

Summary

CULTURAL PROPERTIES OF FUNGI OF THE FAMILY MUCORACEAE, THE GENUS ASPERGILLUS AS CAUSATIVE AGENTS OF ZOOANTHROPONOSIS

Kinash O.V., Skotarenko T.A.

Key words: cultural properties, opportunistic fungi, *Mucor ramosissimus*, *Rhizopus spp.*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*.

At present, in Ukraine there is a growing prevalence of fungal infections, including aspergillosis and mucormycosis, against HIV / AIDS, tuberculosis, bronchial asthma and cancerous diseases [11]. The literature available presents scanty data on which of the most commonly used nutrient media provide the highest biosynthetic activity for the fungi of the family Mucoraceae, the genus Aspergillus. The aim of this study was to investigate the cultural properties of the studied isolates of fungi on different nutrient media. The following field fungi isolates were studied: *Mucor ramosissimus* Samutsevitsch, *Rhizopus spp.*, *Aspergillus fumigatus* Fresenius, *Aspergillus niger* van Tieghem, *Aspergillus flavus* Link. The following nutrient media were used: the Plout medium, the Grigoraki medium, the Czapek agar, the Sabouraud agar, the wort-agar, the Van Etersen medium, the Sabouraud-dextrose broth, the honey medium. The concentration of fungi spores per 1 cm³ of inoculum was assessed on the basis of standard methods using a Goryaev's chamber. The evaluation of the intensity of spore formation on different nutrient media was carried out by standard techniques and assessed in CFU/ cm² [30]. The most intense growth of micromycetes of the Mucor and Aspergillus genera is found on media containing sucrose, dextrose, maltose, glucose, dextrin, glycerol or plant components (the Sabouraud agar, the Czapek agar, the wort agar, the Grigoraki medium, and the Plout medium).

DOI 10.31718/2077-1096.19.1.65

УДК 616.71–002 : 615.27 : 546

Ковальова І.О., Костенко В.О.

ВПЛИВ ІНГІБІТОРІВ ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ЧИННИКА КАППА В НА МЕТАБОЛІЧНІ ТА СТРУКТУРНІ ПОРУШЕННЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ЗА УМОВ ПОЄДНАНОГО НАДЛИШКОВОГО НАДХОДЖЕННЯ ФТОРИДУ ТА НІТРАТУ НАТРІЮ

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

В експерименті на 40 білих щурах лінії Вістар досліджено вплив інгібіторів активації транскрипційного ядерного чинника каппа В (NF-κB) на механізми метаболічних та структурних порушень у стегнових кістках і хребцях за умов поєднаного надлишкового надходження фториду та нітрату натрію. Виявлено, що сукупне введення фториду натрію (10 мг/кг маси тіла) та нітрату натрію (500 мг/кг маси тіла) протягом 30 днів порушує механізм авторегуляції рівня монооксиду нітрогену (NO) в стегнових кістках щурів, що виявляється у збільшенні активності загальної NO-синтази та її індукційної ізоформи на тлі зниження загальної аргіназної активності та активності конститутивних ізоферментів NO-синтази. За цих умов у стегнових кістках і хребцях збільшується концентрація вільного оксипроліну, N-ацетилнейрамінової та гексуронових кислот, що свідчить про деполімеризацію колагену, сіалоглікопротеїнів та протеогліканів, зменшується маса кісток, їхня щільність, мінеральна насиченість, міцність (збільшується індекс Simon). Інгібітори активації NF-κB (амонію піролідіндітіокарбамат та водорозчинна форма кверцетину) відновлюють механізм авторегуляції рівня NO в стегнових кістках щурів, що супроводжується зменшенням загальної активності NO-синтази, активності її індукційної ізоформи, збільшенням загальної аргіназної активності та обмеженням утворення пероксинітриту. Показано, що амонію піролідіндітіокарбамат та водорозчинна форма кверцетину зменшують у кістках вміст вільного оксипроліну, N-ацетилнейрамінової та гексуронових кислот, що підтверджує їхню ефективність як засобів корекції деполімеризації колагену, сіалоглікопротеїнів та протеогліканів. Виявлена їхня здатність підвищувати масу та щільність стегнових кісток і хребців.

Ключові слова: транскрипційний чинник каппа В, кістки, хронічна інтоксикація фторидом і нітратом натрію, амонію піролідіндітіокарбамат, кверцетин.

Робота є фрагментом НДР «Роль активних форм кисню, системи оксиду азоту та транскрипційних факторів у механізмах патологічного системогенезу» (№ держреєстрації 0114U004941).

Відомо, що нітрати та фториди є потенційно небезпечними хімічними сполуками, які можуть надходити у концентраціях, що значно перевищують гранично допустимі. Проте саме ці речовини в найбільшій мірі викликають дискусію щодо характеру їхньої дії на кісткову тканину. З од-

ного боку повідомляється, що нітрати, як донатори монооксиду нітрогену (NO) здатні підвищувати кісткову масу в експерименті на тваринах та у хворих на остеопороз [1,2]. З іншого боку, надлишкове надходження нітрату натрію призводить до порушення метаболічних і біомехані-

чних властивостей кісток щурів, особливо за умов відтворення остеопорозу [3]. При цьому порушується їхній регенеративний потенціал [4]. Застосування органічних нітратів у клініці також не завжди виявляє позитивну дію щодо підвищення мінеральної щільності кісток та зменшення випадків переломів [5].

Повідомляється також про здатність фторидів підвищувати об'єм, масу та щільність кісток, але їхні біомеханічні властивості можуть знижуватися [6, 7]. Застосування лікарських засобів, що містять фториди, іноді супроводжується збільшенням ризику переломів кісток [8].

Нещодавно було показано, що поєднана дія нітрату та фториду натрію призводить до дизрегуляторних змін активності ферментів окисного (NO-синтазного) та неокисного (аргіназного) шляхів метаболізму L-аргініну в крові та різних органах [9-11]. Це супроводжується розвитком окисно-нітрозативного стресу [11], що пов'язують зі здатністю фторидів активувати конститутивні та індукційні синтази монооксиду нітрогену (NOS) [12] та пригнічувати аргіназний шлях метаболізму L-аргініну, що конкурує з NOS [13].

Примітно, що надлишкова дія нітратів та фторидів сприяє активації транскрипційного чинника каппа В (NF-κB), що контролює біосинтез прозапальних і прооксидантних чинників, у тому числі індукційної NOS (iNOS) [14]. Доведено є вплив NF-κB на процес ремоделювання кісткової тканини [15].

Метою роботи було з'ясування впливу інгібіторів активації NF-κB на механізми метаболічних та структурних порушень у стегнових кістках і хребцях за умов поєданого надлишкового надходження фториду та нітрату натрію.

Матеріали та методи

Дослідження були проведені 40 білих щурах лінії Вістар масою 190-240 г, розподілених на 4 групи: 1-ша – інтактні тварини, 2-га – після поєданого введення фториду натрію (10 мг/кг маси тіла) та нітрату натрію (500 мг/кг маси тіла) протягом 30 діб, у 3-й та 4-й групах, починаючи з 15-ї доби інтоксикації, внутрішньоочередово вводили інгібітори активації NF-κB: амонію піролідидітіокарбамат (ПДТК, "Sigma-Aldrich, Inc.", США) в дозі 76 мг/кг 3 рази на тиждень [16] та комплекс кверцетину з полівінілпіролідом (корвітин, ЗАТ НВЦ "Борщагівський ХФЗ", Україна) у дозі 500 та 10 мг/кг (у перерахунку на кверцетин) 3 рази на тиждень [17].

Тварин декапітували під легким ефірним наркозом, дотримуючись положень «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986). Виділяли і скелетували стегнові кістки та хребці.

Визначення активності загальних NO-синтаз, аргіназ та концентрації пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів у нативних стегно-

вих кістках проводили спектрофотометричним методом [9]. Для визначення активності конститутивних NO-синтаз (cNOS) додавали 1% розчин аміногуанідину гідрохлориду (98%, "Sigma-Aldrich, Inc.", США) [18]. Активність iNOS оцінювали шляхом віднімання активності cNOS від сумарної активності NOS.

Стан колагену визначали за вмістом у тканині стегнових кісток і хребців вільного оксипроліну [19]. Деполімеризацію неколагенових білків (сіалоглікопротеїнів і протеогліканів) оцінювали шляхом визначення їхніх мономерів – N-ацетилнейрамінової та гексуронових кислот [20, 21].

Визначали структурні та біофізичні характеристики сухих кісток: щільність, мінеральну насиченість, зольність, індекс Simon (SI) (співвідношення максимальної довжини і кубічного кореня маси кісткового органу, цей показник інтегрує ростові параметри кісток, міцнісні властивості мікроструктури та мінерального балансу) [22,23]. Остеометрію стегнових кісток та 3-х поперекових хребців виконували за допомогою мікрометра з точністю до 0,01 мм.

Статистичні розрахунки проводили з використанням програми "StatisticSoft 6.0". Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Шапіро-Вілка. Якщо варіаційні ряди відповідали нормальному розподілу, то для їх порівняння використовували критерій t Стьюдента для незалежних вибірок. У разі, коли дані не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали, використовуючи непараметричний метод – тест Манна-Вітні.

Результати дослідження та їх обговорення

Поєдане введення фториду та нітрату натрію супроводжувалося вірогідним збільшенням у стегнових кістках щурів сумарної активності NOS (у 1,5 раза), що відбувалося за рахунок підвищення активності iNOS (у 1,8 раза) (табл. 1). Активність cNOS істотно знижувалася (у 1,6 раза).

Раніше було показано, що фторид-іони активують конститутивні та індукційні NOS [12], що може бути пов'язаним з гальмуванням конкурентного аргіназного шляху метаболізму L-аргініну [13].

Безпосередньо нітрат-іони при збільшенні нітрат-/нітритредуктазної активності тканин зменшують активність NOS, що відповідає механізму функціонування «циклу NO» [24]. У той же час при значному надходженні нітратів у організм порушується цей механізм авторегуляції рівня NO порушується за рахунок неадекватного збільшення активності iNOS [25].

При поєданому введенні фториду та нітрату натрію, за нашими даними, у стегнових кістках створювалися умови для збільшення активних форм нітрогену (АФН) – концентрації пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів (на 24%).

Таблиця 1
Вплив інгібіторів активації NF-κB на функціонування аргіназного та NO-синтазного шляхів метаболізму L-аргініну в стегнових кістках щурів за умов надлишкового надходження фториду та нітрату натрію (M±m, n=20)

Групи	Активність NOS, мкмоль NO ² /г·хв.			Загальна аргіназна активність, мкмоль/хв·г білка	Концентрація пероксинітритів, мкмоль/г
	Сумарна	cNOS	iNOS		
Інтактні	0,76 ±0,04	0,16±0,02	0,60±0,04	1,40±0,03	2,75±0,05
Сукупне введення фториду та нітрату натрію	1,15±0,13 *	0,07±0,01 *	1,08±0,13 *	0,65±0,04 *	3,42±0,05 *
+ введення ПДТК	0,30±0,04 **,*	0,15±0,02 **	0,15±0,05 **,*	1,27±0,03 **,*	3,05±0,04 **,*
+ введення водорозчинної форми кверцетину	0,23±0,04 **,*	0,10±0,03	0,12±0,01 **,*	1,30±0,03 **,*	3,12±0,05 **,*

Тут і далі: * – P<0,05 порівняно зі значеннями інтактних щурів; ** – P<0,05 порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Цьому може сприяти зменшення вироблення cNOS низьких концентрацій NO, що виконують сигнальну дію, обмежуючи у тому числі цитотоксичні ефекти АФН [26].

Введення інгібітора ядерної транслокації NF-κB ПДТК зменшувало сумарну активність NOS та активності iNOS на 74% та 86% відповідно порівняно з результатами 2-ї групи. Активність cNOS збільшувалася вдвічі, загальна аргіназна активність – на 95%, концентрація пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів вірогідно зменшувалася на 11% порівняно з результатами 2-ї групи.

Нещодавно показана здатність кверцетину пригнічувати убіквітинзалежний протеоліз комплексу NF-κB з інгібіторним білком IκB [27]. Відсутність деградації IκB під дією протеасоми унеможлиблює експресію NF-κB-підконтрольних генів [28]. Тобто кверцетин також може вважатися інгібітором активації NF-κB.

Введення водорозчинну форму кверцетину також зменшувало сумарну активність NOS та активності iNOS на 80% та 89% відповідно порівняно з результатами 2-ї групи. Активність cNOS істотно не змінювалася, загальна аргіназна ак-

тивність збільшувалася вдвічі, концентрація пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів вірогідно зменшувалася на 9% порівняно з результатами 2-ї групи.

Раніше було показано, що функціональна активність iNOS при хронічній нітратній інтоксикації сприяє деполімеризації колагену та протеогліканів у тканині великогомілкової кістки та хребців, знижує масу кісток, їхню щільність і міцність [29].

За нашим припущенням, пригнічення активації NF-κB, має покращити цілісність органічного матриксу кісток не тільки внаслідок зменшення експресії підконтрольного цьому транскрипційному чиннику гена iNOS, але і через зниження біосинтезу інших NF-κB-залежних гістолітичних білків – матриксних металопротеїназ, прооксидантних сполук [30].

Дійсно, поєднане введення фториду та нітрату натрію супроводжувалося вірогідним збільшенням у стегнових кістках і хребцях щурів концентрації вільного оксипроліну – на 14% та 18% відповідно, N-ацетилнейрамінової кислоти – на 70% у обох, гексуронової кислот – на 51% та 47% відповідно (табл. 2).

Таблиця 2
Вплив інгібіторів активації NF-κB на вміст компонентів органічного матриксу кісток щурів за умов надлишкового надходження фториду та нітрату натрію (M±m, n=20)

Групи	Вільний оксипролін, мкмоль/г		N-ацетилнейрамінова кислота, мкмоль/г		Гексуронової кислоти, мкмоль/г	
	Стегнова кістка	Хребці	Стегнова кістка	Хребці	Стегнова кістка	Хребці
Інтактні	3,64±0,10	3,98±0,13	2,20±0,20	2,28±0,29	1,97±0,23	2,17±0,26
Сукупне введення фториду та нітрату натрію	4,14±0,09 *	4,69±0,16 *	3,73±0,22 *	3,88±0,20 *	2,98±0,17 *	3,18±0,16 *
+ введення ПДТК	3,75±0,07 **	4,05±0,16 **	2,26±0,13 **	2,34±0,13 **	2,06±0,15 **	2,21±0,16 **
+ введення водорозчинної форми кверцетину	3,80±0,09 **	4,22±0,14	2,33±0,14 **	2,40±0,15 **	2,16±0,15 **	2,31±0,20 **

Ці зміни свідчать про деполімеризацію компонентів органічного матриксу кісток (колагену, сіалоглікопротеїнів, протеогліканів) за умов надлишкового надходження фториду та нітрату натрію.

Введення ПДТК вірогідно зменшувало у гомогенаті стегнових кісток і хребців вміст вільного оксипроліну – на 9,5% та 13,6%, N-ацетилнейрамінової кислоти – на 30,9% та 30,5%, гексуронової кислот – на 30,9% та 30,5% відповідно порівняно з результатами 2-ї групи.

Застосування водорозчинної форми кверцетину достовірно знижувало концентрацію вільно-

го оксипроліну в гомогенаті стегнових кісток порівняно з результатами 2-ї групи, але суттєво не позначається на його значенні в хребцях. Вміст N-ацетилнейрамінової кислоти у гомогенаті стегнових кісток і хребців зменшувався на 37,5% та 38,1% відповідно, а гексуронової кислот – на 27,5% та 27,4% порівняно з результатами 2-ї групи.

Це доводить, що ПДТК і кверцетин здатні ефективно обмежувати деполімеризацію колагенових і неколагенових білків екстрацелюлярного матриксу кісток скелету.

Поєднане введення фториду та нітрату натрію суттєво позначалося на кількісних показниках структурної композиції стегових кісток і хребців. При цьому їхня щільність вірогідно зме-

ншувалася на 20% та 13% відповідно, мінеральна насиченість – на 24% та 17% порівняно з даними інтактних тварин (табл. 3).

Таблиця 3
Вплив інгібіторів активації NF-κB на кількісні показники структурної композиції кісток за умов надлишкового надходження фториду та нітрату натрію (M±m, n=20)

Групи	Щільність, г/см ³		Мінеральна насиченість, г/см ³		Зольність, %	
	Стегнова кістка	Хребець	Стегнова кістка	Хребець	Стегнова кістка	Хребець
Інтактні	0,92±0,02	1,28±0,02	0,51±0,02	0,69±0,04	55,2±1,9	53,8±2,6
Сукупне введення фториду та нітрату натрію	0,74±0,03 *	1,11±0,04 *	0,39±0,03 *	0,57±0,02 *	53,4±4,5	51,9±2,9
+ введення ПДТК	0,93±0,03 **	1,29±0,04 **	0,49±0,04 **	0,72±0,04 **	52,8±5,0	55,8±2,3
+ введення водорозчинної форми кверцетину	0,88±0,02 **	1,35±0,03 **	0,47±0,03	0,67±0,02 **	53,7±4,8	49,6±2,5

Введення ПДТК істотно підвищувало щільність стегових кісток і хребців – на 26% та 16%, а мінеральну насиченість – на 26% і 13% відповідно порівняно з результатами 2-ї групи.

Застосування водорозчинної форми кверцетину збільшувало щільність стегових кісток і хребців – на 19% та 22% відповідно порівняно з результатами 2-ї групи, але суттєво не змінюва-

ло мінеральну насиченість стегових кісток. Мінеральна насиченість хребців підвищувалася – на 18%.

Дослідження остеометричних показників кісток за умов експерименту (табл. 4) виявило зменшення маси нативних стегових кісток і хребців – на 12% та 13% порівняно з результатами інтактних тварин. SI достовірно підвищувався.

Таблиця 4
Вплив інгібіторів активації NF-κB на остеометричні характеристики стегової кістки та 3-го поперекового хребця за умов надлишкового надходження фториду та нітрату натрію (M±m, n=20)

Групи	Максимальна довжина кістки (або висота тіла хребця), мм		Маса нативної кістки, мг		SI	
	Стегнова кістка	Хребець	Стегнова кістка	Хребець	Стегнова кістка	Хребець
Інтактні	35,4±0,4	6,4±0,1	569,2±8,0	200,1±4,7	4,28±0,04	1,08±0,01
Сукупне введення фториду та нітрату натрію	35,8±0,3	6,4±0,1	502,6±2,9 *	174,1±2,7 *	4,50±0,03 *	1,15±0,01 *
+ введення ПДТК	37,0±0,3 **, **	6,2±0,1	566,0±4,8 **	196,3±5,7 **	4,47±0,04 *	1,08±0,01 **
+ введення водорозчинної форми кверцетину	36,8±0,2 **, **	6,4±0,1	563,0±7,2 **	194,9±4,8 **	4,46±0,03 *	1,1±0,02

Введення ПДТК збільшувало показник максимальної довжини стегової кістки, її масу – на 13% порівняно з результатами 2-ї групи, але істотно не позначалося на SI. Застосування цієї сполуки суттєво не впливало на висоту тіла 3-го поперекового хребця, але підвищувало його масу та SI.

Введення водорозчинної форми кверцетину також збільшувало показник максимальної довжини стегової кістки, її масу – на 12% порівняно з результатами 2-ї групи. Застосування цієї сполуки не впливало на висоту тіла 3-го поперекового хребця, але збільшувало його масу. SI не змінювався.

Висновки

1. Поєднане введення фториду та нітрату натрію порушує механізм авторегуляції рівня монооксида нітрогену в стегових кістках щурів, що виявляється у збільшенні активності загальної NO-синтази та її індукційної ізоформи на тлі зниження загальної аргіназної активності та активності конститутивних ізоферментів NO-синтази, що супроводжується розвитком нітративного стресу.

2. Поєднане введення фториду та нітрату на-

трію викликає дезорганізацію сполучної (кісткової) тканини стегових кісток і хребців, що супроводжується зменшенням їхньої маси, щільності, мінеральної насиченості, міцності (збільшення індексу Simon).

3. Інгібітори транскрипційного чинника каппа В (амонію піролідіндітіокарбамат та водорозчинна форма кверцетину) відновлюють механізм авторегуляції рівня NO в стегових кістках щурів, що супроводжується зменшенням загальної активності NO-синтази, активності її індукційної ізоформи, збільшенням загальної аргіназної активності та обмеженням утворення пероксинітриту.

3. Амонію піролідіндітіокарбамат та водорозчинна форма кверцетину є ефективними засобами корекції дезорганізації сполучної (кісткової) тканини стегових кісток і хребців та підвищують їхню масу та щільність.

Література

1. Kalyanaraman H, Ramdani G, Joshua J et al. A novel, direct no donor regulates osteoblast and osteoclast functions and increases bone mass in ovariectomized mice. J Bone Miner Res. 2017 Jan; 32(1): 46–59.
2. Zuina M, Rigatell G, Scaranello F et al. Nitrates and osteoporosis: Which relationship? Eur J Intern Med. 2017 Sep;43:e22–3.

3. Sorokin BV, Kostenko VO. Zminy komponentiv orhanichnoho matryksu kistkovoyi tkany ny shchuriv pry vidvorenni eksperymental'noho osteoporozu za umov khronichnoyi intoksykatsiyi nitratom natriyu [Alterations of components of organic bone matrix in rats under modeled osteoporosis and chronic sodium nitrate intoxication]. Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny: Visnyk Ukrayins'koyi medychnoyi stomatolohichnoyi akademiyi. 2013; 13(2):220-4. (Ukrainian).
4. Dolzhkovaya EP, Kostenko VO. Vplyv prynichennya ta induktsiyi NO-syntaz na biokhimichnyy sklad kistkovoyi tkany ny znyzhnyi shcheply pry vidvorenni yiyi perelomu na tli khronichnoyi intoksykatsiyi nitratom natriyu [The influence of NO-sintases inhibition and induction on mandible's bone tissue biochemical structure in a case of fracture modulation and chronic sodium nitrate intoxication]. Problemy ekolohii ta medytsyny. 2010; 14(1-2):35-8.
5. Golchin N, Hohensee C, LaCroix A, Gray SL. Nitrate Medications, Fractures, and Change in Bone Mineral Density in Postmenopausal Women: Results from the Women's Health Initiative. J Bone Min Res. 2016 Sep; 31(9): 1760-6.
6. Everett ET. Fluoride's Effects on the Formation of Teeth and Bones, and the Influence of Genetics. J Dent Res. 2011;90(5):552-60.
7. Haguenaer D, Welch V, Shea B et al. Fluoride for the treatment of postmenopausal osteoporotic fractures: a meta-analysis. Osteoporos Int. 2000;11(9):727-38.
8. Gutteridge DH, Stewart GO, Prince RL et al. A randomized trial of sodium fluoride (60 mg) +/- estrogen in postmenopausal osteoporotic vertebral fractures: increased vertebral fractures and peripheral bone loss with sodium fluoride; concurrent estrogen prevents peripheral loss, but not vertebral fractures. Osteoporos Int. 2002;13(2):158-70.
9. Akimov O Ye, Kostenko VO. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride. Ukr Biochem J. 2016; 88(6):70-5.
10. Akimov O. Ye, Kovaliova IO, Kostenko VO. Funktsionuvannya arhinaznoho ta NO-syntaznoho shlyakhu metabolizmu L-argininu v krovi shchuriv za umov poyednanoho nadlyshkovoho nadkhodzhennya nitratu ta forydu natriyu ta zastosuvannya suspensiyi nanodispersnoho kremnezemu [Functionality of arginase and NO-synthase dependent methabolism of L-arginine under excessive sodium nitrate and fluoride intake and usage of solution of nanosized silica]. Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny: Visnyk Ukrayins'koyi medychnoyi stomatolohichnoyi akademiyi. 2016;16(1): 169-73. (Ukrainian).
11. Bohdanov AV, Hryshko Yu M, Kostenko VA. Mechanisms of nitroxide-ergic dysregulation in tissues of parodontium in rats under combined excessive sodium nitrate and fluoride intake. Wiad Lek. 2016; LXIX(3, cz. II):457-61.
12. Şireli M, Bulbul A. The effect of acute fluoride poisoning on nitric oxide and methemoglobin formation in the guinea pig. Turk J Vet Anim Sci. 2004; 28: 591-5.
13. Tormanen CD. Substrate inhibition of rat liver and kidney arginase with fluoride. J Inorg Biochem. 2003 Jan 15;93(3-4):243-6.
14. Bogdanov AV, Kostenko VO. Vplyv inhibitora yadernoyi translokatsiyi transkryptsijnogo faktora kB na oksyyny metabolizm u tkanyakh parodontia shchuriv za umov poyednanoho nadlyshkovoho nadkhodzhennya nitratu ta forydu natriyu [Effect of inhibitor of nuclear translocation of transcription factor kB on oxidative metabolism in periodontal tissues of rats under excessive combined sodium nitrate and fluoride intake]. Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny: Visnyk Ukrayins'koyi medychnoyi stomatolohichnoyi akademiyi. 2017;17(1):217-9. (Ukrainian).
15. Kenkre JS, Bassett J. The bone remodelling cycle. Ann Clin Biochem. 2018 May;55(3):308-327.
16. Yelins'ka AM, Shvaikovs'ka OO, Kostenko VO. Vplyv pirolidynytiokarbamatu amoniyu na produktsiyu aktyvnykh form kysnyu i azotu v tkanyakh parodontia ta slynynykh zaloz shchuriv za umov systemnoho vvedennya lipopolisakharydu Salmonella typhi [Influence of ammonium pyrrolidine dithiocarbamate on production of reactive oxygen and nitrogen species in tissues of periodontium and salivary glands of rats exposed to systemic administration of Salmonella typhi lipopolisaccharide]. Fiziol Zh. 2018;64(5):63-9. [Ukrainian].
17. Khmil' DO, Kostenko VO. Poyednanyy vplyv L-arhininu ta vodorozhynnoyi formy kvartsetynu na markery oksyyno-nitrozatyvnoho stresu v shkiri shchuriv za umov nadlyshkovoho nadkhodzhennya v orhanizm nitratu natriyu [Combined effect of L-arginine and water-soluble form of quercetin on markers of oxidative-nitrosative stress in skin of rats exposed to excessive sodium nitrate]. Fiziol Zh. 2017;63(6):53-9. [Ukrainian].
18. Yelins'ka AM, Akimov O Ye, Kostenko VO. Role of AP-1 transcriptional factor in development of oxidative and nitrosative stress in periodontal tissues during systemic inflammatory response. Ukr Biochim J. 2019;91(1):80-5.
19. Tetyanets SS. Method for the determination of free hydroxyproline in serum. Lab. delo. 1985;(1):61-6. [Russian].
20. Methods of clinical and experimental research in medicine (Ed. IP Kaidashev). – Poltava, 2003. 320 p. [Ukrainian].
21. Sharayev PN. Method for the determination of glycosaminoglycans in biological fluids. Lab. delo. 1987;(5):530-2. [Russian].
22. Stupakov GP, Volozhin. AI. Kostnaya sistema i nevesomost' [Bone system and weightlessness]. – Moscow: Nauka; 1989. [Russian].
23. Simon MR, Holmes KR, Olsen AM. The effects of simulated increases in body weight for 60 days on robusticity and mineral content of limb bones of hypophysectomized rats. Anat Rec. 1984 Oct;210(2):333-41.
24. Lundberg JO, Gladwin MT, Ahluwalia A et al. Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutics. Nat Chem Biol. 2009 Dec;5(12):865-9.
25. Kostenko VA, Solov'eva NV, Kovalenko AV et al. Mekhanizmy autorehulyatsiyi utvorennya oksydu azotu v orhanizmi ssavtsiv ta yikh porushennya pry rozvytku patolohichnykh protsesiv [Mechanisms of nitric oxide autoregulation in mammals and their disturbances in pathologic processes]. Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny: Visn. Ukrayins'koyi med. stomatol. akademiyi. 2011; 11(3):150-4. [Ukrainian].
26. Nitric Oxide: Biology and Pathobiology (L.J. Ignarro, B. Freeman eds.); 3rd ed. – Academic Press; 2017.
27. Kang CH, Choi YH, Moon SK et al. Quercetin inhibits lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in BV2 microglial cells by suppressing the NF-κB pathway and activating the Nrf2-dependent HO-1 pathway. Int Immunopharmacol. 2013 Nov; 17(3):808-13.
28. Liu X, Lin R, Zhao B et al. Correlation between oxidative stress and the NF-κB signaling pathway in the pulmonary tissues of obese asthmatic mice. Mol Med Rep. 2016 Feb;13(2):1127-34.
29. Sorokin BV, Kostenko VO. Rol' NO-syntaz u mekhanizмах strukturo-funktsional'nykh porushen' kistok pry vidvorenni hlyukokortykoidnoho osteoporozu za umov khronichnoyi intoksykatsiyi nitratom natriyu [Role of NO-synthases in the mechanism of structural and functional osteal disorders under modeled osteoporosis and chronic sodium nitrate intoxication]. Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny: Visn. Ukrayins'koyi med. stomatol. akademiyi. 2013; 13(4):178-81. [Ukrainian].
30. Hoeseel B, Schmid JA. The complexity of NF-κB signaling in inflammation and cancer. Mol Cancer. 2013; 12: 86.

Реферат

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА КАППА В НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И СТРУКТУРНЫЕ НАРУШЕНИЯ В КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ СОЧЕТАННОМ ИЗБЫТОЧНОМ ПОСТУПЛЕНИИ ФТОРИДА И НИТРАТА НАТРИЯ

Ковалева И.А., Костенко В.А.

Ключевые слова: транскрипционный фактор каппа В, кости, хроническая интоксикация фторидом и нитратом натрия, аммония пиrolидиндителикарбамат, кверцетин.

В эксперименте на 40 белых крысах линии Вистар исследовано влияние ингибиторов активации транскрипционного ядерного фактора каппа В (NF-κB) на механизмы метаболических и структурных нарушений в бедренных костях и позвонках в условиях сочетанного избыточного поступления фторида и нитрата натрия. Выявлено, что совместное введение фторида натрия (10 мг/кг массы тела) и нитрата натрия (500 мг/кг массы тела) в течение 30 суток нарушает механизм ауторегуляции уровня монооксида азота (NO) в бедренных костях крыс, что выражается в увеличении активности общей NO-синтазы и ее индуцибельной изоформы на фоне снижения общей аргиназной активности и активности конститутивных изоферментов NO-синтазы. В этих условиях в бедренных костях и позвонках увеличивается концентрация свободного оксипролина, N-ацетилнейраминаовой и гексуроновых кислот, что свидетельствует о деполимеризации коллагена, сиалогликопротеинов и протеогликанов; уменьшается масса костей, их плотность, минеральная насыщенность, прочность (увеличивается индекс

Simon). Ингибиторы активации NF-κB (аммония пиридиндитиокарбамат и водорастворимая форма кверцетина) восстанавливают механизм ауторегуляции уровня NO в бедренных костях крыс, что сопровождается уменьшением общей активности NO-синтазы, активности ее индуцибельной изоформы, увеличением общей аргиназной активности и ограничением образования пероксинитрита. Показано, что аммония пиридиндитиокарбамат и водорастворимая форма кверцетина уменьшают в костях содержание свободного оксипролина, N-ацетилнейраминовой и гексуроновых кислот, что подтверждает их эффективность как средств коррекции деполимеризации коллагена, сиалогликопротеинов и протеогликанов. Обнаружена их способность повышать массу и плотность бедренных костей и позвонков.

Summary

EFFECT OF TRANSCRIPTION FACTOR KAPPA B INHIBITORS
ON METABOLIC AND STRUCTURAL DISORDERS IN BONE TISSUE UNDER COMBINED EXCESSIVE INTAKE OF FLUORIDE AND SODIUM NITRATE

Kovalova I.O., Kostenko V.O.

Key words: transcription factor kappa B, bones, chronic intoxication with fluoride and sodium nitrate, ammonium pyroline dithiocarbamate, quercetin.

This experiment carried on 40 white Wistar rats aimed at studying the effect produced by inhibitors of the nuclear transcriptional factor kappa B (NF-κB) activation on the mechanisms of metabolic and structural disorders in the femoral bones and vertebrae under combined surplus fluoride and sodium nitrate intake. It has been found out that co-administration of sodium fluoride (10 mg/kg body weight) and sodium nitrate (500 mg/kg of body weight) for 30 days disrupts the autoregulation mechanism of nitrogen monoxide (NO) level in the femoral bones of the test rats that is manifested by an increase in the activity of total NO synthase and its inducible isoform against the background of a decrease in the total arginase activity and the activity of the constitutive NO synthase isoenzymes. Under these conditions, there has been observed the growth in the concentration of free hydroxyproline, N-acetylneuraminic and hexuronic acids in the femoral bones and vertebrae that is indicative of depolymerization of collagen, sialoglycoproteins and proteoglycans, decrease in bone mass, their density, mineral saturation, strength (the Simon index elevated). Inhibitors of NF-κB activation (ammonium pyroline dithiocarbamate and a water-soluble form of quercetin) restore the autoregulation mechanism of the NO level in the rats' femoral bones that is accompanied by a decrease in the total activity of NO synthase, the activity of its inducible isoform, an increase in the total arginase activity and by limited peroxynitrite formation. Ammonium pyroline dithiocarbamate and a water-soluble form of quercetin have been shown to result in lowering in the content of free hydroxyproline, N-acetylneuraminic and hexuronic acids in bones that confirms their effectiveness as a means for correcting depolymerization of collagen, sialoglycoproteins and proteoglycans. There has been found their property to promote the growth of bone mass and density of the femurs and vertebrae.