероксидні радикали на



пероксид водню, який розкладається на воду і кисень каталазою або глутатіонпероксидазою [191].

Дослідження активності СОД та каталази при алкогольній інтоксикації показують суперечливі результати (збільшення [22, 154, 186, 202]/зменшення [73, 204]/без зміни активності ферментів [98, 199]), різниця показників може залежати від дози та тривалості вживання алкоголю.

Підвищення активності антиоксидантних ферментів при вживанні алкоголю можна пояснити компенсаторною відповіддю на розвиток оксидативного стресу [199]. Зниження активності СОД при метаболізмі етанолу відбувається шляхом посилення ацетилювання СОД у двох функціонально важливих ділянках лізину K68 і K122, що призводить до зниження активності ферменту [71, 73]. Обидва механізми вказують на розвиток оксидативного стресу.

Активність каталази може не змінюватись через те, що вона може бути залучена в метаболізм етанолу та  $H_2O_2$ , що може мати конкурентний взаємозв'язок, тому алкоголь може не впливати на активність каталази в організмі людини [202]. Активність глутатіонпероксидази знижується через підвищення рівня ацетальдегіду та зниження рівня глутатіону [202].

Малоновий диальдегід (МДА) – це стабільна молекула, яка є кінцевим продуктом деградації поліненасичених жирних кислот. При вживанні алкоголю збільшується концентрація МДА [154].

Для профілактики порушення алкоголем антиоксидантного захисту використовують антиоксидантну терапію [43, 48, 163, 164]. В різних дослідженнях оцінювали ефективність наступних сполук рослинного походження з антиоксидантними властивостями: скутеларин [178], сульфорафан [219], ресвератрол [113], магнолол [135], кавуновий сік [112],  $\alpha$ -токоферол, аскорбінову кислоту,  $\beta$ -каротин, куркумін [77], епігаллокатехін галлат [91], гінсенозиди [103], глутатіон та попередники глутатіону (N-ацетил-L-цистеїн, S-аденозилметионін), лотозин та пуерарин [121], кверцетин, селен, силимарин [218].

Були проведені дослідження по оцінці ефективності антиоксидантів протидіяти негативному впливу алкоголю на печінку. Вживання ресвератролу та сулімарину підвищувало активність СОД в печінці та знижувало концентрацію МДА, що може бути наслідком зменшенням ПОЛ та інгібування експресії NF-κB або активації рецептора-γ, що активується проліфератором пероксисом (PPARγ) [113, 218]. При цьому ресвератрол не вплинув на активність каталази та глутатіонпероксидази [113]. На рівень каталази та глутатіону в печінці та мозку позитивно вплинуло вживання кавунового соку протягом 15 днів перед інтоксикацією етанолом [112].

Використання суміші лимонника китайського (*Schisandra chinensis*) та квітки говенії солодкої (*Hovenia dulcis Thunb*), традиційні засоби в медицині Кореї та Китаю, істотно інгібувало нітрозилування білків і ПОЛ шляхом зниження активності CYP2E1 і відновлення рівня глутатіону, активності СОД і каталази в печінці. Крім того, введення суміші цих рослин синергічно знижувало рівень мРНК TNF-α в печінці [188].

Численні дослідження описують, що вітамінні добавки можуть зменшити негативний вплив алкоголю на печінку [187, 200, 212]. Комбіноване вживання вітаміну Е та вітаміну С зменшило в печінці ступінь ПОЛ, NF-κB, TNF-α, CYP2E1 [181].

Багато захворювань пов'язано з розвитком оксидативного стресу, в тому числі у кістковій системі, серед яких один з найважливіших є остеопороз. Збільшення рівня АФО та/або зниження активності антиоксидантних ферментів призводить до втрати кісткової маси [54, 75, 156].

Причинами розвитку оксидативного стресу в кістковій тканині може бути гормональні зміни, старіння, зменшення механічного навантаження на скелет, раціон харчування, тривале вживання препаратів (наприклад, кортикостероїдів).

Сучасна профілактика та лікування захворювання кісток включає антирезорбційні та анаболічні препарати. Антирезорбційні засоби включають

бісфосфанати, кальцитонін, деносумаб і модулятор естрогенних рецепторів (ралоксифен). Механізм дії таких препаратів полягає у запобіганні втрати кісткової маси шляхом індукції апоптозу остеокластів. Однак є багато небажаних ефектів цих препаратів на ШКТ та серцево-судинну систему [55].

Застосування вітаміну С, вітаміну Е, N-ацетил-цистеїну має позитивні ефекти для людей з остеопорозом. Позитивний ефект можна пояснити підвищенням рівня глутатіону, інгібуванню активації NF- $\kappa$ B і експресії TNF- $\alpha$ , що запобігає збільшенню рівня склеростину та порушенню балансу RANKL/OPG, викликаного оксидативним стресом [155, 156, 206].

Астаксантин, каротиноїдний пігмент водорослей *Haematococcus pluvialis*, посилює диференціацію остеобластів, та підвищує МЦКТ, експресію остеогенних маркерів, зменшуючи втрату кісткової маси [55]. Незважаючи на дослідження ефективності астаксантину але в профілактиці та лікуванні захворювання кісток, його клінічне застосування незначне.

Введення ресвератролу щурам з оваріоектомією збільшувало МЦКТ, знижувало рівень оксидативного стресу. Подібний ефект мали добавки із зеленим чаєм, звіробієм звичайним та чорницею [156]. В іншому дослідженні вживання ресвератролу протягом 16 тижнів не мало клінічно значущих результатів по МЦКТ [87]. Вживання жінками в постменопаузі 120 мг ізофлаваноїдів на добу протягом 2 років призвело до збільшення МЦКТ, але ця добавка не сповільнювала втрату кісткової маси в основних місцях переломів і не впливало на маркери кісткового обміну [87].

Ефективність застосування антиоксидантів залежить від початкового рівня їх вмісту у звичайному раціоні людини. Якщо вживання антиоксидантів було на низькому рівні до початку дослідження, то людина більше реагували на збільшення вмісту антиоксидантів, ніж особи зі збалансованим раціоном. Концентрація антиоксидантів у плазмі крові не збільшується після досягнення певного порогового рівня. Це значить, що додавання антиоксидантів особі, яка має їх достатню кількість в своєму раціоні, не сприятиме покращенню стану кісткової системи [87].

### **1.3.2 Роль мінералів та вітамінів у профілактиці розвитку порушень в кістковій тканині при хронічній алкогольній інтоксикації**

Для профілактики порушень в кістковій тканині, які індуковані хронічним вживанням алкоголю, в експериментальних дослідженнях використовували вітамін Е [159, 211], N-ацетилцистеїн [159], хризофанову кислоту [74], чорницю та соєвий білок [177].

Оптимальний раціон харчування, багатий на мікроелементи, такі як кальцій та вітамін D вже давно вважається важливим компонентом для нормальної фізіології кісткової тканини [19, 209]. Кальцій є головним елементом гідроксиапатиту кісткової тканини, грає ключову роль в мінералізації скелету та потрібен для нормального росту, розвитку та міцності кісток. Аліментарний дефіцит кальцію у дорослому віці є основним фактором ризику розвитку остеопорозу [192] завдяки збільшенню експресії RANKL в кістках та збільшенню кількості остеокластів [153].

Надмірне вживання алкоголю збільшує екскрецію кальцію, магнію та цинку з сечею. Дефіцит цих мінералів, у свою чергу, негативно впливає на стан кісткової тканини. Так, магній приймає участь у мінералізації кісток завдяки стимуляції активності остеобластів та фосфатаз, які мінералізують остеοїдний матрикс. Тому дефіцит магнію в організмі сприяє розвитку остеопорозу [192]. Кістки тварин з дефіцитом магнію крихкі завдяки порушенню механічних властивостей кістки [134]. В дослідженнях про вплив додавання магнію в раціон відмічають збільшення мінеральної щільності кісток, зменшення ризику переломів [148]. Дефіцит магнію у людини, відомий фактор ризику втрати кісткової маси, може призвести до гіпокальціємії, порушення секреції паратиреоїдного гормону та низьких концентрацій 1.25-дигідроксिवітаміну D у сироватці крові, що зазвичай спостерігається у осіб, які хронічно зловживають алкоголем [44].

Марганець, цинк, мідь, селен посилюють каталітичну активність антиоксидантних ферментів [193]. Цинк – важливий елемент для розвитку, регенерації та гомеостазу кісток. В дослідженні у самців щурів, яким тривало

давали корм з дефіцитом цинку, знизилась маса тіла та розвинулась остеопенія [183]. Додавання цинку може також послабити дисфункцію печінки та кишечника після впливу алкоголю. Додатки цинку можуть запобігати загибелі гепатоцитів після впливу алкоголю [57].

Селен також приймає участь у нормальному розвитку скелету завдяки його важливої ролі в антиоксидантній системі. На сьогодні ідентифіковано багато генів, пов'язаних з антиоксидантними властивостями селену [38]. Мідь є важливим мікроелементом, який бере участь у багатьох біологічних процесах. Дефіцит міді може призвести до порушення метаболізму кісткової системи [180].

Вітамін D важливий для нормального розвитку та гомеостазу кісткової системи, є головною ланкою гормональної регуляції обміну кальцію та фосфору завдяки індукції синтезу білка-переносника кальцію з ентероцитів тонкої кишки в кров, активації абсорбції фосфору в кишечнику та стимуляції відкладення солей кальцію у новосформованому остеоїдному матриксі. Вітамін D проявляє свої кальціємічні та фосфатемічні ефекти шляхом зміни експресії декількох генів у тонкому кишечнику, нирках та кістках. Активація рецепторів вітаміну D сприяє всмоктуванню кальцію та фосфатів у кишечнику та каналцевої реабсорбції кальцію в нирках [66]. Відомо, що хронічне вживання алкоголю впливає на метаболізм вітаміну D. Ці зміни, викликані вживанням алкоголю, сприяють зниженню утворення кісткової тканини, що призводить до остеопенії і підвищує ризик переломів [68].

Аскорбінова кислота (вітамін С) – важливий антиоксидант та кофактор, а також модулятор остеогенного диференціювання. Його дефіцит призводить до розвитку кісткових патологій, спонтанних переломів, порушень росту [201]. Недавні дослідження показали, що дефіцит аскорбінової кислоти впливає на мінеральну щільність кісток, призводить до розвитку остеопорозу [208]. Також була виявлена кореляція між концентрацією вітаміну С в сироватці та ризиком переломів кісток [148]. Вживання антиоксидантів,

особливо вітаміну С, запобігає алкоголь-опосередкованої токсичної дії на клітини [174].

Використання кверцетину показало його високий потенціал в медицині завдяки його антиоксидантній активності *in vivo*. Кверцетин може бути корисним профілактичним та терапевтичним варіантом лікування кісткових порушень [216]. Кверцетин сприяє проліферації мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку, підвищує активність лужної фосфатази та експресію мРНК BMP-2 [169]. Використання кверцетину ефективно знижує маркери резорбції кістки. Крім цього, існує багато доказів протизапальних та антидисбіотичних властивостей кверцетину [28, 36], що додатково надає цій речовині профілактичні особливості. Тому кверцетин може слугувати важливим компонентом в якості добавки задля запобігання втрати кісткової маси при патологічних станах, зокрема алкогольній інтоксикації [168].

Оскільки вживання алкоголю поряд з розвитком запалення та оксидативних явищ призводить до накопичення токсичних речовин у організмі, нашу увагу привернув препарат «Мінерол» (НВМП «ГОБОР», Україна). Глинистий мінерал монтморіллоніт, що видобувається з глибини 70-80 м слугує сировиною для Мінеролу. Виробник пропонує цей препарат як природний сорбент, сорбційна активність якого складає до 380 од., а сорбційна поверхня – до 260 м<sup>2</sup>/г, катіоннообмінна ємність – до 100 мг-екв. на 100 г речовини. Також «Мінерол» є джерело мінералів і містить майже всі макро- та мікроелементи (кальцій, кремній, залізо, магній, натрій, сірку, марганець, калій, фосфор, йод, літій, цинк мідь, хром, селен), які необхідні для фізіологічних процесів [4].

На підставі викладеного можна припустити, що комплекс препаратів макро-, мікроелементів і вітамінів з вище описаними властивостями, а також Мінерол як сорбент та джерело мінералів зможуть бути ефективними у запобіганні порушень у кістковій та травній системах, які спричинені тривалим вживанням алкоголю.

Загально підсумовуючи сучасний стан знань про вплив хронічного вживання алкоголю на якість кісткової тканини, необхідно виділити такі основні положення.

По-перше, незважаючи на окремі суперечливі відомості про вплив різних доз етанолу на МЩКТ, можна стверджувати про негативну дію алкоголю на якість кісткової тканини. А це, в свою чергу, є фактором ризику розвитку різноманітних остеопатій і, в першу чергу остеопорозу, який займає 4-е місце за смертністю в розвинених країнах світу. Тому проблема профілактики порушень кісткової тканини в осіб, які постійно вживають алкоголь і не можуть відмовитися від нього, є актуальною.

По-друге, більшість дослідників стверджують про активацію процесів резорбції в кістковій тканині внаслідок тривалого прийому етанолу [60, 65, 89, 182, 211]. При цьому відомостей про наслідки хронічного застосування алкоголю на іншу складову процесу ремоделювання, а саме остеогенез, у сучасній літературі недостатньо. Тому є сенс заповнити цю прогалину в знаннях про дію алкоголю на кістковий метаболізм, а саме на кісткоутворення.

По-третє, нині незрозуміло, яке місце у порушеннях кісткового метаболізму займає відомий факт індукції етанолом оксидативних процесів у організмі.

У зв'язку з наявністю цих невирішених на даний час питань, основною метою нашого дослідження було встановлення стану кісток з врахуванням ролі оксидативного стресу в кістковій тканині, уточнення механізму зміни процесів ремоделювання (резорбції та кісткоутворення) при тривалому вживанні алкоголю, а також патогенетичне обґрунтування комплексної профілактики порушень кісткового метаболізму, що індуковано хронічною алкоголізацією, та дослідження її ефективності.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ, ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Умови проведення експерименту

Дослідження проводили в віварію Одеського національного університету імені І.І. Мечникова. Тварини утримувались в стандартних клітках та постійних умовах. Всі процедури з тваринами та виведення тварин з експерименту проводили згідно з принципами, викладеними в Законі України "Про захист тварин від жорстокого поводження" (№ 1759-VI від 15.12.2009 р.), з урахуванням норм Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 18 березня 1986 р., ETS № 123) та World medical association statement on animal use in biomedical research.

Перший етап досліджень проводили з 23 жовтня 2020 року по 9 лютого 2021 року в віварії ОНУ імені І. І. Мечникова. Дослідження проводили на самцях та самках щурів Wistar rats з 30-ти денного віку стадного розведення з початковою середньою вагою тварин 38 г.

Тварин поділили на 4 групи по 7 тварин в кожній групі.

1 група інтактна – самці, які отримували воду.

2 група інтактна – самки, які отримували воду.

3 група дослідна – самці, які отримували розчин етанолу.

4 група дослідна – самки, які отримували розчин етанолу.

Алкоголізацію тварин проводили за схемою, коли розчин етанолу є єдиним джерелом рідини для тварини. Отримання етанолу у вигляді рідини – це техніка введення алкоголю, яка імітує вживання алкоголю людиною і яка була застосована в даному дослідженні. Алкоголізацію проводили поступово, починаючи з 5 % розчину етанолу, далі збільшували концентрацію на 2 % кожні 10 днів (протягом 50 днів), протягом наступних 58 днів тварини вживали 15 % розчин спирту. Тривалість експерименту – 108 днів.



З метою визначення виведення та засвоєння кальцію по закінченню моделювання патології тварин поміщали в метаболічні клітки для фіксації спожитої їжі та збору сечі і калу з подальшим аналізом кількості кальцію. Вміст кальцію визначали у зібраних зразках за три дні, що дало змогу прослідити інтенсивність засвоєння кальцію та виведення з сечею та калом.

Дослідження всмоктування кальцію проводили в гострому експерименті в ізольованій ділянці тонкої кишки щурів, які знаходились під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг).

Щурів виводили з експерименту шляхом тотального кровопускання з серця. Збирали кров для проведення біохімічних досліджень, виділяли щелепи, стегнові кістки та поперекові хребці, виділяли печінку, слизові оболонки ротової порожнини, шлунку, тонкої кишки та товстої кишки.

В сироватці крові визначали активність еластази, каталази, лужної фосфатази та концентрацію МДА.

В гомогенатах слизових оболонок шлунково-кишкового тракту (50 мг/мл 0,05 М буферу тріс-НСІ рН 7,5) визначали активність еластази, каталази, кислої фосфатази, лізоциму, уреазы та концентрацію МДА.

Досліджували всмоктування кальцію в ізольованому відділі тонкого кишечника щурів.

В печінці визначали активність еластази, каталази, кислої фосфатази, лужної фосфатази, уреазы та концентрацію МДА.

В щелепах щурів визначали ступінь атрофії альвеолярного відростку, кількість та глибину карієсу, в гомогенатах кісткової тканини щелеп (75 мг/мл 0,1 М цитратного буферу рН 6,1) визначали активність еластази, кислої фосфатази, лужної фосфатази, каталази, СОД, глутатіонредуктази та концентрацію МДА.

Для проведення морфометричних досліджень виділяли стегнові кістки та останній поперековий хребець перед куприковим відділом. Визначали щільність цих кісток за методом І. В. Ходакова та вміст мінерального компоненту, органічного компоненту та мінерально-органічного компоненту.

Другий етап дослідження проводили з 17 січня по 30 квітня 2022 року на базі віварію біологічного факультету ОНУ імені І. І. Мечникова. Дослідження проводили на самках щурів Wistar rats з 60-денним віком стадного розведення з середньою вагою 160 г. Тварин утримували в однакових умовах з попереднім дослідженням. Дослідження проводили на самках щурів, так як у попередньому дослідженні нами було показано більш виражений вплив алкоголю саме на кісткову тканину самиць [22].

Тварини були випадковим чином поділені на чотири групи. Перша група – контрольна, яка отримувала воду (n=8). Друга група – моделювання алкогольної інтоксикації (n=10). Третя група – на тлі хронічної алкогольної інтоксикації у якості профілактики застосовували мінерально-вітамінний комплекс (МВК) (n=8). Четверта група – на тлі хронічної алкогольної інтоксикації у якості профілактики застосовували комплекс «Мінерол» (n=8).

Алкоголізацію тварин проводили за схемою, коли розчин етанолу є єдиним джерелом рідини для тварини. Тварини груп 2-4 поступово адаптувались до прийому алкоголю: перші 7 днів давали 8 % розчин, наступні 7 днів збільшили концентрацію до 16 %, протягом наступних 90 днів тварини отримували 25 % розчин етанолу [68]. Профілактичні комплекси вводили тваринам 3 і 4 груп перорально о 9 годині щодня протягом 104 днів експерименту. Добова доза МВК складала 500 мг/кг. Добова доза комплексу «Мінерол» складала 1000 мг/кг.

Тривалість експерименту становила 104 дні. Щурів виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) шляхом тотального кровопускання з серця. Збирали кров, виділяли щелепи, стегнові кістки, поперекові хребці, печінку, слизові оболонки ротової порожнини, шлунку, тонкої кишки, товстої кишки самиць щурів.

У виділених кістках визначали морфометричні показники: у щелепах – ступінь атрофії альвеолярного відростку, у стегнових кістках і поперекових хребцях – щільність кісток та вміст мінерального та органічного компонентів.

Біохімічні дослідження кісткової тканини щелеп включали визначення активності лужної фосфатази, еластази, кислої фосфатази, вмісту кальцію та концентрацію МДА.

Біохімічні дослідження стегнових кісток включали визначення активності лужної фосфатази, еластази, кислої фосфатази, каталази, глутатіонредуктази, СОД, вмісту кальцію, холестерину, білірубину, тригліцеридів та концентрацію МДА.

В сироватці крові визначали активність каталази, лужної фосфатази, аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази, вміст кальцію та МДА.

В слизових оболонках ротової порожнини, шлунку, тонкої кишки, товстої кишки та печінці визначали активність уреазы, еластази, кислої фосфатази, каталази та концентрацію МДА.

## **2.2 Склад профілактичних мінерально-вітамінних комплексів**

Враховуючи дані літератури про погіршення засвоєння поживних речовин при алкогольній інтоксикації, негативний вплив алкоголю на ферменти антиоксидантного захисту, накопичення токсичних речовин теоретично обґрунтували можливу ефективність двох комплексів з ціллю профілактики порушень, які відбуваються внаслідок хронічної алкоголізації.

Для складу першого МВК входило: кальцій (кальцію цитрат з раковин устриць - лабораторний зразок власної технології) – 1500 мг; селен (селен активний, ТОВ "Еліт-Фарм", Україна) – 500 мг; мідь (мідь активна, ТОВ "Еліт-Фарм", Україна) – 750 мг; марганець (марганець активний, ТОВ "Еліт-Фарм", Україна) – 250 мг; цинк (цинк активний, ТОВ "Еліт-Фарм", Україна) – 500 мг; магній (магній активний, ТОВ "Еліт-Фарм", Україна) – 1500 мг; аскорбінова кислота (аскорбінова кислота № 20, ТОВ «Аптека Гаєвського») – 500 мг; вітамін D (Аквавіт-Д3, ПрАТ «Технолог», Україна) ІU3 – 300 МО; кверцетин (квертин, таблетки по 40 мг, Публічне акціонерне товариство "Науково-виробничий центр "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод",

Україна) – 250 мг. Кількісні співвідношення компонентів обґрунтовано в залежності від їх потреби у патологічних умовах.

Другий профілактичний комплекс «Мінерол». Препарат «Мінерол» (НВМП «ГОБОР», Україна, м. Буча, U.S. FDA registration № 19847105946) є сорбентом та джерелом макро- та мікроелементів. У препараті відсутні вітаміни, тому аскорбинову кислоту, вітамін D і кверцетин ввели додатково. Склад профілактичного комплексу «Мінерол»: Мінерол (НВМП «Гобор», Україна) – 900 мг; аскорбінова кислота (аскорбінова кислота № 20, ТОВ «Аптека Гаєвського») – 500 мг; вітамін D (Акваліт-Д3, ПрАТ «Технолог», Україна) ІУЗ – 300 МО; кверцетин (квертин, таблетки по 40 мг, Публічне акціонерне товариство "Науково-виробничий центр "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод", Україна) – 250 мг.

### 2.3 Морфометричні методи дослідження

Ступінь каріозного процесу у щурів оцінювали за числом каріозних уражень та глибині ураження зубів карієсом у середньому на одну тварину у балах. Оцінку дистрофічного процесу у пародонті здійснювали на щелепах щурів після механічного видалення м'яких тканин методом біометрії. Визначали лінійні розміри оголення коренів молярів. Величину ступеня атрофії визначали за формулою:

$$CA = \frac{L}{M} * 100\%$$

де:

CA – ступінь атрофії;

L - довжина від краю альвеоли до анатомічної шийки зуба;

M – довжина від краю альвеоли до вершини горбка зуба.

Спосіб визначення щільності кісток ґрунтується на принципі визначення об'єму кісток, для обчислення якого вимірюють величину архімедової сили, що діє на кістку під час повного занурення її у воду.

Хід визначення: готують хімічну склянку з дистильованою водою і фіксують температуру води з точністю до десятих часток градуса. Свіжопрепаровану кістку очищають скальпелем від сухожиль, промивають у воді й осушують ганчіркою до зникнення вологих відбитків. Після чого кістку зважують із точністю до 0,1 мг. Потім прикріплюють дрід відомої довжини з петлею на одному з кінців для підвішування його до важеля терезів. На стегновій кістці дрід кріпиться навколо шийки, на великогомілковій - на звуженій частині під дистальним епіфізом. Кістку за допомогою дроту підвішують до важеля ваг, знизу підводять склянку з водою так, щоб кістка повністю занурилася у воду. Склянку встановлюють на підставку і реєструють показання ваг. Потім пінцетом затискають дрід у місці виходу його з води, знімають дрід із важеля терезів, відкріплюють кістку і вимірюють лінійну довжину ділянки дроту, яка занурювалася разом із кісткою у воду, з точністю до 1 мм. Розрахунок щільності кістки обчислюють за такою формулою:

$$\rho = \frac{m}{\frac{m+m_1-m_2}{\rho_2} - \frac{l \cdot m_1}{L \cdot \rho_1}}$$

де:

$m$  – маса кістки в повітрі (мг);

$m_1$  – маса дроту (мг);

$m_2$  – показання терезів при зануренні у воду кістки, підвішеної на дроті (мг);

$L$  - довжина дроту (мм);

$l$  – довжина ділянки дроту, що занурюється у воду (мм);

$\rho_1$  – щільність дроту (для мідного дроту  $\rho = 8,96$  мг/мм<sup>3</sup>);

$\rho_2$  – густина води залежно від її температури (мг/мм<sup>3</sup>).

Вміст мінерального та органічного компонентів у різних кістках щурів визначали завдяки тому, що кісткову тканину уявили у вигляді системи з трьох основних компонентів: мінеральний, органічний і вода. Мінеральний компонент значною мірою складається з солей кальцію, переважно з

гідроксиапатиту, органічний компонент – з колагену. Кожен із наведених компонентів має індивідуальні значення щільності  $\rho_{\text{мін}}$  і  $\rho_{\text{орг}}$ , які приймали як константні значення. Вагове та об'ємне відношення мінерального і органічного компонентів в кістці формує певне значення щільності мінерального-органічного комплексу. Завдяки використанню значень щільності мінерального компоненту, органічного компоненту і мінерального-органічного комплексу оцінювали ваговий вміст мінерального і органічного компонентів у досліджуваній кістці.

Базою для обчислення абсолютного та відносного вмісту компонентів в кістках є формула визначення об'ємного вмісту:

$$V_{\text{мін}} = V_{\text{мок}} \cdot \frac{\rho_{\text{мок}} - \rho_{\text{орг}}}{\rho_{\text{мін}} - \rho_{\text{орг}}}$$

де:

$V_{\text{мін}}$  – об'єм мінерального компоненту, мм<sup>3</sup>;

$V_{\text{мок}}$  – об'єм мінерального-органічного компоненту, мм<sup>3</sup>;

$\rho_{\text{мок}}$  – щільність мінерального-органічного компоненту, мг/мм<sup>3</sup>;

$\rho_{\text{мін}}$  – щільність мінерального компоненту, мг/мм<sup>3</sup>;

$\rho_{\text{орг}}$  – щільність органічного компоненту, мг/мм<sup>3</sup>.

Об'єм та щільність мінерального-органічного компоненту ( $V_{\text{мок}}$  і  $\rho_{\text{мок}}$ ) розраховували шляхом попереднього визначення маси вологої і висушеної кістки, та її об'єму [25].

## 2.4 Біохімічні методи дослідження кісткової тканини

Гомогенати кісткової тканини готували при низькій температурі (на лотку з льодом) для збереження активності ферментів. Очищені цільні кістки зважували на терезах, кістки подрібнювали за допомогою кусачок і поміщали в охолоджену ступку. Гомогенати готували на 0,1 N цитратному буфері рН 6,1 за співвідношенням 75 мг кістки на 1 мл буфера. Пробірки з гомогенатами струшували на шейкері протягом 15 хвилин при  $t^{\circ} + 4^{\circ}\text{C}$ . Після

цього гомогенати центрифугували 20 хвилин при 2 500 об/хв і  $t^{\circ} + 4^{\circ}\text{C}$ . Для аналізу відбирали надосадову рідину.

Активність еластази в гомогенатах кістки оцінювали за ступенем гідролізу синтетичного субстрату N-t-BOC-L-alanine-p-nitrophenyl ester (BOC) за методом Visser et Blouf. Під дією еластази від субстрату відщеплюється p-нітрофенол жовтого кольору, при цьому інтенсивність забарвлення розчину пропорційна рівню активності еластази. Активність еластази виражали в мікрокаталах на 1 кг кісткової тканини (мк-кат /кг). [25].

Активність кислої та лужної фосфатази визначали за гідролізом субстрату p-нітрофенілфосфату по методу Бессея-Лоурі-Брока. Субстрат для кислої фосфатази готували на цитратному буфері рН 4,8, для лужної фосфатази – рН 10,5. Під впливом фосфатаз від субстрату відщеплюється p-нітрофенол, що в лужному середовищі має жовтий колір. Інтенсивність забарвлення розчину пропорційна активності ферменту. Активність ферментів виражали в мікрокаталах на 1 кг кісткової тканини (мк-кат /кг).

Для визначення вмісту кальцію кісткову тканину попередньо гідролізували у 0,2 N HCl 2мл/мл. В приготованому гідролізаті проводили кількісне визначення іонізованого кальцію за допомогою арсеназного реагенту, який утворює з іонами кальцію забарвлений комплекс, інтенсивність якого оцінюють спектрофотометрично [25].

Активність каталази визначали за методом, який заснований на здатності пероксиду водню утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс з максимумом поглинання при 410 нм. Активність каталази оцінювали по інтенсивності забарвлення розчинів та виражали в мкат/кг [25].

Активність СОД визначали за методом, заснованому на ступеню гальмування ферменту кісткової тканини у реакції окислення кверцетину та виражали в умовних одиницях [25].

Визначення активності глутатіонредуктази засноване на том, що фермент каталізує відновлення окисненого глутатіону, використовуючи як

відновний еквівалент окиснений глутатіон-кофактор за схемою:  $GSSG + 2НАДФ \cdot Н = 2GSH + 2НАДФ$ . Величина показнику активності ферменту залежить від кількості відновленого глутатіону в середовищі інкубації. Активність глутатіонредуктази виражали у ммоль/кг.

Вміст МДА проводили з 2-тіобарбітуровою кислотою, з якою він реагує при високій температурі в кислому середовищі, утворюючи забарвлений триметилловий комплекс, с максимумом поглинання при довжині хвилі 532 нм. Кількість МДА виражена в ммоль/кг тканини [25].

## **2.5 Біохімічні методи дослідження слизових оболонок травного тракту, печінки та сироватки крові**

Гомогенати слизових оболонок порожнини рота, шлунку, тонкої та товстої кишки готували на 0,05 М трис-НСІ буфері рН 7,6 зі розрахунку 50 мг тканини на 1 мл буфера. Гомогенізацію здійснювали у порцелянових ступках, які були розташовані на заморожених акумуляторах холоду. Гомогенати при постійному помішуванні витримували 30 хв в холодильнику, потім центрифугували при 2500 об/хв і +4°С протягом 15 хв. Супернатант переносили у чисті пробірки і використовували для біохімічного аналізу [25].

У слизових оболонках травного тракту проводили визначення маркерів запалення, до яких відносять активність еластази та кислій фосфатази. Стан антиоксидантно-прооксидантної системи оцінювали по активності каталази та вмісту МДА. Активності цих ферментів і вміст МДА визначали за допомогою вищеописаних методів.

Крім того у слизових оболонках шлунково-кишкового тракту щурів досліджували ступінь контамінації умовно-патогенними бактеріями біохімічним методом за допомогою визначення активності уреазі. Метод заснований на здатності ферменту розщеплювати сечовину до аміаку, який з реактивом Неслера дає жовте забарвлення. Інтенсивність забарвлення проби прямо пропорційна активності уреазі, яку виражали в мікрокаталах на кг



слизової оболонки, де 1 катал – це активність ферменту, що каталізує відщеплення 1 молу аміаку за 1 секунду [25].

Активність лізоциму є індикатор ступеня стійкості слизових оболонок до мікробних інвазій. Визначення активності лізоциму засноване на здатності лізоциму лізувати бактерії *Micrococcus lysodeikticus*. При взаємодії лізоциму з субстратом спостерігається його просвітлення, ступінь якого пропорційна активності лізоциму. Активність лізоциму виражали у од/кг слизової оболонки [25].

Ступень дисбіозу (СД) у слизових оболонках травного тракту розраховували як відношення показників активності уреазі і лізоциму. Спочатку розраховували відносні значення активності уреазі ( $U_{\text{відн}}$ ) та лізоциму ( $L_{\text{відн}}$ ) за формулою:

$$U_{\text{відн}} = \frac{U_{\text{дослід}}}{U_{\text{контроль}}}; \quad L_{\text{відн}} = \frac{L_{\text{дослід}}}{L_{\text{контроль}}},$$

де:

$U_{\text{дослід}}$  – активності уреазі в дослідній групі;

$U_{\text{контроль}}$  – активність уреазі в контрольній групі;

$L_{\text{дослід}}$  – активності лізоциму в дослідній групі

$L_{\text{контроль}}$  – активність лізоциму в контрольній групі;

Розрахунок СД за формулою:

$$\text{СД} = \frac{U_{\text{відн}}}{L_{\text{відн}}}, \text{ ум. од.}$$

По співвідношенню активності каталази до вмісту МДА розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс [1]. Формула розрахунку антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ):

$$\text{АПІ} = \frac{A_{\text{каталази}} * 100}{M_{\text{МДА}}},$$

де:

$A_{\text{каталази}}$  – активність каталази;

$M_{\text{МДА}}$  – концентрація МДА.

Для визначення концентрації кальцію використовували методику визначення загального кальцію у біологічних рідинах з арсеназо III, якій утворює забарвлений комплекс з кальцієм, що можна виміряти спектрофотометрично [6].

Гомогенати печінки щурів готували на 0,05 М трис-НСІ буфері рН 7,6 зі розрахунку 50 мг тканини на 1 мл буфера. Гомогенізацію здійснювали у порцелянових ступках на акумуляторах холоду. Гомогенати при постійному помішуванні витримували 30 хв в холодильнику, потім центрифугували при 2500 об/хв і +4°C протягом 15 хв. Супернатант переносили у чисті пробірки і використовували для біохімічного аналізу.

У печінці тварин проводили визначення активності еластази, кислої фосфатази, уреази, каталази, вміст МДА за допомогою вищеописаних методів.

У сироватці крові тварин оцінювали активність еластази, кислої фосфатази, лужної фосфатази, каталази, за допомогою вищеописаних методів.

Активність аланінамінострасферази в сироватці крові визначали за методом Райтмана-Френкеля. Суть методу: в лужному середовищі відбувається амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аланіном за участі аланінамінострасферази, при цьому утворюються L-глутамінова та піровиноградна кислоти. Піруват з 2,4-динітрофенілгідрозином в лужному середовищі утворює 2,4-динітрофенілгідрозон. Вимірюють оптичну щільність 2,4-динітрофенілгідрозонів 2-оксоглутарової та піровиноградної кислот в лужному середовищі при довжині хвилі 530 нм. Гідрозон піровиноградної кислоти має високий коефіцієнт молярної екстинції, тому спостерігається прямо пропорційна залежність оптичної щільності реакційного розчину від активності ферменту [25].

Активність аспартатамінострасферази в сироватці крові визначали за методом Райтмана-Френкеля. Суть методу: при амінуванні 2-оксоглутарової кислоти L-аспарагіновою кислотою за участі аспартатамінострасферази,

утворюються L-глутамінова та щавелевооцтова кислоти, остання самовільно декарбоксилюється з утворенням піровиноградної кислоти. Вимірюють оптичну щільність 2,4-дінітрофенілгідразонів 2-оксоглутарової та піровиноградної кислот в лужному середовищі. Оскільки гідразон піровиноградної кислоти має більш високий коефіцієнт молярної екстинції, то спостерігається прямо пропорційна залежність оптичної щільності реакційного розчину від активності ферменту [25].

Концентрацію білірубину у сироватці крові визначали за методом Ендрашика. Суть методу: в присутності кофеїнового реактиву діазотована сульфанілова кислота утворює з прямим та зв'язаним білірубіном азобілірубін рожево-фіолетового кольору. Вимірювання проводили при довжині хвилі 550 нм. Концентрацію білірубину виражали у ммоль/л [25].

Вміст тригліцеридів визначали ензиматичним колориметричним методом гліцерофосфорною оксидазою. Концентрацію хіноніміну визначали фотометрично при довжині хвилі 505 нм на спектрофотометрі, інтенсивність забарвлення якого пропорційна концентрації тригліцеридів в дослідному зразку (ммоль/л).

Концентрацію холестерину у сироватці крові визначали ферментативним методом. Під дією холестериноксидази холестерин сироватки крові окислюється киснем повітря до холестерен-3-ону та перекису водню. Перекис водню під дією пероксидази утворює з фенолом та 4-аміноантипірином хінонімін рожево-червоного кольору. Оптичну щільність вимірювали при довжині 500 нм і концентрацію холестерину виражали у ммоль/л [25].

## **2.6 Методика дослідження всмоктування кальцію в тонкій кишці**

Щурам вводили внуришньочеревинно тіопенталовий наркоз (20 мг/кг). Розкривали черевну порожнину. Ділянку тонкої кишки, довжиною близько 5 см, ізолювали за допомогою накладення вузлів шовковою ниткою. В даний відрізок вводили 1,0 мл розчину кальцію хлориду у кількості 0,67 мг/мл (0,24

мг кальцію/мл). Занурювали петлю у черевну порожнину на 60 хв. Через 60 хв ретельно відбирали розчин, який залишився, переносили даний розчин в пробірки, заморожували до проведення визначення кальцію, попередньо заміривши об'єм отриманої рідини. Кількість кальцію, що залишився, визначали шляхом множення об'єму на концентрацію.

Для визначення концентрації кальцію використовували методику визначення загального кальцію у біологічних рідинах з арсеназо III, якій утворює забарвлений комплекс зі кальцієм, що можна виміряти спектрофотометрично [25].

## **2.7 Статистична обробка даних**

В таблицях і тексті отримані результати представлені у вигляді середнього значення  $\pm$  стандартна похибка ( $x \pm SE$ ). Аналіз статистичної значущості даних виконували в R версії 4.2.1 за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу та поправкою Бонферроні з достовірними відмінностями ( $P < 0,05$ ) [34].

## РОЗДІЛ 3

### ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ НА КІСТКОВУ СИСТЕМУ ТА ШЛУНКОВО-КИШКОВИЙ ТРАКТ САМЦІВ ТА САМОК ЩУРІВ

#### 3.1 Вплив хронічної алкогольної інтоксикації на стан кісткової тканини щурів

На першому етапі досліджували стан деяких кісток за морфометричними параметрами, показниками антиоксидантної системи, маркерами ремоделювання у щурів з алкогольною інтоксикацією тривалістю 108 діб. Також у тварин визначали стан слизових оболонок травного тракту за показниками запалення, антиоксидантного захисту, перекисного окиснення ліпідів, ступеня дисбіозу, всмоктування та засвоєння кальцію. Для з'ясування головної ланки патогенезу алкогольної інтоксикації висновки дослідження робили на підставі різниці отриманих даних у осіб різної статі.

##### 3.1.1 Ступінь атрофії альвеолярного відростку

Для оцінки стану зубощелепної системи щурів при хронічній алкогольній інтоксикації досліджували ступінь атрофії альвеолярного відростку, кількість та глибину каріозних уражень (табл. 3.1).

У щурів, як і в інших ссавців, є альвеолярний відросток (або пародонтальна кістка), який грає важливу роль для забезпечення опори для коренів зубів та разом з яснами утворює для них стабільну основу. Руйнування або атрофія альвеолярного відростку може призводити до різних хвороб пародонта, що може призвести до втрати зубів.

За результатами експерименту хронічна алкогольна інтоксикація сприяла підвищенню атрофії альвеолярного відростку щурів. Ступінь атрофії у самців щурів збільшився на 15,0 % ( $p < 0,05$ ) в порівнянні з показником у контрольній групі, у самок алкогольної групи ступінь атрофії зріс на 18,0 %

( $p < 0,05$ ). У інтактних самців атрофія альвеолярного відростку більше виражена ніж у самок ( $p_1 < 0,05$ ). Така ж різниця зберіглася і у тварин, які хронічно отримували алкоголь ( $p_1 < 0,05$ ), тому важко сказати, кісткова тканина щелеп якої статі більш чутлива до негативної дії алкоголю (табл. 3.1).

Процеси ремоделювання у щелепах альвеолярного відростку регулюється системою RANK-RANKL-OPG, яка є важливою ланкою гомеостазу кісткової тканини. Зміщення балансу RANKL/OPG призводить до порушення ремоделювання кісткової тканини. В дослідженні розвитку пародонтиту при хронічній алкогольній інтоксикації баланс зміщується в бік збільшення RANKL, що говорить про посилення остеокластогенезу [69]. Вищеописаний факт може бути поясненням збільшенням ступеню атрофії на тлі хронічного вживання алкоголю.

Таблиця 3.1

**Ступінь атрофії альвеолярного відростку, кількість та глибина карієсу у самців та самок щурів при хронічній алкогольній інтоксикації ( $x \pm SE$ )**

Група	самці ♂		самки ♀	
	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)
Ступінь атрофії альвеолярного відростку, %	$26,7 \pm 0,9$	$30,7 \pm 1,0$ $p < 0,05$	$23,3 \pm 0,5$ $p_1 < 0,05$	$27,5 \pm 1,0$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
Кількість каріозних порожнин	$4,4 \pm 0,5$	$5,9 \pm 0,2$ $p < 0,05$	$3,5 \pm 0,6$ $p_1 > 0,05$	$4,9 \pm 0,3$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
Глибина каріозних порожнин, бали	$4,5 \pm 0,5$	$6,1 \pm 0,3$ $p < 0,05$	$3,7 \pm 0,3$ $p_1 > 0,05$	$4,8 \pm 0,4$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$

Примітка:  $p$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у інтактній групі;  $p_1$  – вірогідність різниці показників у самок і самців

### 3.1.2 Розвиток карієсу зубів при хронічній алкогольній інтоксикації

Оцінку каріозних уражень проводили на обох боках верхньої та нижньої щелеп за двома показниками – число каріозних уражень та глибина каріозних порожнин. При хронічному вживанні алкоголю кількість та глибина каріозних уражень у щурів достовірно збільшилась у обох статей із статистично достовірною різницею між статями (табл. 3.1). Так, кількість каріозних порожнин у самців при вживанні алкоголю зросла на 34,1 % ( $p < 0,05$ ), а у самок – на 40,0 % в порівнянні з рівнем інтактної групи ( $p < 0,05$ ). Враховуючі однакову кількість каріозних уражень в інтактних групах, підвищення цього показника було більш виражено у алкоголізованих самців ( $p_1 < 0,05$ ). Глибина каріозних порожнин при вживанні алкоголю також значніше збільшилася у самців, а саме – на 35,6 % ( $p < 0,05$ ), тоді як у самок щурів – на 29,7 % ( $p < 0,05$ , табл. 3.1).

Схожі результати отримали в дослідженні на щурах, для яких вживання 20 %-го етанолу призвело до збільшення частоти виникнення карієсу гладкої поверхні молярів щурів порівняно зі щурами, які вживали контрольний раціон [83].

Вплив алкоголю на ротову порожнину обумовлений складом напою, концентрацією алкоголю, частотою та кількістю споживання. В дослідженні впливу алкоголізму на стан ротової порожнини людини вказують на зменшення слиновиділення у алкоголіків, вищу поширеність карієсу, пародонтиту та уражень слизової оболонки порівняно з особами, які не вживають алкоголь [62, 116, 125]. Одна із можливих причин високого рівня карієсу у алкоголіків – нехтування як особистою гігієною ротової порожнини, так і професійним доглядом за нею.

### 3.1.3 Щільність та вміст органічного/мінерального компонентів у стегнових кістках та поперекових хребцях

В стегнових кістках та поперекових хребцях визначали щільність, вміст мінерального компоненту, органічного компоненту та мінерально-органічного компоненту.

За результатами, які наведені таблиці 3.2, щільність стегнових кісток при хронічній алкогольній інтоксикації не змінилась у щурів обох статей ( $p > 0,05$ ). Також були незмінними показники маси, об'єму та вмісту мінерально-органічного компоненту кістки при хронічному вживанні алкоголю ( $p > 0,05$ ).

Таблиця 3.2

**Щільність, мінеральний компонент (МК), органічний компонент (ОК) та мінерально-органічний компонент (МОК) у стегнових кістках самців та самиць щурів при хронічній алкогольній інтоксикації ( $x \pm SE$ )**

Показник	самці ♂		самки ♀	
	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)
Щільність, мкг/мм <sup>3</sup>	1,446 ± 0,021	1,458 ± 0,033 $p > 0,05$	1,492 ± 0,026	1,502 ± 0,005 $p > 0,05$
Маса, мг	352,43 ± 37,90	348,03 ± 28,92	287,80 ± 15,54	305,19 ± 18,53
Об'єм, мм <sup>3</sup>	242,46 ± 24,25	237,01 ± 16,17	192,37 ± 8,48	203,08 ± 11,96
Вміст МОК, %	61,17 ± 1,13	60,81 ± 1,89 $p > 0,05$	63,18 ± 1,52	61,85 ± 0,34 $p > 0,05$
Вміст МК, %	33,80 ± 1,82	35,15 ± 2,68 $p > 0,05$	37,63 ± 1,99	40,00 ± 0,71 $p > 0,05$
Вміст ОК, %	27,38 ± 1,18	25,66 ± 0,87 $p > 0,05$	25,55 ± 0,67	21,85 ± 0,93 $p < 0,05$

Примітка:  $p$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у інтактній групі.



Органічний компонент кісткової тканини (в основному представлений колагеном) забезпечує гнучкість та стійкість, а мінеральний компонент кісткової тканини (в основному представлений кальцієм та фосфатами) надає кістці жорсткість та твердість. Співвідношення даних компонентів в тканині має вирішальне значення для якості кістки [16, 65].

В стегнових кістках самиць щурів при вживанні алкоголю вміст органічного компоненту зменшився на 14,5 % ( $p < 0,05$ ) при цьому вміст мінерального компоненту достовірно не змінився ( $p > 0,05$ ). У стегнових кістках самців щурів такого перерозподілу органічного та мінерального компонентів не відбулося.

Щільність поперекових хребців також залишилась на рівні щільності у інтактної групи, як показано в таблиці 3.3 ( $p > 0,05$ ).

Таблиця 3.3

**Щільність, мінеральний компонент (МК), органічний компонент (ОК) та мінерально-органічний компонент (МОК) у поперекових хребцях самців та самиць щурів при хронічній алкогольній інтоксикації ( $x \pm SE$ )**

Показник	самці ♂		самки ♀	
	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)
Щільність, мкг/мм <sup>3</sup>	1,344 ± 0,015	1,364 ± 0,033 $p > 0,05$	1,323 ± 0,027	1,351 ± 0,015 $p > 0,05$
Маса, мг	70,19±10,89	58,76±7,77	56,33±4,24	63,67±7,40
Об'єм, мм <sup>3</sup>	52,01±7,78	43,42±5,23	42,60±3,05	47,34±5,83
Вміст МОК, %	54,49±1,22	55,78±2,26 $p > 0,05$	53,64±2,66	52,98±1,18 $p > 0,05$
Вміст МК, %	25,51 ± 1,42	26,78 ± 2,83 $p > 0,05$	22,74 ± 2,72	27,59 ± 1,54 $p > 0,05$
Вміст ОК, %	28,98 ± 1,10	29,00 ± 1,52 $p > 0,05$	30,89 ± 2,74	25,38 ± 1,44 $p > 0,05$

Примітка:  $p$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у інтактній групі

Не змінились показники маси, об'єму та вмісту мінерально-органічного компоненту кістки поперекових хребців при хронічному вживанні алкоголю

( $p > 0,05$ ). В поперекових хребцях також не змінився відсотковий вміст органічного та мінерального компонентів в обох статей при вживанні алкоголю.

Отже, дослідження впливу хронічної алкогольної інтоксикації на стегнові кістки та поперекові хребці щурів показало відсутність достовірних відмінностей в щільності, масі, вмісту мінерально-органічного компоненту, хоча простежується явна тенденція більш істотних змін у кістках самок. Так, вміст мінерального компоненту в стегнових кістках самок збільшився на 6,2 % ( $p > 0,05$ ) та в поперекових хребцях – на 21,3 % ( $p > 0,05$ ). Одночасно частка органічного компоненту в стегнових кістках самок, навпаки, зменшилася на 14,5 % ( $p < 0,05$ ) та в поперекових хребцях на 17,8 % ( $p > 0,05$ ). В кістках самців збільшення неорганічного та зменшення органічного компоненту були значно менш вираженими.

Механізми, які лежать в основі алкоголь-індукованого порушення гомеостазу кісткової тканини ще не з'ясовані, а дослідження морфометричних показників демонструють суперечливі результати негативного впливу або відсутності впливу алкоголю на досліджувані параметри кістки. Це можна пояснити віком тварин на початку експерименту, дозою та тривалістю вживання алкоголю [13, 166, 210].

#### **3.1.4 Біохімічні дослідження щелеп щурів при вживанні алкоголю**

Для оцінки стану кісткової тканини щелеп при хронічній алкогольній інтоксикації визначали активність кислої фосфатази та еластази, які є маркерами резорбції; в якості маркера кісткоутворення визначали активність лужної фосфатази; для оцінки стану антиоксидантного захисту визначали активність СОД, каталази, глутатіонредуктази, а інтенсивності ПОЛ – за концентрацією МДА (табл. 3.4).

В нашому дослідженні після вживання етанолу активність кислої фосфатази в щелепах самців підвищилась на 35,2 % ( $p < 0,05$ ), а у щелепах самиць – на 32,0 % ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.4

**Біохімічні показники у кістковій тканині щелеп щурів при хронічній  
алкогольній інтоксикації ( $x \pm SE$ )**

Показник	самці ♂		самки ♀	
	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)
Активність кислої фосфатази, мккат/кг	0,71 ± 0,03	0,96 ± 0,06 p < 0,05	0,75 ± 0,03 p <sub>1</sub> > 0,05	0,99 ± 0,09 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
Активність еластази, мккат/кг	7,95 ± 0,77	11,00 ± 1,01 p > 0,05	8,00 ± 0,94 p <sub>1</sub> > 0,05	10,08 ± 0,58 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
Активність лужної фосфатази, мккат/кг	4,80 ± 0,53	2,89 ± 0,43 p < 0,05	4,27 ± 0,53 p <sub>1</sub> > 0,05	3,20 ± 0,52 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
Активність каталази, мкат/кг	2,10 ± 0,07	2,80 ± 0,15 p < 0,05	2,10 ± 0,15 p <sub>1</sub> > 0,05	2,91 ± 0,06 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
Активність супероксиддисмутази, у.о./кг	10,16 ± 0,25	8,58 ± 0,47 p < 0,05	9,71 ± 0,27 p <sub>1</sub> > 0,05	7,93 ± 0,30 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
Активність глутатіонредуктази, ммоль/кг*хв	338,5 ± 34,6	226,6 ± 18,1 p < 0,05	379,2 ± 15,6 p <sub>1</sub> > 0,05	229,9 ± 10,1 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
Концентрація МДА, ммоль/кг	8,77 ± 0,66	11,50 ± 0,49 p < 0,05	7,94 ± 0,58 p <sub>1</sub> < 0,05	13,92 ± 0,73 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05

Примітка: p – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у інтактній групі; p<sub>1</sub> – вірогідність різниці показників у самок і самців

Збільшення активності ферменту свідчить про активацію руйнування гідроксиapatиту кісткової тканини після тривалого введення тваринам алкоголю. Кисла фосфатаза – це неспецифічна гідролаза, яка розщеплює фосфомоноєфіри при низькому рН, приймає участь в руйнуванні мінеральної складової кісткової тканини. Вважається, що кісткова кисла фосфатаза відображає активність остеокластів та швидкість резорбції кісткової тканини

[47, 61, 189]. В роботах інших дослідників також вказується на збільшенням кількості тартрат-резистентної кислій фосфатази під впливом алкоголю [69, 205].

Еластаза розщеплює позаклітинні білки, такі як колаген та еластин. Також діяльність еластази призводить до деградації остеопротегерину, що викликає посилення диференціювання остеокластів [162].

Нами не встановлено підвищення активності кісткової еластази при хронічній алкогольній інтоксикації у самців та самок щурів (табл. 3.4).

Хронічне вживання алкоголю призвело до зменшення активності лужної фосфатази у кістковій тканині щелеп самців щурів на 39,8 % ( $p < 0,05$ ). У кістковій тканині щелеп самиць щурів достовірної зміни активності ферменту не встановлено ( $p > 0,05$ ).

Отримані результати свідчать про зниження діяльності остеобластів, тобто інтенсивності кісткоутворення, в умовах алкоголізації.

Закріплена на мембрані остеобластів лужна фосфатаза гідролізує пірофосфат до фосфату, який є субстратом для утворення кристалів гідроксиапатиту. Також лужна фосфатаза інактивує остеопонтин шляхом дефосфорилування, який є інгібітором мінералізації [61].

Далі визначали стан антиоксидантної системи за активність антиоксидантних ферментів. Оцінка стану антиоксидантної системи показала зміну активності СОД, каталази, глутатіонредуктази та збільшення концентрації МДА у обох статей при хронічній алкогольній інтоксикації.

Активність СОД знизилась при алкогольній інтоксикації в щелепах щурів на 15,6 % у самців ( $p < 0,05$ ) і на 18,3 % у самок ( $p < 0,05$ ), що свідчить про виснаження першої ферментативної ланки антиоксидантного захисту кісткової тканини. Зниження активності ферменту була більш виражена у самок щурів ( $p_1 > 0,05$ ).

Зниження активності СОД при вживанні алкоголю можна пояснити тим, що алкогольна інтоксикація призводить до гіперацетилювання

антиоксидантних білків (СОД, глутатіонредуктаза та глутатіонтрансфераза) [71].

Активність каталази у кістковій тканині щурів збільшилась при алкогольній інтоксикації. У самців алкогольної групи активність каталази збільшилася на 33,3 % ( $p < 0,05$ ), а у самок – на 38,6 % ( $p < 0,05$ ), що приблизно є на одному рівні у обох статей з незначним збільшенням у самок щурів ( $p_1 > 0,05$ ).

Ми пояснюємо підвищення активності каталази у кістковій тканині щелеп щурів тим, що каталаза є додатковим ферментом метаболізму етанолу при наявності надлишку генерації  $H_2O_2$ , яка має місце при тривалому вживанні алкоголю.

Активність глутатіонредуктази у кістковій тканині щелеп щурів зменшилась після тривалого вживання етанолу у самців на 33,1 % ( $p < 0,05$ ), у самок – на 39,4 % ( $p < 0,05$ ) при відсутності різниці між статями ( $p_1 > 0,05$ ). За даними літератури вживання алкоголю також призводить до зниження рівня відновленого глутатіону, що пов'язано з окислювальним стресом та прямим кон'югуванням глутатіону з ацетальдегідом та іншими інтермедіаторами окислення спирту [112].

Нами встановлено збільшення вмісту маркеру ПОЛ, а саме МДА, у кістковій тканині на 31,1 % у самців ( $p < 0,05$ ) та на 75,3 % у самиць ( $p < 0,05$ ), що вказує на посилення ПОЛ і порушення механізмів антиоксидантного захисту у кістковій тканині щелеп щурів після тривалого вживання етанолу. Концентрація МДА значніше зросла у кістковій тканині щелеп самок, при тому, що у інтактних самців рівень МДА був статистично вище за інтактних самок ( $p_1 < 0,05$ ), а при вживанні алкоголю рівень МДА у щелепах самок статистично вище за даний показник у самців ( $p_1 < 0,05$ ). Отримані нами дані про підвищенню рівня МДА у кістковій тканині щелеп тварин, які вживали алкоголь, узгоджуються з результатами інших дослідників про збільшення рівня МДА під впливом етанолу [112, 117, 123].

Отже, враховуючи, що ремоделювання та гомеостаз кістки в цілому забезпечується балансом між активність остеобластів та остеокластів, наші результати показують, що вживання алкоголю впливає на обидва компоненти цього балансу. Активуються процеси резорбції та знижується інтенсивність кісткоутворення у щелепах тварин, яким тривало вводили етанол.

Тривале вживання етанолу стимулює атрофію альвеолярного відростку щелеп самців та самиць щурів, що свідчить про посилення резорбції кісткової тканини. У самок щурів є тенденція до збільшення вмісту мінерального компоненту та зменшення вмісту органічного компоненту в стегнових кістках та поперекових хребцях. При цьому щільність кісток не змінюється, але змінюється співвідношення мінерального та органічного компоненту, що впливатиме на якість кістки. У самців такого перерозподілу не відбулося.

Визначення активності маркерів резорбції та кісткоутворення показало більш виражену зміну саме у самців, за винятком еластази, активність якої не змінилась. У самиць зміна активності еластази та лужної фосфатази була статистично не достовірною, а збільшення активності кислої фосфатази менш вираженою, хоча порівняння показників обох статей не виявило статистично достовірних відмінностей.

Ймовірно, існує позитивний вплив естрогенів на процеси ремоделювання у кістковій тканині в умовах алкоголізації. Відомо, що алкоголь впливає на рівень естрогену в крові, але поки що не зрозуміло, яким чином здійснюється дія естрогену на метаболізм кісткової тканини в умовах регулярного вживання алкоголю [44].

Дослідження активності ферментів антиоксидантної системи показало їх зміну активності в кістках обох статей, хоча у самиць зміна активності ферментів була дещо більшою, що супроводжувалось більш вираженого розвитку ПОЛ саме у самиць щурів, збільшення концентрації МДА в щелепах яких є статистично достовірним в порівнянні з показником самців дослідної групи ( $p_1 < 0,002$ ).

Більш виражені порушення в антиоксидантно-прооксидантній системі у кістковій тканині самиць щурів внаслідок хронічного вживання алкоголю можуть бути причиною значнішої атрофії альвеолярного відростку щелеп та змін в співвідношенні мінерального та органічного компонентів в стегнових кістках та поперекових хребцях, а значить і погіршення якості кісткової тканини самок.

## **3.2 Вплив хронічної алкогольної інтоксикації на показники шлунково-кишкового тракту.**

### **3.2.1 Дослідження виведення, засвоєння та всмоктування кальцію у щурів при хронічній алкогольній інтоксикації**

Для визначення виведення та засвоєння кальцію у щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією тварин по закінченню моделювання патології поміщали в метаболічні клітки з ціллю фіксації кількості спожитої їжі та збору сечі і калу з подальшим аналізом вмісту кальцію. Визначення кальцію у зібраних зразках дало змогу прослідити вплив хронічної алкогольної інтоксикації на інтенсивність засвоєння та виведення кальцію з сечею та калом (табл. 3.5).

Як показано у табл. 3.5, з їжею щури інтактних та дослідних груп отримували однакову кількість кальцію (31,8-34,2 мг). На тлі хронічної алкогольної інтоксикація відзначали зменшення виведення кальцію із сечею у самців щурів на 28,4 % ( $p < 0,05$ ), у самок щурів – на 13,7 % ( $p > 0,05$ ). Тобто у самців при алкогольній інтоксикації зменшення екскреції кальцію із сечею було більш значним ( $p_1 < 0,05$ ). Кількість виведеного кальцію із калом суттєво збільшилась у самок щурів, які вживали алкоголь на 52,3 % ( $p < 0,05$ ). У самців при вживанні алкоголю не змінилась кількість виведеного кальцію з калом ( $p > 0,05$ ).

Загальна кількість виведеного кальцію з організму щурів після хронічного вживання алкоголю достовірно знизилася лише у самців на 25,3 % ( $p < 0,05$ ), це може бути компенсаторною відповіддю на дефіцит

кальцію в організмі щурів при введенні етанолу завдяки посиленню реабсорбції цього елементу у канальцях нирок. У самок зменшення загальної кількості виведеного кальцію склало 10,4 %, що було недостовірним по відношенню до показнику у інтактній групі ( $p > 0,05$ ,  $p_1 < 0,05$ ).

Таблиця 3.5

**Виведення кальцію з організму щурів при хронічній алкогольній інтоксикації ( $\bar{x} \pm SE$ )**

Показник	самці ♂		самки ♀	
	інтактна (n=4)	дослідна (n=4)	інтактна (n=5)	дослідна (n=5)
Постачання $Ca^{2+}$ із кормом, мг	$34,2 \pm 1,2$	$33,8 \pm 1,6$	$34,1 \pm 1,5$	$31,8 \pm 2,6$
Кількість виведеного із сечею $Ca^{2+}$ , мг за добу	$3,48 \pm 0,25$	$2,49 \pm 0,17$ $p < 0,05$	$4,01 \pm 0,21$ $p_1 > 0,05$	$3,46 \pm 0,18$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
Кількість виведеного із калом $Ca^{2+}$ , мг за добу	$0,16 \pm 0,01$	$0,23 \pm 0,02$ $p > 0,05$	$0,21 \pm 0,01$ $p_1 < 0,05$	$0,32 \pm 0,02$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
Загальна кількість виведеного $Ca^{2+}$ , мг за добу	$3,64 \pm 0,23$	$2,72 \pm 0,19$ $p < 0,05$	$4,22 \pm 0,33$ $p_1 > 0,05$	$3,78 \pm 0,21$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
Засвоєння $Ca^{2+}$ , мг за добу	$30,56 \pm 0,13$	$31,08 \pm 0,10$ $p < 0,05$	$29,88 \pm 0,15$ $p_1 < 0,05$	$28,02 \pm 0,11$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$

Примітка:  $p$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у інтактній групі;  $p_1$  – вірогідність різниці показників у самок і самців

Таким чином, засвоєння кальцію, тобто різниця між кількістю отриманого з їжею та кількістю виведеного кальцію з сечею та калом, у самців при алкоголізації збільшилось на 1,7 % ( $p < 0,05$ ), а у самок навпаки знизилось на 6,2 % ( $p < 0,05$ ). Рівень засвоєння кальцію самками дослідної групи був значно менше ніж у алкоголізованих самців ( $p_1 < 0,05$ ). Саме достовірним зменшенням засвоєння кальцію у самок з патологією можна



пояснити більш виражену активацію резорбційних процесів у їх кістковій тканині, що пов'язано зі забезпеченням фізіологічного рівня кальцію у крові.

Посилення виділення кальцію з калом у самок дослідних груп, а також затримка виділення кальцію з сечею у самців може вказувати на порушення всмоктування кальцію в слизовій оболонці тонкої кишки. Тому на наступному етапі роботи ми провели дослідження всмоктування кальцію в тонкому кишечнику щурів (табл. 3.6). Результати дослідження показують суттєве зниження рівня всмоктування кальцію на тлі хронічної алкогольної інтоксикації у обох статей: у самців на 22,3 % ( $p < 0,05$ ), у самок алкогольної групи цей показник змінився у меншому ступені – на 15,7 % ( $p < 0,05$  і  $p_1 < 0,05$ ).

Таблиця 3.6

**Всмоктування кальцію в тонкому кишечнику щурів при хронічній  
алкогольній інтоксикації ( $\bar{x} \pm SE$ )**

Група	самці ♂		самки ♀	
	інтактна (n=3)	дослідна (n=3)	інтактна (n=3)	дослідна (n=3)
Введено	3,059	3,059	3,059	3,059
Залишок	$0,68 \pm 0,13$	$1,21 \pm 0,28$	$0,51 \pm 0,07$	$0,91 \pm 0,03$
Всмоктування, ммоль	$2,38 \pm 0,09$	$1,85 \pm 0,07$ $p < 0,05$	$2,55 \pm 0,07$ $p_1 > 0,05$	$2,15 \pm 0,03$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$

Примітка:  $p$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у інтактній групі;  $p_1$  – вірогідність різниці показників у самок і самців

При аналізі отриманих результатів щодо виведення кальцію з сечею і калом та всмоктування кальцію в тонкому кишечнику, можна побачити, що зниження всмоктування кальцію у тонкому кишечнику самців алкогольної групи корелює з меншою кількістю виведеного кальцію із сечею. У самок алкогольної групи також знижений рівень абсорбції кальцію в слизовій

оболонці тонкого кишечника, та більше виражено виведення кальцію з калом. Таким чином, можна вважати, що у самців при алкогольної інтоксикації екскреція кальцію з сечею зменшувалася завдяки посиленню реабсорбції у нирках, тоді як у самок цього не спостерігали і кальцій у більшому ступені виводився у самок як з сечею ( $p_1 < 0,05$ ), так і з калом ( $p_1 < 0,05$ ).

Загалом у алкоголізованих самців кількість виведеного кальцію з організму була менше ніж у самок алкогольної групи ( $p_1 < 0,05$ ), що розглядається як компенсаторна реакція на зниження його всмоктування у тонкій кишці ( $p < 0,05$ ), тобто кальцій у них зберігався завдяки зниженої екскреції. А у самок внаслідок хронічної алкоголізації констатуємо гірше засвоєння кальцію ( $p_1 < 0,05$ ) тому, що при зменшенні всмоктування у тонкій кишці цей елемент значніше ніж у самців виводився з сечею і калом ( $p < 0,05$ ;  $p_1 < 0,05$ ).

Порушення всмоктування, засвоєння та виведення кальцію у щурів з алкогольною інтоксикацією дозволяють припустити у них розвиток порушення процесів всмоктування внаслідок патологічних змін в травному тракті [15, 29]. Тому на наступному етапі проводили дослідження показників, які характеризують стан запалення, антимікробного захисту та мікробної контамінації у слизових оболонках шлунково-кишкового тракту.

### **3.2.2 Дослідження активності лізоциму та уреаз в слизових оболонках ШКТ.**

Визначали активність лізоциму, який має антимікробну дію та має здатність руйнувати клітинні стінки бактерій, в слизових оболонках шлунково-кишкового тракту.

У досліджуваних відділах травного тракту активність лізоциму достовірно зменшилась при тривалій дії алкоголю ( $p < 0,05$ ; табл. 3.7). У слизовій оболонці ротової порожнини самців алкогольної групи активність лізоциму зменшилась на 32,3 %, у самок – на 26,4 %, у слизовій оболонці

тонкої кишки у самців знизилась на 38,5 % а у самок – на 33,8 %, у слизовій оболонці товстої кишки у самців зменшилась на 70,0 %, у самок – на 69,2 %. При цьому у слизовій оболонці шлунку як самок, так і самців після алкогольної інтоксикації активність лізоциму не визначалась взагалі. Порівняння активності лізоциму в самців і самок показало достовірні відмінності показнику лише в слизовій оболонці тонкої ( $p_1 < 0,05$ ), де активність лізоциму більш знизилася у самців алкоголізованої групи.

Таблиця 3.7

**Активність лізоциму в слизових оболонках травного тракту щурів при хронічній алкогольній інтоксикації, од/кг ( $x \pm SE$ )**

Слизова оболонка	самці ♂		самки ♀	
	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)
порожнини рота	99 ± 8	67 ± 4 $p < 0,05$	87 ± 4 $p_1 > 0,05$	64 ± 3 $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$
шлунку	18 ± 2	0 $p < 0,05$	24 ± 2 $p_1 < 0,05$	0 $p < 0,05$
тонкої кишки	130 ± 7	80 ± 4 $p < 0,05$	145 ± 7 $p_1 > 0,05$	96 ± 6 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
товстої кишки	10 ± 0,9	3 ± 0,2 $p < 0,05$	13 ± 0,6 $p_1 > 0,05$	4 ± 0,2 $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$

Примітка: p – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у інтактній групі;  $p_1$  – вірогідність різниці показників у самок і самців

Зменшення активності лізоциму у слизових оболонках травного тракту стало наслідком збільшення активності уреаз, яка є продуктом умовно-патогенної мікробіоти (табл. 3.8). Активність уреаз достовірно збільшилась при хронічній алкогольній інтоксикації у всіх досліджуваних відділах травного тракту, за винятком слизової оболонки ротової порожнини самиць

та слизової оболонки товстої кишки самців ( $p > 0,05$ ). У слизовій оболонці ротової порожнини самців алкогольної групи активність уреазы збільшилась на 52,5 %, у слизовій оболонці шлунку у самців зросла на 139,5 %, у самок – на 81,6 %, у слизовій оболонці тонкої кишки у самців збільшилась на 27,8 %, у самок – на 21,3 %, у слизовій оболонці товстої кишки у самок збільшилась на 43,6 %, у самців не змінилась. При порівнянні активності уреазы у слизових оболонках травного тракту самців і самок дослідних груп не встановлено відмінностей показнику між статями ( $p_1 > 0,05$ ).

Таблиця 3.8

**Активність уреазы в слизових оболонках травного тракту щурів при хронічній алкогольній інтоксикації, мкат/кг ( $\bar{x} \pm SE$ )**

Слизова оболонка	самці ♂		самки ♀	
	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)
порожнини рота	$0,61 \pm 0,05$	$0,93 \pm 0,06$ $p < 0,05$	$0,67 \pm 0,07$ $p_1 > 0,05$	$0,82 \pm 0,07$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$
шлунку	$0,81 \pm 0,08$	$1,94 \pm 0,33$ $p < 0,05$	$0,76 \pm 0,07$ $p_1 > 0,05$	$1,38 \pm 0,12$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$
тонкої кишки	$3,06 \pm 0,08$	$3,91 \pm 0,12$ $p < 0,05$	$3,33 \pm 0,13$ $p_1 > 0,05$	$4,04 \pm 0,12$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$
товстої кишки	$3,27 \pm 0,31$	$4,20 \pm 0,35$ $p > 0,05$	$3,44 \pm 0,58$ $p_1 > 0,05$	$4,94 \pm 0,26$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$

Примітка:  $p$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у інтактній групі;  $p_1$  – вірогідність різниці показників у самок і самців

За рівнем активності уреазы та лізоциму у слизових оболонках шлунково-кишкового тракту щурів розраховували ступінь дисбіозу (табл. 3.9). В нормі ступінь дисбіозу дорівнює 1.

Таблиця 3.9

**Ступінь дисбіозу в слизових оболонках травного тракту щурів при  
хронічній алкогольній інтоксикації, ум.од ( $\bar{x} \pm SE$ )**

Слизова оболонка	самці ♂		самки ♀	
	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)
порожнини рота	1,00 ± 0,04	2,25 ± 0,15 p < 0,05	1,01 ± 0,02	1,66 ± 0,10 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
шлунку	-	-	-	-
тонкої кишки	1,01 ± 0,03	2,08 ± 0,14 p < 0,05	1,02 ± 0,06	1,83 ± 0,09 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
товстої кишки	1,01 ± 0,03	4,28 ± 0,13 p < 0,05	1,02 ± 0,05	4,67 ± 0,11 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05

Примітка: p – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у інтактній групі; p<sub>1</sub> – вірогідність різниці показників у самок і самців

В групах тварин, які отримували алкоголь, ступінь дисбіозу зріс в декілька разів, що вказує на дисбаланс між кількістю нормобіоти і умовно-патогенних бактерій в слизових оболонках шлунково-кишкового тракту обох статей. Так, у слизових оболонках порожнини рота та тонкої кишки ступінь дисбіозу збільшився приблизно однаково – у 1,66-2,25 разів (p < 0,05). Максимальні зміни цього показнику зареєстровані у слизовій оболонці товстої кишки: збільшення у 4,28 разів у самців і у 4,67 у самок (p < 0,05).

При порівнянні ступеню дисбіозу алкоголізованих тварин, нами відмічене більш значне підвищення показнику в слизовій оболонці ротової порожнини самців (p<sub>1</sub> < 0,05). Така різниця обумовлена більш суттєвим зростом активності уреаз в слизовій оболонці порожнини рота самців – на 52,5 % при відсутності достовірної зміни активності ферменту у самок. Підвищення ступеню дисбіозу у слизовій оболонці тонкої кишки обох статей внаслідок алкоголізації було однаковим (p<sub>1</sub> > 0,05). В слизовій оболонці

товстої кишки самок дослідної групи ступінь дисбіозу був вищим ніж у самців ( $p_1 < 0,05$ ) завдяки більш значному підвищенню активності уреазы - на 43,6 % в порівнянні зі збільшенням цього маркера на 28,4 % у слизовій оболонці товстої кишки самців.

### **3.2.3 Визначення активності еластази та кислій фосфатази в ШКТ, печінці та сироватці щурів при вживанні алкоголю.**

Результати визначення активності еластази у різних відділах травного тракту і сироватці крові щурів після тривалого вживання алкоголю наведено в таблиці 3.10.

Так, після тривалого введення етанолу активність еластази збільшилась у слизовій оболонці ротової порожнини на 50,2 % у самок, у слизовій оболонці шлунку – на 55,5 % у самців та на 30,3 % у самок, в печінці – на 29,0 % у самців та на 20,0 % у самок, в сироватці крові – на 71,7 % у самців та на 40,7 % у самок. Збільшення активності еластази внаслідок тривалого прийому етанолу було достовірним у цих відділах як у самців, так і у самок щурів ( $p < 0,05$ ). Активність еластази у слизовій оболонці шлунку та в печінці алкоголізованих самців була достовірно більшою ніж у самок ( $p_1 < 0,05$ ).

В слизових оболонках тонкої та товстої кишки самців та самок і слизовій оболонці ротової порожнини самців активність ферменту не змінилась після тривалого вживання алкоголю ( $p > 0,05$ ).

Оскільки еластаза є ферментом нейтрофільного походження, рівень її активності відображає ступінь скупченості лейкоцитів у тканинах в результаті розвитку запального процесу. Крім того, наслідком збільшення активності еластази буде порушення еластичних волокон, що приведе до зростання деструктивних процесів у слизових оболонках травного тракту та печінки щурів після тривалого введення етанолу. Висока активність еластази у сироватці крові щурів, які отримували алкоголь, свідчить про генералізований характер запалення у цих тварин.

Таблиця 3.10

**Активність еластази в слизових оболонках травного тракту і сироватці крові щурів при хронічній алкогольній інтоксикації, мкат/кг, сироватка - мкат/л ( $\bar{x} \pm SE$ )**

Слизова оболонка	самці ♂		самки ♀	
	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)
порожнини рота	60,6 ± 5,7	78,3 ± 5,6 p > 0,05	59,2 ± 2,6 p <sub>1</sub> > 0,05	88,9 ± 5,8 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
шлунку	99,4 ± 3,9	154,6 ± 12,6 p < 0,05	113,9 ± 3,2 p <sub>1</sub> < 0,05	148,4 ± 12,8 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
тонкої кишки	912,9 ± 44,4	982,0 ± 75,2 p > 0,05	1033,9 ± 24,1 p <sub>1</sub> < 0,05	935,8 ± 88,9 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
товстої кишки	120,0 ± 8,3	105,9 ± 8,1 p > 0,05	88,8 ± 4,9 p <sub>1</sub> < 0,05	90,3 ± 4,0 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
печінка	360,2 ± 14,8	464,6 ± 21,4 p < 0,05	399,8 ± 9,2 p <sub>1</sub> < 0,05	479,8 ± 11,9 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
сироватка	155,7 ± 11,4	267,3 ± 20,8 p < 0,05	156,2 ± 8,9 p <sub>1</sub> > 0,05	219,8 ± 14,8 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05

Примітка: p – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у інтактній групі; p<sub>1</sub> – вірогідність різниці показників у самок і самців

За нашими даними показали, що у слизових оболонках різних відділів травного тракту та печінці щурів, яким тривало вводили етанол, виявлено достовірне збільшення активності кислої фосфатази (таблиця 3.11).

Статистичне значиме збільшення активності кислої фосфатази відбулось в слизовій оболонці ротовій порожнини на 47,4 % у самців та на 58,6 % у самок, у слизовій оболонці шлунку – на 30,3 % у самців та на 22,7 % у самок, у слизовій оболонці тонкої кишки – на 37,4 % у самців та на 35,3 %

у самок, у слизовій оболонці товстої кишки – на 40,4 % у самців та на 41,1% у самок, в печінці – на 112,6 % у самців та на 57,4 % у самок. Підвищення активності ферменту внаслідок тривалого прийому етанолу було достовірно значущим у всіх відділах травного тракту самців та самок щурів ( $p < 0,05$ ).

На тлі підвищення активності кислої фосфатази в досліджуваних відділах ШКТ та печінці у обох статей необхідно відмітити, що найбільше збільшення відбулось у печінці самців ( $p_1 < 0,05$ ).

Таблиця 3.11

**Активність кислої фосфатази в слизових оболонках травного тракту і сироватці крові щурів при хронічній алкогольній інтоксикації, мкат/кг, сироватка - мкат/л ( $\bar{x} \pm SE$ )**

Слизова оболонка	самці ♂		самки ♀	
	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)
порожнини рота	13,5 ± 1,7	19,9 ± 1,3 $p < 0,05$	14,0 ± 1,2 $p_1 > 0,05$	22,2 ± 1,0 $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$
шлунку	30,0 ± 3,0	39,1 ± 1,0 $p < 0,05$	32,1 ± 1,6 $p_1 > 0,05$	39,4 ± 3,1 $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$
тонкої кишки	19,0 ± 1,8	26,1 ± 2,5 $p < 0,05$	21,5 ± 1,6 $p_1 > 0,05$	29,1 ± 1,3 $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$
товстої кишки	26,5 ± 2,2	37,2 ± 1,6 $p < 0,05$	21,4 ± 1,3 $p_1 < 0,05$	30,2 ± 1,4 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
печінка	75,6 ± 6,3	160,7 ± 3,8 $p < 0,05$	95,6 ± 2,7 $p_1 < 0,05$	150,5 ± 4,3 $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$

Примітка:  $p$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у інтактній групі;  $p_1$  – вірогідність різниці показників у самок і самців

Кисла фосфатаза відноситься до групи лізосомальних гідролаз, за рівнем активності якої можна судити про ступінь руйнування клітинних та



внутрішньоклітинних мембран. Активація кислій фосфатази поряд з іншими лізосомальними ферментами є первинною реакцією запалення, що запускає вироблення медіаторів, які у свою чергу обумовлюють вторинну альтерацію тканин на наступних етапах запального процесу.

Отже, за нашими даними, в слизових оболонках шлунково-кишкового тракту та печінці розвивається запалення (підвищення рівня активності еластази та кислій фосфатази).

В слизовій оболонці ротової порожнини це можна пояснити тим, що епітеліальні клітини порожнини рота зазвичай не експресують CYP2E1, але при хронічній алкогольній інтоксикації він активується і є додатковим джерелом АФО. Також епітеліальні клітини порожнини рота експресують АДГ і незначну кількість АЛДГ. В результаті епітеліальні клітини ротоглотки мають тенденцію накопичувати ацетальдегід. Цим можна частково пояснити, чому ротова порожнина та стравохід при вживанні алкоголю схильні в більшій мірі до канцерогенезу в порівнянні з іншими органами шлунково-кишкового тракту [141].

У шлунку розвиток запалення при впливі етанолу на шлунок відмічають й інші дослідники, що супроводжується набряком слизової, запаленням, супроводжується розвитком оксидативного стресу [197].

Результати нашого дослідження показують, що в тонкій та товстій кишці відбувається підвищення рівня активності лише кислій фосфатази, рівень активності еластази суттєво не збільшився.

В роботах інших досліджень показано, що розвиток запалення в слизовій оболонці кишечника впливає на склад та кількість бактерій та підвищення кишкової проникності, діючи на щільні контакти, десмосоми епітеліальних клітин. Розвитку ПОЛ в кишечнику сприяє активація CYP2E1 при хронічній алкогольній інтоксикації [57].

Отримані результати про активацію кислій фосфатази разом з еластазою свідчать про наявність запалення в слизових оболонках травного

тракту, а особливо у печінці щурів, які хронічно отримували етанол. Більшою мірою ця активація була виражена у самців дослідної групи.

### **3.2.4 Визначення активності каталази та концентрації МДА в ШКТ, печінці та сироватці щурів при вживанні алкоголю.**

В таблиці 3.12 представлені результати визначення активності каталази в слизових оболонках ШКТ, печінці та сироватці крові.

В слизовій оболонці ротової порожнини, шлунку самців та самок щурів активність каталази не змінилась ( $p > 0,05$ ). В слизовій оболонці тонкої кишки активність каталази зменшилась у самців на 25,0 % та на 24,4 % у самок ( $p < 0,05$ ), в слизовій оболонці товстої кишки – у самок на 16,1 % ( $p < 0,05$ ), а у самців не змінилась ( $p > 0,05$ ). В сироватці активність ферменту зменшилась у самців на 18,2 %, а у самок – 25,0 % ( $p < 0,05$ ). При порівнянні зміни активності каталази у самців та самок не було виявлено достовірної різниці між статями.

В печінці алкоголізованих самців та самок активність каталази не змінилась ( $p > 0,05$ ).

В дослідженні Kołota A. et al. при шеститижневій інтоксикації етиловим спиртом молодих щурів, навпаки, відмічають зменшення активності каталази в печінці [118]. Ramírez et al. [123] підтверджують зниження активності каталази в клітинах печінки за умов алкогольної інтоксикації. Kołota A. et al. вказують на розвиток оксидативного стресу та запалення печінки у молодих щурів при тривалій алкогольній інтоксикації [157].

Каталаза є ферментом антиоксидантного захисту, присутня майже у всіх органах, в основному, в пероксисомах та каталізує дисмутацію гідроген пероксиду до води та молекулярного кисню. Зменшення активності каталази в слизових оболонках ШКТ (окрім ротової порожнини) та сироватці крові тварин при хронічному вживанні алкоголю свідчить про порушення оксидативного балансу клітин, а саме пригнічення перетворення гідроген

пероксиду до води та молекулярного кисню. Наслідком цього буде накопичення гідроген пероксиду в тканинах, що, враховуючи агресивність цієї речовини, є передумовою пошкодження мембран клітин тканин та розвитку патологічних станів після тривалого вживання етанолу. Низьку активність каталази спостерігали дослідники при різних патологіях ШКТ: колоректальний рак, аденокарцинома шлунку, при хворобі Крона [193].

Таблиця 3.12

**Активність каталази в слизових оболонках травного тракту і сироватці крові щурів при хронічній алкогольній інтоксикації, мкат/кг, сироватка - мкат/л ( $x \pm SE$ )**

Слизова оболонка	самці ♂		самки ♀	
	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)
порожнини рота	$7,7 \pm 0,45$	$10,2 \pm 0,48$ $p > 0,05$	$6,6 \pm 0,28$ $p_1 > 0,05$	$9,1 \pm 0,40$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$
шлунку	$3,17 \pm 0,19$	$2,65 \pm 0,20$ $p > 0,05$	$3,41 \pm 0,29$ $p_1 > 0,05$	$2,58 \pm 0,17$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$
тонкої кишки	$3,84 \pm 0,17$	$2,88 \pm 0,18$ $p < 0,05$	$3,77 \pm 0,23$ $p_1 > 0,05$	$2,85 \pm 0,08$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$
товстої кишки	$4,07 \pm 0,12$	$3,43 \pm 0,12$ $p > 0,05$	$3,42 \pm 0,16$ $p_1 < 0,05$	$2,87 \pm 0,06$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
печінка	$5,65 \pm 0,09$	$5,95 \pm 0,12$ $p > 0,05$	$5,77 \pm 0,11$ $p_1 > 0,05$	$5,84 \pm 0,09$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$
сироватка	$0,11 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,01$ $p < 0,05$	$0,12 \pm 0,004$ $p_1 > 0,05$	$0,09 \pm 0,01$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$

Примітка: p – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у інтактній групі;  $p_1$  – вірогідність різниці показників у самок і самців

Зареєстроване нами підвищення активності каталази у слизовій оболонці порожнини рота може бути адаптивним процесом в результаті збільшення вироблення гідроген пероксиду, як це відбувається в ЦНС тварин, які вживали високі дози алкоголю [20, 24, 114] та в гепатоцитах при алкогольній інтоксикації [109]. Взагалі підвищена активність каталази у тканинах після впливу етанолу передбачає підвищене окиснення етанолу та утворення ацетальдегіду [68, 193].

Ліпіди, ДНК, білки можуть модифікуватись при взаємодії з АФО, утворюючи стабільні сполуки, які можна використовувати в якості маркерів оксидативного стресу. Серед продуктів окиснення ліпідів, які беруть участь у багатьох патологічних процесах, найбільш вивчені 4-гідрокси-транс-2-ноненаль та МДА.

Згідно даних із таблиці 3.13, концентрація МДА в слизовій оболонці ротової порожнини дослідної групи самців збільшилась на 20,3 % та на 29,5 % у самок, в слизовій оболонці тонкої кишки – на 50,9 % у самців та на 114,6 % у самок, в слизовій оболонці товстої кишки – на 50,2 % у самок, в печінці – на 33,7 % у самців та на 39,4 % у самок ( $p < 0,05$ ). В слизовій оболонці шлунку самців та самок, слизовій оболонці товстого кишечника самців та в сироватці обох статей концентрація МДА не змінилась ( $p > 0,05$ ).

При порівнянні ступеню підвищення рівня МДА у різних тканинах під впливом алкоголю, необхідно звернути увагу на те, що найвищі зміни значень МДА, а значить і найбільша інтенсивність оксидативного стресу, зареєстровані у слизовій оболонці тонкої кишки самок та самців, а найнижчі – у слизовій оболонці порожнини рота тварин. Крім того, у більшості тканин самців цей показник оксидативного стресу збільшився меншою мірою, ніж у відповідних тканинах самок, а саме в слизовій оболонці тонкої кишки ( $p_1 < 0,02$ ) та печінці ( $p_1 < 0,05$ ). Розвиток оксидативного стресу при алкогольній інтоксикації призводить до підвищенням проникності кишечника та порушення цілісності кишкового бар'єру [11, 13, 49, 57, 138].

Таблиця 3.13

**Вміст МДА в слизових оболонках травного тракту і сироватці крові шурів при хронічній алкогольній інтоксикації, ммоль/кг, сироватка - ммоль/л ( $\bar{x} \pm SE$ )**

Слизова оболонка	самці ♂		самки ♀	
	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)
порожнини рота	35,0 ± 1,2	42,1 ± 1,8 p < 0,05	27,1 ± 2,1 p <sub>1</sub> < 0,05	35,1 ± 1,8 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
шлунку	5,90 ± 0,19	7,25 ± 0,11 p > 0,05	6,34 ± 0,49 p <sub>1</sub> > 0,05	8,50 ± 0,33 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,02
тонкої кишки	2,67 ± 0,16	4,03 ± 0,49 p < 0,05	2,05 ± 0,19 p <sub>1</sub> < 0,05	4,40 ± 0,47 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
товстої кишки	2,78 ± 0,31	3,66 ± 0,24 p > 0,05	2,49 ± 0,18 p <sub>1</sub> > 0,05	3,74 ± 0,35 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
печінка	44,8 ± 2,0	59,9 ± 1,9 p < 0,05	39,8 ± 1,4 p <sub>1</sub> < 0,05	55,5 ± 2,9 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
сироватка	0,54 ± 0,03	0,65 ± 0,01 p > 0,05	0,60 ± 0,07 p <sub>1</sub> > 0,05	0,80 ± 0,07 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05

Примітка: p – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у інтактній групі; p<sub>1</sub> – вірогідність різниці показників у самок і самців

Відомо, що між антиоксидантами та прооксидантами у тканинах існує баланс, який найбільш чітко відображає АПІ, результати розрахунку якого представлені у таблиці 3.14. З даних таблиці бачимо збільшення АПІ у слизовій оболонці ротової порожнини на 10,0 % у самців та зменшення на 37,0 % у самиць, які вживали етанол. В слизових оболонках ШКТ, печінці та сироватці індекс АПІ зменшився на 21,4-50,3 % у самців та на 27,6-64,8 % у самиць. Найбільш знизився індекс АПІ в слизовій оболонці тонкої кишки самців та самок – на 50,3 % та на 64,8 %, відповідно. Всі зменшення індексу АПІ в травному тракті і сироватці тварин внаслідок дії алкоголю були достовірно значущі (p < 0,05).

Результати таблиці 3.14 вказують на зсув антиоксидантно-прооксидантного балансу у бік активації пероксидації ліпідів та накопичення прооксидантів у тканинах щурів, які довго вживали алкоголь, а значить і наявність оксидативного стресу. Найбільш активний розвиток оксидативного стресу під впливом етанолу відзначено у слизових оболонках шлунку, тонкої та товстої кишки щурів. Більш стійкими тканинами до дії алкоголю виявилися слизова оболонка порожнини рота.

Таблиця 3.14

**Індекс АПІ в слизових оболонках травного тракту і сироватці крові щурів при хронічній алкогольній інтоксикації, % ( $\bar{x} \pm SE$ )**

Слизова оболонка	самці ♂		самки ♀	
	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)
порожнини рота	22,0 ± 1,1	24,2 ± 0,8 p > 0,05	41,1 ± 0,7 p <sub>1</sub> < 0,05	25,9 ± 1,1 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
шлунку	53,7 ± 3,5	36,8 ± 1,3 p < 0,05	53,8 ± 1,8 p <sub>1</sub> > 0,05	30,4 ± 2,5 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
тонкої кишки	143,8 ± 8,8	71,5 ± 2,4 p < 0,05	183,9 ± 19,7 p <sub>1</sub> > 0,05	64,8 ± 3,5 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
товстої кишки	146,4 ± 4,7	93,7 ± 11,0 p < 0,05	137,3 ± 10,5 p <sub>1</sub> > 0,05	76,7 ± 2,0 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
печінка	12,6 ± 0,2	9,9 ± 0,3 p < 0,05	14,5 ± 0,2 p <sub>1</sub> < 0,05	10,5 ± 0,1 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
сироватка	20,4 ± 1,2	13,8 ± 1,2 p < 0,05	20,0 ± 0,4 p <sub>1</sub> > 0,05	11,3 ± 0,5 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05

Примітка: p – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у інтактній групі; p<sub>1</sub> – вірогідність різниці показників у самок і самців

Розвиток оксидативного стресу був більшою мірою виражений у самок щурів в слизових оболонках ротової порожнини ( $p_1 < 0,05$ ), шлунку ( $p_1 < 0,05$ ), в печінці ( $p_1 < 0,05$ ) та сироватці ( $p_1 < 0,05$ ). Значніше зниження рівня АПІ у самок в порівнянні з самцями є наслідком більшого накопичення МДА в слизових оболонках ШКТ самок в результаті розвитку ПОЛ.

Таким чином, проведене дослідження встановило зниження АПІ в слизових оболонках травного тракту (окрім слизової оболонки ротової порожнини самців), печінці та сироватці крові після тривалого вживання етанолу як самцями, так і самицями щурів. Зниження активності каталази під впливом алкоголю супроводжувалося збільшенням концентрації МДА в травному тракті тварин. Отримані результати вказують на пригнічення антиоксидантного захисту та розвиток оксидативного стресу внаслідок хронічного вживання алкоголю більшою мірою виражених у самок щурів.

### **3.3 Вплив хронічної алкогольної інтоксикації на стан антиоксидантно-прооксидантної системи головного мозку щурів**

В таблиці 3.15 наведено результати визначення активності каталази та вмісту МДА в мозку самців та самиць щурів. Активність каталази знизилась на 33,3 % у самців та на 31,9 % у самиць при хронічному вживанні алкоголю ( $p < 0,05$ ). Зниження активності каталази може призвести до накопичення пероксиду водню, що викликає руйнування клітинних структур, в тому числі і в нервовій системі.

Концентрація МДА в мозку щурів при вживанні алкоголю зросла у самців на 68,8 % ( $p < 0,05$ ) на 72,6 % у самиць ( $p < 0,05$ ).

Активність каталази та вміст МДА у мозку інтактних самців та самок статистично відрізнялись. Так, у мозку інтактних самок активність каталази була вище ( $p_1 < 0,05$ ), а вміст МДА нижче ( $p_1 < 0,05$ ) ніж у мозку інтактних самців. Зміна активності каталази та вмісту МДА в мозку щурів обох статей, була односпрямованою внаслідок хронічного прийому алкоголю.

Таблиця 3.15

**Показники антиоксидантно-прооксидантного стану головного мозку щурів при хронічній алкогольній інтоксикації ( $\bar{x} \pm SE$ )**

Показник	самці ♂		самки ♀	
	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)	інтактна (n=7)	дослідна (n=7)
Активність каталази, мкат/кг	$1,62 \pm 0,07$	$1,08 \pm 0,05$ $p < 0,05$	$1,91 \pm 0,12$ $p_1 < 0,05$	$1,30 \pm 0,09$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
Концентрація МДА, ммоль/кг	$25,3 \pm 0,5$	$42,7 \pm 1,6$ $p < 0,05$	$17,5 \pm 1,3$ $p_1 < 0,05$	$30,2 \pm 2,6$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
АПІ	$0,64 \pm 0,10$	$0,25 \pm 0,05$ $p < 0,05$	$1,09 \pm 0,09$ $p_1 < 0,05$	$0,43 \pm 0,11$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$

Примітка:  $p$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у інтактній групі;  $p_1$  – вірогідність різниці показників у самок і самців

При порівнянні показників самців та самок відмічена достовірна різниця між інтактними та дослідними групами ( $p_1 < 0,05$ ).

АПІ в головному мозку самців щурів на тлі алкогольної інтоксикації став нижчим на 60,9 % ( $p < 0,05$ ), у самок – на 60,6 % ( $p < 0,05$ ).

За отриманими результатами можна зробити висновок про виснаження антиоксидантної системи і активацію ПОЛ у головному мозку щурів, які тривалий час приймали етанол.

Отже, проведене дослідження дозволяє зробити наступні висновки. Хронічна алкогольна інтоксикація у самок і самців лабораторних щурів призводить до:

- зниження якості кісткової тканини (атрофія альвеолярного відростку, збільшення кількості каріозних уражень, зменшення органічної частини кістки у самок щурів);

- розвитку оксидативного стресу в щелепах (збільшення вмісту МДА на тлі більш низької активності ферментів антиоксидантного захисту), який більшою мірою виражений у самок щурів; у самців більшою мірою змінились показники кісткоутворення та резорбції кісткової тканини;



– порушення виведення та засвоєння кальцію у щурів. У самців знизився рівень загальної кількості виведеного кальцію як компенсаторна реакція на зниження всмоктування у тонкій кишці. У самок гірше засвоєння кальцію тому, що при зменшенні всмоктування у тонкій кишці цей елемент значно виводився з калом;

– збільшення ступеню дисбіозу в слизових оболонках ротової порожнини, тонкої та товстої кишки самців та самиць щурів, що є наслідком зменшення активності лізоциму при збільшенні активності уреаз;

– розвитку запальних процесів в слизових оболонках ШКТ та печінці, що більшою мірою виражене у самців дослідної групи;

– пригнічення антиоксидантного захисту та розвитку оксидативного стресу в слизових оболонках ШКТ, печінці та сироватці щурів, який більшою мірою виражений у самок щурів, які хронічно вживали алкоголь.

Отже, отримані нами результати дозволяють припустити, що саме оксидативний стрес (а не запальні та дисбіотичні процеси) при хронічній алкогольній інтоксикації у травному тракті є причиною збільшення екскреції кальцію, а оксидативний стрес у кістковій тканині викликає погіршення якості кісток.

Враховуючи головну роль оксидативного стресу у кістковій та травній системах під впливом тривалої алкоголізації, ми запропонували способи корекції наслідків прооксидантного впливу етанолу на кісткову систему за допомогою комплексів препаратів з високим вмістом як неферментних антиоксидантів (кверцетин, аскорбінова кислота), так і кофакторів антиоксидантних ферментів (цинк, марганець, селен). Враховуючі збільшення екскреції кальцію внаслідок алкогольної інтоксикації, основою першого комплексу обрали кальцій з раковин устриць з вітаміном D, основу другого склав препарат Мінерол та вітаміни D і C для кращого засвоєння кальцію. Дослідженням ефективності цих комплексів у щурів при тривалій алкоголізації присвячено наступний розділ.

## РОЗДІЛ 4

### ВИЗНАЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОФІЛАКТИКИ ПОРУШЕНЬ В КІСТКОВІЙ ТА ТРАВНІЙ СИСТЕМАХ ЩУРІВ ПРИ ХРОНІЧНІЙ АЛКОГОЛЬНІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ

**4.1 Дослідження стану кісткової тканини самок щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією на тлі застосування комплексів з ціллю профілактики порушень**

#### 4.1.1 Атрофія альвеолярного відростку щурів

Ступінь атрофії альвеолярного відростку щелеп самок, у яких моделювали алкогольну інтоксикацію, має явну тенденцію до збільшення, а саме підвищується на 13,2 % ( $p > 0,05$ ), як показано у таблиці 4.1. Тобто підтверджується посилення резорбційних процесів у кістковій тканині щелеп у самок 2-ої групи, яка хронічно вживала алкоголь, що було нами встановлено у першому експерименті. Менш виражена резорбція кісткової тканини щелеп у цьому досліді в порівнянні з результатами першого етапу дослідження пов'язана, на наш погляд, з різним віком тварин на початок експерименту.

Таблиця 4.1

#### Ступінь атрофії альвеолярного відростку самиць щурів при хронічній алкогольній інтоксикації та її профілактики ( $\bar{x} \pm SE$ )

Показник	Група 1, контрольна (n=8)	Група 2, алкогольна інтоксикація (n=10)	Група 3, алкогольна інтоксикація + МВК (n=8)	Група 4, алкогольна інтоксикація + Мінерол (n=8)
Атрофія альвеолярного відростку, %	29,74 ± 1,84	33,66 ± 0,12 $p < 0,05$	27,68 ± 0,61 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	33,50 ± 1,26 $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$

Примітка:  $p$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 1;  $p_1$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 2

Профілактичне введення мінерально-вітамінного комплексу на основі кальцію з раковин устриць (МВК) сприяло зменшенню ступеня атрофії на 17,8 % в порівнянні з показником у групі з алкогольною інтоксикацією ( $p < 0,05$ ), що свідчить про здатність препаратів комплексу гальмувати резорбційні процеси у кістковій тканині щелеп щурів на тлі хронічного прийому етанолу.

Щоденне введення комплексу «Мінерол» не вплинуло на ступінь атрофії альвеолярного відростку тварин 4-ої групи з хронічною алкоголізацією. Результати таблиці 4.1 демонструють посилення резорбції кісткової тканини щелеп щурів під хронічним впливом етанолу та виражені остеопротекторні властивості МВК.

#### **4.1.2 Щільність та вміст мінерального та органічного компонентів в стегнових кістках та поперекових хребцях самиць щурів**

У сучасній літературі немає єдиної думки щодо впливу алкоголю на стан, а саме щільність та склад, кісткової тканини. Є данні про зменшення щільності та жорсткості трубчастих кісток та хребців при хронічній алкогольній інтоксикації [58, 60, 65, 68, 182], а деякі дослідники не встановили такого ефекту після тривалого прийому алкоголю [52, 100, 205]. Ми проводили визначення щільності стегнових кісток та поперекових хребців самиць щурів. Розраховували також вміст мінеральної та органічної частки кісткової тканини цих кісток самиць щурів. Результати морфометричних досліджень представлено в таблиці 4.2 (стегнові кістки) та таблиці 4.3 (поперекові хребці).

Проведене дослідження виявило тенденцію до зниження щільності стегнових кісток тварин 2-ої групи з алкогольною інтоксикацією (хоча  $p > 0,05$ ). Маса, об'єм та вміст мінерально-органічного компоненту кістки у щурів з хронічною алкоголізацією не відрізнялися від відповідних показників у контрольних тварин ( $p > 0,05$ ). А у вмісті мінеральної та органічної частки кісткової тканини щурів з хронічною алкоголізацією

відбувся їх перерозподіл: зниження мінерального компоненту ( $p < 0,05$ ) при деякому збільшенні органічного компоненту. На першому етапі при алкоголізації одномісячних на початку дослідження самок щурів ми отримали протилежні результати, вміст органічного компоненту зменшився, а мінерального збільшився. Вважаємо, що ця різниця пов'язана не лише з тривалістю використання алкоголю та його концентрацією, але і з віком тварин на початок експерименту.

Збільшення органічного компоненту свідчить про зменшення ступеня мінералізації білкової матриці кісткової тканини у щурів, які тривало вживали етанол, та може пояснити тенденцію до зниження щільності стегнових кісток у цих тварин (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

**Морфометричні показники стегнових кісток самиць щурів при хронічній алкогольній інтоксикації та її профілактики ( $\bar{x} \pm SE$ )**

Показник	Група 1, контрольна (n=8)	Група 2, алкогольна інтоксикація (n=10)	Група 3, алкогольна інтоксикація + МВК (n=8)	Група 4, алкогольна інтоксикація + Мінерол (n=8)
Щільність, мкг/мм <sup>3</sup>	1633,6 ± 5,3	1615,9 ± 6,2 $p > 0,05$	1623,6 ± 6,7 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	1605,9 ± 6,7 $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$
Маса, мг	617,0 ± 11,0	612,5 ± 11,9	589,6 ± 20,0	591,3 ± 14,7
Об'єм, мм <sup>3</sup>	377,6 ± 6,1	379,2 ± 8,1	363,4 ± 13,2	368,4 ± 10,1
Вміст МОК, %	70,07 ± 0,41	69,66 ± 0,30	70,12 ± 0,44	68,97 ± 0,38
Вміст МК, %	47,59 ± 0,26	46,20 ± 0,41 $p < 0,05$	46,61 ± 0,44 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	45,70 ± 0,42 $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$
Вміст ОК, %	22,48 ± 0,34	23,46 ± 0,27 $p > 0,05$	23,51 ± 0,47 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	23,28 ± 0,26 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$

Примітка:  $p$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 1;  $p_1$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 2

Щоденне введення щурам 3-ої групи мінерально-вітамінного комплексу на основі кальцію з раковин устриць не вплинуло на досліджувані показники, рівень яких зберігався таким же, як у тварин 2-ої групи, яким не проводили профілактику. При цьому профілактичний прийом комплексу «Мінерол» призвів до ще більшого зниження щільності стегнових кісток за рахунок зменшення мінерального компонента, що підтверджується змінами ( $p < 0,05$ , табл. 4.2). На нашу думку, це може бути наслідком виражених сорбційних властивостей Мінеролу та недостатньою кількістю у цьому комплексі основних мінеральних речовин, необхідних для ремоделювання кісткової тканини в умовах порушення її мінералізації при вживанні етанолу.

В поперекових хребцях щурів 2-ої групи хронічне введення алкоголю не призвело до змін в їх щільності, масі, об'ємі та вмісту мінерального/органічного компонентів ( $p > 0,05$ ). Профілактичне введення обох комплексів тваринам 3-ої та 4-ої груп також не мало істотного впливу на досліджувані морфометричні показники поперекових хребців (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

**Морфометричні показники поперекових хребців самиць щурів при хронічній алкогольній інтоксикації та її профілактики ( $\bar{x} \pm SE$ )**

Показник	Група 1, контрольна (n=8)	Група 2, алкогольна інтоксикація (n=10)	Група 3, алкогольна інтоксикація + МВК (n=8)	Група 4, алкогольна інтоксикація + Мінерол (n=8)
Щільність, мкг/мм <sup>3</sup>	1557,1 ± 7,4	1565,3 ± 5,2	1558,0 ± 10,4	1559,8 ± 7,5
Маса, мг	159,4 ± 3,6	158,2 ± 5,7	151,8 ± 5,6	163,5 ± 5,1
Об'єм, мм <sup>3</sup>	102,4 ± 2,4	101,1 ± 3,7	97,4 ± 3,6	104,9 ± 3,6
Вміст МОК, %	67,03 ± 0,37	67,33 ± 0,36	67,14 ± 0,62	67,41 ± 0,60
Вміст МК, %	42,23 ± 0,53	42,90 ± 0,33	42,24 ± 0,68	42,26 ± 0,42
Вміст ОК, %	24,80 ± 0,30	24,44 ± 0,28	24,90 ± 0,31	25,15 ± 0,45

Примітка: у всіх даних  $p > 0,05$

Підсумовуючи отримані результати по дослідженню морфометричних показників різних кісток щурів (табл. 4.1, 4.2 і 4.3), можна зробити висновок, що тривале введення етанолу негативно відображається на якості кісткової тканини, а саме – посилює резорбційні процеси, в першу чергу, у щелепах і в деякій мірі – у стегнових кістках самок щурів і не впливає на поперекові хребці. Така різна реакція окремих кісток у відповідь на дію алкоголю, ймовірно, пов'язана з їх структурою, а також різним функціональним навантаженням на досліджувані кістки. Щелепи і хребці представлені губчастою кістковою тканиною, яка є більш метаболічно активною, а стегнові кістки мають трубчасту структуру. У гризунів найбільш фізіологічно активними є щелепи та стегнові кістки при незначному навантаженні на поперекові хребці.

Щоденне введення шурам з хронічною алкогольною інтоксикацією мінерально-вітамінного комплексу на основі кальцію з раковин устриць сприяло покращенню порушених показників у кістках тварин, тобто виявило остеопротекторні властивості на відміну від комплексу «Мінерол», вживання якого погіршило стан стегнових кісток та не вплинуло на інші показники (збільшення атрофії альвеолярного відростку, зменшення вмісту мінерального компоненту).

#### **4.1.3 Аналіз сироватки крові щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією на тлі використання комплексів корекції**

На наступному етапі дослідження визначали деякі біохімічні показники сироватки крові щурів, значення яких наведено у таблиці 4.4. У 2-й групі тварин, у якої моделювали алкогольну інтоксикацію, активність лужної фосфатази збільшилась на 95,2 % ( $p < 0,05$ ). Лужна фосфатаза сироватці крові має кілька походжень: печінкове, з кісткової тканини, нирок, слизової оболонки тонкої кишки.

Таблиця 4.4

**Біохімічні показники сироватки самиць щурів при хронічній  
алкогольній інтоксикації та її профілактики ( $\bar{x} \pm SE$ )**

Показник	Група 1, контрольна (n=8)	Група 2, алкогольна інтоксикація (n=10)	Група 3, алкогольна інтоксикація + МВК (n=8)	Група 4, алкогольна інтоксикація + Мінерол (n=8)
Активність лужної фосфатази, мккат/л	0,890 $\pm$ 0,123	1,737 $\pm$ 0,175 p < 0,05	0,929 $\pm$ 0,069 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	1,201 $\pm$ 0,050 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
Активність АЛАТ, мккат/л	0,35 $\pm$ 0,023	0,42 $\pm$ 0,032 p > 0,05	0,38 $\pm$ 0,023 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	0,47 $\pm$ 0,021 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
Активність АсАТ, мккат/л	0,45 $\pm$ 0,032	0,51 $\pm$ 0,055 p > 0,05	0,44 $\pm$ 0,032 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05	0,52 $\pm$ 0,025 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
Вміст білірубину, мкмоль/л	1,86 $\pm$ 0,14	2,43 $\pm$ 0,10 p < 0,05	1,95 $\pm$ 0,08 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	2,16 $\pm$ 0,13 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
Вміст холестерину, ммоль/л	0,89 $\pm$ 0,028	1,31 $\pm$ 0,069 p < 0,05	0,84 $\pm$ 0,109 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	0,90 $\pm$ 0,095 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
Вміст тригліцеридів, ммоль/л	0,32 $\pm$ 0,02	0,55 $\pm$ 0,02 p < 0,05	0,41 $\pm$ 0,03 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	0,53 $\pm$ 0,03 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
Вміст кальцію, ммоль/л	2,026 $\pm$ 0,089	1,778 $\pm$ 0,050 p < 0,05	1,937 $\pm$ 0,100 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05	1,928 $\pm$ 0,085 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
Активність каталази, мккат/л	0,164 $\pm$ 0,010	0,102 $\pm$ 0,004 p < 0,05	0,143 $\pm$ 0,004 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	0,121 $\pm$ 0,004 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
Вміст МДА, ммоль/л	24,62 $\pm$ 0,93	29,23 $\pm$ 0,83 p < 0,05	24,33 $\pm$ 0,77 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	25,22 $\pm$ 0,73 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05

Примітка: p – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 1; p<sub>1</sub> – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 2

Підвищення активності лужної фосфатази, головним чином, спостерігається при холестази або кісткових захворюваннях, які пов'язані з

проліферацією остеобластів. Оскільки специфічну кісткову лужну фосфатазу, яка служить маркером остеобластів, окремо не визначали, підвищення активності загальної лужної фосфатази у сироватці крові щурів з хронічною алкоголізацією в нашому дослідженні, насамперед, може бути обумовлене токсичним впливом етанолу на печінку і розвитком явищ холестазу (табл. 4.4).

Профілактичне введення комплексів корекції щурам 3-ої та 4-ої груп призвело до зниження активності лужної фосфатази у сироватці крові тварин відносно показнику у групі алкогольної інтоксикації. Важливо підкреслити, що після прийому МВК активність лужної фосфатази нормалізувалася та відповідала значенням у сироватці крові контрольних щурів ( $p > 0,05$ ), а після застосування комплексу «Мінерол», незважаючи на зниження, цей маркер холестазу зберігався на достовірно високому рівні по відношенню до показнику в контрольній групі ( $p < 0,05$ , табл. 4.4). Це говорить про високу гепатопротекторну ефективність мінерально-вітамінного комплексу на основі кальцію з раковин устриць та недостатні профілактичні властивості комплексу «Мінерол» в умовах хронічної алкоголізації.

В таблиці 4.4 наведено результати визначення показників стану печінки алкоголізованих щурів: рівень активності аланінамінотрансферази, аспаратамінотрансферази та вмісту білірубіну. Активність аланінамінотрансферази статистично не відрізнялася в сироватці груп 1, 2 та 3. Відбувалося збільшення активності ферменту при вживанні комплексу «Мінерол» в 4-й групі на 34,3 % по відношенню до контрольної групи ( $p < 0,05$ ). Такий результат можна пояснити тим, що вживання комплексу «Мінерол» не попереджувало надходження ендотоксинів до печінки та зниження активності уреазы, про що ми будемо говорити далі.

Активність аспаратамінотрансферази в нашому дослідженні не змінилась у всіх досліджуваних групах ( $p > 0,05$ ).

При хронічній алкогольній інтоксикації відбувалося підвищення рівня білірубіну на 30,6 % в сироватці крові 2-ї групи в порівнянні з контрольною



( $p < 0,05$ ). Вживання МВК призвело до зниження вмісту білірубіну відносно групи алкогольної інтоксикації на 19,8 % ( $p < 0,05$ ), що відповідає рівню білірубіну в контрольній групі. Комплекс «Мінерол» був менш ефективним, рівень білірубіну в 4-й групі статистично не відрізняється від 2-ї групи ( $p > 0,05$ ).

Отже, із досліджуваних маркерів стану печінки при хронічній алкоголізації в сироватці крові тварин збільшився лише рівень білірубіну, а активність аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази суттєво не змінилася ( $p > 0,05$ ).

Вміст холестерину зріс у групі алкогольної інтоксикації на 47,2 % в порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ). Вживання комплексів корекції призвело до зниження вмісту холестерину до рівня в контрольній групі ( $p > 0,05$ ). Вживання МВК призвело до зниження вмісту холестерину на 35,9 %, а вживання комплексу «Мінерол» - на 31,3 % в порівнянні з показником у 2-й групі алкогольної інтоксикації ( $p < 0,05$ ).

Хронічна алкогольна інтоксикація також призвела до збільшення вмісту тригліцеридів в сироватці щурів при на 71,9 % ( $p < 0,05$ ). Вживання МВК призвело до зниження цього показнику на 25,5 % у порівнянні з 2-ю групою ( $p < 0,05$ ), але не досягло рівня контрольної ( $p < 0,05$ ). Введення комплексу «Мінерол» не мало позитивного впливу на рівень тригліцеридів в сироватці ( $p > 0,05$ ).

Отже, ураження алкоголем печінки призводить до порушення ліпідного обміну. Збільшення вмісту тригліцеридів в сироватці крові алкоголізованих тварин можливе завдяки порушенню ліпідного обміну у печінці на тлі вживання алкоголю, що призведе до підвищення їх синтезу в печінці, зниження рівня окислення жирних кислот або мобілізації жирних кислот з жирової тканини. Вживання МВК сприяло зменшенню підвищеного вмісту холестерину та тригліцеридів, а використання комплексу «Мінерол» вплинуло лише на рівень холестерину.

В сироватці крові самиць щурів визначали вміст кальцію. Хронічна алкогольна інтоксикація призвела до зниження рівня кальцію в сироватці щурів на 12,2 % ( $p < 0,05$ ). Рівень кальцію в крові є дуже стабільним гормонозалежним показником гомеостазу організму, тому його зниження на 12,2 % можна трактувати як певний дефіцит цього важливого елемента, що розвинувся внаслідок тривалого вживання алкоголю. В сироватці крові щурів, які отримували профілактичні комплекси, вміст кальцію був вище у середньому на 9,0 %, ніж показник у сироватці тварин з алкогольною інтоксикацією, що свідчить про позитивну дію комплексів на рівень кальцію у крові щурів при хронічному прийомі етанолу (табл. 4.4).

Активність каталази зменшилась у сироватці крові щурів 2-ої групи на 37,8 % в порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ), що говорить про виснаження антиоксидантних можливостей організму в умовах алкогольної інтоксикації (табл. 4.4). Введення комплексу корекції МВК призвело до збільшення активності каталази на 40,2 % в порівнянні з групою алкоголю ( $p < 0,05$ ), що вказує на антиоксидантні властивості цього комплексу, на відміну від комплексу «Мінерол» ( $p > 0,05$ ; табл. 4.4).

Підтвердженням розвитку загального оксидативного стресу в організмі щурів, які тривало приймали етанол, є збільшення вмісту МДА на 18,7 % в сироватці крові щурів 2-ої групи в порівнянні зі значенням в контрольній групі ( $p < 0,05$ ). Відбувається посилення ПОЛ при тривалому вживанні етанолу. Введення тваринам 3-ій та 4-ій груп комплексів корекції ефективно попереджувало збільшення концентрації МДА у сироватці тварин при хронічній алкогольній інтоксикації – рівень цього показника відповідав нормальним значенням в контрольній групі ( $p > 0,05$ , табл. 4.4). Результати дослідження активності каталази та вмісту МДА в сироватці крові підтверджують розвиток оксидативного стресу у щурів при хронічному вживанні алкоголю та антиоксидантні властивості профілактичних комплексів.

Отже, тривалий прийом алкоголю викликає явища холестази (підвищується рівень лужної фосфатази та білірубину), призводить до порушення ліпідного обміну, суттєво знижує рівень кальцію у крові та індукує оксидативний стрес. Застосування мінерально-вітамінного комплексу на основі кальцію з раковин устриць мало більш виражену ефективність в сироватці у зниженні рівня активності лужної фосфатази (на 46,5 %) та білірубину (на 19,8 %), зниженні рівня тригліцеридів на 25,5 %, в здатності відновлювати активність каталази (на 40,2 %) та знижувати вміст МДА (на 16,8 %). Тоді як комплекс «Мінерол» в умовах алкогольної інтоксикації змінював ці показники сироватки крові самок щурів у меншій мірі або не впливав взагалі (на знижену активність каталази, тригліцеридів). Обидва комплекси профілактики мали однаковий ефект в здатності збільшувати вміст кальцію в сироватці крові тварин, які тривало вживали алкоголь та знижувати рівень холестерину.

#### **4.1.4 Показники ремоделювання та стан антиоксидантно-прооксидантної системи стегнових кістках щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією при використанні комплексів корекції**

В таблиці 4.5 наведені результати досліджень біохімічних маркерів остеогенезу (активність лужної фосфатази, вміст кальцію) та резорбції (активність еластази та кислої фосфатази) у стегнових кістках самиць щурів при хронічній алкогольній інтоксикації та при прийомі комплексів профілактики.

Активність лужної фосфатази в стегнових кістках самиць щурів 2-ої групи під впливом хронічного введення алкоголю зменшилась на 44,2 % в порівнянні з показником у контрольній групі ( $p < 0,05$ ), що говорить про зниження функціональної активності остеобластів, а значить і про гальмування остеогенезу. Профілактичне введення обох комплексів суттєво не вплинуло на активність кісткової лужної фосфатази, а значить і не

попередило зниження функціональної активності остеобластів в стегнових кістках щурів, які тривало вживали алкоголь (табл. 4.5).

Таблиця 4.5

**Біохімічні показники остеогенезу та резорбції в стегнових кістках самиць щурів при хронічній алкогольній інтоксикації на тлі профілактики ( $x \pm SE$ )**

Показник	Група 1, контрольна (n=8)	Група 2, алкогольна інтоксикація (n=10)	Група 3, алкогольна інтоксикація + МВК (n=8)	Група 4, алкогольна інтоксикація + Мінерол (n=8)
Активність лужної фосфатази, мккат/кг	28,58 ± 3,38	15,94 ± 2,71 p < 0,05	18,40 ± 2,24 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05	18,14 ± 2,23 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
Вміст кальцію, ммоль/кг	6,93 ± 0,34	5,41 ± 0,33 p < 0,05	6,44 ± 0,32 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	6,16 ± 0,24 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
Активність еластази, мккат/кг	12,98 ± 0,90	18,13 ± 1,29 p < 0,05	12,87 ± 1,53 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	14,19 ± 1,07 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
Активність кислої фосфатази, мккат/кг	1,90 ± 0,20	2,87 ± 0,31 p < 0,05	1,98 ± 0,17 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	2,31 ± 0,12 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05

Примітка: p – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 1; p<sub>1</sub> – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 2

Вміст кальцію, основного компоненту гідроксиапатиту кісткової тканини, за даними нашого експерименту зменшився в стегнових кістках 2-ої групи (хронічний алкоголь) на 21,9 % (p < 0,05) в порівнянні з рівнем цього показника в контрольній групі. Регулярне введення щурам 3-ої групи МВК попереджало зниження кальцію у кістковій тканині, рівень якого був вище на

19,0 % ( $p < 0,05$ ) ніж у кістковій тканині 2-ої групи тварин. Комплекс «Мінерол» сприяв незначному збільшенню вмісту кальцію (на 13,9 %) в порівнянні з групою алкогольної інтоксикації ( $p > 0,05$ ). Отже, саме застосування мінерально-вітамінного комплексу на основі кальцію з раковин устриць мало більш позитивний профілактичний вплив щодо збереження кальцію в стегнових кістках самиць щурів при хронічній алкоголізації (табл. 4.5).

В стегнових кістках самиць щурів визначали активність еластази. Як вказано у табл. 4.5, активність кісткової еластази значно збільшилась в групі з алкогольною інтоксикацією – на 39,7 % порівнянні з контрольною групою ( $p < 0,05$ ). Профілактичне введення обох комплексів ефективно гальмувало активність кісткової еластази: МВК – на 29,0 %, «Мінерол» – на 21,7 % ( $p < 0,05$ , табл. 4.5).

Рівень другого маркера кісткової резорбції мінерального компоненту – активності кислої фосфатази також збільшився у 2-ій групі на 51,1 % в порівнянні з показником у контрольній групі ( $p < 0,05$ ). Введення тваринам МВК зменшувало активність кислої фосфатази в стегнових кістках щурів 3-ої групи на 31,0 % ( $p < 0,05$ ). Дія комплексу «Мінерол» на активність кислої фосфатази у кістках щурів 4-ої групи була менш значна, оскільки зниження активності цього маркера резорбції відбулось на 19,5 % у порівнянні з 2-ю групою ( $p > 0,05$ ), хоча його рівень одночасно відповідав значенням в контрольній групі ( $p > 0,05$ , табл. 4.5).

В таблиці 4.6 представлено результати досліджень активності антиоксидантних ферментів та вмісту МДА в стегнових кістках тварин. Активність СОД у кістковій тканині щурів 2-ої групи з алкогольною інтоксикацією зменшилась на 31,7 % ( $p < 0,05$ ). У кістковій тканині 3-ої групи активність СОД відповідала нормальним значенням, а у кістковій тканині 4-ої групи зберігалася на достовірно низькому рівні до відношенню до значень у контрольній групі (менше на 25 %), що говорить про більш

виражені антиоксидантні властивості мінерально-вітамінного комплексу на основі кальцію з раковин устриць в порівнянні з «Мінеролом».

Таблиця 4.6

**Біохімічні показники стану антиоксидантно-прооксидантної системи стегнових кісток самиць щурів при хронічній алкогольній інтоксикації на тлі профілактики ( $x \pm SE$ )**

Показник	Група 1, контрольна (n=8)	Група 2, алкогольна інтоксикація (n=10)	Група 3, алкогольна інтоксикація + MBK (n=8)	Група 4, алкогольна інтоксикація + Мінерол (n=8)
Активність СОД, у.о./кг	0,710 ± 0,073	0,485 ± 0,059 p < 0,05	0,584 ± 0,042 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05	0,530 ± 0,037 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
Активність каталази, мккат/кг	2,855 ± 0,063	1,908 ± 0,120 p < 0,05	2,450 ± 0,114 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	2,327 ± 0,120 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
Активність глутатіонредуктази, ммоль/кг*хв	64,51 ± 5,60	48,55 ± 4,29 p < 0,05	61,96 ± 3,88 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05	50,51 ± 4,05 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05
Вміст малонового діальдегіду, ммоль/кг	6,45 ± 0,29	8,80 ± 0,61 p < 0,05	8,26 ± 0,53 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05	8,05 ± 0,27 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05

Примітка: p – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 1; p<sub>1</sub> – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 2

Активність другого антиоксидантного ферменту каталази під впливом хронічної алкоголізації зменшилась у кістковій тканині 2-ої групи на 33,2 % в порівнянні з контрольною групою (p < 0,05). Вживання комплексів сприяло підвищенню активності каталази в кістковій тканині груп корекції відносно цього показника у групі алкогольної інтоксикації (p < 0,05). При цьому, активність кісткової каталази після профілактики обома комплексами не досягла нормального рівня і була вірогідно нижчі відповідних значень в кістковій тканині контрольної групи (p < 0,05, табл. 4.6).

Активність глутатіонредуктази в кістковій тканині щурів при хронічному вживанні алкоголю також зменшилась на 24,7 % відносно показника в контрольній групі ( $p < 0,05$ ). Регулярне введення МВК сприяло збільшенню активності глутатіонредуктази на 27,6 % ( $p > 0,05$ ). В кістковій тканині щурів 4-ої групи, яка отримувала комплекс «Мінерол», активність глутатіонредуктази майже не відрізнялась від значень цього показника у кістковій тканині 2-ої групи з алкогольною інтоксикацією і зберігалась зниженою по відношенню до значень у контрольній групі тварин (табл. 4.6).

Вміст МДА в стегнових кістках самиць щурів збільшився у групі з алкогольною інтоксикацією на 36,4 % ( $p < 0,05$ ). Профілактичне введення комплексів суттєво не вплинуло на високий рівень МДА в кістковій тканині 3-ої та 4-ої груп ( $p > 0,05$ ), який зберігався вірогідно високим по відношенню до значень контрольної групи тварин ( $p < 0,05$ , табл. 4.6).

Отже, тривале вживання алкоголю призводить до активації остеорезорбційних процесів (підвищення активності еластази та кислій фосфатази) при одночасному гальмуванні остеогенезу (зниженню активності лужної фосфатази та зменшенню вмісту кальцію). Зміни цих біохімічних маркерів у кістковій тканині щурів з алкогольною інтоксикацією можуть пояснити зниження щільності і частки мінерального компоненту в їх стегнових кістках (табл. 4.2). Застосування профілактичних комплексів не мало позитивного впливу на знижену активність кісткової лужної фосфатази, але призвело до суттєвого гальмування процесів руйнування кісткової тканини завдяки зменшенню активності еластази та кислій фосфатази, а значить і функціональної активності остеокластів. Профілактичні комплекси сприяли підвищенню рівня кальцію в кістках. Більш виражений остеотропний ефект за результатами табл. 4.5 властивий мінерально-вітамінному комплексу на основі кальцію з раковин устриць.

Тривале вживання алкоголю призвело до розвитку оксидативного стресу у стегнових кістках щурів, а саме – до пригнічення антиоксидантного захисту, про що свідчить суттєве зниження активності головних

антиоксидантних ферментів кісткової тканини. Завдяки чому підвищується інтенсивність ПОЛ, тобто вміст МДА, що вносить значний вклад в руйнування кісткової тканини під впливом алкоголю. Комплекси корекції, які вводили щурам з алкогольною інтоксикацією, сприяли підтримці активності кісткових антиоксидантних ферментів (крім активності каталази) на високому рівні, який відповідав значенням контролю. Більш виражену антиоксидантну дію мав МВК. Застосування обох комплексів не підвищило активність каталази, не зменшило вміст МДА у кістковій тканині щурів, які підлягали хронічній алкоголізації. Отримані результати потребують додаткових досліджень з ціллю підвищення антиоксидантного захисту у стегнових кістках при тривалому вживанні алкоголю.

#### **4.1.5 Показники ремоделювання кісткової тканини щелеп щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією на тлі використання комплексів корекції**

В таблиці 4.7 наведено результати визначення біохімічних показників щелеп самиць щурів при хронічній алкогольній інтоксикації та на тлі її профілактики. Активність лужної фосфатази (показник остеогенезу) в щелепах групи з алкогольною інтоксикацією зменшилась на 35,4 % по відношенню до контрольної групи ( $p < 0,05$ ), що говорить про зниження функціональної активності остеобластів у щелепах тварин. Комплекси корекції сприяли підвищенню активності маркеру остеогенезу. Регулярне введення МВК щурам призвело до збільшення активності кісткової лужної фосфатази на 71,3 %, а вживання комплексу «Мінерол» – на 31,8 %.

Вміст кальцію у кістковій тканині щелеп під впливом тривалого введення алкоголю зменшився на 28,5 % ( $p < 0,05$ ). Профілактичне введення мінерально-вітамінного комплексу на основі кальцію з раковин устриць щурам 3-ої групи сприяло недостовірному збільшенню вмісту кальцію на 7,7 % ( $p > 0,05$ ). Застосування комплексу «Мінерол» не сприяло підвищенню вмісту кальцію в щелепах щурів, які тривало вживали етанол (табл. 4.7).



Показники резорбції кістки – активність еластази та кислій фосфатази. Активність еластази суттєво (на 53,4 %) збільшилась в шелепах тварин 2-ої групи з алкогольною інтоксикацією в порівнянні з показником у контрольній групі ( $p < 0,05$ ). Ведення профілактичних комплексів однаково ефективно запобігало підвищенню активності кісткової еластази у шелепах тварин, що вживали алкоголь. Так, застосування МВК у щурів 3-ої групи дозволило знизити активність кісткової еластази на 29,6 % ( $p < 0,05$ ), а комплексу «Мінерол» – на 26,9 % ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 4.7

**Біохімічні показники щелеп самиць щурів при хронічній алкогольній інтоксикації та її профілактики ( $\bar{x} \pm SE$ )**

Показник	Група 1, контрольна (n=8)	Група 2, алкогольна інтоксикація (n=10)	Група 3, алкогольна інтоксикація + МВК (n=8)	Група 4, алкогольна інтоксикація + Мінерол (n=8)
Активність лужної фосфатази, мккат/кг	$39,39 \pm 1,80$	$25,46 \pm 2,16$ $p < 0,05$	$43,61 \pm 4,37$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	$33,56 \pm 2,84$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
Вміст кальцію, ммоль/кг	$6,70 \pm 0,83$	$4,79 \pm 0,38$ $p < 0,05$	$5,16 \pm 0,44$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	$4,85 \pm 0,50$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$
Активність еластази, мккат/кг	$11,13 \pm 0,90$	$17,07 \pm 0,93$ $p < 0,05$	$12,02 \pm 0,44$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	$12,47 \pm 0,78$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
Активність кислій фосфатази, мккат/кг	$0,520 \pm 0,048$	$0,645 \pm 0,026$ $p < 0,05$	$0,495 \pm 0,020$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	$0,561 \pm 0,036$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$
Концентрація МДА, ммоль/кг	$4,81 \pm 0,25$	$6,53 \pm 0,55$ $p < 0,05$	$4,67 \pm 0,25$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	$4,68 \pm 0,33$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$

Примітка:  $p$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 1;  $p_1$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 2

Активність кислої фосфатази збільшилась в шелепах щурів 2-ої групи з алкогольною інтоксикацією в порівнянні з контрольною групою на 24,0 % ( $p < 0,05$ ). Комплекси корекції показали різну ефективність. Профілактичне введення щурам 3-ої групи МВК сприяло зменшенню цього маркера кісткової резорбції на 23,3 % ( $p < 0,05$ ). Застосування комплексу «Мінерол» призвело до зниження активності ферменту на 13,0 % в порівнянні з показником в групі алкоголю.

Тривале введення етанолу щурам 2-ої групи призвело до збільшення вмісту МДА в кістковій тканині шелеп на 35,8 % в порівнянні з показником в контрольній групі ( $p < 0,05$ ), що говорить про активацію перекисного окиснення ліпідів. Профілактичне введення обох комплексів ефективно запобігало підвищенню рівня МДА у шелепах тварин при тривалій алкоголізації, тобто досліджувані препарати проявили себе як ефективні антиоксиданти ( $p < 0,05$ ).

Отже, тривале введення алкоголю самкам щурів викликало посилену резорбцію кісткової тканини шелеп (підвищення активності еластази та кислої фосфатази) при гальмуванні кісткоутворення (активності лужної фосфатази та вмісту кальцію). Підвищений рівень вмісту МДА у тканині шелеп свідчить про наявність оксидативного стресу, що індуковано тривалим вживанням алкоголю. Отримані результати можуть пояснити збільшення атрофії альвеолярного відростку шелеп тварин при хронічній алкоголізації. Профілактична дія мінерально-вітамінного комплексу на основі кальцію з раковин устриць була більш ефективною по відношенню до нормалізації активності лужної фосфатази, вмісту кальцію, зниження активності кислої фосфатази. МВК та комплекс «Мінерол» однаково зменшували активність еластази та вміст МДА до значень показників в контрольній групі, тобто проявляли остеопротекторні та антиоксидантні властивості в умовах тривалого вживання алкоголю.

Більш виражені ефекти профілактичних комплексів щодо активності лужної фосфатази і вмісту МДА у кістках шелеп щурів у порівнянні із

стегновими кістками пов'язано, на нашу думку, з тим, що кісткова тканина щелеп є більш метаболічно активною і більш чутлива до дії як патогенних чинників, так і до коригуючого впливу препаратів.

#### **4.2 Стан слизових оболонок травного тракту щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією на тлі застосування комплексів корекції**

В проведеному дослідженні визначали маркери запалення в слизових оболонках ротової порожнини, шлунку, тонкої кишки, товстої кишки та печінці самок щурів, які хронічно вживали алкоголь та у тварин, які на тлі алкогольної інтоксикації отримували комплекси профілактики.

При хронічній алкогольній інтоксикації активність еластази збільшилась в слизовій оболонці ротової порожнини на 28,9 %, в слизовій оболонці шлунку – на 37,8 %, в слизовій оболонці тонкої кишки – на 45,7 %, в слизовій оболонці товстої кишки – на 33,7 %, в печінці – на 38,1 % (табл. 4.8). Збільшення цього маркера запалення можна пояснити накопиченням ацетальдегіду та АФО, що утворюються під час окислювального метаболізму етанолу та індукують запальні реакції [78, 96, 137].

Використання комплексів профілактики призвело до зменшення активності цього ферменту запалення до рівня значень контролю. Застосування препаратів МВК більш ефективно знижувало активність еластази при вживанні алкоголю: в слизовій оболонці ротової порожнини – на 19,4 % («Мінерол» на 11,8 %), в слизовій оболонці шлунку – на 24,2 % («Мінерол» на 20,6 %), в слизовій оболонці тонкої кишки – на 34,6 % («Мінерол» на 26,6 %), в печінці на – 19,1 % («Мінерол» на 11,1 %). Комплекс «Мінерол» більш ефективно знижував активність еластази в слизовій оболонці товстої кишки на 33,1 % проти зменшення на 20,0 % після вживання МВК.

Таблиця 4.8

**Активність еластази в слизових оболонках травного тракту та печінці щурів при хронічній алкогольній інтоксикації та на тлі профілактики  
( $\bar{x} \pm SE$ )**

Слизова оболонка	Група 1, контрольна (n=8)	Група 2, алкогольна інтоксикація (n=10)	Група 3, алкогольна інтоксикація + МВК (n=8)	Група 4, алкогольна інтоксикація + Мінерол (n=8)
порожнини рота	69,00 ± 2,32	88,93 ± 1,71 p < 0,05	71,71 ± 3,37 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	78,42 ± 4,33 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
шлунку	114,7 ± 9,88	158,0 ± 6,19 p < 0,05	119,8 ± 4,49 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	125,47 ± 5,44 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
тонкої кишки	1259,1 ± 107,0	1834,067 ± 123,30 p < 0,05	1199,90 ± 60,60 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	1346,7 ± 119,7 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
товстої кишки	104,00 ± 8,70	139,07 ± 5,08 p < 0,05	111,33 ± 9,93 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	93,00 ± 6,86 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
печінка	368,9 ± 12,46	509,34 ± 12,11 p < 0,05	411,90 ± 8,88 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	452,57 ± 10,88 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05

Примітка: p – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 1; p<sub>1</sub> – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 2

При хронічній алкогольній інтоксикації активність кислої фосфатази також достовірно збільшилась: в слизовій оболонці ротової порожнини – на 28,0 %, в слизовій оболонці шлунку – на 32,8 %, в слизовій оболонці тонкої кишки – на 53,7 %, в слизовій оболонці товстої кишки – на 95,0 %, в печінці – на 23,4 % (табл. 4.9).

Таблиця 4.9

**Активність кислої фосфатази в слизових оболонках травного тракту та печінці щурів при хронічній алкогольній інтоксикації та на тлі профілактики ( $x \pm SE$ )**

Слизова оболонка	Група 1, контрольна (n=8)	Група 2, алкогольна інтоксикація (n=10)	Група 3, алкогольна інтоксикація + МВК (n=8)	Група 4, алкогольна інтоксикація + Мінерол (n=8)
порожнини рота	18,95 ± 0,69	24,26 ± 0,46 p < 0,05	21,62 ± 1,16 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	20,85 ± 0,55 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
шлунку	28,96 ± 0,97	38,45 ± 1,38 p < 0,05	32,68 ± 0,99 p > 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05	31,62 ± 1,10 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
тонкої кишки	26,67 ± 2,12	40,98 ± 1,55 p < 0,05	31,11 ± 1,49 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	34,71 ± 0,91 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
товстої кишки	31,37 ± 1,27	61,17 ± 1,52 p < 0,05	39,92 ± 2,40 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	48,11 ± 2,61 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05
печінка	121,58 ± 4,84	150,03 ± 4,44 p < 0,05	132,67 ± 6,10 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05	131,44 ± 4,91 p > 0,05 p <sub>1</sub> < 0,05

Примітка: p – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 1; p<sub>1</sub> – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 2

Введення препаратів МВК щурам 3-ої групи призвело до зниження активності кислої фосфатази на 10,9 % в слизовій оболонці порожнини рота, а комплексу «Мінерол» – на 14,1 %, тобто комплекс «Мінерол» був декілька ефективніше у відновленні активності ферменту до рівня в контрольній групі. В слизовій оболонці шлунку тварин 4-ої групи комплекс «Мінерол» також значніше знижував активність кислої фосфатази на 17,8 %, а мінерально-вітамінний комплекс на основі кальцію з раковин устриць - на 15,0 %. В слизовій оболонці тонкої та товстої кишки комплекс МВК

ефективніше зменшував активність кислої фосфатази: на 24,1 % та 34,7 % відповідно в порівнянні з 15,3 % та 21,4 % після введення комплексу «Мінерол». В печінці активність ферменту відновилась до рівня значень у контрольній групі при застосуванні як МВК, так і комплексу «Мінерол» (табл. 4.9).

В таблиці 4.10 наведено результати визначення активності уреазу у травному тракті щурів, яким тривало вводили алкоголь та комплекси профілактики. Хронічна алкоголізація збільшила активність уреазу в слизовій оболонці ротової порожнини на 68,3 % ( $p < 0,05$ ), в шлунку – на 64,0 % ( $p < 0,05$ ), в тонкій кишці – на 99,4 % ( $p < 0,05$ ), в товстій кишці – на 42,5 % ( $p < 0,05$ ), в печінці – на 136,5 % ( $p < 0,05$ ). Тобто у слизових оболонках травного тракту тварин на тлі хронічної алкогольної інтоксикації суттєво посилилась мікробна контамінація (табл. 4.10). Це, на нашу думку, є результатом запалення та оксидативного стресу у органах ШКТ тварин, яким моделювали хронічну алкогольну інтоксикацію.

Інші автори також вказують на те, що хронічне вживання алкоголю може привести не тільки до запалення, але і до дисбактеріозу в кишечнику, збільшенню проникності стінок кишечника [39, 57, 173].

Профілактичне введення мінерально-вітамінного комплексу на основі кальцію з раковин устриць призвело до зниження активності уреазу в слизовій оболонці ротової порожнини щурів 3-ої групи на 19,2 % ( $p > 0,05$ ), а вживання комплексу «Мінерол» щурами 4-ї групи – на 24,7 % ( $p > 0,05$ ). В слизовій оболонці шлунку активність ферменту знизилась на 39,0 % ( $p < 0,05$ ) після прийому МВК та на 26,8 % при вживанні комплексу «Мінерол» ( $p > 0,05$ ). Мінерально-вітамінний комплекс сприяв ефективному гальмуванню активності уреазу в слизовій оболонці тонкої кишки щурів 3-ої групи – на 40,3 % ( $p < 0,05$ ), тоді як «Мінерол» - на 30,0 % ( $p < 0,05$ ). В слизовій оболонці товстій кишки цей маркер мікробного обсіменіння знизився на 28,1 % ( $p < 0,05$ ) після використання препаратів МВК, та на 36,6 % ( $p < 0,05$ ) як наслідок введення комплексу «Мінерол». В печінці щурів з

алкогольною інтоксикацією активність уреазы зменшилася під впливом препаратів МВК на 34,2 % ( $p < 0,05$ ) та після вживання комплексу «Мінерол» – на 26,8 % ( $p > 0,05$ ; табл. 4.10).

Таблиця 4.10

**Активність уреазы в слизових оболонках травного тракту та печінці шурів при хронічній алкогольній інтоксикації та на тлі профілактики  
( $\bar{x} \pm SE$ )**

Слизова оболонка	Група 1, контрольна (n=8)	Група 2, алкогольна інтоксикація (n=10)	Група 3, алкогольна інтоксикація + МВК (n=8)	Група 4, алкогольна інтоксикація + Мінерол (n=8)
порожнини рота	$0,183 \pm 0,023$	$0,308 \pm 0,020$ $p < 0,05$	$0,249 \pm 0,0340$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$	$0,232 \pm 0,016$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$
шлунку	$0,25 \pm 0,032$	$0,41 \pm 0,058$ $p < 0,05$	$0,25 \pm 0,048$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	$0,30 \pm 0,030$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$
тонкої кишки	$1,57 \pm 0,13$	$3,13 \pm 0,41$ $p < 0,05$	$1,87 \pm 0,27$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	$2,19 \pm 0,14$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
товстої кишки	$2,07 \pm 0,27$	$2,95 \pm 0,13$ $p < 0,05$	$2,12 \pm 0,40$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	$1,87 \pm 0,14$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
печінка	$0,52 \pm 0,08$	$1,23 \pm 0,14$ $p < 0,05$	$0,81 \pm 0,04$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	$0,90 \pm 0,12$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$

Примітка:  $p$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 1;  $p_1$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 2

В слизових оболонках ШКТ та печінці шурів, яким відтворювали хронічну алкогольну інтоксикацію та вводили комплекси корекції, оцінювали активність каталази та концентрацію МДА (табл. 4.11, 4.12).

В слизових оболонках ротової порожнини та шлунку шурів при хронічній алкогольній інтоксикації активність каталази не змінилась

( $p > 0,05$ ). Введення комплексів профілактики також не вплинуло на активність ферменту, показники якого в групах корекції залишились на рівні між значеннями контрольної групи та показниками у групі хронічного алкоголю (табл. 4.11).

Таблиця 4.11

**Активність каталази в слизових оболонках травного тракту та печінці щурів при хронічній алкогольній інтоксикації та на тлі профілактики**  
( $\bar{x} \pm SE$ )

Слизова оболонка	Група 1, контрольна (n=8)	Група 2, алкогольна інтоксикація (n=10)	Група 3, алкогольна інтоксикація + MBK (n=8)	Група 4, алкогольна інтоксикація + Мінерол (n=8)
порожнини рота	$6,87 \pm 0,38$	$7,80 \pm 0,38$ $p > 0,05$	$6,76 \pm 0,22$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	$7,12 \pm 0,22$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$
шлунку	$3,40 \pm 0,15$	$3,40 \pm 0,25$ $p > 0,05$	$3,57 \pm 0,22$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	$2,97 \pm 0,26$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$
тонкої кишки	$4,12 \pm 0,29^{ab}$	$3,46 \pm 0,23$ $p > 0,05$	$4,93 \pm 0,12$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	$4,51 \pm 0,19$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
товстої кишки	$3,19 \pm 0,20$	$2,84 \pm 0,21$ $p > 0,05$	$3,43 \pm 0,17$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	$3,00 \pm 0,13$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$
печінка	$6,18 \pm 0,24$	$5,90 \pm 0,07$ $p > 0,05$	$5,94 \pm 0,15$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	$5,84 \pm 0,08$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$

Примітка:  $p$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 1;  $p_1$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 2

В слизовій оболонці тонкої кишки щурів, які вживали етанол, активність каталази зменшилась на 16,0 % (хоча  $p > 0,05$ ). Профілактичне введення щурам мінерально-вітамінного комплексу на основі кальцію з раковин устриць призвело до зростання активності каталази у тонкій кишці



на 42,5 % ( $p < 0,05$ ). Застосування комплексу «Мінерол» у щурів викликало збільшення активності каталази на 30,4 % відносно значень у групі алкогольний інтоксикації ( $p < 0,05$ ). Обидва комплекси відновили активність ферменту у тонкій кишці алкоголізованих щурів до показнику в контрольній групі, тобто проявили антиоксидантні властивості (табл. 4.11).

Тривала алкогольна інтоксикація не вплинула на активність каталази в слизовій оболонці шлунку, товстої кишки та печінці щурів. Профілактичне введення комплексів корекції також не оказало суттєвого впливу на активність каталази у цих відділах травного тракту тварин (табл. 4.11).

В таблиці 4.12 наведено результати визначення вмісту МДА в слизових оболонках травного тракту щурів при вживанні алкоголю та застосуванні комплексів корекції. Хронічна алкогольна інтоксикація призвела до збільшення вмісту МДА в слизовій оболонці ротової порожнини щурів на 41,9 % ( $p < 0,05$ ) в слизовій оболонці шлунку – на 62,4 % ( $p < 0,05$ ), в слизовій оболонці тонкої кишки – на 44,2 % ( $p < 0,05$ ), товстої кишки – на 42,6 % ( $p < 0,05$ ) та в печінці на 62,2 % ( $p < 0,05$ ). Це підтвердило посилення ПОЛ, а значить і розвиток оксидативного стресу, в слизових оболонках травного тракту під впливом тривалого введення алкоголю щурам (табл. 4.12).

Профілактичне застосування мінерально-вітамінного комплексу на основі кальцію з раковин устриць у щурів призвело до зниження вмісту МДА в слизовій оболонці ротової порожнини на 28,4 % ( $p < 0,05$ ). Комплекс «Мінерол» у меншій мірі вплинув на цей показник ПОЛ. В слизовій оболонці шлунку вживання препаратів МВК у 3-ій групі або комплексу «Мінерол» у 4-ій групі викликало зменшення вмісту МДА на 50,5 % ( $p < 0,05$ ). В слизовій оболонці тонкої кишки під впливом МВК рівень МДА знизився на 42,8 % ( $p < 0,05$ ), а після комплексу «Мінерол» - на 34,3 % ( $p > 0,05$ ). Профілактичне введення МВК на тлі алкогольної інтоксикації сприяло зниженню вмісту МДА в слизовій оболонці товстої кишки щурів на 22,2 % ( $p < 0,05$ ), тоді як після прийому комплексу «Мінерол» цей маркер ПОЛ зменшився на 16,8 %

( $p < 0,05$ ). Дуже суттєво обидва комплекси знизили концентрацію МДА в печінці щурів – на 46,0 % ( $p < 0,05$ ), яка досягла рівня показника в контрольній групі (табл. 4.12).

Таблиця 4.12

**Вміст МДА в слизових оболонках травного тракту та печінці щурів при хронічній алкогольній інтоксикації та на тлі профілактики ( $\bar{x} \pm SE$ )**

Слизова оболонка	Група 1, контрольна (n=8)	Група 2, алкогольна інтоксикація (n=10)	Група 3, алкогольна інтоксикація + МВК (n=8)	Група 4, алкогольна інтоксикація + Мінерол (n=8)
порожнини рота	$4,10 \pm 0,27$	$5,82 \pm 0,28$ $p < 0,05$	$4,17 \pm 0,25$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	$4,36 \pm 0,16$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
шлунку	$7,50 \pm 0,38$	$12,18 \pm 0,44$ $p < 0,05$	$6,03 \pm 0,60$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	$6,03 \pm 0,39$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
тонкої кишки	$4,23 \pm 0,22$	$6,10 \pm 0,51$ $p < 0,05$	$3,49 \pm 0,32$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	$4,01 \pm 0,36$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
товстої кишки	$5,00 \pm 0,17$	$7,13 \pm 0,31$ $p < 0,05$	$5,55 \pm 0,25$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	$5,93 \pm 0,36$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
печінка	$38,33 \pm 2,69$	$62,17 \pm 2,95$ $p < 0,05$	$33,37 \pm 2,19$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	$33,58 \pm 3,01$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$

Примітка:  $p$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 1;  $p_1$  – вірогідність різниці показників по відношенню до показників у групі 2

Проведене нами дослідження за обраними показниками підтвердило розвиток запалення (активності еластази та кислій фосфатази), посилення мікробного обсіменіння (активність уреаз) та оксидативного стресу (збільшення вмісту МДА і зниження активності каталази) в слизових оболонках ротової порожнини, шлунку, тонкої кишки, товстої кишки та печінці щурів, які хронічно вживали алкоголь.

Відомо, що накопичення ацетальдегіду та АФО, що утворюються під час окислювального метаболізму етанолу, індукують запальні реакції [78, 96, 137]. Хронічне вживання алкоголю може призвести до розвитку запалення в травному тракті двома можливими шляхами: розвиток дисбіозу зі збільшенням продукції ендотоксинів [122] або порушення цілісності кишкового бар'єру, що призводить до можливості проходження ендотоксинів в кровотік [144]. Через ворітну вену ендотоксини потрапляють до печінки. Клітини печінки реагують на ендотоксини багатьма механізмами, включаючи активацію TLR4, що призводить до утворення АФО, хемокінів, а також цитокінів. Вироблення цих факторів призводить до запалення тканин і сприяє розвитку алкогольної патології органів.

Виявлені антиоксидантні властивості комплексів корекції МВК та «Мінерол» підтверджують припущення, що головною ланкою патогенезу алкогольної остеодистрофії є оксидативний стрес, який розвивається в наслідок тканинної гіпоксії, викликаючи інактивацію дихальних ферментів цитохромоксидази, клітинних дегідрогеназ.

Отже, введення МВК та комплексу «Мінерол» ефективно знижувало активність еластази до рівня цього показнику у слизових оболонках ШКТ інтактної групи ( $p < 0,05$ ). В печінці вживання МВК призвело до зниження активності еластази ( $p < 0,05$ ), а використання комплексу «Мінерол» на активність еластази в печінці не вплинуло ( $p > 0,05$ ).

Застосування МВК ефективніше знижувало активність кислої фосфатази в тонкій кишці, товстій кишці. Введення комплексу «Мінерол» сприяло більш значному зменшенню активності кислої фосфатази в слизовій оболонці ротової порожнини та шлунку ( $p > 0,05$ ).

Введення МВК алкоголізованим щурам у більшій мірі знижувало активність уреазу в слизовій оболонці шлунку та печінці до рівня цього маркера в тканинах інтактної групи ( $p > 0,05$ ), на активність уреазу в інших слизових оболонках обидва комплекси мали схожу ефективність ( $p > 0,05$ ). Отже, запропоновані комплекси наряду з антиоксидантною дією проявили

гастро- та гепатопротекторні властивості, запобігаючи розвитку запалення у травному тракті, у результаті чого і зменшилася мікробна контамінація слизових оболонок. Такий ефект можна пояснити надходженням з МВК достатньої кількості таких антиоксидантів як кверцетину, аскорбінової кислоти, селену, марганцю, цинку, а також магнію та вітаміну D, засвоєння яких порушується при хронічній алкогольній інтоксикації.

Мінерально-вітамінний комплекс на основі кальцію з раковин устриць та комплекс «Мінерол» в умовах алкогольної інтоксикації проявили антиоксидантні властивості, а саме нормалізували активність каталази в слизовій оболонці тонкої кишки. Крім того, застосування МВК призвело до суттєвішого збільшення активності каталази в слизовій оболонці тонкої кишки навіть в порівнянні з інтактною групою ( $p < 0,05$ ).

Вживання комплексів профілактики призвело до зниження вмісту МДА в слизових оболонках шлунку, тонкої, товстої кишки та печінці алкоголізованих щурів ( $p < 0,05$ ). При цьому введення МВК сприяло зниженню вмісту МДА до значень цього маркера ПОЛ в тканинах інтактної групи ( $p > 0,05$ ), на відміну від комплексу «Мінерол», після використання якого вміст МДА залишався вищим ( $p < 0,05$ ).

Враховуючи встановлені антиоксидантні, остеотропні, протизапальні властивості мінерально-вітамінного комплексу на основі кальцію з раковин устриць та його високу ефективність в попередженні порушень у кістковій тканині і слизових оболонках травного тракту в умовах алкогольної інтоксикації, а також виражені профілактичні властивості комплексу «Мінерол», які проявилися у нормалізації показників слизових оболонок ШКТ, доцільно у майбутньому дослідити ефективність сумісного вживання цих комплексів при хронічній алкогольній інтоксикації.

Таким чином, проведене дослідження підтвердило негативний вплив хронічного введення етанолу на якість кісткової тканини, а саме – посилення резорбційних процесів, більш значне у щелепах і в деякій мірі – у стегнових

кістках самок щурів, але алкоголь не впливав на поперекові хребці тварин. Біохімічні дослідження кісткової тканини показали наявність оксидативного стресу (зниження активності ферментів антиоксидантного захисту з накопиченням продукту ПОЛ), активацію деструктивних ферментів при одночасному гальмуванні маркера кісткоутворення, зниження вмісту кальцію у щелепах і стегнових кістках тварин, яким моделювали тривалу алкогольну інтоксикацію. Отримані результати можуть пояснити збільшення атрофії альвеолярного відростку щелеп, тенденцію до зниження щільності і кількості мінерального компонента у стегнових кістках тварин при хронічній алкоголізації.

Тривале вживання етанолу також викликало патологічні зміни у печінці та слизових оболонках травного тракту тварин: оксидативний стрес, запалення, посилення мікробної контамінації, явища холестазу, порушення метаболізму ліпідів.

Щоденне введення шурам з хронічною алкогольною інтоксикацією мінерально-вітамінного комплексу на основі раковин устриць ефективно попереджувало розвиток порушень у кістках тварин, тобто виявило виражені антиоксидантні та остеопротекторні властивості на відміну від комплексу «Мінерол», вживання якого погіршило стан стегнових кісток та не вплинуло на інші досліджувані показники кісткової тканини.

Профілактичне застосування комплексів корекції проти порушень, що індукує алкогольна інтоксикація, виявило їх загальний антиоксидантний вплив, а також гепатопротекторну дію в умовах тривалого надходження етанолу. Використання обох комплексів у щурів на тлі хронічної алкогольної інтоксикації сприяло ефективному зниженню прояву оксидативного стресу, запальних процесів, мікробної контамінації в слизових оболонках травного тракту.

Основний висновок другого етапу досліджень показує, що застосування комплексів, які володіють антиоксидантними властивостями, мало позитивний вплив на стан кісток, слизових оболонок шлунково-

кишкового тракту та печінку, що доказує правильність раніше обґрунтованої патогенетичної профілактики, яка припиняє розвиток головної ланки патогенезу алкогольної інтоксикації – оксидативний стрес у кістковій та травній системах щурів.

## РОЗДІЛ 5

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ ДАНИХ

Хронічна алкогольна інтоксикація призводить до розвитку багатьох хвороб у людей. Найпоширеніші захворювання, які розвиваються при надмірному вживанні алкоголю, є нервово-психічні розлади, інфекційні захворювання, діабет, рак, серцево-судинні захворювання, захворювання печінки та підшлункової залози. Поширеність вживання алкоголю та тяжкість наслідків алкогольної залежності підкреслюють необхідність розробки профілактичних заходів для запобігання вживання алоголу або зменшення його негативного впливу на організм при неможливості від нього відмовитись.

В Україні проводились дослідження впливу алкогольної інтоксикації на еритроцити [8], білковий склад сироватки крові [35], на серцево-судинну систему [3, 7], нервову систему [9, 31], печінку та підшлункову залозу [2, 27, 32, 33], також досліджували токсичну дію алкоголю на організм загалом [5, 6, 17, 18, 30, 37].

Деякі відомості про розвиток патологічних змін у кістковій тканині внаслідок хронічної алкоголізації були знайдені більшою мірою у закордонній літературі; із українських джерел є оглядова стаття можливих механізмів впливу алкоголю на розвиток остеопорозу [26].

Аналіз результатів досліджень про наслідки вживання алкоголю на стан кісткової системи дозволяє стверджувати, що алкоголь може діяти на кісткову тканину через прямі (впливати на кісткову масу, активність остеобластів та остеокластів) та непрямі механізми (порушення засвоєння поживних речовин, зміну рівня гормонів, розвиток метаболічного ацидозу) [26, 44, 82].

Незважаючи на суперечливі відомості про вплив алкоголю на кісткову систему, існує консенсус, що загальний ефект його регулярного тривалого вживання має негативний ефект на якість та гомеостаз кісткової тканини.

Показано, що вживання алкоголю є одним з факторів ризику розвитку різноманітних остеопеній, особливо остеопорозу, який займає 4-е місце за смертністю в розвинених країнах світу [105]. Тому актуальною проблемою є профілактика порушень у кістковій тканині при хронічній алкогольній інтоксикації.

Більшість дослідників стверджують, що активація процесів резорбції в кістковій тканині є наслідком тривалого прийому етанолу. Відомостей про наслідки вживання алкоголю на іншу складову процесу ремоделювання, а саме кісткоутворення, у сучасній літературі менше. Тому виникає питання встановити вплив алкоголю саме на процеси кісткоутворення. Також, зараз незрозуміло, яке місце у порушеннях кісткового метаболізму займає відомий факт індукції етанолом оксидативних процесів в організмі.

У зв'язку з цим, метою роботи було дослідження стану кісткової тканини у лабораторних щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією, а також патогенетичне обґрунтування комплексної профілактики встановлених порушень.

Для реалізації мети було проведено дві серії дослідів на лабораторних щурах. Під час досліджень щурів утримували згідно правил роботи з експериментальними тваринами.

На першому етапі досліджували наслідки хронічного вживання алкоголю на стан деяких кісток за морфометричними та біохімічними параметрами (за показниками резорбції, кісткоутворення та активності головних антиоксидантних ферментів), а також на травну систему за показниками запалення, стану дисбіозу та ступенем засвоєння кальцію.

Дослід проводили на самцях та самках щурів *Wistar rats* стадного розведення, яких поділили на чотири групи – дві інтактні та дві дослідні. Тварини інтактних груп отримували воду, дослідні групи – розчин етанолу. Алкоголізацію проводили, починаючи з 5 % розчину етанолу на початку експерименту та поступово збільшуючи концентрацію до 15 %. Тривав експеримент 108 днів.



Хронічна алкогольна інтоксикація призвела до зниження якості кісткової тканини щурів. При вживанні алкоголю атрофія альвеолярного відростку збільшилась з 26,7 % до 30,7 % у самців та з 23,3 % до 27,5 % у самок. Активувався каріозний процес, що визначено по зростанню кількості та глибини каріозних уражень у алкоголізованих самців та самок.

Інші дослідники також підтверджують втрату альвеолярної кістки при хронічному вживанні алкоголю навіть без супутніх захворювань [88, 165]. Хронічне вживання алкоголю за даними de Almeida J. M. et al. [69] та Dantas A. M. et al. [93] збільшує інтенсивність місцевої запальної реакції та стимулює резорбцію альвеолярної кістки. Супутні захворювання (викликаний лігатурою пародонтит [92], дефіцит статевих гормонів [88]) посилюють резорбційні процеси в альвеолярній кістці при вживанні алкоголю. Але, як вважають Frazão D. R. et al. [92], епізодичний прийом етанолу не призводить до втрати альвеолярної кістки, однак викликає зміни якості та щільності кістки.

Наше дослідження стегнових кісток показало, що хронічне введення етанолу сприяло зниженню частки органічного компоненту з 25,6 % до 21,9 % та тенденції до збільшення мінерального компоненту з 37,6 % до 40,0 % у самок. В поперекових хребцях обох статей та в стегнових кістках самців такого перерозподілу не відбулось.

У сучасній літературі відомості щодо впливу алкоголю на морфометричні параметри кісток суперечливі. Більшість досліджень цієї проблеми були проведені на гризунах. Так, ряд авторів вказує на те, що хронічне введення алкоголю гризунам призвело до зменшення довжини великогомілкової кістки [68], стегнової кістки [89], зниження маси великогомілкової кістки [68], зниження мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) [50, 65, 68, 89, 159], зниження жорсткості кістки [68], витончення частини трабекулярної кістки [65], зниження рівня остеокальцину [86].

Clayton Z. S. et al. [70] навпаки показують, що алкоголь не впливає на МЩКТ, лише не значно діючи на експресію генів у стегнових кістках, які регулюють активність остеобластів та остеокластів. В дослідженні на *Mascara mulatta* вживання алкоголю не призвело до зміни вмісту мінералів у великогомілкових кістках, мінеральної щільності кістки та об'єму кісткового мозку [205].

В клініці у хворих на алкоголізм часто діагностують зниження МЩКТ, однак конкретний вплив алкоголю на кісткову тканину не визначено, так як це може бути пов'язано з можливими супутніми захворюваннями, іншими шкідливими звичками (наприклад, куріння), неправильним харчуванням.

Проведене нами біохімічне дослідження кісткової тканини щелеп щурів показало розвиток оксидативного стресу у кістковій тканині як наслідок хронічного вживання етанолу. Зміна активності каталази, супероксиддисмутази (СОД) та глутатіонредуктази була достовірною у обох статей. Слід зазначити, що у кістковій тканині алкоголізованих самиць порушення активності антиоксидантних ферментів було дещо значнішим, що й призвело до значнішого підвищення ПОЛ саме у самиць щурів (рис. 5.1). Вміст малонового діальдегіду (МДА) у кістковій тканині алкоголізованих самців зріс на 31,1 %, у самок – на 75,3 %.

За даними літератури, вживання алкоголю стимулює остеокластогенез за рахунок збільшення експресії RANK, яка опосередковується виробництвом АФО [69, 92].

Навпаки, зміни маркерів резорбції (активності кислої фосфатази і еластази) та кісткоутворення (активності лужної фосфатази) були більш виражені у кістковій тканині щелеп алкоголізованих самців. Так, активність кісткової еластази при вживанні алкоголю у самців збільшилась на 38,4 %, а у самок на 26,0 %. Алкоголь сприяв зростанню активності кислої фосфатази у щелепах: на 35,2 % самців і на 32,0 % у самок (рис. 5.1). Отримані нами результати співпадають з даними про збільшення активності кислої

фосфатази в кістках при алкогольній інтоксикації [69, 205]. При вживання алкоголю значно знижується вміст остеокальцину в сироватці крові [57].

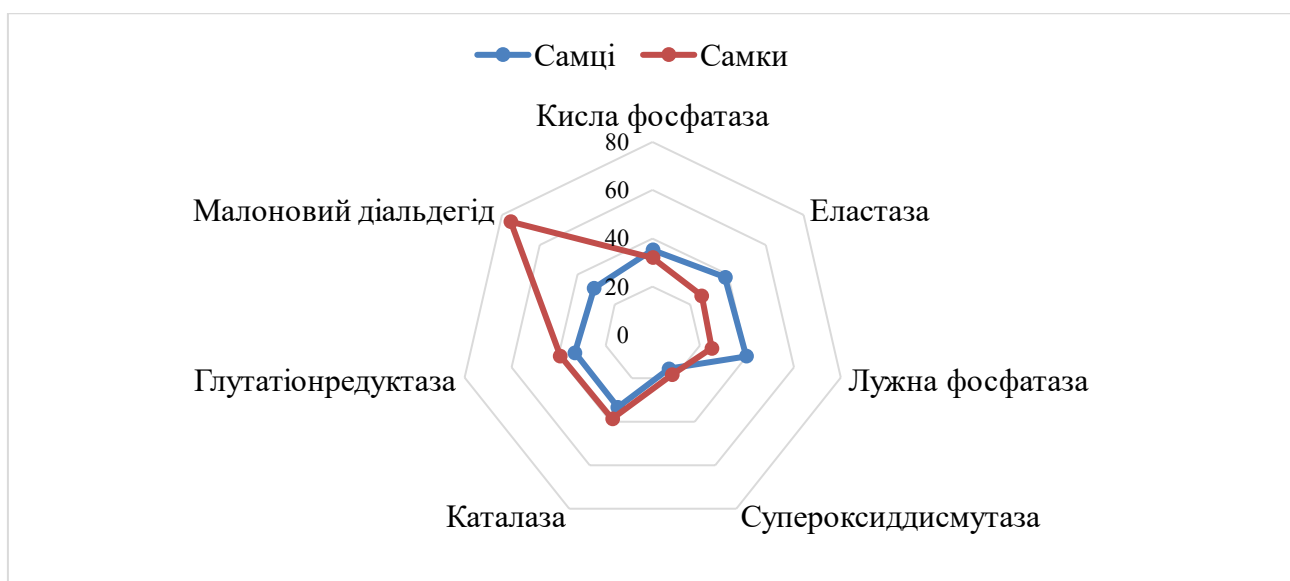


Рис.5.1 Біохімічні показників кісткової тканини щелеп самок і самців щурів при хронічній алкогольній інтоксикації, % відхилення біохімічних показників від значень в інтактній групі

Активність лужної фосфатази у щелепах алкоголізованих самців зменшилась на 39,8 %, тоді як у самок не змінилася (рис. 5.1). На нашу думку, підтримання маркеру кісткоутворення – лужної фосфатази на нормальному рівні при алкоголізації здійснюється завдяки естрогенам. Вплив алкоголю на рівень естрогенів в літературі відомий, але автори, на жаль, не пояснюють, яким чином діють естрогени на метаболізм кісткової тканини в умовах регулярного вживання алкоголю [44].

На підставі отриманих нами результатів про більш виражені порушення морфометричних показників кісток і значний спалах оксидативного стресу в кістковій тканині алкоголізованих самок можна припустити, що саме оксидативний стрес є ініціатором патологічних змін у кістковій тканині внаслідок хронічного прийому алкоголю.

Порушення гомеостазу кісткової тканини під впливом алкоголю Martiniakova M. et al. [65] розглядають як багатофакторний процес, що може

бути обумовлено стимулюванням старіння і пошкодження кісткової тканини шляхом підвищення експресії мРНК альфа- та бета-рецепторів естрогену та шляхом активації p 53 і p 21, або через передачу сигналів RIPK1/RIPK3/MLKL, що призводить до некроптозу остеобластів [72]. Тому наступним важливим фактором є те, що надмірне вживання алкоголю призводить до дефіциту вітамінів та мінералів, що у свою чергу, негативно впливає на стан кісткової тканини.

Наступним етапом було дослідження всмоктування і засвоєння кальцію у щурів після тривалого введення етанолу (рис. 5.2). У алкоголізованих самців загальна кількість виведеного кальцію з організму гальмувалася на 25,3 %, а у самок – на 10,4 %, що пояснюємо компенсаторною реакцією на зниження його всмоктування у тонкій кишці. Тобто кальцій у самців з хронічною алкоголізацією зберігався завдяки суттєво зниженої екскреції. А у самок зареєстровано гірше засвоєння кальцію внаслідок хронічної алкоголізації – при зменшенні всмоктування у тонкій кишці цей елемент значніше ніж у самців виводився з сечею і калом (рис. 5.2).

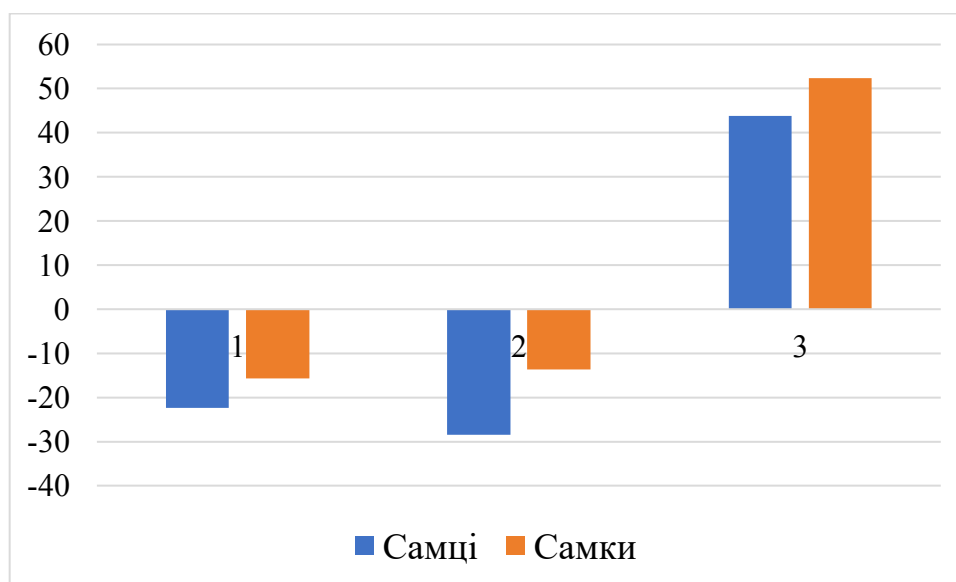


Рис.5.2 Відхилення показників засвоєння та виведення кальцію при хронічній алкогольній інтоксикації у самок і самців, % від значень в інтактній групі: 1 - всмоктування кальцію в тонкому кишечнику; 2 - кількість виведеного кальцію із сечею; 3 - кількість виведеного кальцію із калом.

Встановлені нами порушення всмоктування, засвоєння та виведення кальцію у щурів з алкогольною інтоксикацією дозволяють припустити у них розвиток порушень в травному тракті, що підтверджено дослідженням стану слизових оболонок шлунково-кишкового тракту щурів за показниками запалення, антимікробного захисту та мікробної контамінації.

Хронічна алкогольна інтоксикація викликала збільшення ступеню дисбіозу в слизових оболонках шлунково-кишкового тракту, що є наслідком зменшення активності лізоциму при збільшенні активності уреаз. Найбільше підвищення ступеню дисбіозу було зафіксовано в слизових оболонках товстої кишки обох статей щурів.

Ряд авторів також вказують на розвиток дисбактеріозу в кишечнику внаслідок хронічного вживання алкоголю, а також на збільшення проникності стінок кишечника [39, 57, 173]. Через ворітну вену ендотоксини потрапляють до печінки. Клітини печінки реагують на ендотоксини багатьма механізмами, включаючи активацію TLR4, що призводить до утворення АФО, хемокінів, а також цитокінів. Вироблення цих факторів призводить до запалення тканин і сприяє розвитку алкогольної патології різних органів.

За нашими даними в слизових оболонках ШКТ щурів під впливом регулярного прийому алкоголю розвивається запалення. Так, хронічна алкоголізація викликала підвищення активності еластази в слизовій оболонці ротової порожнини на 29,2 % та 50,2 %, у слизовій оболонці шлунку на 55,5 % та 30,3 %, в печінці на 29,0 % та 20,0 %, в сироватці на 71,7 % та 40,7 %, у самців та самок відповідно. Підвищення активності кислої фосфатази було від 22,7 % до 58,6 % у самок та від 30,3 % до 112,6 % у самців в слизових оболонках травного тракту та печінці.

Підвищення маркерів запалення у травному тракті більшою мірою було виражено у самців дослідної групи. Активність еластази у самців була вищою в слизовій оболонці шлунку та печінці ніж у самок, активність кислої фосфатази в печінці також була вищою у самців дослідної групи.

Розвиток запалення в слизовій оболонці ротової порожнини можна пояснити тим, що епітеліальні клітини порожнини рота зазвичай не експерсують CYP2E1, але при хронічній алкогольній інтоксикації він активується і є додатковим джерелом АФО. Також епітеліальні клітини порожнини рота експресують АДГ і незначну кількість АЛДГ. В результаті епітеліальні клітини ротоглотки мають тенденцію накопичувати ацетальдегід. Liu Y. et al. вважають, що саме це є поясненням того, що ротова порожнина та стравохід більш сприйнятливі до канцерогенезу при вживанні алкоголю в порівнянні з іншими органами шлунково-кишкового тракту [141].

З урахуванням отриманих результатів можна зазначити про розвиток запалення в ШКТ при тривалому вживанні алкоголю [39, 173], що негативно впливає на засвоєння ряду макро- та мікроелементів [130, 195]. У свою чергу показано, що дефіцит магнію призводить до збільшення рівня TNF $\alpha$ , інтерлейкіну-1 та інтерлейкіну-6, тобто посилює запальні процеси [134].

Ріст активності еластази та кислій фосфатази Birková A. et al. [78] пояснюють окисленням клітинних ліпідів і білків під впливом алкоголю, що є однією із причин порушення бар'єру слизової оболонки шлунку та сприяє проникненню лейкоцитів, розвитку запалення і руйнуванню клітин. Nowak A. J. et al. [146] показали активацію сигнального шляху NF- $\kappa$ B, який призводить до експресії факторів, що посилюють запальні процеси при алкогольній інтоксикації.

Наші дослідження також встановили пригнічення антиоксидантного захисту та ознак розвитку оксидативного стресу в слизових оболонках ШКТ, печінці та сироватці крові щурів, який більшою мірою був виражений у самок щурів, які хронічно вживали алкоголь.

В слизовій оболонці ротової порожнини активність каталази збільшилась на 32,5 % у самців та на 37,9 % у самок. В слизовій оболонці шлунку самців активність ферменту не змінилась, а в самок – зменшилась на 24,3 %. Зниження активності каталази зафіксовано у слизовій оболонці тонкої кишки у середньому на 24,6 %, в слизовій оболонці товстої кишки –

на 15,9 %. Активність каталази не змінилась в сироватці крові самців, а у самок – зменшилась на 25,0 %.

Вміст МДА під впливом алкоголю збільшився в слизових оболонках травного тракту, печінці та сироватці у самців від 20,3 % до 50,9 % та значніше у самок – від 29,5 % до 114,6 %. Ряд авторів підтверджують збільшення вмісту МДА в печінці під впливом етанолу [112, 117, 123]. Порухення балансу між антиоксидантами та прооксидантами (за показником АПІ) було більшою мірою виражено у самок щурів в слизових оболонках ротової порожнини на 37,0 %, шлунку на 43,5 %, в печінці на 27,6 % та сироватці на 43,5 % ( $p_1 < 0,001$ , рис. 5.3).

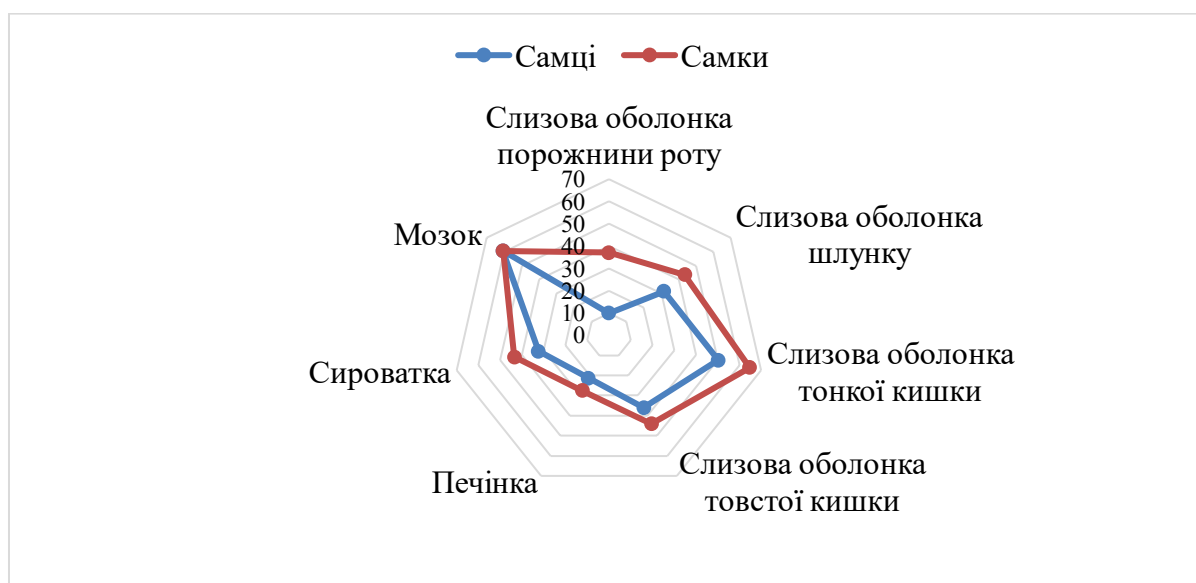


Рис.5.3 Відхилення АПІ в слизових оболонках травного тракту, печінці, сироватці та мозку при хронічній алкогольній інтоксикації, % від значень в інтактній групі

Дослідники пояснюють зниження активності СОД під впливом алкоголю гіперацетилюванням антиоксидантних білків-ферментів (СОД, глутатіонредуктаза та глутатіонтрансфераза) [71]. В дослідженнях на мишах Harris P. S. et al. [71] та Assiri M. A. et al. [73] фіксують зниження активності СОД у двох функціонально важливих ділянках лізину K68 і K122 у печінці та нирках тварин при введенні алкоголю. Вживання алкоголю також призвело

до зниження рівня відновленого глутатіону, що пов'язано з окислювальним стресом та прямим кон'югуванням глутатіону з ацетальдегідом та іншими інтермедіатами окислення спирту [112]. Розвитку ПОЛ в кишечнику при хронічній алкогольній інтоксикації сприяє активація CYP2E1 [57].

Дослідження Hideo Ohira et al. вказують на збільшення інших маркерів окислативного стресу в товстій кишці при хронічній алкогольній інтоксикації – кінцевих продуктів глікозилювання (AGES) та рецепторів кінцевих продуктів глікування (RAGE), збільшення яких пов'язано з накопиченням АФО та окислативним стресом. RAGE-опосередкований сигнальний шлях на сьогодні вважається сполучною ланкою між накопиченням AGEs та розвитком багатьох видів коліту та раку [49].

Алкоголь порушує ліпідний гомеостаз, сприяє загостренню алкогольного стеатозу печінки [138]. Окислативний стрес при вживанні алкоголю призводить до пошкодження клітин шляхом розвитку ПОЛ, інактивації білків, підвищення продукції цитокінів, пошкодження мітохондрій і ДНК, що призводить до загибелі клітин [202, 204].

На підставі отриманих результатів ми вважаємо, що пусковим механізмом розвитку остеодистрофії у тварин під впливом хронічного вживання алкоголю є окислативний стрес – накопичення активних форм кисню, зниження активності ферментів антиоксидантного захисту та спалах перекисного окиснення ліпідів у кістковій та травній системах щурів (рис. 5.4). Саме окислативний стрес індукував у кістковій тканині алкоголізованих тварин процеси резорбції та зниження інтенсивності остеогенезу. Внаслідок хронічного введення алкоголю окислативний стрес у слизових оболонках травного тракту став причиною активації запальних та дисбіотичних процесів. Бактеріальна контамінація і розвиток дисбіозу у кишечнику алкоголізованих щурів посилили окислативний стрес у печінці через надходження до неї ендотоксинів бактерій з кишечника. У свою чергу запалення і дисбіоз у кишечнику можуть бути ймовірною причиною зниження засвоєння і збільшення екскреції кальцію і додатково викликати



погіршення якості кісток і розвиток остеодистрофії. Гіпотетична схема патогенезу алкогольної остеодистрофії за результатами нашого дослідження відображено на рис. 5.4.

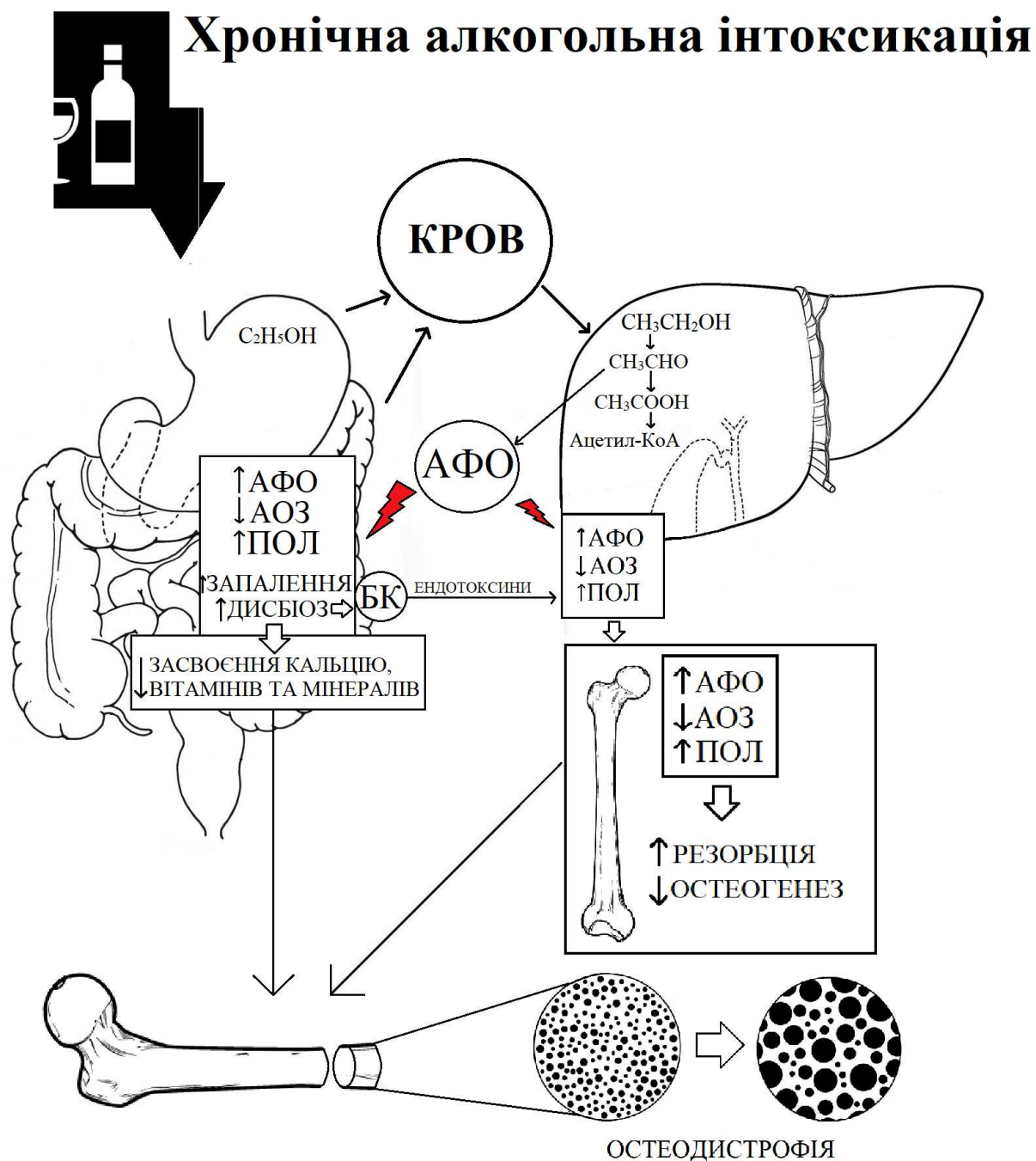


Рис.5.4. Схема патогенезу алкогольної остеодистрофії: АОЗ – антиоксидантний захист; АФО – активні форми кисню; БК – бактеріальна контамінація; ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів.

Встановлення розвитку оксидативного стресу у кістковій та травній системах внаслідок хронічної алкогольної інтоксикації, як головної ланки патогенезу, дозволило нам обґрунтувати дві схеми корекції прооксидантного впливу етанолу за допомогою комплексів препаратів з вмістом неферментних антиоксидантів (кверцетин, аскорбінова кислота) і кофакторів антиоксидантних ферментів (цинк, марганець, селен). Враховуючі збільшення екскреції кальцію внаслідок алкогольної інтоксикації, основою першого комплексу обрали кальцій з раковин устриць з вітаміном D, основу другого склав препарат Мінерол та вітаміни D і C для кращого засвоєння кальцію.

Враховуючи вищесказане, на другому етапі ми досліджували ефективність профілактичних комплексів за морфометричними та біохімічними показниками кісток, а також за маркерами запалення, антиоксидантного захисту, перекисного окиснення ліпідів, ступеня дисбіозу у слизових оболонках ШКТ та печінки. Дослідження проводили на самках щурів *Wistar rats* стадного розведення. Самок використовували тому, що на першому етапі у самок встановили більш виражені зміни досліджуваних показників внаслідок введення алкоголю. Тварини були випадковим чином поділені на чотири групи: інтактну та три групи з алкогольною інтоксикацією, двом з яких профілактично вводили мінерально-вітамінний комплекс на основі кальцію з раковин устриць (МВК, 500 мг/кг) або комплекс на основі препарату Мінерол (1000 мг/кг). Тварини поступово адаптувались до прийому алкоголю: перші 7 днів – 8 % розчин, наступні 7 днів – до 16 %, далі до кінця дослідження – 25 % розчин етанолу. Тривалість експерименту становила 104 дні.

Другий етап досліджень підтвердив наявність негативного впливу хронічного введення етанолу на якість кісток: збільшення атрофії альвеолярного відростку, а значить і посилення резорбційних процесів у щелепах, тенденцію до зниження щільності стегнових кісток, але відсутність змін у поперекових хребцях тварин. Використання МВК гальмувало атрофію

альвеолярного відростку на 17,8 % та сприяло підвищенню щільності стегнових кісток алкоголізованих тварин, а вживання комплексу «Мінерол» не вплинуло на стан щелеп та ще більш знизило щільність стегнових кісток.

За ступенім зміни біохімічних показників стегнових кісток видно, що введення МВК в більшій мірі ніж Мінеролу сприяло покращенню досліджуваних маркерів, які були порушені алкогольною інтоксикацією (рис. 5.5). Так, вживання МВК призвело до збільшення вмісту кальцію на 19,0% (Мінеролу - на 13,9 %), зниження активності еластази та кислій фосфатази на 29,0 % та 31,0 % (Мінеролу - на 21,0 % та 19,5 %), підвищення активності антиоксидантних ферментів на 20,4-28,4 % (Мінеролу - на 4,0 % та 22,0 %) у кістковій тканині щурів при алкоголізації (рис. 5.5).

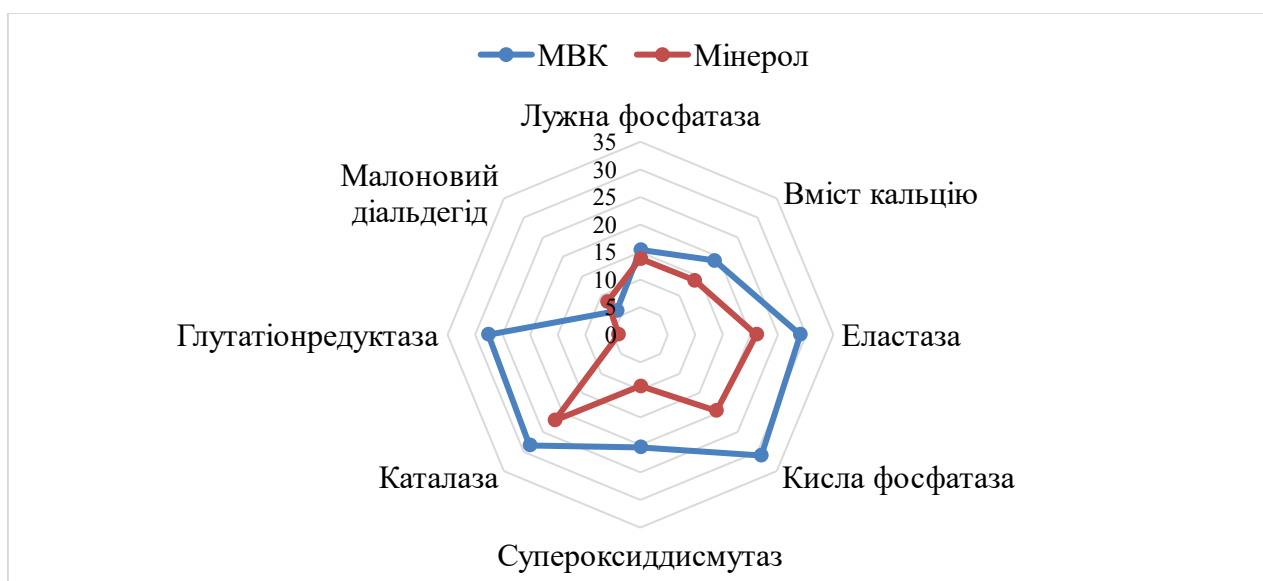


Рис. 5.5 Остеотропна ефективність МВК та Мінеролу за показниками стегнових кісток алкоголізованих щурів, % відхилення від показників у групі з алкогольною інтоксикацією

Профілактична ефективність комплексів, на наш погляд, пов'язана з їх антиоксидантними властивостями. МВК містить як неферментні антиоксиданти (кверцетин, аскорбінова кислота), так і кофактори антиоксидантних ферментів (цинк, марганець, селен), які мали стимулюючий вплив на систему антиоксидантного захисту кісткової тканини.

Відомо, що кверцетин знижує фосфорилування мішені рапаміцину у ссавців (mTOR), ERK та NF- $\kappa$ B, індукованого інтерлейкіном-17 та посилює фосфорилування аденозинмонофосфатактивованої протеїнкінази (АМРК). Активація АМРК при вживанні кверцетину призводить до пригнічення mTOR та індукції апоптозу в остеокластах [161]. Крім того, кверцетин може пригнічувати резорбцію кісткової тканини шляхом зниження експресії інтерлейкіну-6 та матриксної металопротеїнази-1 [161]. Флавоноїди мають численні корисні властивості для кісткової системи, а саме зменшення резорбції кісткової тканини шляхом пригнічення активності остеокластів та збільшення активності остеобластів через зниження рівня RANKL шляхом активації сигнального шляху Wnt [155].

Важлива роль вітаміну С, якій присутній в комплексах та сприяє кісткоутворенню завдяки стимуляції остеобластогенезу [143]. Вітамін С підвищує експресію генів кісткових морфогенетичних білків [203]. Позитивний ефект антиоксидантів можливий через підвищення рівня глутатіону, інгібування експресії TNF- $\alpha$ , запобігають збільшенню рівня склеростину та порушення балансу RANKL/OPG, викликаного оксидативним стресом [155, 156, 206].

В складі мінерально-вітамінного комплексу тварини отримували кальцій, всмоктування якого порушувалось в тонкому кишечнику при хронічній алкогольній інтоксикації, що було нами доведено в першому експерименті. Разом з комплексом МВК тварини отримували достатню кількість марганцю, цинку, міді, селену, вживання яких посилює каталітичну активність антиоксидантних ферментів [193].

Кількість мінералів в препараті Мінерол виявилась недостатньою для попередження негативного впливу алкоголю на кісткову тканину.

Так як оксидативний стрес при вживанні алкоголю призводить до порушень в кістковій тканині, а значна кількість антиоксидантів в МВК попереджує негативні зміни клітинних структур та біомолекул від

пошкодження АФО, можна було очікувати позитивний ефект вживання МВК на кісткову систему при хронічній алкогольній інтоксикації.

Хронічна алкоголізація призвела до збільшення активності лужної фосфатази, вмісту білірубину, тригліцеридів, холестерину в сироватці крові тварин, що вказує на ураження печінки та порушення ліпідного обміну (рис. 5.6). Введення МВК ефективно знижувало активність лужної фосфатази на 46,5 %, вміст білірубину – на 19,8 %, холестерину – на 35,0 %, тригліцеридів – на 25,5 %. А вживання комплексу «Мінерол» менш ефективно знижувало дані показники, або взагалі не впливало на них (вміст тригліцеридів). Визначення активності каталази та вмісту МДА в сироватці показало також кращі антиоксидантні властивості МВК, введення якого призвело до збільшення активності каталази на 40,2 % і зниження вмісту МДА на 16,8 %. Комплекс «Мінерол» не вплинув на активність каталази у сироватці крові та знизив вміст МДА на 13,7 %.

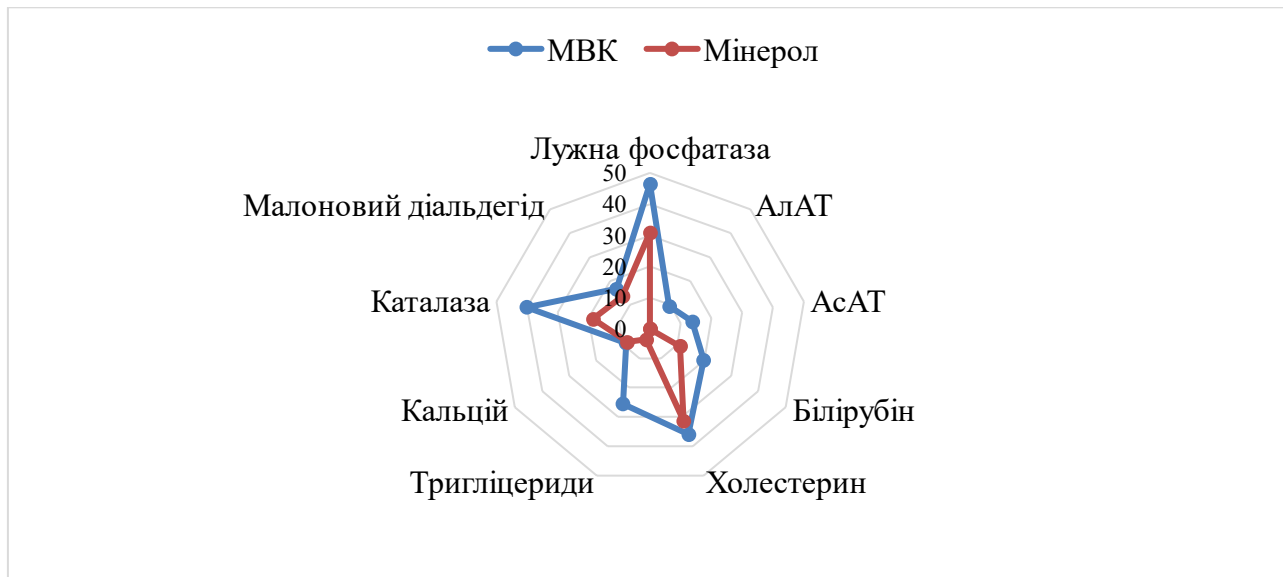


Рис. 5.6 Гепатопротекторна та антиоксидантна дія МВК та Мінеролу за показниками у сироватці крові щурів при хронічній алкогольній інтоксикації, % від показників у групі з алкогольною інтоксикацією

Запропоновані нами профілактичні комплекси ефективно зменшували прояви запальних процесів в слизових оболонках травного тракту та печінці.

Так, введення обох комплексів зменшувало активність еластази в слизових оболонках ШКТ на 11,8-34,6 % до рівня показників в інтактній групі. В печінці лише вживання МВК призвело до зниження цього маркера запалення на 19,1 %. При цьому комплекс «Мінерол» більш ефективно знижував активність еластази в слизовій оболонці товстої кишки на 33,1 % проти 20,0 % після вживання МВК (рис. 5.7).

Зменшення розвитку запалення у травному тракті тварин в умовах хронічної алкоголізації під впливом комплексів корекції можливе завдяки їх антиоксидантним властивостям, а також завдяки вмісту компонентів з протизапальними властивостями, наприклад кверцетину і селену [38].

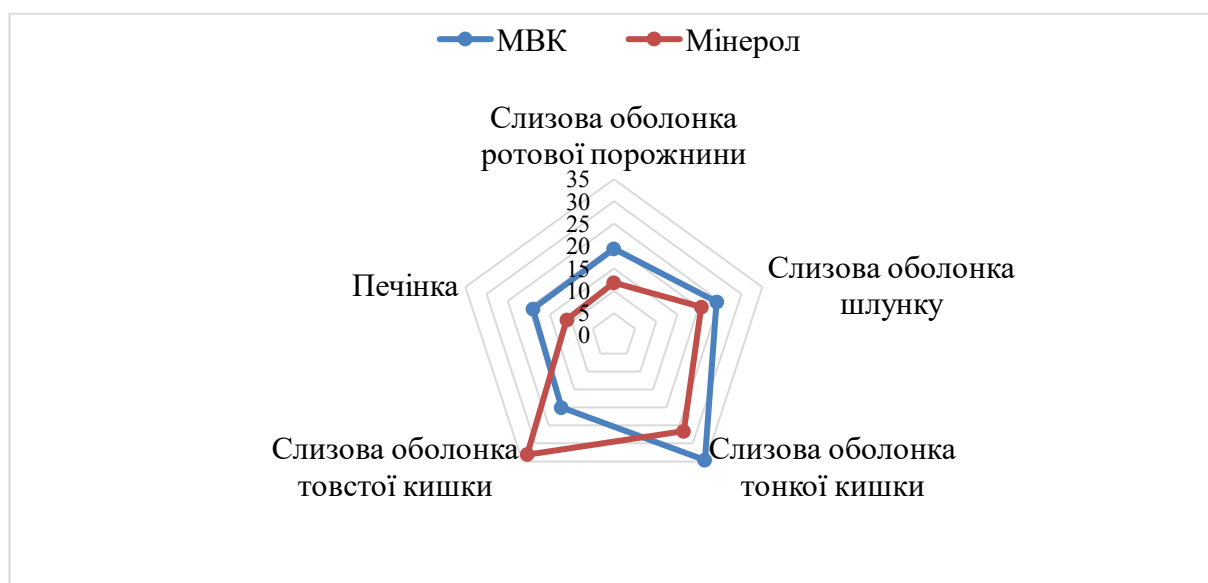


Рис. 5.7 Протизапальна ефективність комплексів за активністю еластази в слизових оболонках ШКТ та печінці щурів на тлі хронічної алкогольної інтоксикації, % від показників у групі з алкогольною інтоксикацією

Можливими механізмами, за допомогою яких вживання антиоксидантів пригнічує розвиток запалення, є його гальмування через регуляцію шляхів АКТ, р38 MAPK/NF-κB [135, 178], пригнічення активації в печінці сигнального шляху NLRP3, каспази-1 та каспази-3 [135], зниження рівня мРНК TNF-α в печінці [188]. Комплекс вітамінів в профілактичних комплексах також може зменшити негативний вплив алкоголю [200, 212].

Підтвердженням антиоксидантних властивостей комплексів корекції в умовах хронічної алкогольної інтоксикації стали результати визначення маркера ПОЛ у слизових оболонках травного тракту. Введення МВК алкоголізованих щурів призвело до зниження вмісту МДА на 22,2-50,5 %, а вживання комплексу «Мінерол» – на 16,8-50,5 %. Суттєво обидва комплекси знизили вміст МДА в печінці щурів – на 46,0 %, яка відповідала рівню показника в контрольній групі (рис. 5.8).

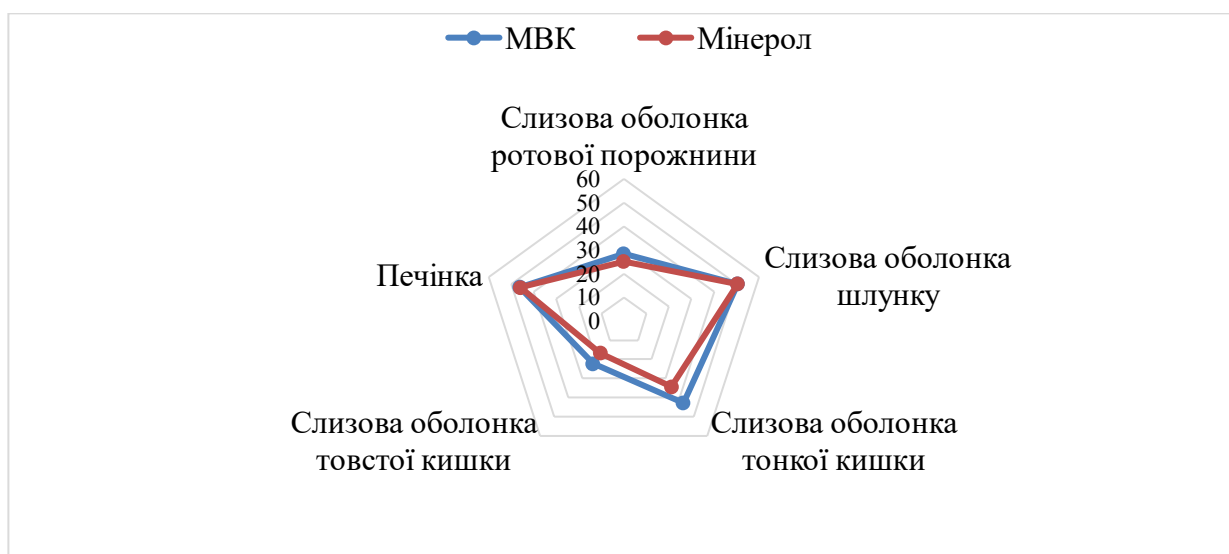


Рис. 5.8 Антиоксидантна ефективність комплексів за вмістом МДА в слизових оболонках ШКТ та печінці щурів на тлі хронічної алкогольної інтоксикації, % від показників у групі з алкогольною інтоксикацією

Позитивна дія антиоксидантів, які входять до складу комплексів, при вживанні алкоголю у травному тракті може здійснюватися, крім прямого інгібування ПОЛ, також шляхом зниження активності CYP2E1 і відновлення рівня глутатіону, активності СОД, каталази і глутатіонредуктази [103, 188], інгібування експресії NF-κB або активації PPARγ [113, 218], регуляції шляху Nrf2/НО-1 [135, 178, 219]. Активовані Nrf2 транспортується в ядро, що призводить до експресії генів антиоксидантів і генів детоксикації, таких як гемоксигеназа-1. Nrf2 також інгібує шлях NF-κB і зменшує запалення, викликане оксидативним стресом [135]. Тому дослідження ефективності

препаратів з протизапальними та антиоксидантними властивостями має широкі перспективи для розробки профілактичних заходів та лікуванні оксидативного стресу, викликаного вживанням алкоголю.

Наші дослідження встановили збільшення мікробної контамінації на слизових оболонках травного тракту щурів в умовах хронічної алкоголізації за показником активності уреазі, що підтверджується іншими авторами [39, 57, 173]. Це, на нашу думку, є наслідком запалення та розвитку оксидативного стресу у органах ШКТ тварин, яким моделювали хронічну алкогольну інтоксикацію.

Профілактичне введення МВК щурам на тлі алкогольної інтоксикації призвело до зниження активності уреазі на 19,2-40,3 %, а комплексу «Мінерол» – на 24,7-36,6 % у різних відділах травного тракту тварин (рис. 5.9).

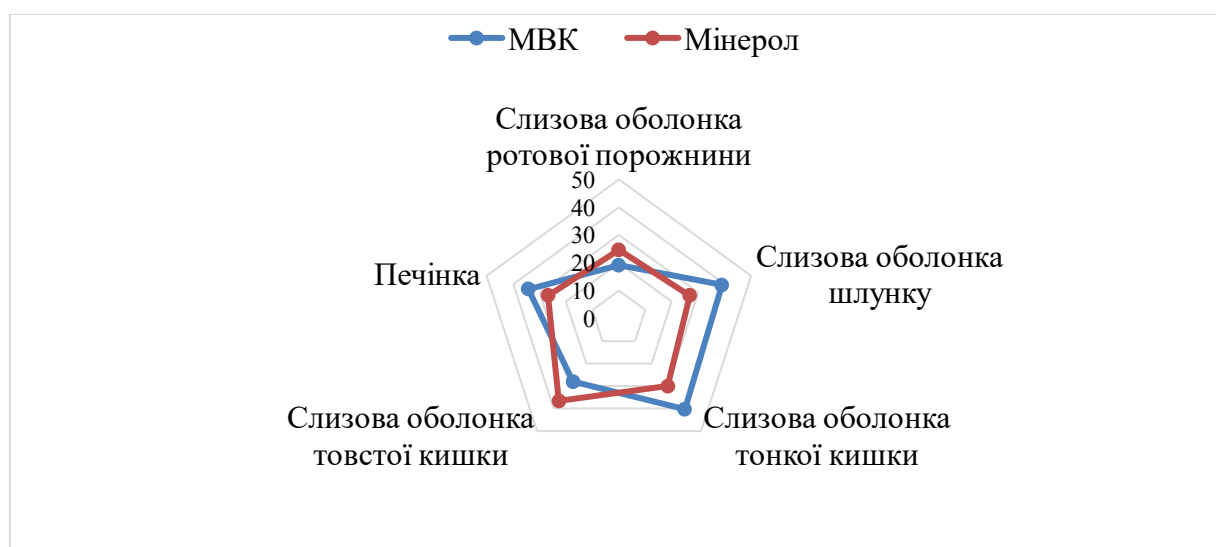


Рис. 5.9 Антимікробна дія комплексів за активністю уреазі в слизових оболонках ШКТ та печінці щурів на тлі хронічної алкогольної інтоксикації, % від показників у групі з алкогольною інтоксикацією

Щоденне введення щурам з хронічною алкогольною інтоксикацією МВК ефективно попереджувало розвиток порушень більшості показників у кістках тварин, тобто виявило виражені антиоксидантні та остеопротекторні



властивості, на відміну від комплексу «Мінерол», вживання якого погіршило стан стегнових кісток та не вплинуло на інші досліджувані показники кісткової тканини.

Профілактичне застосування комплексів корекції в умовах тривалого надходження етанолу виявило їх загальний антиоксидантний вплив, гепатопротекторну дію, сприяло ефективному зниженню прояву оксидативного стресу, запальних процесів, мікробної контамінації в слизових оболонках травного тракту.

Отримані результати другого етапу досліджень показали правомірність наших попередніх уявлень щодо можливості попередження розвитку оксидативного стресу у кістковій та травній системах щурів на тлі хронічної алкогольної інтоксикації.

Отже, проведені дослідження по використанню комплексів з антиоксидантами для профілактики порушень в кістковій тканині, які спровоковані вживанням алкоголю є перспективним напрямком. Однак необхідні подальші дослідження для з'ясування клітинних та молекулярних механізмів, що лежать в основі взаємозв'язку між оксидативним стресом, вживанням алкоголю, антиоксидантами та кістковим метаболізмом. Ймовірним недоліком наших даних та результатів інших авторів може бути недостатня точність наявних методів вимірювання ефективності антиоксидантів, що може ускладнити інтерпретацію результатів [169]. Тому розробка більш точних методів оцінки ефективності антиоксидантів має важливе значення для клінічних випробувань та розробки безпечної антиоксидантної терапії при алкоголізмі. Необхідні додаткові дослідження, зокрема клінічні випробування, щоб повністю зрозуміти потенціал і обмеження використання природних антиоксидантів для профілактики порушень, викликаних хронічною алкогольною інтоксикацією.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено експериментальне науково-практичне вирішення актуального завдання сучасної медико-біологічної проблеми, яке визначило головну роль оксидативного стресу в розвитку патологічних змін у кістковій тканині застосування мінерально-вітамінних комплексів в умовах хронічної алкоголізації та дозволило запропонувати з ціллю профілактики порушень у кістковій та травній системах при хронічній алкогольній інтоксикації.

1. Перший етап дослідження показав статеву різницю у зміні стану кісток щурів на тлі хронічної алкогольної інтоксикації. Так, встановлено підвищення атрофії альвеолярного відростку щелеп на 15,0 % у самців та на 18,0 % у самок, збільшення кількості каріозних уражень на 34,1 % у самців і на 40,0 % у самок. В стегнових кістках та поперекових хребцях алкоголізованих самок встановлена тенденція до збільшення вмісту мінеральної частки та зменшення вмісту органічного компоненту. У самців такого перерозподілу не відбулося.
2. Тривале введення алкоголю щурам викликало у кістковій тканині щелеп підвищення активності каталази на 33,3-38,6 %, падіння активності супероксиддисмутази на 15,6-18,3 % і глутатіоноредуктази на 33,1-39,4 % та зріст вмісту малонового діальдегіду на 31,1-75,3 %, які були максимальні у кістковій тканині самиць. В щелепах алкоголізованих щурів встановлено збільшення активності еластази на 26,0-38,4 % та кислої фосфатази на 32,0-35,2 % на тлі зменшення активності лужної фосфатази на 25,1-39,8 %, що було значнішим у щелепах алкоголізованих самців.
3. У слизових оболонках всіх відділів шлунково-кишкового тракту алкоголізованих щурів виявлено ознаки запалення: збільшення активності кислої фосфатази на 22,7-58,6 % та еластази на 29,2-55,5 %. В печінці

щурів відмічено зріст активності кислої фосфатази на 57,4-112,6 %, а еластази на 20,0-29,0 %, що більшою мірою виражено у самців. Активність еластази зростала у сироватці алкоголізованих щурів на 40,7-71,7 %. Хронічне введення етанолу щурам сприяло зниженню активності лізоциму на 26,4-70,0 % та зростанню активності уреаз на 21,3-139,5 % у слизових оболонках травного тракту. Найбільші патологічні зміни виявлено у шлунку, де зареєстровано найвища активність уреаз на тлі відсутності лізоциму. Встановлено зниження абсорбції кальцію у тонкій кишці алкоголізованих тварин на 15,7-22,3 % на тлі гальмування екскреції кальцію з сечею та калом на 10,7-25,3 %. Засвоєння кальцію у самців при алкоголізації збільшилось на 1,7 %, а у самок – знизилось на 6,2 %.

4. В слизових оболонках травного тракту, печінці та сироватці крові щурів внаслідок тривалого вживання етанолу встановили зниження активності каталази на 16,1-25,0 % та збільшення вмісту малонового діальдегіду на 20,3-114,6 %, що більшою мірою виражено у самок щурів. В умовах хронічної алкоголізації в головному мозку щурів зареєстровано падіння активності каталази на 31,9-33,3 % на тлі підвищення вмісту малонового діальдегіду на 68,8-72,6 %.
5. За встановленими порушеннями у кістковій тканині алкоголізованих щурів обґрунтовано склади профілактичних комплексів. Введення щурам з хронічною алкогольною інтоксикацією мінерально-вітамінного комплексу на основі раковин устриць попереджувало порушення у кістках. Сприяло зниженню атрофії альвеолярного відростку на 17,8 % та покращенню показників кісткової тканини, а саме зменшенню активності кислої фосфатази на 31,0 %, еластази на 29,0 % та вмісту малонового діальдегіду на 28,5 % на тлі збільшення активності лужної фосфатази на 71,3 %, вмісту кальцію на 19,0 % та підвищення активності супероксиддисмутази на 20,4 %, каталази на 28,4 % і глутатіонредуктази на 27,6 %. Вживання комплексу «Мінерол» погіршило стан стегнових

кісток та суттєво не вплинуло на показники ремоделювання та антиоксидантного захисту у кістковій тканині.

6. Профілактичне застосування комплексів корекції порушень внаслідок алкогольної інтоксикації сприяло однаковому покращенню показників в слизових оболонках травного тракту і печінці: знижувало активність еластази на 11,1-34,6 %, активність кислої фосфатази на 10,9-34,7 %, уреази на 19,2-40,3 %, вміст малонового діальдегіду на 16,8-50,5 % на тлі підвищення активності каталази на 30,4-42,5 %. Мінерально-вітамінний комплекс на основі раковин устриць мав більш виражену ефективність ніж «Мінерол» в сироватці крові за зниження активності лужної фосфатази на 46,5 %, рівня білірубину на 19,8 % та тригліцеридів на 25,5 %, в здатності відновлювати активність каталази на 40,2 % та знижувати вміст малонового діальдегіду на 16,8 %.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Антиоксидантно-прооксидантний індекс сироватки крові щурів з експериментальним стоматитом і його корекція зубними еліксирами / А. П. Левицький та ін. Одеський медичний журнал. 2006. №1 (93). С. 22 – 25.
2. Бекус І. Р. Вплив алкогольної інтоксикації на ліпідний профіль печінки та крові білих щурів. Український біофармацевтичний журнал. 2014. № 1 (30). С. 4 – 8.
3. Боброва К. В., Коломієць В. В. Алкогольна кардіоміопатія. Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології 2013. № 4. С. 233 – 240.
4. Борисенко Л. В., Стародубцев Є. Г. Формула здоров'я. Київ, 2015. 56 с.
5. Гапонов К. Д. Алкогольна залежність в умовах соціального стресу: епідеміологічні, клінічні і лікувальні аспекти. Український вісник психоневрології. 2016. Т. 24. Вип. 4. С. 54 – 60.
6. Дереча Л. М. Алкоголь та його дія на організм: огляд. Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія: Біологія. 2007. Вип. 6. №788. С. 7 – 16.
7. Дорогой А. П. Алкогольна кардіоміопатія і алкогольна хвороба печінки: проблеми та наслідки вживання алкоголю. Український кардіологічний журнал. 2016. № 1. С. 22 – 31.
8. Єфіменко Н. В., Сибірна Н. О. Вплив системи L-аргінін-NO на про- та антиоксидантну рівновагу в еритроцитах щурів за умов алкогольної інтоксикації. Фізіологічний журнал. 2016. Т. 62. № 4. С. 77 – 83.
9. Животовська Л. В., Скрипніков А. М., Скрипник І. М. Клініка, неврологічні та соматичні ускладнення внаслідок вживання алкоголю. Полтава: ТОВ «АСМІ», 2015. 131с.
10. Звіт щодо наркотичної та алкогольної ситуації в Україні за 2022 рік (за даними 2021 року). Київ, 2022. 78 с.

11. Кіка В. В., Макаренко О. А. Вплив алкоголю на стан мікробіоценозу у шлунково-кишковому тракті щурів. Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації: матеріали V науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, м. Харків, 18 травня 2023 р. / Національний фармацевтичний університет, 2023. С. 158 – 160.
12. Кіка В. В., Макаренко О. А. Порівняльне дослідження протизапальної та антиоксидантної ефективності профілактичних препаратів в травному тракті щурів при хронічній алкогольної інтоксикації. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2024. № 1 (75). С. 87 – 98. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10888593>
13. Кіка В. В., Макаренко О. А. Розвиток оксидативного стресу у лабораторних щурів за алкогольної інтоксикації. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2022. Випуск 87. С. 130 – 138. <https://doi.org/10.30970/VLUBS.2022.87.11>
14. Кіка В. В., Макаренко О. А. Стан кісткової тканини щурів після хронічної алкоголізації. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: тези доповідей IV науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю, 18 листопада 2021 р. / Національний фармацевтичний університет, 2021. С. 118 – 119.
15. Кіка В. В., Макаренко О. А., Новікова Ж. О. Розвиток запалення в травному тракті щурів після тривалого введення етанолу. Український журнал медицини, біології та спорту. 2021. Том 6. Випуск 6 (34). С. 253 – 258. <https://doi.org/10.26693/jmbs06.06.253>
16. Кіка В. В., Ходаков І. В., Макаренко О. А. Вплив хронічного введення етанолу на морфометричні показники різних кісток лабораторних щурів. Актуальні питання судової ветеринарії, морфології та патоморфології: тези доповідей міжнародної науково-практичної

- інтернет-конференції, ОДАУ, ФВМ, 17–18 червня 2021 р., Одеса / Одеський державний аграрний університет, 2021. – С. 65 – 67.
17. Козак Л. П. Біохімічні особливості алкоголізації щурів за умов дії інтервального гіпоксичного тренування. Експериментальна клінічна фізіологія і біохімія. 2002. № 2. С. 35 – 38.
18. Козак Л. П., Терлецька О. І., Ковальчук С. М. Роль окисного метаболізму у формуванні адаптаційного ефекту за умов впливу етанолу та коригуючої дії імпульсного гіпоксичного тренування. Фізіологія Журнал. 2002. Т. 48. № 6. С. 74 – 79.
19. Лелевич В. В. Бородинский А. Н. Роль вітамінів в метаболічній корекції алкогольної інтоксикації. Український біохімічний журнал. 2004. Т. 76. № 4. С. 86 – 89.
20. Макаренко О. А., Карабаджак Л. І., Кіка В. В. Витривалість та показники інтоксикації головного мозку щурів на тлі хронічної алкоголізації. Вісник ОНУ. Біологія. 2022. Том 27. Випуск 1 (50). С. 107 – 114. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2022.1\(50\).259843](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2022.1(50).259843)
21. Макаренко О. А., Кіка В. В. Оксидативний стрес у травному тракті лабораторних щурів при тривалій алкогольній інтоксикації. XXI читання ім. В. В. Підвисоцького, 23 – 24 червня 2022 р. / Одеський національний медичний університет, 2022. С. 64 – 65.
22. Макаренко О. А., Кіка В. В. Стан антиоксидантно-прооксидантної системи у кісткової тканині щелеп щурів при тривалому введенні етанолу. «42 Наукові читання імені О.О. Богомольця»: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю / Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, 2021. С. 111 – 112.
23. Макаренко О. А., Кіка В. В., Мудрик Л. М. Дисбаланс антиоксидантно-прооксидантної системи у кістковій тканині щелеп щурів при тривалому введенні етанолу. Вісник ОНУ, Серія: Біологія. 2021. Том

26. Випуск 1(48). С. 105 – 114. doi: 10.18524/2077-1746.2021.1(48).232849
- 24.Макаренко О.А., Карабаджак Л.І., Кіка В.В. Витривалість та показники інтоксикації головного мозку щурів при хронічній алкогольній інтоксикації. // Modern research in world science. Proceedings of the 7th International scientific and practical conference. SPC “Sci-conf.com.ua”. Lviv, Ukraine. 2022. Pp. 76-82. URL: <https://sci-conf.com.ua/vii-mizhnarodna-naukovo-praktichna-konferentsiya-modern-research-in-world-science-2-4-10-2022-lviv-ukrayina-arhiv/>
- 25.Методи дослідження стану кишечника та кісток у лабораторних щурів: довідник / Макаренко О. А. та ін. Одеса: видавець С.Л. Назарчук, 2022. 81 с.
- 26.Митник З.М., Головач І.Ю. Прямий і опосередкований негативний вплив алкоголю на кісткову тканину і печінку та механізми розвитку алкогольіндукованого остеопорозу. Сучасна гастроентерологія. 2010. № 3 (53). С. 5 – 11.
- 27.Міщук В. Г. Скоропад К. М. Поширеність поєданого алкогольного ураження печінки та підшлункової залози: оцінка критеріїв ідентифікації. Буковинський медичний вісник. 2015. Т. 19. № 1 (73). С. 108 – 113.
- 28.Мукозо-адгезивні гелі з Кверцетином – ефективна лікарська форма для корекції метаболічних порушень / А. П. Левицький та ін. Вісник Одеського національного університету. Біологія. 2017. Том 22. Вип. 2 (41). С. 79 – 87.
- 29.Особливості всмоктування кальцію та стан слизової оболонки тонкої кишки у щурів при алкогольній інтоксикації / Макаренко О. А., Кіка В. В., Хромагіна Л. Н., Цевух Л. Б. Colloquium-journal / Biology science. 2021. Випуск 26 (113). С. 4 – 8. <https://doi.org/10.24412/2520-6990-2021-26113-4-8>



30. Оцінка розвитку експериментальної хронічної алкогольної інтоксикації / В. В. Войтенко та ін. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Біологія. 2013. Т. 63. С. 17 – 19.
31. Пивоварчик М. Н. Зміна дофамінової, серотонінової та опіоїдної нейромедіаторних систем при адаптації мозку щурів при тривалій дії етанолу. Український біохімічний журнал. 2004. Т. 76. № 2. С. 93 – 97.
32. Подимова С. Д. Патогенетическая роль эссенциальных фосфолипидов в терапии алкогольной болезни печени. *Consilium medicum*. 2001. Т. 3. № 3. С. 11 – 15.
33. Рикало Н. А. Яровенко Л. О. Сучасні аспекти патогенезу розвитку алкогольної хвороби печінки. *Acta medica Leopoliensia*. 2014. Т. 20. № 3-4. С. 82 – 87.
34. Статистичні методи обробки результатів медико-біологічних досліджень: методичні вказівки з дисципліни «Медична інформатика» / Т. В. Левченко та ін. Харків : ХНМУ, 2016. 39 с.
35. Степанець І., Моргаєнко О., Остапченко Л. Білковий склад сироватки крові щурів за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2013. Вип. 61. С. 30 – 36.
36. Стоматопротекторна ефективність кверцетину у щурів з токсичним гепатитом на тлі дисбіозу / Макаренко О.А. та ін. Вісник стоматології. 2019. Том 33. № 3 (108). С. 12 – 16.
37. Харченко О. І., Гавриш Л. І., Остапченко Л. І. Токсична дія етанолу та його продуктів на організм. Вісник НАН України. 2006. № 3. С. 57 – 64
38. A summary of new findings on the biological effects of selenium in selected animal species - a critical review / B. Hosnedlova et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017. Vol. 18. № 10. P. 1 – 47. doi: 10.3390/ijms18102209
39. Alcohol and gut-derived inflammation / F. Bishehsari et al. *Alcohol research: current reviews*. Vol. 38. № 2. P. 163 – 171.

40. Alcohol and the intestine / Patel S. et al. *Biomolecules*. 2015. Vol. 5. № 4. P. 2573 – 2588. doi: 10.3390/biom5042573.
41. Alcohol consumption, bone mineral density, and risk of osteoporotic fractures: a dose-response meta-analysis / J. Godos et al. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022. Vol. 19. № 3. P. 1 – 15. doi: 10.3390/ijerph19031515.
42. Alcohol drinking alters oral microbiota to modulate the progression of alcohol-related liver disease / C. Pan et al. *iScience*. 2023. Vol. 26. № 10. P. 1 – 16. doi: 10.1016/j.isci.2023.107977
43. Alcohol use disorder: neurobiology and therapeutics / W. Yang et al. *Biomedicines*. 2022. Vol. 10 (5). P. 1 – 25. doi: 10.3390/biomedicines10051192
44. Alcohol: a simple nutrient with complex actions on bone in the adult skeleton / G. W. Gaddini, R. T. Turner, K. A. Grant, U. T. Iwaniec. *Alcoholism, clinical and experimental research*. 2016. Vol. 40 (4). P. 657 – 671. doi: 10.1111/acer.13000
45. Alcohol-induced inhibition of bone formation and neovascularization contributes to the failure of fracture healing via the miR-19a-3p/FOXF2 axis / D. Zhu et al. *Bone & joint research*. 2022. Vol. 11 (6). P. 386 – 397. doi: 10.1302/2046-3758.116.BJR-2021-0596.R1
46. Alcohol-induced Wnt signaling inhibition during bone fracture healing is normalized by intermittent parathyroid hormone treatment / E. M. Kapania et al. *Animal models and experimental medicine*. 2020. Vol. 3 (2). P. 200 – 207. doi: 10.1002/ame2.12116
47. Algorithm for the use of biochemical markers of bone turnover in the diagnosis, assessment and follow-up of treatment for osteoporosis / M. Lorentzon et al. *Advances in Therapy*. 2019. Vol. 36. № 10. P. 2811 – 2824. doi: 10.1007/s12325-019-01063-9.
48. Alpha-lipoic acid protects against chronic alcohol consumption-induced cardiac damage by the aldehyde dehydrogenase 2-associated PINK/Parkin

- pathway / C. Shen et al. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2023. Vol. 82 (5). P. 407 – 418. doi: 10.1097/FJC.0000000000001480
49. Alteration of oxidative-stress and related marker levels in mouse colonic tissues and fecal microbiota structures with chronic ethanol administration: Implications for the pathogenesis of ethanol-related colorectal cancer / H. Ohira, A. Tsuruya, D. Oikawa, W. Nakagawa. *PloS one*. 2021. Vol. 16. № 2. P. 1 – 20. doi: 10.1371/journal.pone.0246580
50. Altered gut microbiota and metabolites profile are associated with reduced bone metabolism in ethanol-induced osteoporosis / Z. Liu et al. *Cell proliferation*. 2022. Vol. 55. № 7. P. 1 – 15. doi: 10.1111/cpr.13245.
51. Antioxidants: classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles / J. Flieger, W. Flieger, J. Baj, R. Maciejewski. *Materials (Basel)*. 2021. Vol. 14. № 15. P. 1 – 54. doi: 10.3390/ma14154135.
52. Association of alcohol and bone mineral density dependent on type of alcohol consumed / A. Peel, D. Jesudason, S. Martin, G. Wittert. *Journal of bone and mineral metabolism*. 2023. Vol. 41 (5). P. 702 – 713. doi: 10.1007/s00774-023-01450-x
53. Association of plasma calcium concentrations with alcohol craving: new data on potential pathways / R. Schuster et al. *European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*. 2017. Vol. 27 (1). P. 42 – 47. doi: 10.1016/j.euroneuro.2016.11.007
54. Association of the composite dietary antioxidant index with bone mineral density in the United States general population: data from NHANES 2005–2010 / H. Han et al. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. 2023. Vol. 41. № 5. P. 631 – 641. doi: 10.1007/s00774-023-01438-7
55. Astaxanthin as a potent antioxidant for promoting bone health: an up-to-date review / I. Davan et al. *Antioxidants*. 2023. Vol. 12. № 7. P. 1 – 26. doi: 10.3390/antiox12071480

56. Autophagy, oxidative stress, and alcoholic liver disease: a systematic review and potential clinical applications / D. Salete-Granado et al. *Antioxidants (Basel)*. 2023. Vol. 12. № 7. P. 1 – 31. doi: 10.3390/antiox12071425.
57. Ballway J. W., Song B. J. Translational approaches with antioxidant phytochemicals against alcohol-mediated oxidative stress, gut dysbiosis, intestinal barrier dysfunction, and fatty liver disease. *Antioxidants (Basel)*. 2021. Vol. 10. № 3. P. 1 – 34. doi: 10.3390/antiox10030384.
58. Binge alcohol-induced bone damage is accompanied by differential expression of bone remodeling-related genes in rat vertebral bone / J. J. Callaci et al. *Calcified tissue international*. 2009. Vol. 84. № 6. P. 474 – 484. doi: 10.1007/s00223-009-9240-z.
59. Bolamperti S., Villa I., Rubinacci A. Bone remodeling: an operational process ensuring survival and bone mechanical competence. *Bone Research*. 2022. Vol. 10. № 1. P. 1 – 19. doi: 10.1038/s41413-022-00219-8.
60. Bone effects of binge alcohol drinking using prepubescent pigs as a model / U. Föger-Samwald et al. *Alcoholism, clinical and experimental research*. 2018. Vol. 42. № 11. P. 2123 – 2135. doi: 10.1111/acer.13874.
61. Bone turnover markers: basic biology to clinical applications / M. Schini et al. *Endocr Reviews*. 2023. Vol. 8. 417 – 473. doi: 10.1210/endrev/bnac031.
62. Borrell, L. N. Alcohol consumption was adversely associated with dental caries but not periodontal disease in a swedish study. *Journal of Evidence Based Dental Practice*. 2009. Vol. 9. № 1. P. 40 – 41. doi: 10.1016/j.jebdp.2008.12.015
63. Calcium channels and oxidative stress mediate a synergistic disruption of tight junctions by ethanol and acetaldehyde in caco-2 cell monolayers / G. Samak et al. *Scientific reports*. 2016. Vol. 6. P. 1 – 13. doi: 10.1038/srep38899
64. Cederbaum, A. I. Alcohol metabolism. Encyclopedia of gastroenterology, second edition. *Elsevier*. 2018. P. 47-55 doi: 10.1016/b978-0-12-801238-3.65618-0

65. Changes in the microstructure of compact and trabecular bone tissues of mice subchronically exposed to alcohol / M. Martiniakova et al. *Journal of biological research (Thessalonike, Greece)*. 2018. Vol. 25. № 1. P. 1 – 7. doi: 10.1186/s40709-018-0079-1
66. Charoenngam N., Shirvani A., Holick M. F. Vitamin D for skeletal and non-skeletal health: what we should know. *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*. 2019. Vol. 10. № 6. P. 1082 – 1093. doi: 10.1016/j.jcot.2019.07.004
67. Chronic alcohol consumption and its impact on bone and metabolic health - a narrative review / J. T. Johnson et al. *Indian journal of endocrinology and metabolism*. 2020. Vol. 26 (3). P. 206 – 212. doi: 10.4103/ijem.ijem\_26\_22
68. Chronic consumption of alcohol adversely affects the bone of young rats / R. C. Rosa et al. *Acta ortopedica brasileira*. 2019. Vol. 27. № 6. P. 321 – 324. doi: 10.1590/1413-785220192706222834
69. Chronic consumption of alcohol increases alveolar bone loss / J. M. de Almeida et al. *PLoS ONE*. 2020. Vol. 15. № 8. P. 1 – 15. doi: 10.1371/journal.pone.0232731
70. Chronic ethanol consumption does not reduce true bone density in male Wistar rats / Z. S. Clayton et al. *Alcohol*. 2021. Vol. 93. P. 17 – 23. doi: 10.1016/j.alcohol.2021.02.003.
71. Chronic ethanol consumption induces mitochondrial protein acetylation and oxidative stress in the kidney / P. S. Harris et al. *Redox biology*. 2015. Vol. 6. P. 33 – 40. doi: 10.1016/j.redox.2015.06.021.
72. Chronic ethanol consumption induces osteopenia via activation of osteoblast necroptosis / M. Guo et al. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021. Vol. 2021. P. 1 – 24. doi: 10.1155/2021/3027954
73. Chronic ethanol metabolism inhibits hepatic mitochondrial superoxide dismutase via lysine acetylation / M. A. Assiri et al. *Alcoholism, clinical and experimental research*. 2017. Vol. 41. № 10. P. 1705 – 1714. doi: 10.1111/acer.13473.

74. Chrysophanic acid shifts the differentiation tendency of BMSCs to prevent alcohol-induced osteonecrosis of the femoral head / H. Yu et al. *Cell Proliferation*. 2020. Vol. 53. № 8. P. 1 – 12. doi: 10.1111/cpr.12871
75. Comparison of selected prooxidant-antioxidant balance and bone metabolism indicators and BDNF levels between older women with different levels of physical activity / E. Sadowska-Krepa et al. *BMC Geriatr*. 2023. Vol. 23. № 1. P. 1 – 10. doi: 10.1186/s12877-023-04205-5
76. Contreras-Zentella M. L., Villalobos-García D., Hernández-Muñoz R. Ethanol metabolism in the liver, the induction of oxidant stress, and the antioxidant defense system. *Antioxidants (Basel)*. 2022. Vol. 11. № 7. P. 1 – 26. doi: 10.3390/antiox11071258.
77. Curcumin can be acts as effective agent for prevent or treatment of alcohol-induced toxicity in hepatocytes: an illustrated mechanistic review / E. Salehi et al. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*. 2021. Vol. 20 (1). P. 418 – 436. doi: 10.22037/ijpr.2020.112852.13985
78. Current view on the mechanisms of alcohol-mediated toxicity / A. Birková, B. Hubková, B. Čižmárová, B. Bolerázská. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22. № 18. P. 1 – 22. doi: 10.3390/ijms22189686
79. Day A. W., Kumamoto C. A. Gut microbiome dysbiosis in alcoholism: consequences for health and recovery. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2022. Vol. 12. P. 1 – 10. doi: 10.3389/fcimb.2022.840164
80. Decreased expression of NRF2 target genes after alcohol exposure in the background esophageal mucosa of patients with esophageal squamous cell carcinoma / S. Toda et al. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*. 2022. Vol. 258. № 3. P. 195 – 206. doi: 10.1620/tjem.2022.J077.
81. Development, prevention, and treatment of alcohol-induced organ injury: the role of nutrition / S. Barve et al. *Alcohol research: current reviews*. 2017. Vol. 38 (2). P. 289 – 302.

82. Eby J. M., Sharieh F., Callaci, J. J. Impact of alcohol on bone health, homeostasis and fracture repair. 2020. *Current Pathobiology Reports*. Vol. 8. № 3. P. 75 – 86. doi: 10.1007/s40139-020-00209-7
83. Effect of an alcoholic diet on dental caries and on Streptococcus of the mutans group: study in rats / K. Z. Kantorski et al. *Brazilian Oral Research*. 2007. Vol. 21. № 2. P. 101 – 105. doi: 10.1590/s1806-83242007000200002
84. Effect of the alcohol consumption on osteocyte cell processes: a molecular imaging study / D. B. Maurel et al. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2013. Vol. 18. № 8. P. 1680 – 1693. doi: 10.1111/jcmm.12113.
85. Effectiveness of antioxidant treatments on cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) activity after alcohol exposure in humans and in vitro models: a systematic review / D. Carrasco, C. Carrasco, V. Souza-Mello, C. Sandoval. *International Journal of Food Properties*. 2021. Vol. 24. № 1. P. 1300 – 1317. doi: 10.1080/10942912.2021.1961801
86. Effects of alcohol and estrogen receptor blockade using ICI 182,780 on bone in ovariectomized rats / L. Wagner et al. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2019. Vol. 43. № 11. P. 2301 – 2311. doi: 10.1111/acer.14185.
87. Effects of antioxidant supplementation on bone mineral density, bone mineral content and bone structure in healthy men during 60 days of 6° head-down tilt bed rest: Results from a randomised controlled trial / K. Austermann et al. *Nutrition bulletin*. 2023. Vol. 48 (2). P 256 – 266. doi: 10.1111/nbu.12619
88. Effects of chronic ethanol consumption and ovariectomy on the spontaneous alveolar bone loss in rats / P. C. Nascimento et al. *International Journal of Dentistry*. 2020. Vol. 2020. P. 1 – 7. doi: 10.1155/2020/8873462.
89. Effects of chronic heavy alcohol consumption and endurance exercise on cancellous and cortical bone microarchitecture in adult male rats / T. L. Johnson et al. *Alcoholism, clinical and experimental research*. 2014. Vol. 38. № 5. P. 1365 – 1372. doi: 10.1111/acer.12366.

90. Effects of ethanol and acetaldehyde on tight junction integrity: in vitro study in a three-dimensional intestinal epithelial cell culture model / E. Elamin et al. *PloS one*, 2012. Vol. 7 (4). P. 1 – 9. doi: 10.1371/journal.pone.0035008
91. Epigallocatechin gallate ameliorates the effects of prenatal alcohol exposure in a fetal alcohol spectrum disorder-like mouse model / L. Almeida-Toledano et al. *International journal of molecular sciences*. 2021. Vol. 22 (2). P. 1 –24. doi: 10.3390/ijms22020715
92. Ethanol binge drinking exposure affects alveolar bone quality and aggravates bone loss in experimentally-induced periodontitis / D. R. Frazão et al. *PLoS One*. 2020. Vol. 15. № 7. P. 1 – 12. doi: 10.1371/journal.pone.0236161
93. Ethanol consumption enhances periodontal inflammatory markers in rats / A. M. Dantas et al. *Archives of oral biology*. 2012. Vol. 57. № 9. P. 1211 – 1217. doi: 10.1016/j.archoralbio.2012.02.008
94. Ethanol elimination rates in men and women in consideration of the calculated liver weight / A. Dettling et al. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*. 2007. Vol. 41. № 6. P. 415 – 420. doi: 10.1016/j.alcohol.2007.05.003
95. Ethanol metabolism and its effects on the intestinal epithelial barrier / E. E. Elamin, A. A. Masclee, J. Dekker, D. M. Jonkers. *Nutrition reviews*. 2013. Vol. 71 (7). P. 483 – 499. doi: 10.1111/nure.12027
96. Ethanol-induced cell damage can result in the development of oral tumors / L. Hoes, R. Dok, K. J. Verstrepen, S. Nuyts. *Cancers (Basel)*. 2021. Vol. 13. № 15. P. 1 – 22. doi: 10.3390/cancers13153846.
97. Ethanol-induced mast cell-mediated inflammation leads to increased susceptibility of intestinal tumorigenesis in the APC  $\Delta$ 468 min mouse model of colon cancer / A. L. Wimberly et al. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2013. Vol. 37. P. 199 – 208. doi: 10.1111/j.1530-0277.2012.01894.x.
98. Evaluation of oxidative stress markers in ethanol users. Brazilian journal of medical and biological research / L. Moraes et al. *Revista brasileira de*



*pesquisas medicas e biologicas*. 2023. Vol. 56. P. 1 – 8. doi: 10.1590/1414-431X2023e12465

99. Evaluation of the use of an inorganic bone matrix in the repair of bone defects in rats submitted to experimental alcoholism / I. J. Santos German et al. *Materials (Basel, Switzerland)*. 2020. Vol. 13. № 3. P. 1 – 16. doi: 10.3390/ma13030695
100. Even without changing the bone mineral density, alcohol consumption decreases the percentage of collagen, the thickness of bone trabeculae, and increases bone fragility / O. Seabra et al. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*. 2022. Oct. 3;94. P. 1 – 10. doi: 10.1590/0001-3765202220210661
101. Exogenous activation of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling attenuates binge alcohol-induced deficient bone fracture healing / K. L. Lauing, S. Sundaramurthy, R. K. Nauer, J. J. Callaci *Alcohol and alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*. 2014. Vol. 49 (4). P. 399 – 408. doi: 10.1093/alcalc/agu006
102. Forman H. J., Zhang H. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature reviews. Drug discovery*. 2021. Vol. 20. № 9. P. 689 – 709. doi: 10.1038/s41573-021-00233-1
103. Ginsenoside Rb1 alleviates alcohol-induced liver injury by inhibiting steatosis, oxidative stress, and inflammation / Y. Lai et al. *Frontiers in pharmacology*. 2021. Vol. 12, P. 1 – 12. doi: 10.3389/fphar.2021.616409
104. Global alcohol exposure between 1990 and 2017 and forecasts until 2030: a modelling study / J. Manthey et al. *The Lancet (London, England)*. 2019. Vol. 393. № 10190. P. 2493 – 2502. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32744-2
105. Global status report on alcohol and health 2018. Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
106. Grewal R. K., Mahmood A. Ethanol induced changes in glycosylation of mucins in rat intestine. *Annals of gastroenterology*. 2009. Vol. 22 (3). P. 178 – 183.

107. Gut microbiota dysbiosis: the potential mechanisms by which alcohol disrupts gut and brain functions / G. Chen et al. *Frontiers in microbiology*. 2022. Vol. 13. P. 1 – 27. doi: 10.3389/fmicb.2022.916765
108. Harjumäki R., Pridgeon C. S., Ingelman-Sundberg M. CYP2E1 in alcoholic and non-alcoholic liver injury. Roles of ROS, reactive intermediates and lipid overload. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22. № 15. P. 1 – 20. doi: 10.3390/ijms22158221.
109. Harrison-Findik D. D., Lu S. The effect of alcohol and hydrogen peroxide on liver hepcidin gene expression in mice lacking antioxidant enzymes, glutathione peroxidase-1 or catalase. *Biomolecules*. 2015. Vol. 5. № 2. P. 793 – 807. doi: 10.3390/biom5020793
110. He F., Ru X., Wen T. NRF2, a transcription factor for stress response and beyond. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21. № 13. P. 1 – 23. doi: 10.3390/ijms21134777.
111. Heier C., Xie H., Zimmermann R. Nonoxidative ethanol metabolism in humans-from biomarkers to bioactive lipids. *IUBMB Life*. 2016. Vol. 68. № 12. P. 916 – 923. doi: 10.1002/iub.1569.
112. Hepato- and neuro-protective effects of watermelon juice on acute ethanol-induced oxidative stress in rats / O. R. Oyenihi et al. *Toxicol Reports*. 2016. Vol. 3. P. 288 – 294. doi: 10.1016/j.toxrep.2016.01.003.
113. Hepatoprotective effect of resveratrol against ethanol-induced oxidative stress through induction of superoxide dismutase in vivo and in vitro / W. M. Chen et al. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2016. Vol. 11. № 4. P. 1231 – 1238. doi: 10.3892/etm.2016.3077.
114. Hernández J. A., López-Sánchez R. C., Rendón-Ramírez A. Lipids and oxidative stress associated with ethanol-induced neurological damage. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016. Vol. 2016. P. 1 – 15. doi: 10.1155/2016/1543809

115. Historical and contemporary context of alcohol consumption in modern Ukraine / L. D. Klymanska et al. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland: 1960)*. 2022. Vol. 75. № 8. P. 1908 – 1913. doi: 10.36740/WLek202208116
116. Impact of alcohol dependency on oral health - a cross-sectional comparative study / K. Priyanka et al. *Journal of clinical and diagnostic research*. 2017. Vol. 11. № 6. P. 43 – 46. doi: 10.7860/JCDR/2017/26380.10058.
117. Impairment of Akt activity by CYP2E1 mediated oxidative stress is involved in chronic ethanol-induced fatty liver / T. Zeng et al. *Redox Biology*. 2018. Vol. 14. P. 295 – 304. doi: 10.1016/j.redox.2017.09.018.
118. Influence of alcohol consumption on body mass gain and liver antioxidant defense in adolescent growing male rats / A. Kołota, D. Głąbska, M. Oczkowski, J. Gromadzka-Ostrowska. *International journal of environmental research and public health*. 2019. Vol. 16. № 13. P. 1 – 17. doi: 10.3390/ijerph16132320
119. Influence of chronic alcohol use on osteoblastic differentiation of bone marrow cells, bone properties, and hepatic and renal morphology of rats / M. Cardoso de Sousa et al. *The Scientific World Journal*. 2018. Vol. 2018. P. 1 – 8. doi: 10.1155/2018/2494918
120. Influence of the TGF- $\beta$  superfamily on osteoclasts/osteoblasts balance in physiological and pathological bone conditions / J. Jann, S. Gascon, S. Roux, N. Faucheux. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21. № 20. P. 1 – 58. doi: 10.3390/ijms21207597.
121. Insight into lotusine and puerarin in repairing alcohol-induced metabolic disorder based on UPLC-MS/MS / J. Xu et al. *International journal of molecular sciences*. 2022. Vol. 23 (18). P. 1 – 17. doi: 10.3390/ijms231810385
122. Intestinal and hepatic microbiota changes associated with chronic ethanol administration in mice / S. Bluemel et al. *Gut Microbes*. 2020. Vol. 11. № 3. P. 265 – 275. doi: 10.1080/19490976.2019.1595300.

123. Ion channels and oxidative stress as a potential link for the diagnosis or treatment of liver diseases / A. Ramírez, A. Y. Vázquez-Sánchez, N. Carrión-Robalino, J. Camacho. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016. Vol. 2016. P. 1 – 17. doi: 10.1155/2016/3928714.
124. Jones A. W. Alcohol, its absorption, distribution, metabolism, and excretion in the body and pharmacokinetic calculations. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Forensic Science*. 2019. Vol. 1. № 5. P. 1 – 26. doi:10.1002/wfs2.1340
125. Khairnar M. R., Wadgave U., Khairnar S. M. Effect of alcoholism on oral health: a review. *Journal of Alcoholism & Drug Dependence*. 2017. Vol. 5. № 3. P. 1 – 5. doi: 10.4172/2329-6488.1000266
126. Krasovsky K. Alcohol-related mortality in Ukraine. *Drug and alcohol review*. 2009. Vol. 28. № 4. P. 396 – 405. doi: 10.1111/j.1465-3362.2009.00034.x
127. Lauing Kristen Leigh. Effects of binge alcohol exposure on canonical Wnt signaling during fracture repair: dissertations / Loyola University Chicago, 2012. P. 365. [https://ecommons.luc.edu/luc\\_diss/365](https://ecommons.luc.edu/luc_diss/365)
128. Levchuk N. Alcohol and mortality in Ukraine. *Institute for Demography and Social Studies at the National Academy of Sciences of Ukraine*. 2009. P. 1 – 25.
129. Levels of vitamin D and a bone resorption marker in the sera of young women with alcohol use disorder / K. Masuko et al. *Journal of addictive diseases*. 2023. Nov. 11. P. 1 –9. doi: 10.1080/10550887.2023.2264999
130. Lewis M. J. Alcoholism and nutrition: a review of vitamin supplementation and treatment. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2020. Vol. 23 (2). P. 138 – 144. doi: 10.1097/MCO.0000000000000622
131. Li F., McClain C. J., Feng W. Microbiome dysbiosis and alcoholic liver disease. *Liver research*. 2019. Vol. 3 (3-4). P. 218 – 226. doi: 10.1016/j.livres.2019.09.001

132. Liu W., Zhang X. Receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand (RANKL)/RANK/osteoprotegerin system in bone and other tissues (review). *Molecular medicine reports*. 2015. Vol. 11 (5). P. 3212 – 3218. doi: 10.3892/mmr.2015.3152
133. Local production of osteoprotegerin by osteoblasts suppresses bone resorption / K. M. Cawley et al. *Cell Reports*. 2020. Vol. 32. № 10. P. 1 – 21. doi: 10.1016/j.celrep.2020.108052.
134. Magnesium and osteoporosis: current state of knowledge and future research directions / S. Castiglioni, A. Cazzaniga, W. Albisetti, J. A. Maier. *Nutrients*. 2013. Vol. 5. № 8. P. 3022 – 3033. doi: 10.3390/nu5083022
135. Magnolol prevents acute alcoholic liver damage by activating PI3K/Nrf2/PPAR $\gamma$  and inhibiting NLRP3 signaling pathway / X. Liu et al. *Front Pharmacol*. 2019. Vol. 10. P. 1 – 11. doi: 10.3389/fphar.2019.01459.
136. Mendes B. G., Schnabl B. From intestinal dysbiosis to alcohol-associated liver disease. *Clinical and molecular hepatology*. 2020. Vol. 26 (4). P. 595 – 605. doi: 10.3350/cmh.2020.0086
137. Metabolic property of acetaldehyde production from ethanol and glucose by oral Streptococcus and Neisseria / R. Tagaino et al. *Scientific Reports*. 2019. Vol. 9. № 1. P. 1 – 8. doi: 10.1038/s41598-019-46790-9.
138. Michalak A., Lach T., Cichoż-Lach H. Oxidative stress - a key player in the course of alcohol-related liver disease. *Journal of clinical medicine*. 2021. Vol. 10. № 14. P. 1 – 17. doi: 10.3390/jcm10143011
139. Mizoguchi T., Ono N. The diverse origin of bone-forming osteoblasts. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2021. Vol. 36. № 8. P. 1432 – 1447. doi: 10.1002/jbmr.4410.
140. Molecular mechanisms of ethanol biotransformation: enzymes of oxidative and nonoxidative metabolic pathways in human / G. Kubiak-Tomaszewska et al. *Xenobiotica; the fate of foreign compounds in biological systems*. 2020. Vol. 50. № 1. P. 1180 – 1201. doi:10.1080/00498254.2020.1761571

141. Molecular mechanisms of ethanol-associated oro-esophageal squamous cell carcinoma / Y. Liu, H. Chen, Z. Sun, X. Chen. *Cancer Letters*. 2015. Vol. 361. № 2. P. 164 – 173. doi: 10.1016/j.canlet.2015.03.006.
142. Mortality and alcohol as its cause-comparative characteristics of the two neighboring countries: Ukraine and Poland / O. Lyubinetz et al. *International journal of environmental research and public health*. 2021. Vol. 18. № 20. P. 1 – 15. doi: 10.3390/ijerph182010810
143. Mottaghi P., Nasri P. Antioxidant and bone; protect your future: a brief review. *Iranian Journal of Public Health*. 2021. Vol. 50. № 9. P. 1783 – 1788. doi: 10.18502/ijph.v50i9.7049.
144. Natural recovery by the liver and other organs after chronic alcohol use / P. G. Thomes et al. *Alcohol Research: Current Reviews*. 2021. Vol. 41. № 1. P. 1 – 15. doi: 10.35946/arcr.v41.1.05.
145. Non-oxidative ethanol metabolism in human hepatic cells in vitro: Involvement of uridine diphospho-glucuronosyltransferase 1A9 in ethylglucuronide production / C. Hugbart et al. *Toxicology in vitro*. 2020. Vol. 66. P. 1 – 13. 104842. doi: 10.1016/j.tiv.2020.104842
146. Nowak A. J., Relja B. The impact of acute or chronic alcohol intake on the NF- $\kappa$ B signaling pathway in alcohol-related liver disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21. № 24. P. 1 – 35. doi: 10.3390/ijms21249407.
147. NRF2 mitigates acute alcohol-induced hepatic and pancreatic injury in mice / J. Sun et al. *Food Chem Toxicol*. 2018. Vol. 121. P. 495 – 503. doi: 10.1016/j.fct.2018.09.042.
148. Nutrition, physical activity, and dietary supplementation to prevent bone mineral density loss: a food pyramid / M. Rondanelli et al. *Nutrients*. 2021. Vol. 1. № 60. P. 1 – 19. doi: 10.3390/nu14010074
149. O’Grady I., Anderson A., O’Sullivan J. The interplay of the oral microbiome and alcohol consumption in oral squamous cell carcinomas. *Oral Oncology*. 2020. Vol. 110. P. 1 – 12. doi: 10.1016/j.oraloncology.2020.105011

150. OECD/European Union (2022), Health at a Glance: Europe 2022: State of Health in the EU Cycle, OECD Publishing, Paris, doi: 10.1787/507433b0-en.
151. OPG/RANKL/RANK gene methylation among alcohol-induced femoral head necrosis in northern Chinese men / T. Wang et al. *Journal of orthopaedic surgery and research*. 2021. Vol. 16 (1). P. 1 – 9. doi: 10.1186/s13018-021-02356-y
152. Osteoblast-osteoclast communication and bone homeostasis / J-M Kim. et al. *Cells*. 2020. Vol. 9. № 9. P. 1 – 14. doi: 10.3390/cells9092073
153. Osteocyte-derived RANKL is a critical mediator of the increased bone resorption caused by dietary calcium deficiency / J. Xiong et al. *Bone*. 2014. Vol. 66. P. 146 – 154. doi: 10.1016/j.bone.2014.06.006
154. Oxidative stress and antioxidants - a critical review on in vitro antioxidant assays / R. R. Kotha, F. S. Tareq, E. Yildiz, D. L. Luthria. *Antioxidants (Basel)*. 2022. Vol. 11. № 12. P. 1 – 30. doi: 10.3390/antiox11122388.
155. Oxidative stress and natural antioxidants in osteoporosis: novel preventive and therapeutic approaches / G. Marcucci et al. *Antioxidants*. 2023. Vol. 12. № 2. P. 1 – 27. doi: 10.3390/antiox12020373
156. Oxidative stress in bone remodeling: role of antioxidants / V. Domazetovic et al. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*. 2017. Vol. 14. № 2. P. 1 – 8. doi: 10.11138/ccmbm/2017.14.1.209.
157. Oxidative stress parameters in the liver of growing male rats receiving various alcoholic beverages / A. Kołota, D. Głąbska, M. Oczkowski, J. Gromadzka-Ostrowska. *Nutrients*. 2020. Vol. 12. № 1. P. 1 – 14. doi: 10.3390/nu12010158
158. Park-Min K-H., Lorenzo J. Osteoclasts: other functions. *Bone*. 2022. Vol. 165. P. 1 – 39. 116576. doi: 10.1016/j.bone.2022.116576
159. Partial protection by dietary antioxidants against ethanol-induced osteopenia and changes in bone morphology in female mice / A. W. Alund et al.

- Alcoholism, clinical and experimental research*. 2016. Vol. 41. № 1. P. 46 – 56. doi: 10.1111/acer.13284.
160. Pathophysiological aspects of alcohol metabolism in the liver / J. Hyun et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22. № 11. P. 1 – 16. doi: 10.3390/ijms22115717.
161. Polyphenols as potential preventers of osteoporosis: a comprehensive review on antioxidant and anti-inflammatory effects, molecular mechanisms, and signal pathways in bone metabolism / Z. Su, B. Yao, G. Liu, J. Fang. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2024. Vol. 123. P 1 – 11. doi: 10.1016/j.jnutbio.2023.109488
162. Possible involvement of elastase in enhanced osteoclast differentiation by neutrophils through degradation of osteoprotegerin / R. Sugisaki et al. *Bone*. 2019. Vol. 132. P. 1 – 6. doi: 10.1016/j.bone.2019.115216
163. Potential therapeutic implication of herbal medicine in mitochondria-mediated oxidative stress-related liver diseases / M. N. Park et al. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2022. Vol. 11 (10). P. 1 – 25. doi: 10.3390/antiox11102041
164. Prevention, screening, and treatment for heavy drinking and alcohol use disorder / J. Knox, D. S. Hasin, F. R. R. Larson, H. R. Kranzler. *The lancet. Psychiatry*. 2019. Vol. 6 (12). P. 1054 – 1067. doi: 10.1016/S2215-0366(19)30213-5
165. Prolonged caffeine intake decreases alveolar bone damage induced by binge-like ethanol consumption in adolescent female rats / C. Maia et al. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020. Vol. 130. P. 1 – 9. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110608
166. Prophylactic efficiency of the administration of vitamin, mineral and sorbent complexes on bone tissue in female rats against the background of chronic alcohol consumption / Makarenko O. A., Kika V. V., Khodakov I. V., Khromagina, L. M. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2023. Vol. 14 (1). P. 94 – 101. <https://doi.org/10.15421/022314>



167. Puerarin prevents epithelial tight junction dysfunction induced by ethanol in Caco-2 cell model / S. Che et al. *Journal of Functional Foods*. 2020. Vol. 73. P. 1 – 9. doi: 10.1016/j.jff.2020.104079
168. Quercetin prevents bone loss in hindlimb suspension mice via stanniocalcin 1-mediated inhibition of osteoclastogenesis / Y. B. Niu et al. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2020. Vol. 41. № 11. P. 1476 – 1486. doi: 10.1038/s41401-020-00509-z
169. Quercetin promotes bone marrow mesenchymal stem cell proliferation and osteogenic differentiation through the H19/miR-625-5p axis to activate the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway / W. Bian et al. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2021. Vol. 21. № 1. P. 1 – 12. doi: 10.1186/s12906-021-03418-8
170. Rachdaoui N., Sarkar D. K. Effects of alcohol on the endocrine system. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. 2013. Vol. 42 (3). P. 593 – 615. doi: 10.1016/j.ecl.2013.05.008
171. Rajendram R., Hunter R. J., Preedy V. R. Alcohol: absorption, metabolism, and physiological effects. *Academic Press* / ed. by Benjamin Caballero, *Encyclopedia of Human Nutrition (Fourth Edition)*. 2023. P. 250 – 265. doi: 10.1016/B978-0-12-821848-8.00133-5.
172. RANKL/RANK/OPG pathway: a mechanism involved in exercise-induced bone remodeling / M. Tobeiha, M. H. Moghadasian, N. Amin, S. Jafarnejad. *BioMed research international*. 2020. Vol. 2020. P. 1 – 11. doi: 10.1155/2020/6910312
173. Reduced gut microbiome protects from alcohol-induced neuroinflammation and alters intestinal and brain inflammasome expression / P. P. Lowe et al., Szabo G. *Journal of Neuroinflammation*. 2018. Vol. 15. № 1. P. 1 – 12. doi: 10.1186/s12974-018-1328-9.
174. Regulation of cytochrome P450 2e1 expression by ethanol: role of oxidative stress-mediated pkc/jnk/sp1 pathway / M. Jin, A. Ande, A. Kumar, S.

- Kumar. *Cell Death Disease*. 2013. Vol. 4. № 3. P. 1 – 10. doi: 10.1038/cddis.2013.78
175. Relationship between bone mineral density and alcohol intake: A nationwide health survey analysis of postmenopausal women / H. D. Jang et al. *PloS one*. 2017. Vol. 12(6). P. 1 – 11. doi: 10.1371/journal.pone.0180132
176. Robling A. G., Bonewald L. F. The osteocyte: new insights. *Annual Review of Physiology*. 2020. Vol. 82. № 1. P. 485 – 506. doi: 10.1146/annurev-physiol-021119-034332.
177. Ronis M. J., Mercer K., Chen J. R. Effects of nutrition and alcohol consumption on bone loss. *Current osteoporosis reports*. 2011. Vol. 9 (2). P. 53 – 59. doi: 10.1007/s11914-011-0049-0
178. Scutellarin prevents acute alcohol-induced liver injury via inhibiting oxidative stress by regulating the Nrf2/HO-1 pathway and inhibiting inflammation by regulating the AKT, p38 MAPK/NF- $\kappa$ B pathways / X. Zhang et al. *Journal of Zhejiang University. Science*. 2023. Vol. 24. № 7. P. 617 – 631. doi: 10.1631/jzus.B2200612.
179. Seitz H. K., Mueller S. Alcohol: metabolism, toxicity and its impact on nutrition. *Reference Module in Biomedical Sciences*. 2014. P. 1 – 13. doi: 10.1016/b978-0-12-801238-3.00229-4
180. Serum copper levels are associated with bone mineral density and total fracture / X. Qu et al. *Journal of Orthopaedic Translation*. 2020. Vol. 14. P. 34 – 44. doi: 10.1016/j.jot.2018.05.001
181. Silva C. S., Portari G. V., Vannucchi, H. Antioxidant treatment and alcoholism. *Molecular Aspects of Alcohol and Nutrition*. 2016. P. 119 – 131. doi: 10.1016/b978-0-12-800773-0.00010-0
182. Single and simultaneous effects of acrylamide and ethanol on bone microstructure of mice after one remodeling cycle / A. Sarocka et al. *BMC Pharmacol Toxicol*. 2019. Vol. 20. № 1. P. 1 – 9. doi: 10.1186/s40360-019-0317-7.

183. Skeletal effects of zinc deficiency in growing rats / J. Eberle et al. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 1999. Vol. 13. № 1-2. P. 21 – 26. doi: 10.1016/S0946-672X(99)80019-4
184. Spine bone mineral density and vertebral body height are altered by alcohol consumption in growing male and female rats / F. H. Wezeman, D. Juknelis, N. Frost, J. J. Callaci. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*. 2003. Vol. 31. P. 87 – 92.
185. Stornetta A., Guidolin V., Balbo S. Alcohol-derived acetaldehyde exposure in the oral cavity. *Cancers (Basel)*. 2018. Vol. 10. № 1. P. 1 – 27. doi: 10.3390/cancers10010020.
186. Sub-toxic ethanol exposure modulates gene expression and enzyme activity of antioxidant systems to provide neuroprotection in hippocampal HT22 cells / V. Casañas-Sánchez, J. A. Pérez, D. Quinto-Aleman, M. Díaz. *Front Physiol*. 2016. Vol. 7. P. 1 – 12. doi: 10.3389/fphys.2016.00312.
187. Swift R. M., Aston E. R. Pharmacotherapy for alcohol use disorder: current and emerging therapies. *Harvard review of psychiatry*. 2015. Vol. 23 (2). P. 122 – 133. doi: 10.1097/HRP.0000000000000079
188. Synergistic protective effect of fermented schizandrae fructus pomace and hoveniae semen cum fructus extracts mixture in the ethanol-induced hepatotoxicity / K. H. Jegal et al. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2023. Vol. 12 (8). P. 1 – 17. doi: 10.3390/antiox12081602
189. Tartrate-resistant acid phosphatase (TRACP 5b): a biomarker of bone resorption rate in support of drug development: modification, validation and application of the BoneTRAP kit assay / Y. Wu et al. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2009. Vol. 49. № 5. P. 1203 – 1212. doi: 10.1016/j.jpba.2009.03.002
190. Teschke R. Alcoholic liver disease: alcohol metabolism, cascade of molecular mechanisms, cellular targets, and clinical aspects. *Biomedicines*. 2018. Vol. 6. № 4. P. 1 – 57. doi: 10.3390/biomedicines6040106.

191. The applications and mechanisms of superoxide dismutase in medicine, food, and cosmetics / M. Zheng et al. *Antioxidants (Basel)*. 2023. Vol. 12. № 9. P. 1 – 20. doi: 10.3390/antiox12091675.
192. The effects of calcium, magnesium, phosphorus, fluoride, and lead on bone tissue / Ž. Ciosek et al. 2021. *Biomolecules*. Vol. 11. № 4. P. 1 – 26. doi: 10.3390/biom11040506
193. The impact of oxidative stress in human pathology: focus on gastrointestinal disorders / R. Vona et al. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2021. Vol. 10. № 2. P. 1 – 26. doi: 10.3390/antiox10020201
194. The influence of alcohol consumption on intestinal nutrient absorption: a comprehensive review / M. Butts et al. *Nutrients*. 2023. Vol. 15 (7). P. 1 – 15. doi: 10.3390/nu15071571
195. The origins and roles of osteoclasts in bone development, homeostasis and repair / Y. Yahara et al. *Development*. 2022. Vol. 149. № 8. P. 1 – 18. doi: 10.1242/dev.199908.
196. The osteocyte: a multifunctional cell within the bone / F. G. F. Tresguerres et al. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*. 2019. Vol. 227. P. 1 – 41. doi: 10.1016/j.aanat.2019.151422
197. The protective effects of rosmarinic acid on ethanol-induced gastritis in male rats: antioxidant defense enhancement / F. Heidari, T. Komeili-Movahhed, Z. Hamidizad, A. Moslehi. *Research in Pharmaceutical*. 2021. Vol. 16. № 3. P. 305 – 314. doi: 10.4103/1735-5362.314829.
198. The role of osteocytes-specific molecular mechanism in regulation of mechanotransduction – a systematic review / M. C. M. Li et al. *Journal of Orthopaedic Translation*. 2021. Vol. 29. P. 1 – 9. doi: 10.1016/j.jot.2021.04.005
199. The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases / S. Li et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015. Vol. 16. № 11. P. 26087 – 26124. doi: 10.3390/ijms161125942.

200. The role of vitamin and microelement supplementation in the treatment of ethanol-induced liver disease / A. W. Uździcki, A. Zych, B. A. Świerad, M. Wawrzynowicz-Syczewska. *Przegląd gastroenterologiczny*. 2022. Vol. 17 (4). P. 253 – 256. doi: 10.5114/pg.2022.121820
201. The roles and mechanisms of actions of vitamin C in bone: new developments / P. Aghajanian, S. Hall, M. D. Wongworawat, S. Mohan. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2015. Vol. 30. № 11. P. 1945 – 1955. doi: 10.1002/jbmr.2709
202. The status of oxidative stress in patients with alcohol dependence: a meta-analysis / M. Yang et al. *Antioxidants (Basel)*. 2022. Vol. 11. № 10. P. 1 – 19. doi: 10.3390/antiox11101919.
203. Three classes of antioxidant defense systems and the development of postmenopausal osteoporosis / K. Yang et al. *Frontiers in physiology*. 2022. Vol. 13. P 1 – 11. doi: 10.3389/fphys.2022.840293
204. Tsermpini E. E., Plemenitaš Ilješ A., Dolžan V. Alcohol-induced oxidative stress and the role of antioxidants in alcohol use disorder: a systematic review. *Antioxidants (Basel)*. 2022. Vol. 11. № 7. P. 1 – 33. doi: 10.3390/antiox11071374.
205. Twelve months of voluntary heavy alcohol consumption in male rhesus macaques suppresses intracortical bone remodeling / G. W. Gaddini et al. *Bone*. 2015. Vol. 71. P. 227 – 236. doi: 10.1016/j.bone.2014.10.025.
206. Understanding reactive oxygen species in bone regeneration: a glance at potential therapeutics and bioengineering applications / A. J. Sheppard, A. M. Barfield, S. Barton, Y. Dong. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. 2022. Vol. 10. P 1 – 19. doi: 10.3389/fbioe.2022.836764
207. Valatas V., Kolios G. Ethanol effects on mucin glycosylation: another kick in the gut? *Annals of gastroenterology*. 2009. Vol. 22 (3). P. 138 – 139.
208. Vitamin C deficiency and the risk of osteoporosis in patients with an inflammatory Bowel disease / A. E. Ratajczak et al. *Nutrients*. 2020. Vol. 12. № 8. P. 1 – 19. doi: 10.3390/nu12082263

209. Vitamin D and alcohol: a review of the current literature / V. S. Tardelli, M. P. P. D. Lago, D. X. D. Silveira, T. M. Fidalgo. *Psychiatry research*. 2017. Vol. 248. P. 83 – 86. doi: 10.1016/j.psychres.2016.10.051
210. Vitamin D supplementation protects against bone loss associated with chronic alcohol administration in female mice / K. E. Mercer et al. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2012. Vol. 343. № 2. P. 401 – 412. doi: 10.1124/jpet.112.197038.
211. Vitamin E improved bone strength and bone minerals in male rats given alcohol / S. Zakaria et al. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2017; Vol. 20. № 12. P. 1360 – 1367. doi: 10.22038/IJBMS.2017.9610
212. Vitamin supplements as a nutritional strategy against chronic alcohol consumption? An updated review / C. Sandoval, J. Farías, M. Zamorano, C. Herrera. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2022. Vol. 11 (3). P. 1 – 12. doi: 10.3390/antiox11030564
213. Wawrzyniak A., Balawender K. Structural and metabolic changes in bone. *Animals*. 2022. Vol. 12. № 15. P. 19 – 46. doi: 10.3390/ani12151946
214. Wilson D. F., Matschinsky F. M. Ethanol metabolism: the good, the bad, and the ugly. *Medical Hypotheses*. 2020. Vol. 140. P. 1 – 11. doi: 10.1016/j.mehy.2020.109638.
215. Wilson-Barnes S. L., Lanham-New S. A., Lambert, H. Modifiable risk factors for bone health & fragility fractures. *Best Practice & Research. Clinical Rheumatology*. 2022. Vol. 36. № 3. P. 1 – 18. doi: 10.1016/j.berh.2022.101758
216. Wong S. K., Chin K. Y., Ima-Nirwana S. Quercetin as an agent for protecting the bone: a review of the current evidence. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21. № 17. P. 1 – 37. doi: 10.3390/ijms21176448
217. World health statistics 2023: monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals. Geneva: World Health Organization; 2023. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

218. Zhang W., Hong R., Tian T. Silymarin's protective effects and possible mechanisms on alcoholic fatty liver for rats. *Biomolecules & therapeutics*. 2013. Vol. 21 (4). P. 264 – 269. doi: 10.4062/biomolther.2013.020
219. Zhou R., Lin J., Wu D. Sulforaphane induces Nrf2 and protects against CYP2E1-dependent binge alcohol-induced liver steatosis. *Biochim Biophys Acta*. 2014. Vol. 1840. № 1. P. 209 – 218. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.09.018.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Отримані результати дослідження дають підставу рекомендувати використання компонентів профілактичного комплексу у клінічній практиці для осіб, які не можуть відмовитися від регулярного прийому алкоголю, для попередження розвитку оксидативного стресу патологічних ускладнень у травній та кістковій системах. Препарати комплексів ТОВ "Еліт-Фарм", Україна і Мінерол (НВМП «ГОБОР», Україна) дозволено для використання як дієтичні добавки до їжі. Пропонується такі схеми:

### Схема № 1 Препарати ТОВ "Еліт-Фарм":

Кальцій з вітаміном D3 – 5 табл.;

Селен активний – 1 табл.;

Мідь активна – 2 табл.;

Марганець активний – 2 табл.;

Цинк активний – 2 табл.;

Магній активний – 3 табл.;

Аскорбінова кислота (АТ «Київський вітамінний завод») – 500 мг;

Квертин (ПАТ "НВЦ Борщагівський хіміко-фармац. завод") – 4 табл.

Препарати приймати під час їжі.

### Схема № 2

Мінерол: 1 чайну ложку додати до 150-200 мл води, розмішати і відстояти 3-5 секунд. Приймати надосадовий розчин за 30 хвилин до прийому їжі 1-2 рази на добу.

Аскорбінова кислота (АТ «Київський вітамінний завод») – 500 мг;

Вітамін D (Акваліт-Д3, ПрАТ «Технолог», Україна) ІУ3 – 500 МО;

Квертин, ( ПАТ "НВЦ Борщагівський хіміко-фармац. завод" – 4 табл.

Препарати приймати під час їжі.

Курс прийому схем – 2 місяці, схеми чергувати, по три курси кожної схеми на рік.



## ДОДАТКИ

## Додаток А

*Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації*

1. Макаренко О. А., Кіка В. В., Мудрик Л. М. Дисбаланс антиоксидантно-прооксидантної системи у кістковій тканині щелеп щурів при тривалому введенні етанолу. *Вісник ОНУ, Серія: Біологія*. 2021. Том 26. Випуск 1 (48). С. 105 – 114. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2021.1\(48\).232849](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2021.1(48).232849). *Особистий внесок здобувача полягає в проведенні експериментальних досліджень, участі в узагальненні результатів та підготовці статті до друку.*
2. Особливості всмоктування кальцію та стан слизової оболонки тонкої кишки у щурів при алкогольній інтоксикації / Макаренко О. А., Кіка В. В., Хромагіна Л. Н., Цевух Л. Б. *Colloquium-journal / Biology science*. 2021. Випуск 26 (113). С. 4 – 8. <https://doi.org/10.24412/2520-6990-2021-26113-4-8>. *Особистий внесок здобувача полягає в проведенні експериментальних досліджень, участі в узагальненні результатів та підготовці статті до друку.*
3. Кіка В. В., Макаренко О. А., Новікова Ж. О. Розвиток запалення в травному тракті щурів після тривалого введення етанолу. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2021. Том 6. Випуск 6 (34). С. 253 – 258. <https://doi.org/10.26693/jmbs06.06.253>. *Особистий внесок здобувача полягає в проведенні експериментальних досліджень, участі в узагальненні результатів та підготовці статті до друку.*
4. Кіка В. В., Макаренко О. А. Розвиток оксидативного стресу у лабораторних щурів за алкогольної інтоксикації. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2022. Випуск 87. С. 130 – 138. <https://doi.org/10.30970/VLUBS.2022.87.11>. *Особистий внесок*

здобувача полягає в проведенні експериментальних досліджень, участі в узагальненні результатів та підготовці статті до друку.

5. Макаренко О. А., Карабаджак Л. І., Кіка В. В. Витривалість та показники інтоксикації головного мозку щурів на тлі хронічної алкоголізації. *Вісник ОНУ. Біологія*. 2022. Том 27. Випуск 1 (50). С. 107 – 114. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2022.1\(50\).259843](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2022.1(50).259843). *Особистий внесок здобувача полягає в проведенні експериментальних досліджень, участі в узагальненні результатів та підготовці статті до друку.*
6. Prophylactic efficiency of the administration of vitamin, mineral and sorbent complexes on bone tissue in female rats against the background of chronic alcohol consumption / Makarenko O. A., Kika V. V., Khodakov I. V., Khromagina, L. M. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2023. Vol. 14 (1). P. 94 – 101. <https://doi.org/10.15421/022314>. *Особистий внесок здобувача полягає в проведенні експериментальних досліджень, участі в узагальненні результатів та підготовці статті до друку.*
7. Кіка В. В., Макаренко О. А. Порівняльне дослідження протизапальної та антиоксидантної ефективності профілактичних препаратів в травному тракті щурів при хронічної алкогольної інтоксикації. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2024. № 1 (75). С. 87 – 98. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10888593>. *Особистий внесок здобувача полягає в проведенні експериментальних досліджень, участі в узагальненні результатів та підготовці статті до друку.*

### ***Наукові праці, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації***

1. Макаренко О. А., Кіка В. В. Стан антиоксидантно-прооксидантної системи у кісткової тканині щелеп щурів при тривалому введенні етанолу. «42 Наукові читання імені О.О. Богомольця»: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю / Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, 2021. С.

- 111 –112. *Особистий внесок здобувача полягає в проведенні експериментальних досліджень, участі в узагальненні результатів та підготовці тез до друку.*
2. Кіка В. В., Ходаков І. В., Макаренко О. А. Вплив хронічного введення етанолу на морфометричні показники різних кісток лабораторних щурів. *Актуальні питання судової ветеринарії, морфології та патоморфології: тези доповідей міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, ОДАУ, ФВМ, 17–18 червня 2021 р., Одеса / Одеський державний аграрний університет, 2021. – С. 65 – 67. Особистий внесок здобувача полягає в проведенні експериментальних досліджень, участі в узагальненні результатів та підготовці тез до друку.*
  3. Кіка В. В., Макаренко О. А. Стан кісткової тканини щурів після хронічної алкоголізації. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: тези доповідей IV науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю, 18 листопада 2021 р. / Національний фармацевтичний університет, 2021. С. 118 – 119. Особистий внесок здобувача полягає в проведенні експериментальних досліджень, участі в узагальненні результатів та підготовці тез до друку.*
  4. Макаренко О. А., Кіка В. В. Оксидативний стрес у травному тракті лабораторних щурів при тривалій алкогольній інтоксикації. *XXI читання ім. В. В. Підвисоцького, 23 – 24 червня 2022 р. / Одеський національний медичний університет, 2022. С. 64 – 65. Особистий внесок здобувача полягає в проведенні експериментальних досліджень, участі в узагальненні результатів та підготовці тез до друку.*
  5. Макаренко О.А., Карабаджак Л.І., Кіка В.В. Витривалість та показники інтоксикації головного мозку щурів при хронічній алкогольній інтоксикації. // *Modern research in world science. Proceedings of the 7th International scientific and practical conference. SPC “Sci-conf.com.ua”.*

- Lviv, Ukraine. 2022. Pp. 76-82. URL: <https://sci-conf.com.ua/vii-mizhnarodna-naukovo-praktichna-konferentsiya-modern-research-in-world-science-2-4-10-2022-lviv-ukrayina-arhiv/>. Особистий внесок здобувача полягає в проведенні експериментальних досліджень, участі в узагальненні результатів та підготовці тез до друку.*
6. Кіка В. В., Макаренко О. А. Вплив алкоголю на стан мікробіоценозу у шлунково-кишковому тракті щурів. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації: матеріали V науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, м. Харків, 18 травня 2023 р. / Національний фармацевтичний університет, 2023. С. 158 – 160. Особистий внесок здобувача полягає в проведенні експериментальних досліджень, участі в узагальненні результатів та підготовці тез до друку.*
7. *Методи дослідження стану кишечника та кісток у лабораторних щурів. Довідник / О. А. Макаренко, Л. М. Хромагіна, І. В. Ходаков, Г. В. Майкова, Л. М. Мудрик, В. В. Кіка, Т. В. Могілевська – Одеса: видавець С.Л. Назарчук, 2022. – 81 с. Особистий внесок здобувача полягає в підготовці довідника до друку.*