

Тернопільський національний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України

Тернопільський національний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

БУЧКО ПЕТРО ІВАНОВИЧ

УДК 616-008.9.-06:615.9:547.466.64:547.54]-092.9

ДИСЕРТАЦІЯ

**МЕТАБОЛІЧНІ ПОРУШЕННЯ В ОРГАНІЗМІ ТВАРИН ЗА УМОВ
КОМБІНОВАНОГО ВПЛИВУ КАРАГІНАНУ І НАТРІЙ ГЛУТАМАТУ**

222 – Медицина

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

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

_____ П.І. Бучко

Науковий керівник – **Марущак Марія Іванівна**, доктор медичних наук,
професор

Тернопіль – 2021

АНОТАЦІЯ

Бучко П.І. Метаболічні порушення в організмі тварин за умов комбінованого впливу карагінану і натрій глутамату. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» (22 «Охорона здоров'я»). – Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, 2021.

Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2021.

У дисертації наведено нове, науково-обґрунтоване теоретичне узагальнення та здійснено розв'язання актуального завдання, яке полягало у встановленні особливостей метаболічних процесів у легенях і печінці експериментальних тварин при комбінованому застосуванні розчинів к-карагінану й натрій глутамату.

Експериментальна робота дисертаційного дослідження виконана на 96 білих безпородних самцях-щурах. Вказані тварини утримувалися у віварії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України на стандартному раціоні відповідно до санітарно-гігієнічних норм та вимог GLP. Піддослідних щурів поділили на 4 групи: 1 – контроль (інтактні тварини), 2 – тварини, яким внутрішньошлунково вводили к-карагінан у дозі 40 мг/кг, розчинений в 0,5 мл дистильованої води кімнатної температури, протягом 1 місяця; 3 група – тварини, яким внутрішньошлунково вводили натрію глутамат в дозі 50 мг/кг, розчинений в 0,5 мл дистильованої води кімнатної температури, протягом 1 місяця; 4 група – тварини, яким внутрішньошлунково вводили карагінан і натрію глутамат у вищевказаних дозах.

При дослідженні показників червоної крові та концентрації еритропоєтину у тварин 1 і 2 дослідних груп патологічних змін не відмічалось. При цьому у тварин, яким застосовували комбіноване введення карагінану і натрію глутамату, були вірогідно нижчі показники кількості еритроцитів та гемоглобіну, як стосовно 1 і 2 дослідних груп, так і контролю. Концентрація еритропоєтину в 3 дослідній групі була найвища стосовно контролю та інших дослідних груп. Отже, комбіноване застосування розчину κ-карагінану та натрію глутамату має негативний вплив на гемопоез, що проявляється статистично значимим зниженням показників еритроцитів і гемоглобіну та підвищенням концентрації еритропоєтину.

Встановлено, що рівень дієнових кон'югатів та активних продуктів тіобарбітурової кислоти в крові, гомогенаті легень і печінки усіх дослідних груп вірогідно різнився при проведенні аналізу рангових варіацій Краскела-Уолісса. При співставленні показників ПОЛ (стосовно контролю) встановлено найвищі значення досліджуваних показників у 3 дослідній групі, при цьому найвища активація вільнорадикального окиснення спостерігалася в тканинах легень при застосуванні натрію глутамату та комбінованій дії κ-карагінану й натрію глутамату, тоді як найнижчі досліджувані показники ПОЛ реєструвалися в усіх тканинах 1 дослідної групи.

Встановлено, що рівень супероксиддисмутази й каталази активності в гомогенаті легень і печінки усіх дослідних груп вірогідно відрізнявся при проведенні аналізу рангових варіацій Краскела-Уолісса.

При співставленні показників ензимної ланки системи антиоксидантного захисту (стосовно контролю) встановлено найнижчі значення досліджуваних показників у 3 експериментальній групі, тоді як застосування κ-карагінану зумовлювало підвищення активності СОД і КАТ з найвищими показниками в тканинах печінки.

Проведення кореляційного аналізу показало пряму залежність між активністю СОД й концентрацією ТБК у сироватці крові та досліджуваними показниками ПОЛ у печінці щурів, яким вводили к-карагінан. У 2 групі встановлено негативний зв'язок між активністю КАТ й досліджуваними показниками ПОЛ у легень й печінці. Варто зазначити також середньої сили обернений зв'язок між активністю СОД й концентрацією ТБК у гомогенаті легень й печінки щурів 2 групи. При комбінованому застосуванні к-карагінану й натрію глютамату виявлено негативний взаємозв'язок між показниками ПОЛ й ензимами антиоксидантної системи в тканинах печінки, а також між активністю КАТ та досліджуваними продуктами ПОЛ у легень.

Отже, комбіноване застосування розчину к-карагінану та натрію глютамату має негативний вплив на процеси вільнорадикального окиснення, що проявляється статистично значимим підвищенням рівня продуктів пероксидного окиснення ліпідів у сироватці крові, легень і печінці та зниженням активності ензимів антиоксидантної системи захисту в легень і печінці, при цьому встановлено вірогідний середньої сили зв'язок між про- та антиоксидантами.

При комбінованому використанні к-карагінану й натрій глютамату рівень АДНФГ й КДНФГ був найвищий. Аналіз співвідношення первинних і вторинних маркерів окиснювальної модифікації протеїнів вказує на зростання маркерів пізньої деструкції в тканинах легень при застосуванні натрій глютамату. Нижча частка вторинних маркерів у сироватці крові при введенні карагінану, стосовно групи тварин, яким вводили натрій глютамат, може свідчити про швидшу утилізацію змінених протеїнів, так званий вторинний антиоксидантний ефект.

При оцінці стимульованої ОМП встановлено вірогідно вищі значення АДНФГ у всіх дослідних групах у сироватці крові, легень і печінці відносно контрольних значень. При цьому рівень АДНФГ у сироватці крові у групі 3 вірогідно був вищий даних групи 1 та практично не відрізнявся в

групах 2 і 3; у легенях рівень АДНФГ у групах 1 і 3 статистично значимо не відрізнявся проте був вищий даних групи 2, тоді як в печінці найвищі значення досліджуваного показника зареєстровані в групі 1.

Рівень КДНФГ у сироватці крові, легенях та печінці був вірогідно вищий у всіх дослідних групах, стосовно контролю. Порівнюючи дослідні групи між собою встановлено вірогідно вище значення досліджуваного показника у групі 1, стосовно практично однакових значення у групах 2 і 3.

Також встановлено, що за умови комбінованої дії харчових добавок підвищення окиснювального стресу супроводжується виснаженням резервно-адаптаційного потенціалу в крові, легенях і печінці.

При дослідженні показників ендогенної інтоксикації в плазмі крові щурів встановлено вірогідно вищі значення речовин низької і середньої молекулярної маси (РНіСММ) у 2 дослідній групі у діапазоні довжин хвиль 242 нм – на 60,9 %, 254 нм – на 91,7 % та 282 нм – на 53,2 % стосовно контролю, відповідно у 3 групі ці показники перевищували контрольні значення на 134,8 %, 137,5 % та 93,6 %. Варто відмітити, що показники ендогенної інтоксикації при комбінованій дії харчових добавок були вірогідно вищі стосовно окремого застосування карагінану та натрію глутамату. Аналіз розрахункових коефіцієнтів вказує на те, зростання ендогенної інтоксикації при застосуванні харчових добавок окремо або при їх поєднанні, відбувається, в основному, за рахунок катаболічного пулу РНіСММ плазми. Показник розподілу РНіСММ між білками плазми крові і глікокаліксом еритроцитів у щурів 3-ї дослідної групи був вищий на 11,6 % поруч з високими значеннями досліджуваних фракцій молекул при довжинах хвиль 242, 254 і 280 нм у суспензії еритроцитів.

Аналіз показника, що характеризує здатність нирок до виведення продуктів ендотоксикозу показав, що у всіх дослідних групах вірогідно знижується показник елімінації токсичних продуктів, зокрема, в 1 групі він нижчий на 26,6 %, у 2 групі на 33,2 %, у 3-й групі – на 48,7 % ($p < 0,01$).

Варто зазначити, що при комбінованій дії харчових добавок показник елімінації токсичних продуктів був достовірно нижчий стосовно даних 2 та 3 дослідних груп.

При дослідженні показників системи мітохондріального транспорту електронів у тканинах легень та печінки встановлено вірогідно нижчі значення сукцинатдегідрогеназної активності та цитохромоксидазної активності за умови застосування натрію глютамату та при його комбінації з карагінаном стосовно контролю ($p < 0,05$). При цьому показники системи мітохондріального транспорту електронів при комбінованій дії харчових добавок були вірогідно нижчі стосовно окремого застосування карагінану та натрію глютамату у тканинах легень та печінки ($p < 0,05$).

При співставленні маркерів лізосомального пошкодження встановлено найвищі значення активності КФ та катепсину В за умови комбінованої дії к-карагінану та натрію глютамату. Також виявлено найнижчі значення досліджуваних показників в легенях щурів при застосуванні карагінану, тоді як у групі, де застосовували натрію глютамату в експерименті, встановлені найвищі значення маркерів лізосомального пошкодження в легенях.

При встановленні взаємозв'язків між показниками лізосомального пошкодження у щурів при окремому застосуванні к-карагінану, натрію глютамату та їх поєднанні встановлено вірогідні прямі зв'язки між рівнем кислої фосфатази в печінці та легенях, а також між рівнем катепсину В в печінці та легенях у 2 та 3 дослідних групах, що вказує на взаємозалежність даних змін в досліджуваних тканинах організму

При аналізі взаємозв'язків між показниками лізосомального пошкодження і пероксидного окиснення у щурів при окремому застосуванні к-карагінану, натрію глютамату та їх поєднанні встановлено вірогідні прямі зв'язки між рівнем кислої фосфатази, катепсину В у легенях тварин, яким вводили натрію глютамат (2 група) та комбінацію к-карагінану та натрію глютамату (3 група), а також між рівнем показників лізосомального

пошкодження та концентрацією ТБК-АП в крові тварин 3 дослідної групи ($p < 0,05$). Це вказує на те, що за умови застосування натрію глютамату або ж при комбінації його з к-карагінаном розвиваються деструктивні процеси, викликані продуктами оксидативного стресу, в результаті чого порушується стабільність лізосомальних мембран з виходом гідролітичних ензимів – катепсинів і кислій фосфатази. Вірогідна залежність встановлена в легенях і крові.

При співставленні досліджуваних показників клітинної загибелі лейкоцитів за умови застосування карагінану, натрію глютамату та їх комбінації встановлено що у всіх дослідних групах найбільше зростання спостерігалось стосовно пізнього апоптозу, який є незворотним. При цьому найбільших змін зазнавали досліджувані показники за умови комбінованої дії харчових добавок, тоді як найменші – за умови дії к-карагінану.

При аналізі взаємозв'язків між показниками лізосомального пошкодження, пероксидного окиснення та показниками клітинної загибелі лейкоцитів крові у щурів при окремому застосуванні к-карагінану, натрію глютамату та їх поєднанні встановлено вірогідні прямі зв'язки між концентрацією ТБК-АП, а також активністю кислій фосфатази та відсотком лейкоцитів з пізніми ознаками апоптозу в тварин 2 дослідної групи. Також зафіксовано вірогідні прямі зв'язки між відсотком лейкоцитів з ранніми та пізніми ознаками апоптозу та показниками лізосомального пошкодження і пероксидного окиснення в 3 дослідній групі при комбінованому застосуванні харчових добавок.

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертаційній роботі уперше з'ясовано патогенетичні аспекти метаболічних порушень за умови комбінованого застосування розчинів к-карагінану та натрію глютамату на підставі вивчення показників гемопоезу, вільнорадикального окиснення й системи антиоксидантного захисту, ендогенної інтоксикації,

енергозабезпечення клітин, маркерів лізосомального пошкодження та клітинної загибелі.

Уперше встановлено, що комбіноване застосування розчину к-карагінану та натрію глутамату має негативний вплив на гемопоез, що проявляється вірогідним зниженням показників еритроцитів і гемоглобіну та підвищенням концентрації еритропоетину.

Досліджено, що за умови комбінованого застосування розчину к-карагінану та натрію глутамату активація процесів вільнорадикального окиснення характеризується вірогідним підвищенням рівня продуктів пероксидного окиснення ліпідів у сироватці крові, легенях і печінці та зниженням активності ензимів антиоксидантної системи захисту в легенях і печінці. Уперше показано, що комбінована дія розчинів к-карагінану та натрій глутамату супроводжується вірогідним підвищенням спонтанної окиснювальної модифікації протеїнів, що веде до виснаження резервно-адаптаційного потенціалу в крові, легенях і печінці. Доведено порушення процесів елімінації продуктів ендотоксикозу за умови комбінованій дії харчових добавок внаслідок їх надмірного утворення в тканинах організму, що підтверджується вірогідно вищими значеннями РНіСММ у плазмі крові та на глікокаліксі еритроцитів щурів.

Уперше показано у тканинах легень та печінки вірогідно нижчі значення сукцинатдегідрогеназної та цитохромоксидазної активності та вірогідно вищі показники активності кислої фосфатази та катепсину В при комбінації натрію глутамату з карагінаном. При цьому встановлена вірогідна взаємозалежність між рівнем показників лізосомального пошкодження та ТБК-АП в легенях і крові тварин при комбінованій дії харчових добавок.

Уперше методами статистичного аналізу встановлено вірогідно вищий відсоток лейкоцитів з ранніми й пізніми ознаками апоптозу, а також з ознаками некрозу за умови комбінованої дії харчових добавок, при цьому

концентрація ТБК-АП й активність кислій фосфатази мають вплив на апоптотичну, так і некротичну загибель лейкоцитів крові.

Практичне значення одержаних результатів. На підставі проведених досліджень доповнено відомості про метаболічні порушення в тканинах легень та печінки, що розвиваються за умови комбінованої дії натрію глютамату та κ-карагінану. Отримані дані щодо впливу комбінованої дії харчових добавок на гемопоез, вільнорадикальне окиснення, антиоксидантний захист, ендогенну інтоксикацію, енергозабезпечення клітин, процеси клітинної загибелі розширюють наукові знання про поліорганність їх ураження та дозволяють обґрунтувати необхідність перегляду і визначення максимально допустимих добових доз за умови їх поєднаного споживання.

Основні положення дисертаційної роботи можуть бути використані в навчальному процесі при викладанні патологічної фізіології, медичної біохімії, гігієни та екології студентам медичних закладів вищої освіти, а також у роботі науково-дослідних лабораторій за даною проблематикою.

Теоретичні положення дисертаційної роботи впроваджено у навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету, Буковинського державного медичного університету, Української медичної стоматологічної академії, Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України.

Ключові слова: натрію глютамат; κ-карагінан; комбінована дія, гемопоез, пероксидне окиснення ліпідів; окиснювальна модифікація протеїнів; ендогенна інтоксикація; лізосомальне пошкодження; інтенсивність енергозабезпечення; клітинна загибель; механізми.

ANNOTATION

Buchko P.I. Metabolic disorders in animals in case of the combined effects of carrageenan and monosodium glutamate. – Manuscript copyright for the qualifying research paper.

Thesis for obtaining a scientific degree of Doctor of Philosophy in the specialty 222 Medicine (22 Health Care). –Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University Ministry of Health of Ukraine, 2021.

Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, 2021.

The dissertation presents a new, scientifically established theoretical generalization and solution of the current problem, which was to establish the features of metabolic processes in the lungs and liver of experimental animals at the combined use of solutions of κ -carrageenan and monosodium glutamate.

The experimental work of the dissertation research was performed on 96 white outbred male rats. These animals were kept in the vivarium of Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University Ministry of Health of Ukraine on a standard diet in accordance with the sanitary and hygienic norms and requirements of GLP. Experimental rats were divided into 4 groups: group 1 – control (intact animals), group 2 – animals that were intragastrically injected with κ -carrageenan at a dose of 40 mg / kg, dissolved in 0.5 ml of distilled water at room temperature for 1 month; group 3 – animals that were intragastrically injected with monosodium glutamate at a dose of 50 mg / kg, dissolved in 0.5 ml of distilled water at room temperature for 1 month; group 4 – animals that were intragastrically injected with carrageenan and monosodium glutamate in the above doses.

During the study of red blood cells indices and erythropoietin concentration in animals of 1st and 2nd experimental groups, no pathological changes were observed. In this case, the animals that received the combined administration of

carrageenan and monosodium glutamate had significantly lower indices of erythrocytes and hemoglobin, both for 1st and 2nd experimental groups, and control. The concentration of erythropoietin in the 3rd experimental group was the highest in relation to the control and other experimental groups. Therefore, the combined use of a solution of κ -carrageenan and monosodium glutamate has a negative effect on hematopoiesis, which is manifested by a statistically significant decrease of erythrocytes and hemoglobin indices and an increase of the concentration of erythropoietin.

It was found that the level of action of new conjugates and active products of thiobarbituric acid in the blood, homogenate of the lungs and liver of all experimental groups significantly differed in the Kruskal–Wallis test by ranks. When comparing the indices of LPO (relative to control) the highest values of the studied indices in the 3rd experimental group were found and the highest activation of free radical oxidation was observed in lung tissues with the use of monosodium glutamate and the combined action of κ -carrageenan and monosodium glutamate, whereas the lowest studied LPO indices were registered in all tissues of the 1st experimental group.

It was found that the level of superoxide dismutase and catalase activity in the homogenate of the lungs and liver of all experimental groups significantly differed in the Kruskal–Wallis test by ranks.

When comparing the enzyme level indices of the antioxidant defense system (relative to control), the lowest values of the studied indices were found in the 3rd experimental group, while the use of κ -carrageenan caused an increase of SOD and CAT activity with the highest values in liver tissues.

Correlation analysis showed a direct relationship between the activity of SOD and the concentration of TBA in the blood serum and the studied indices of LPO in the liver of rats injected with κ -carrageenan. In the 2nd group, a negative relationship was established between the activity of CAT and the studied indices of LPO in the lungs and liver. It is also worth noting the moderate inverse

relationship between SOD activity and the concentration of TBA in the homogenate of the lungs and liver of rats of group 2. The combined use of κ -carrageenan and monosodium glutamate revealed a negative relationship between LPO indices and enzymes of the antioxidant system in liver tissues, as well as between the activity of CAT and the studied products of LPO in the lungs.

Therefore, the combined use of a solution of κ -carrageenan and monosodium glutamate has a negative effect on the processes of free radical oxidation, which is manifested by a statistically significant increase of lipid peroxidation products level in the blood serum, lungs and liver and reduced activity of enzymes of the antioxidant defense system in the lungs and liver, a significant moderate relationship between pro- and antioxidants was established.

At the combined use of κ -carrageenan and monosodium glutamate, the level of ADNPH and CDNPH was the highest. Analysis of the ratio of primary and secondary markers of oxidative modification of proteins indicates an increase of markers of late destruction in lung tissue at the use of monosodium glutamate. The lower proportion of secondary markers in the blood serum when carrageenan is administered, relative to the group of animals injected with monosodium glutamate, may indicate faster utilization of altered proteins, the so-called secondary antioxidant effect.

At the evaluation of stimulated OMP, significantly higher values of ADNPH were found in all experimental groups in the blood serum, lungs and liver relative to control values. The level of ADNPH in the blood serum in group 3 was significantly higher than the data of group 1 and did not differ in groups 2 and 3; in the lungs, the level of ADNPH in groups 1 and 3 did not differ statistically significantly, but was higher than the data of group 2, while in the liver, the highest values of the studied indice were registered in group 1.

CDNPH level in the blood serum, lungs and liver was significantly higher in all experimental groups, relative to control. Comparing the experimental groups

with each other, a significantly higher value of the studied indice of group 1 was established, in relation to almost identical values of groups 2 and 3.

It was also found that in case of the combined action of food additives, the increase of oxidative stress is accompanied by depletion of reserve-adaptive potential in the blood, lungs and liver.

During the study of endogenous intoxication indices in the blood plasma of rats, significantly higher values of low and medium molecular weight substances (PHiCMM) were found in the 2nd experimental group in the wavelength range of 242 nm - by 60.9 %, 254 nm – by 91.7 % and 282 nm – by 53.2 % in relation to control, respectively in group 3 these indicators exceeded control values by 134.8 %, 137.5 % and 93.6 %. It should be noted that the indices of endogenous intoxication at the combined action of food additives were significantly higher in relation to the separate use of carrageenan and monosodium glutamate. The analysis of the estimated coefficients indicates that the growth of endogenous intoxication when using food additives separately or in combination, is occurring mainly due to the catabolic pool of PHiCMM plasma. The indice of PHiCMM distribution between blood plasma proteins and erythrocyte glycocalyx in rats of the 3rd experimental group was higher by 11.6 % along with high values of the studied fractions of molecules at wavelengths of 242, 254 and 280 nm in the erythrocyte suspension.

Analysis of the indice characterizing the ability of the kidneys to excrete endotoxiosis products showed that in all experimental groups the indice of elimination of toxic products is significantly reduced, in particular, in group 1 it is lower by 26.6 %, in group 2 by 33.2 %, in group 3 – by 48.7 % ($p < 0.01$). It should be noted that at the combined action of food additives, the indice of elimination of toxic products was significantly lower compared to data of 2nd and 3rd experimental groups.

During the study of mitochondrial electron transport chain indices in lung and liver tissues, significantly lower values of succinate dehydrogenase activity

and cytochrome oxidase activity were found when using monosodium glutamate and in combination with carrageenan relative to control ($p < 0.05$). At the same time, the indices of mitochondrial electron transport chain at the combined action of food additives were significantly lower in relation to the separate use of carrageenan and monosodium glutamate in lung and liver tissues ($p < 0.05$).

When comparing markers of lysosomal damage, the highest values of acid phosphatase and cathepsin B activity were found in case of the combined action of κ -carrageenan and monosodium glutamate. The lowest values of the studied indices in the lungs of rats when using carrageenan were also found, while in the group where monosodium glutamate was used in the experiment, the highest values of markers of lysosomal damage in the lungs were found.

When establishing relationships between lysosomal damage indices in rats at a separate use of κ -carrageenan, monosodium glutamate and their combination, significant direct relations between the level of acid phosphatase in the liver and lungs, as well as between the level of cathepsin B in the liver and lungs in the 2nd and 3rd experimental groups were found, which indicates the interdependence of these changes in the studied tissues of the body.

At the analysis of the relationship between lysosomal damage indices and peroxidation in rats at a separate use of κ -carrageenan, monosodium glutamate and their combination, significant direct relationships were found between the level of acid phosphatase, cathepsin B in the lungs of animals injected with monosodium glutamate (2nd group) and the combination of κ -carrageenan and monosodium glutamate (3rd group), as well as between the level of lysosomal damage indices and the concentration of TBA-AP in the blood of animals of the 3rd experimental group ($p < 0.05$). This indicates that the use of monosodium glutamate or its combination with κ -carrageenan develops destructive processes caused by oxidative stress products, resulting in impaired stability of lysosomal membranes with the release of hydrolytic enzymes - cathepsins and acid phosphatase. Significant dependence is established in lungs and blood.

When comparing the studied indices of cell death of leukocytes at the use of carrageenan, monosodium glutamate and their combination, it was found that in all experimental groups the greatest increase was observed in relation to late apoptosis, which is irreversible. At the same time, the studied indices underwent the greatest changes under the combined action of food additives, while the smallest - under the action of κ -carrageenan.

At the analysis of the relationships between lysosomal damage indices, peroxidation and cell leukocyte death indices in the blood of rats at a separate use of κ -carrageenan, monosodium glutamate and their combination, significant direct relationships between the concentration of TBA-AP, active phosphatase activity and the percentage of leukocytes with late signs of apoptosis in animals of the 2nd experimental group were found. Also significant direct relations were found between the percentage of leukocytes with early and late signs of apoptosis and lysosomal damage indices and peroxidation in experimental group 3 at the combined use of food additives.

Scientific novelty of the obtained results. The dissertation for the first time clarifies the pathogenetic aspects of metabolic disorders in case of the combined use of solutions of κ -carrageenan and monosodium glutamate based on the study of hematopoiesis, free radical oxidation and antioxidant defense system, endogenous intoxication, energy supply of cells, markers of lysosomal damage and cell death.

It was found for the first time that the combined use of a solution of κ -carrageenan and monosodium glutamate has a negative effect on hematopoiesis, which is manifested by a significant decrease of erythrocytes and hemoglobin indices and an increase of the concentration of erythropoietin.

It was studied that under the combined use of a solution of κ -carrageenan and monosodium glutamate the activation of free radical oxidation processes is characterized by a significant increase of lipid peroxidation products level in the blood serum, lungs and liver and decreased activity of antioxidant system

enzymes in the lungs and liver. It was shown for the first time that the combined action of solutions of κ -carrageenan and monosodium glutamate is accompanied by a significant increase of spontaneous oxidative modification of proteins, which leads to depletion of reserve-adaptive potential in blood, lungs and liver. Violation of the processes of elimination of endotoxigenic products in case of the combined action of food additives due to their excessive formation in body tissues has been proved, which is confirmed by significantly higher values of RNiSMM in blood plasma and on glycocalyx of rat erythrocytes.

Significantly lower values of succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase activity and significantly higher indices of acid phosphatase and cathepsin B at the combination of monosodium glutamate with carrageenan were shown for the first time in lung and liver tissues. At the same time, a significant interdependence between the level of lysosomal damage indices and TBA-AP in the lungs and blood of animals at the combined action of food additives was established.

For the first time, statistical analysis methods revealed a significantly higher percentage of leukocytes with early and late signs of apoptosis, as well as signs of necrosis under the combined action of food additives, the concentration of TBA-AP and acid phosphatase activity have an effect on apoptotic and necrotic death of blood leukocytes.

The practical value of the obtained results. On the basis of the conducted researches the data on metabolic disorders in the tissues of the lungs and liver, which develop in case of the combined action of monosodium glutamate and κ -carrageenan, have been added by. The obtained data on the effect of combined action of food additives on hematopoiesis, free radical oxidation, antioxidant protection, endogenous intoxication, energy supply of cells, cell death processes expand scientific knowledge about the multi-organ lesions and allow to establish the need for reviewing and determining the maximum allowable daily doses in case of their combined usage.

The main provisions of the dissertation can be used in the educational process in the teaching of pathological physiology, medical biochemistry, hygiene and ecology to students of medical institutions of higher education, as well as in the work of research laboratories on this issue.

Theoretical provisions of the dissertation were introduced into the educational process at the departments of pathological physiology of Ivano-Frankivsk National Medical University, Bukovinian State Medical University, Ukrainian Medical Dental Academy, Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University Ministry of Health of Ukraine.

Key words: monosodium glutamate; κ -carrageenan; combined action, hematopoiesis, lipid peroxidation; oxidative modification of proteins; endogenous intoxication; lysosomal damage; intensity of energy supply; cell death; mechanisms.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації:

1. Копаниця О. М., Ліснянська Н. В., Бучко П. І. Особливості процесів вільнорадикального окиснення у тканинах організму в нормі й при застосуванні полісахаридів. *Вісник медичних і біологічних досліджень*. 2020. № 1. С. 67–73. (Здобувачем проведено аналітичний огляд літературних джерел, підготовлено статтю до друку).
2. Бучко П. І., Марущак М. І. Маркери лізосомального ушкодження за умови комбінованої дії κ -карагінану та натрію глутамату в експерименті. *Медична та клінічна хімія*. 2021. Т. 23, № 2. С. 48–54. (Здобувачем проведено дослідження і набір матеріалу, проаналізовано результати, підготовлено статтю до друку).
3. Бучко П. І., Марущак М. І. Особливості окиснювальної модифікації протеїнів при комбінованій дії харчових добавок. *Медична та*

клінічна хімія. 2020. Т. 22, № 4. С. 47–55. (Здобувачем проведено дослідження і набір матеріалу, проаналізовано результати, підготовлено статтю до друку).

4. Бучко П. І., Марущак М. І. Вплив комбінованої дії карагінану та натрію глютамату на показники гемопоезу. *Вісник медичних і біологічних досліджень*. 2020. № 4 (6). С. 15–19. (Здобувачем проведено дослідження і набір матеріалу, проаналізовано результати, підготовлено статтю до друку).

5. Buchko P., Krynytska I., Marushchak M. Combined effects of κ-carrageenan and monosodium glutamate food additives: effect on free radical oxidation. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases*. 2021. Vol. 28, № 2. P. 185–195. **SCOPUS** (Здобувачем проведено дослідження і набір матеріалу, проаналізовано результати, підготовлено статтю до друку).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. The effect of monosodium glutamate on markers of endogenous intoxication in rats / P. I. Buchko, I. V. Birchenko, I. Ya. Krynytska, M. I. Marushchak. *Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм* : матеріали XI наук.-практ. конф. (з міжнар. участю), 04–05 жовтня 2018 р. Тернопіль, 2018. С. 45. (Здобувачем проведено дослідження і набір матеріалу, проаналізовано результати, підготовлено тези до друку).

7. Особливості пероксидного окиснення ліпідів за умов комбінованого впливу карагінану і натрій глютамату / П. І. Бучко, Н. В. Ліснянська, О. М. Копаниця, М. І. Марущак. *Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм* : матеріали XII Всеукраїнської наук.-практ. конф., присв. Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф.

Маркової О.О. Галицькі читання II, 29–30 жовтня 2020 року. Тернопіль, 2020. С. 18. *(Здобувачем проведено дослідження і набір матеріалу, проаналізовано результати, підготовлено тези до друку).*

8. Бучко П. І. Показники гемопоезу при комбінованій дії карагінану та натрію глутамату в експерименті. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2021* : зб. тез доп. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів, 15–16 квітня 2021 р. Запоріжжя : ЗДМУ, 2021. С. 14–15. *(Здобувачем проведено дослідження і набір матеріалу, проаналізовано результати, підготовлено тези до друку).*

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, скорочень і термінів	22
Вступ	23
Розділ 1 Особливості застосування та дія на організм натрію глутамату та карагінану (огляд літератури)	30
1.1 Загальна характеристика харчових добавок та безпечні дози їх застосування	30
1.2 Участь глутамату натрію у фізіологічних та патологічних процесах	38
1.3 Дослідження карагінанів: встановлена користь та потенційні негативні ефекти	47
Розділ 2 Матеріали і методи дослідження	55
2.1 Характеристика експериментального дослідження	55
2.2 Визначення показників гемопоезу	58
2.3 Дослідження показників вільнорадикального окиснення й системи антиоксидантного захисту	58
2.4 Показники ендогенної інтоксикації	61
2.5 Показники енергозабезпечення клітин	62
2.6 Маркери лізосомального пошкодження	63
2.7 Методи дослідження ініціації апоптозу клітин лейкоцитарної суспензії	63
2.8 Методи статистичного аналізу, використані у дослідженні	64
Розділ 3 Особливості гемопоезу та оксидативних процесів у тканинах щурів за умови комбінованої дії карагінану та натрію глутамату	66
3.1 Вплив комбінованої дії карагінану та натрію глутамату на показники гемопоезу	66

3.2 Комбінована дія харчових добавок к-карагінану та натрію глутамату: вплив на вільнорадикальне окиснення	68
3.3 Особливості окиснювальної модифікації протеїнів при комбінованій дії харчових добавок	77
3.4 Показники ендогенної інтоксикації за умови комбінованої дії к-карагінану та натрію глутамату	86
Розділ 4 Особливості енергозабезпечувального окиснення та механізми клітинної загибелі при комбінованій дії харчових добавок	94
4.1 Стан енергозабезпечувального окиснення в тканинах організму щурів при комбінованій дії харчових добавок	94
4.2 Маркери лізосомального пошкодження за умови комбінованої дії к-карагінану та натрію глутамату в експерименті	97
4.3 Показники клітинної загибелі лейкоцитів крові при комбінованому застосуванні к-карагінану та натрію глутамату	103
Розділ 5 Аналіз та узагальнення результатів дослідження	109
Висновки	131
Список використаних джерел	133
Додатки	168

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

MSG	– натрію глутамат
CGN	– карагінан
ЕПО	– еритропоетин
ОМП	– окиснювальна модифікація протеїнів
КДНФГ	– кетон-дінітрофенілгідрозони нейтрального характеру
АДНФГ	– альдегід-дінітрофенілгідрозони основного характеру
АФО, АФК	– активні форми оксигену
ДК	– діє нові кон'югати
ТБК	– активні продукти тіобарбітурової кислоти
СОД	– супероксиддисмутазна активність
РНіСММ	– речовини низької і середньої молекулярної маси
СДГ	– сукцинатдегідрогеназна активність
ЦХО	– цитохромоксидазна активність
КФ	– кисла фосфатаза
РАП	– резервно-адаптаційний потенціал
Me	– медіана

ВСТУП

Актуальність теми. Харчові добавки широко використовуються в харчовій промисловості для збереження якості їжі, досягнення однорідності, підвищення смаку або поліпшення текстури харчового продукту [1]. Друге місце по споживанню добавок після харчової індустрії займає косметична промисловість для виготовлення лосьйонів, кремів, шампунів [2]. Також харчові добавки використовують у текстильній промисловості та біотехнологічному виробництві для іммобілізації клітин і як замітник бактеріологічного агару [3]. З розширенням виробництва харчових добавок постійно зменшується асортимент харчових й промислових продуктів, одержаних без їх використання [4].

Однією з найпоширеніших харчових добавок, що використовуються у всьому світі, є підсилювач смаку, який називається натрію глутамат (MSG), що є натрієвою сіллю природної L-форми глутамінової кислоти [5]. Споживання високих коонцентрацій MSG, за даними різних авторів, спричинює розвиток неврологічних захворювань [6], нейроендокринних аномалій [7, 8], є деякі повідомлення про токсичну дію MSG на печінку та нирки [9]. Рецептори глутамату присутні в печінці, легенях, нирках, селезінці та яєчках, тому найбільш несприятливий або токсичний вплив MSG, ймовірно, буде на ці тканини [10, 11]. На сьогодні немає достовірних даних, які б показували в яких дозах і при яких умовах натрій глутамат, що вживається в їжу постійно у вигляді добавки E621 шкідливий для здоров'я [12, 13]. Літературні дані про токсичний вплив натрій глутамату нечисельні і більшою мірою стосуються розвитку глутамат-індукованого ожиріння [14, 15, 16, 17] та нейротоксичності [18, 19].

Серед харчових добавок добре відомі також полісахариди, які мають високу молекулярну масу, добре розчиняються у воді і використовуються для поліпшення текстури кінцевої продукції [20, 21]. Враховуючи те, що

карагінани належать до розчинних харчових волокон, вони беруть участь у регулюванні гомеостазу, мають імуностимулюючу й антикоагулянтну властивості, що робить цікавим їх застосування у харчових продуктах функціонального призначення [22]. Відомо, що карагінани є потужними індукторами запалення, а ступінь токсичності залежить від молекулярної маси біополімера і кількості залишків сірчаної кислоти [23, 24]. Проте результати дослідження David S. та співавт. [25] підкреслюють невирішені питання дослідження карагінанів: зв'язок між фізико-хімічними властивостями карагінану, його впливом на травний протеоліз, мікробіом товстої кишки та запалення; а також його ефекти у різних групах ризику, що вказує на необхідність подальших досліджень для з'ясування можливого його токсичного впливу в умовах постійно зростаючих рівнів карагінану в раціоні людини, а також широкого поєднання різних харчових добавок.

Незважаючи на велику кількість наукових доказів на підтримку безпеки застосування натрій глютамата і карагінану, деякі дослідники стверджують про упередженість даних про безпеку їх застосування, що створює передумови для глибшого вивчення їх комбінованого впливу в умовах експерименту.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України на тему «Системні та органні порушення за дії надзвичайних факторів на організм, механізми їх розвитку та патогенетична корекція» (№ державної реєстрації 016U003390). Здобувач є співвиконавцем даної науково-дослідної роботи.

Мета дослідження: з'ясувати особливості метаболічних процесів у легенях і печінці експериментальних тварин при комбінованому застосуванні розчинів к-карагінану й натрій глютамату.

Завдання дослідження:

1. Проаналізувати показники гемопоезу у тварин за умови експериментального застосування розчину к-карагінану, натрію глутамату та їх комбінованого впливу.
2. З'ясувати особливості вільнорадикального окиснення в тканинах організму щурів при застосуванні розчину к-карагінану, натрію глутамату та їх комбінованій дії.
3. Оцінити показники антиоксидантної системи захисту в легенях і печінці щурів за умови комбінованої дії досліджуваних харчових добавок.
4. З'ясувати рівень ендогенної інтоксикації в організмі тварин при комбінованому застосуванні розчинів карагінану й натрій глутамату.
5. Дослідити показники системи мітохондріального окиснення легень і печінки при комбінованому застосуванні харчових добавок.
6. Оцінити показники лізосомального пошкодження в тканинах організму щурів за умови комбінованої дії к-карагінану та натрію глутамату.
7. З'ясувати механізм ініціації клітинної загибелі у щурів при комбінованому застосуванні розчинів карагінану й натрій глутамату.

Об'єкт дослідження: механізми комбінованої дії розчинів к-карагінану й натрій глутамату.

Предмет дослідження: показники гемопоезу, вільнорадикального окиснення та антиоксидантної системи захисту, ендогенної інтоксикації, лізосомального пошкодження, інтенсивність енергозабезпечення, шляхи реалізації клітинної загибелі у щурів при комбінованому застосуванні розчинів карагінану й натрій глутамату.

Методи дослідження: експериментальні (моделювання карагінанової, натрій глутаматної інтоксикації та їх комбінації); лабораторні: клінічні (загальний аналіз крові), біохімічні (оцінка інтенсивності пероксидного

окиснення білків та ліпідів, системи антиоксидантного захисту, ендогенної інтоксикації, лізосомального пошкодження), цитометричні (оцінка рівня лейкоцитів з ознаками апоптозу і некрозу), математико-статистичні (обробка отриманих цифрових результатів).

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертаційній роботі уперше з'ясовано патогенетичні аспекти метаболічних порушень за умови комбінованого застосування розчинів к-карагінану та натрію глютамату на підставі вивчення показників гемопоезу, вільнорадикального окиснення й системи антиоксидантного захисту, ендогенної інтоксикації, енергозабезпечення клітин, маркерів лізосомального пошкодження та клітинної загибелі.

Уперше встановлено, що комбіноване застосування розчину к-карагінану та натрію глютамату має негативний вплив на гемопоез, що проявляється вірогідним зниженням показників еритроцитів і гемоглобіну та підвищенням концентрації еритропоєтину.

Досліджено, що за умови комбінованого застосування розчину к-карагінану та натрію глютамату активація процесів вільнорадикального окиснення характеризується вірогідним підвищенням рівня продуктів пероксидного окиснення ліпідів у сироватці крові, легенях і печінці та зниженням активності ензимів антиоксидантної системи захисту в легенях і печінці. Уперше показано, що комбінована дія розчинів к-карагінану та натрій глютамату супроводжується вірогідним підвищенням спонтанної окиснювальної модифікації протеїнів, що веде до виснаження резервно-адаптаційного потенціалу в крові, легенях і печінці. Доведено порушення процесів елімінації продуктів ендотоксикозу за умови комбінованій дії харчових добавок внаслідок їх надмірного утворення в тканинах організму, що підтверджується вірогідно вищими значеннями РНіСММ у плазмі крові та на глікокаліксі еритроцитів щурів.

Уперше показано у тканинах легень та печінки вірогідно нижчі значення сукцинатдегідрогеназної та цитохромоксидазної активності та вірогідно вищі показники активності кислої фосфатази та катепсину В при комбінації натрію глутамату з карагінаном. При цьому встановлена вірогідна взаємозалежність між рівнем показників лізосомального пошкодження та ТБК-АП в легенях і крові тварин при комбінованій дії харчових добавок.

Уперше методами статистичного аналізу встановлено вірогідно вищий відсоток лейкоцитів з ранніми й пізніми ознаками апоптозу, а також з ознаками некрозу за умови комбінованої дії харчових добавок, при цьому концентрація ТБК-АП й активність кислої фосфатази мають вплив на апоптотичну, так і некротичну загибель лейкоцитів крові.

Практичне значення одержаних результатів. На підставі проведених досліджень доповнено відомості про метаболічні порушення в тканинах легень та печінки, що розвиваються за умови комбінованої дії натрію глутамату та к-карагінану. Отримані дані щодо впливу комбінованої дії харчових добавок на гемопоез, вільнорадикальне окиснення, антиоксидантний захист, ендогенну інтоксикацію, енергозабезпечення клітин, процеси клітинної загибелі розширюють наукові знання про поліорганність їх ураження та дозволяють обґрунтувати необхідність перегляду і визначення максимально допустимих добових доз за умови їх поєданого споживання.

Основні положення дисертаційної роботи можуть бути використані в навчальному процесі при викладанні патологічної фізіології, медичної біохімії, гігієни та екології студентам медичних закладів вищої освіти, а також у роботі науково-дослідних лабораторій за даною проблематикою.

Теоретичні положення дисертаційної роботи впроваджено у навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології Івано-Франківського

національного медичного університету, Буковинського державного медичного університету, Української медичної стоматологічної академії, Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України.

Особистий внесок здобувача. Здобувач виконав патентно-інформаційний пошук, проаналізував вітчизняну та зарубіжну наукову літературу з досліджуваної проблеми, самостійно сформував дослідні групи, статистичну обробку отриманих даних, науковий аналіз та узагальнення результатів досліджень, сформулював основні наукові положення і висновки дисертації, написав й оформив дисертаційну роботу. В наукових працях, опублікованих у співавторстві, викладено фактичний матеріал дисертації.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертаційної роботи оприлюднено на XI науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (м. Тернопіль, 04–05 жовтня 2018 р.), XII науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присвяченій Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМУ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О. Галицькі читання II (м. Тернопіль, 29–30 жовтня 2020 р.), науково-практичній конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2021» (м. Запоріжжя, 15–16 квітня 2021 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 8 наукових праць, із яких 1 стаття в іноземному періодичному виданні, що індексується у науковометричній базі SCOPUS, 4 – у фахових виданнях, що включені в Перелік наукових фахових видань України (з них 1 оглядова стаття), 3 публікації в матеріалах наукових конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертацію викладено на 174 сторінках друкованого тексту і складається із вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи досліджень», двох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел, що містить 291 бібліографічних описів, та додатків. Роботу проілюстровано 24 таблицями та 15 рисунками. Список використаних джерел і додатки викладено на 41 сторінці.

РОЗДІЛ 1

ОСОБЛИВОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ ТА ДІЯ НА ОРГАНІЗМ НАТРІЮ ГЛУТАМАТУ ТА КАРАГІНАНУ (огляд літератури)

1.1 Загальна характеристика харчових добавок та безпечні дози їх застосування

Особливості сучасного харчування тісно пов'язані з використанням широкого спектру харчових добавок – речовин, які додаються в їжу з певною технологічною метою, наприклад, для запобігання псуванню, збереження структури їжі або поліпшення її органолептичних властивостей [26]. В Європейському Союзі (ЄС) правила використання харчових добавок встановлені Регламентом Європейського Парламенту та Ради № 1333/2008 [27]. В Україні до початку 90-х років ХХ ст. використання харчових добавок було обмеженим порівняно із зарубіжними країнами, зокрема, до 1994 року було дозволено лише 194 харчових добавок, а згідно з Постановою Кабінету Міністрів в 2000 році – 221 [28]. У Законі України N 2973-VI від 03.02. 2011 «Про безпечність та якість харчових продуктів» зазначено, що харчова добавка дозволяється до використання за умов, якщо вона не являє собою небезпеки для здоров'я споживача на рівні використання, на якому пропонується, що може бути встановлено на підставі доступних наукових доказів [29]. Враховуючи затверджений Регламент ЄС №1331/2008 наказом Міністерства охорони здоров'я України від 20.03.2013 № 218 було передбачено затвердження порядку державної реєстрації харчових добавок, ароматизаторів та ензимів, а також санітарні правила і норми щодо їх застосування, у тому числі їхнього переліку, дозволеного для використання в харчових продуктах [30]. З метою приведення процедур реєстрації харчових добавок у відповідність із законодавством ЄС у 2018 р. у МОЗ було розроблено проект наказу про затвердження порядку проведення

державної реєстрації харчових добавок, ведення реєстру та надання інформації з нього, проте нормативно-правовий акт так і не прийнято. У ЄС постійно спостерігають за безпекою використання харчових продуктів, враховуючи не тільки нову наукову інформацію, але й потенційні зміни у споживанні ними населення [31]. Скорочення тривалості життя населення України, різке зниження якості життя та індексу здоров'я нації при значному порушенні харчового статусу зумовлює необхідність підняття питань якості харчової продукції, у тому числі й неконтрольованого використання харчових добавок [32], що обумовлює актуальність даного дослідження

Багато синтетичних забруднювачів, таких як промислові токсини та харчові добавки, призводять до несприятливих наслідків. Деякі харчові добавки діють або як консерванти, або як підсилювачі смакових якостей. Однією з таких харчових добавок є глутамат натрію (MSG, E621) – сіль глутамінової кислоти, яка широко використовується як підсилювач смаку [33-35]. Для MSG характерний специфічний смак уамі [36]. Ця молекула була ідентифікована близько 100 років тому Кікунае Ікедою як п'ятий основний смак, на додаток до кислого, солодкого, солоного та гіркого. MSG міститься у харчових продуктах з високим вмістом білка, таких як м'ясо або риба, а також у деяких видах сирів (рокфор та пармезан) або овочах (помідори, гриби, брокколи) [37, 38]. Специфічний смак уамі може підвищити загальну інтенсивність смаку та покращити смакові якості страв. Цей ефект залежить від різних факторів, найважливішим з яких є концентрація молекули уамі та харчових складників [39]. Крім MSG, іншими добре відомими речовинами уамі є інозин 5'-монофосфат (IMP) та гуанозин 5'-монофосфат (GMP). Їх можна знайти в різних природних джерелах, а також як добавки до деяких харчових продуктів, таких як оброблене м'ясо, овочеві консерви, супи, соуси, сушені кубики бульйону та

солоні закуски зі смаком [40]. Більш того, ІМР також використовується як підсилювач смаку для підкреслення смаку умами MSG [41].

Цікаво, що сама І-глутамінова кислота та її аналог динатрієва сіль мають м'які властивості умами порівняно з MSG. Смак умами зменшується внаслідок інших хімічних змін, таких як естерифікація або утворення аміду. Повідомлялося, що лише кислотні аналоги глутамінової кислоти, такі як І-аспарагінова кислота, І-гомоцистеїнова кислота та бурштинова кислота, мали деякі ефекти умами (Kawai, Okiyama, & Ueda, 2002). Гіпотеза про вільні карбоксильні групи щодо відносини структура-смак підтверджується І-γ-глутамілетиламідом, також відомим як теанін, природною складовою зеленого чаю, який виявляє властивості умами [42-45]. Крім того, різні циклічні похідні глутамінової кислоти мають властивості умами, якщо вони містять вільну карбонову групу, це стосується піроглутамінової або іботенової кислоти [45].

Окрім ефекту посилення смаку, на думку дослідників MSG асоціюється з токсичною дією, зокрема, натрію глутамат пов'язаний із ожирінням, порушенням обміну речовин, синдромом китайських ресторанів, нейротоксичною дією та шкідливими ефектами на репродуктивні органи [46]. З іншого боку, у Європейському Союзі E621 дозволений в деяких продуктах харчування та обмежений кількісно [47]. Дослідження, проведене в 1995 році Федерацією Американського товариства експериментальної біології (FASEB) для Управління з контролю за продуктами та ліками (FDA), встановило, що немає даних, які підтверджують роль MSG у виникненні або ускладненні хронічних захворювань [48-50]. Хоча MSG, ймовірно, має величезні переваги для харчової промисловості, широке використання цієї харчової добавки може мати негативні наслідки для здоров'я населення.

Відомо, що загальна доступність перорально введеного глутамату дуже низька, навіть після застосування великих доз. Це пов'язано зі значним

метаболізмом у кишечнику, де глутамат використовується як субстрат для виробництва енергії ентероцитами тонкої кишки, обмежуючи таким чином його всмоктування у кровотік [51]. Концентрації глутамату в плазмі значно зростають лише за умови введення болюсних доз 150–2000 мг/кг маси тіла [52, 53]. При споживанні MSG з продуктами харчування досягаються значно нижчі пікові концентрації у плазмі крові порівняно з болюсним дозуванням. У серії досліджень, проведених на добровольцях [53-55] було продемонстровано, що пероральне введення 150 мг/кг маси тіла у вигляді болюсної дози у складі харчових компонентів, особливо вуглеводів, призводить лише до незначного збільшення (до 2 разів) концентрації глутамату в плазмі. Швидкість використання глутамату як джерела енергії ще більше посилюється при наявності вуглеводів у раціоні [53-56], як це відбувалося б при споживанні продуктів, що містять глутамат.

Відсутність значного збільшення концентрації у плазмі крові (за винятком надмірних болюсних доз, яких неможливо досягти за допомогою харчування), значною мірою пояснюється використанням MSG як джерела енергії клітинами кишечника одразу після всмоктування [57]. Peng та співавт. [58] показали, що примусове годування 5 % MSG у харчовому раціоні (~2,500 мг/кг маси тіла) дорослих щурів призвело лише до 2-кратного підвищення рівня глутамату в плазмі, тоді як його його рівень зростав у 5-11 разів за умови перорального болюсного введення в дозі 1000 або 4000 мг/кг маси тіла щура [59, 60]. Tung T.C. та Tung K.S. [61] у результатах власних досліджень продемонстрували, що середній рівень глутамату сироватки крові збільшується в середньому до 1,3 раза стосовно вихідних значень через 15–60 хв після вживання їжі за умови коли дорослі китайці споживають 150 мг MSG/кг маси тіла як частину типової китайської їжі (рисова каша) [61]. Також ці дослідники додатково оцінили токсикокінетику глутамату натрію внаслідок споживання MSG з дитячою

сумішшю та встановили, що 20 мл суміші для немовлят забезпечує 150 мг MSG/кг маси тіла. При цьому рівень глутамату в сироватці крові піднявся приблизно у 2 рази протягом 30 хвилин порівняно з вихідним рівнем, та повернувся до норми через 1 годину, що автори пов'язують із значною здатністю немовлят метаболізувати великі пероральні дози глутамату.

McLaughlan J.M. та співавт. оцінили токсикокінетику глутамату у болюсних пероральних дозах від 50 мг до 8000 мг MSG/кг маси тіла щурів Маклафлан та ін. та встановили, що концентрація глутамату в плазмі крові незначно збільшується при використанні дози 100 мг/кг маси тіла, при цьому концентрація в плазмі зростає при більш високих дозах пропорційно дозі, зокрема, при 200 мг/кг маси тіла пероральне болюсне введення MSG разом з м'ясом призводить до 1,7-3,5-кратного збільшення концентрації глутамату в плазмі крові через 30 хвилин після введення дози [62]. Дані дослідження показали, що поріг системного впливу глутамату після перорального дозування як у щурів, так і у людини знаходиться в діапазоні 100–150 мг/кг маси тіла.

Крім того, MSG вільно не проходить через гематоенцефалічний бар'єр. Концентрація глутамату в мозку (10 000–12 000 мкМ) значно вища, ніж у плазмі (30–100 мкМ), при цьому градієнт концентрації підтримується за допомогою транспортерів глутамату. Глутамат може отримати доступ до мозку через ділянки, які не містяться в гематоенцефалічному бар'єрі. Ряд досліджень продемонстрував, що навіть при високих пероральних дозах до 4 г/кг маси тіла на добу незначний вплив на концентрацію глутамату в центральній нервовій системі [53, 62-66]. Дослідження показали, що навіть при високій болюсній дозі до 4000 мг/кг маси тіла у дорослих тварин [59] не відбулося значних змін рівня глутамату в мозку. Дослідження, де рівень глутамату в мозку може бути підвищений за допомогою високих пероральних доз, обмежуються лише новонародженими тваринами з менш розвиненими гематоенцефалічними бар'єрами.

Середньодобові оцінки споживання MSG як харчової добавки включають 0,3–1,0 г/добу [67] для США та Європи, 0,6–2,0 г/день у Великобританії [68], 1,5–3,0 г/день на Тайвані, 1,1–1,6 г /добу в Японії, 1,6–2,3 г/день у Південній Кореї [69] та 0,56–1,0 г/день у Нігерії [70]. Таким чином, споживання MSG як добавки становить близько 5-10 % від загальної добової норми споживання глутамату з різних харчових джерел [71]. Це не обов'язково свідчить про низьку токсичність MSG. Так, прийом вільного незв'язаного глутамату може призвести до тимчасово високих або швидко мінливих (а отже, і шкідливих) концентрацій у плазмі, які не досягаються в умовах, коли глутамат поступово виділяється з харчових білків та інших джерел їжі.

Регулюючі органи схвалили безпеку MSG як харчової добавки на основі відсутності переконливих доказів на користь гострої або хронічної токсичності у тварин або людей [72]. Так, описаний синдром китайського ресторану у 1981 році [73] не був переконливо підтверджений у рандомізованих дослідженнях [74, 75]. Однак останні дослідження [76-80] викликають занепокоєння, зокрема щодо ролі, яку хронічна токсичність MSG може відіграти у виникненні хронічних захворювань [81-83].

В останні десятиліття хімічна промисловість швидко розвивається, що супроводжується широким використанням каппа-карагінану завдяки своїй здатності збільшувати в'язкість і гелеутворення водних розчинів, тому його широко використовують у харчовій, легкій промисловості та сільському господарстві. Завдяки своїй біосумісності, високій молекулярній масі, високій в'язкості та гелеутворюючій здатності ці біополімери набули великого значення за останні десятиліття не лише у харчовій промисловості, а й у медичних, фармацевтичних та біотехнологічних дослідженнях. Токсикологічні аспекти карагінану були ретельно оцінені, в результаті чого було встановлено, що вони мають мінімальний або взагалі не мають шкідливих фізіологічних ефектів [84]. Комітет експертів FAO/WHO з

харчових добавок встановив допустиму добову дозу карагінану – до 75 мг на кілограм ваги. Дослідники за допомогою експериментів виявили, що для гелеподібних солодких страв за участі каппа-карагінану достатньо його в концентрації 0,6 %, тоді як для солоних страв – у концентрації 0,8 % [85]. Завдяки своїй лінійній макромолекулярній структурі та поліелектролітним властивостям, карагінан зазвичай утворює дуже в'язкий водний розчин. Взаємне відштовхування негативно заряджених сульфатних груп уздовж полімерного ланцюга призводить до того, що молекула стає дуже подовженою, тоді як її гідрофільна частина знаходиться в гідратній оболонці. Обидва ці фактори збільшують в'язкість розчину.

Карагінан (CGN) зазвичай зустрічається в молочних продуктах, молочних заміниках (таких як мигдальне та соєве молоко), м'ясних делікатесах, харчових добавках, напоях та дитячих сумішах. Фактично, JECFA (1999) вважає, що три основні форми карагінану (λ , κ та ι) не виявляють істотних відмінностей між ними з точки зору токсикологічних ефектів та безпеки людини у харчових продуктах. Однак незначні відмінності в їх хімії надають різні функціональні властивості, які дуже корисні для харчової промисловості. Наприклад, відомо, що κ -CGN забезпечує міцний і ламкий гель у присутності солей калію. Тим часом, ι -CGN потребує кальцію для утворення еластичного гелю з тиксотропною поведінкою при низьких концентраціях, тоді як λ -CGN не утворює гелів, але може використовуватися як загусник. У фармацевтичній промисловості карагінанні використовуються як допоміжні компоненти і включені до бази даних неактивних інгредієнтів FDA США, схвалених у лікарських засобах [86, 87].

Як і більшість природних полісахаридів, карагінан характеризується своєю полідисперсністю щодо молекулярної маси (ММ). ММ більшості карагінанів становить від 100 до 500 кДа. Зазвичай вони утворюють розчини з в'язкістю від 25 до 500 МПа, але λ -карагінан може утворювати розчини з

високою в'язкістю до 20000 МПа [88]. Карагінан, в'язкість розчину якого менше 100 МПа, має характеристики, близькі до ньютонівської рідини [89].

У науковій літературі та громадськості існувала значна плутанина між високомолекулярною харчовою добавкою CGN (200 000-800 000 Da.) та продуктами кислотного гідролізу CGN, які є деградованими карагінанами (d-CGN) (20 000-40 000 Da.) та полігінанами (PGN) (10000–20 000 Da.). У ранніх роботах PGN часто неправильно називали «деградованим карагінаном» (d-CGN). У деяких випадках ранні дослідження називали d-CGN CGN, що поглиблювало плутанину. Однак у 1988 році Рада США з прийнятих імен (USAN 1988) присвоїла назву «полігінан» фармацевтичним засобам та диспергаторам у діапазоні 10000 – 20000 Da. На жаль, терміни «полігінан» та «деградований CGN» не використовуються в літературі. Насправді, багато досліджень, опублікованих сьогодні, все ще використовують термін CGN при описі використання d-CGN, що продовжує бентежити як наукове співтовариство, так і споживачів. Протягом останніх кількох років декілька груп намагалися встановити чіткі результати щодо питань розміру та номенклатури [90-93]. Ця плутанина призвела не лише до деяких неправильних висновків у наукових працях та оглядах [90, 91], а також спричинила неправильне тлумачення токсикологічних даних дослідницькими групами [94] та групами споживачів [95]. З тих пір було доведено, що основні дослідження, про які повідомляють ці групи з використанням клітинних моделей [92, 96], і їх твердження про те, що CGN, що використовується як харчова добавка, шкідливі, були відхилені регулюючими органами [97].

Таким чином, карагінани стали одними з основних біоматеріалів для цілого ряду цілей у фармацевтичній промисловості, оскільки вони використовуються для поліпшення рецептури ліків та контрольованого вивільнення ліків [98-100]. Виявлено також ряд біоактивних застосувань

карагінанів, які були вивчені, включаючи їх антиоксиданту [101-103], противірусну [104-107], антибактеріальну [108], антигіперліпідемічну [109], антикоагулянтну [103, 104], протипухлинну та імуномодулюючу роль [110-112], що дозволяє використовувати їх у біомедичній сфері як потенційні фармацевтичні складники для лікування різних захворювань.

Отримані дані вказують на широке застосування натрію глютамату та карагінану, насамперед, у харчовій промисловості. Однак останні дослідження викликають занепокоєння, зокрема щодо ролі, яку хронічна токсичність харчових добавок у неконтрольованому добовому дозуванні, а також за умови їх поєднання може відіграти у виникненні хронічних захворювань.

1.2 Участь глютамату натрію у фізіологічних та патологічних процесах

Глутамінова кислота, незамінна амінокислота, є найбільш поширеною вільною амінокислотою в головному мозку. MSG функціонує в якості збуджуючих нейротрансмітерів в центральній нервовій системі (ЦНС). Він має додаткову функцію як сполучна ланка між окисно-відновними станами піридинових нуклеотидів (НАД + і НАДФ +), а також як джерело енергії. Обмін MSG тісно пов'язаний з циклом Кребса. Реакція $\text{глютамат} + \text{НАД} + \leftrightarrow \alpha\text{-кетоглутарат} + \text{НАДН} + \text{H} +$ каталізується глютаматдегідрогеназою. Ця мітохондріальна реакція, яка використовує або НАД + або НАДФ + в якості кофакторів, служить для забезпечення окислювально-відновної рівноваги [113].

MSG також виступає в якості важливого потенційного джерела енергії. Коли концентрація глюкози в мозку є низькою, мозок мобілізує MSG. Енергія, яка стає доступною, подібна до енергії, що виробляється глюкозою [114].

Глутамат є збудливим нейромедіатором у центральній нервовій системі (ЦНС) ссавців, який відіграє важливу роль як у фізіологічних, так і в патологічних процесах [115]. Глутаматні рецептори включають три сімейства іонотропних рецепторів (N-метил-даспартат, α -аміно-3-гідрокси-5-метил-4-ізоксазолпропіонову кислоту та каїнат) і три групи метаботропних рецепторів (mGluR) [116]. Вони розподілені по всій центральній нервовій системі, включаючи мигдалину, гіпокамп і гіпоталамус, де вони регулюють багато життєво важливих метаболічних і вегетативних функцій [117]. У мозку глутамат служить нейромедіатором на додаток до його загальної ролі в білковому та енергетичному обміні. Нейромедіатори зберігаються в нервових закінченнях і використовуються нервовими клітинами для пригнічення або збудження інших нервових клітин або клітин-мішеней, таких як м'язові або ендокринні клітини. Нервові імпульси викликають вивільнення MSG з пресинаптичної клітини, який, в свою чергу, зв'язується з рецепторами глутамату на постсинаптичній клітині. Нейротрансмісію завершується поглинанням глутамату астроцитами [118].

Наприкінці 1960-х років було висловлено занепокоєння, що високі дози MSG можуть негативно вплинути на роботу мозку. Також повідомлялося про можливість ураження головного мозку, спричиненого MSG, шляхом ін'єкцій або методів примусового годування гризунів. У дослідженнях з дуже високими дозами MSG, які вводили системно, пошкодження головного мозку було виявлено в областях мозку, які не були захищені гематоенцефалічним бар'єром. Ці результати підтверджують концепцію, що надмірна стимуляція рецепторів збуджуючих амінокислот може привести до загибелі нейронів [119]. Згодом ця гіпотеза стала популярним патогенетичним поясненням пошкодження нейронів, що спостерігається в умовах, наприклад, гострого інсульту.

Глутаматні рецептори – це синаптичні рецептори, які розташовані на мембранах нейронних клітин. Вони відіграють центральну роль в ексайтотоксичності і причетні до кількох неврологічних захворювань. Поширеність у центральній нервовій системі пов'язують з багатьма нейродегенеративними захворюваннями, а деякі інші стани також пов'язані з мутаціями гена рецептора глутамату або активністю рецепторного аутоантигену/антитіла [120]. Ексайтотоксичність – це процес надмірної стимуляції глутаматних рецепторів, що може призвести до пошкодження нейронів і нейродегенерації. Цей процес здійснюється ексайтотоксинами. Ексайтотоксини – це амінокислоти, такі як глутамат, аспартат і цистеїн, які при застосуванні викликають їх надмірну стимуляцію і загибель нейронів. На відміну від білків, що містять глутамінову кислоту в продуктах харчування, глутамат дуже швидко всмоктується в шлунково-кишковому тракті (ШКТ). Абсорбований глутамат може підвищити рівень глутамату в плазмі крові. Його концентрація в плазмі становить 50-100 мкмоль/л, у всьому мозку 10 000-12 000 мкмоль/л, але лише 0,5-2 мкмоль/л у позаклітинній рідині (ECF). Низькі концентрації ECF, необхідні для оптимальної функції мозку, підтримуються нейронами, астроцитами та гематоенцефалічним бар'єром (ГЕБ) [121]. Фактично, концентрація глутамату в навколишній позаклітинній рідині мозку зазвичай становить 0,5-5 мкМ. Цей градієнт концентрації глутамату між позаклітинною рідиною і цитозолем нервової клітини досягається за допомогою потужних систем поглинання глутамату в нейронах, астроцитах і синапсомних везикулах [122].

Окремі дослідження щодо токсичності MSG на серцево-судинну систему вказують на те, що введення MSG посилює окиснювальний стрес серцевої тканини, а також визначає біохімічні зміни, а саме збільшення деяких біомаркерів серцевих захворювань, таких як ЛДГ, АСТ та АЛТ [123]. Дози MSG від 0,5 г/кг до 1,5 г/кг викликали зміни серцевого ритму, а також

летальну тахіаритмію у щурів з інфарктом міокарда [124]. Однак, аналізуючи, чи можуть ці дослідження свідчити про загрозу здоров'ю людини, слід враховувати високі дози та шляхи введення, які використовуються. Підшкірне, внутрішньоочеревинне або внутрішньовенне введення доз, які в кілька разів перевищують харчове споживання людини [125, 126] не зумовлює токсичності, оскільки ці шляхи долають нормальний метаболічний шлях глутамату, що вживається.

У кількох дослідженнях повідомлялося про гепатотоксичні ефекти після введення глутамату [128-131]. Гепатоцити мають метаболічні функції, які пов'язані з дуже важливими процесами, такими як детоксикація, дезамінування, трансамінування, видалення аміаку у вигляді сечовини, біосинтез і вивільнення незамінних амінокислот і білків плазми, зберігання глікогену, перетворення вуглеводів і білків в ліпіди, синтез ліпопротеїнів, фосфоліпідів і холестеролу, окиснення жирних кислот, зберігання заліза у вигляді феритину, а також зберігання вітамінів А, D і В12. Печінка і тканини метаболізують MSG шляхом окисного дезамінування (або переамінування) в щавлевоцтову або піровиноградну кислоту через альфа-кетоглутарат в сукцинат. Розширення центральної печінкової вени з лізованими еритроцитами та зруйнованими гепатоцитами, можливо через порушення проникності мембран, виявлено у дорослих щурів лінії Wistar після контрольованого годування сумішшю їжі, що містить 0,04 г/кг і 0,08 г/кг MSG, щодня протягом 42 днів [127]. Крім того, подібні результати були повідомлені в дослідженні на дорослих самцях лінії *Rattus norvegicus*, коли MSG застосовували разом з їжею, але в набагато вищій добовій дозі – 6 г/кг [128]. Результати досліджень пов'язують дегенеративні зміни в печінці з цитотоксичним ефектом MSG, впливаючи на нормальний процес детоксикації та інші функції печінки [127]. Повідомлялося також, що введення MSG призводить також до збільшення активності ензимів (АЛТ і АСТ), що вказує на гепатоцелюлярне ураження і, можливо, цироз печінки

[132]. В іншому дослідженні було зазначено, що вакуолізація гепатоцитів була більш вираженою навколо центральної вени у мишей, яким вводили MSG протягом 75 днів [133]. Вакуолізацію гепатоцитів, як і балонну дегенерацію, трактували як своєрідний клітинний захисний механізм проти шкідливих речовин [134]. Інше дослідження повідомило, що ці вакуолі відповідають за збирання шкідливих елементів і запобігання їх втручання в біологічну діяльність гепатоцитів [135]. Згідно з результатами дослідження, введення MSG щурам спричиняє некроз і фіброз печінки [136]. Більше того, [137] повідомлялось про проліферацію жовчовивідних шляхів і перибіліарний фіброз після застосування MSG. Крім того, дослідження показало, що оксидативний стрес відіграє певну роль у розвитку фіброзу та дегенерації печінки [138]. MSG також веде до виснаження вмісту глікогену в цитоплазмі гепатоцитів [139]. Застосування глутамату спричинило хронічне запальне захворювання через наявність запальних клітин у тканині печінки та виснаження вуглеводів у цитоплазмі гепатоцитів [134]. Клітинна інфільтрація є ознакою хронічного запалення [135].

У ряді досліджень повідомлялося про ожиріння, гіперінсулінемію, підвищення рівня триацилгліцеролів і холестеролу ЛПНЩ у групах, які отримували MSG з необмеженим дієтичним режимом [140, 141]. У недавньому дослідженні, проведеному Nagata M. та спіавт. [142], було виявлено, що у новонароджених самців і самок мишей, яким вводили дози (2 мг/г) MSG, розвивалися глюкозурія та інші симптоми діабету до 29-тижневого віку. У мишей, які отримували MSG, спостерігався підвищений рівень глюкози в крові, інсуліну, ттриацилгліцеролів і холестеролу порівняно з контрольними тваринами. Острівці підшлункової залози як самців, так і самок мишей демонстрували гіпертрофію як результат прогресування цукрового діабету. Діабетичний стан, викликаний MSG, у мишей був схожий на цукровий діабет 2 типу людини. Таким чином, ці

миші розглядалися не лише як ідеальні моделі для вивчення діабету, а й для перевірки потенційних побічних ефектів лікування MSG під час випробувань на тваринах. Інше експериментальне дослідження, проведене на щурах, підтвердило, що MSG індукував діабет [143]. Більше того, було виявлено, що ефективність MSG як агента, що викликає ожиріння, вища у щурів з гіпертензією порівняно з нормотензивними. Новонародженим щурам внутрішньоочеревинно вводили 4 мг/кг MSG протягом 5 днів, що призвело до більш поширеного ожиріння та вищих рівнів триацилгліцеролів [144]. За даними іншого дослідження, MSG викликає гіперінсулінемію, яка зумовлює різні зміни в швидкості метаболізму утилізації глюкози; знижує антиоксидантний захист. Тому зміна швидкості метаболізму пов'язана з оксидативним стресом у тканині печінки [145]. Застосування MSG пов'язане зі збільшенням пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у печінці, зниженням рівня глутатіон-залежної антиоксидантної системи та зниженням каталазної та супероксиддисмутазної активності [146]. Дослідження показали, що MSG (2 мг/г) викликає зміни в паренхімі печінки мишей навколо центральної вени, розширені синусоїди, пікнотичні запальні клітини та ядра [133]. Також були виявлені повідомлення про цукровий діабет і ожиріння, що супроводжувалися стеатозом, запаленням та інфільтрацією лімфоцитів, моноцитів і макрофагів, з фіброзом і неопластичними змінами, вузловими ураженнями та погіршенням відтоку жовчі. Більше того, наявні дані, що ПОЛ зростає в печінці при пероральному введенні MSG в дозі, яка екстраполюється для людей, і становить 0,6 мг/кг [128, 129]. На даний час введення MSG часто використовується як експериментальна модель ожиріння [147].

Окрім патологічного впливу на печінку, глутамат натрію впливає на шлунково-кишковий тракт. Дані огляду літератури Руцької А.В. та співавторів стверджують: «у високих дозах глутамат натрію чинить місцеву патогенну дію на тканини шлунка, що полягає у стоншенні всіх шарів стінки

шлунка, десквамації слизової оболонки та її дезорганізації у вигляді зменшення розміру шлункових залоз, збільшення кількості судин та їх повнокров'я. Одним із механізмів патогенного впливу глутамату натрію є контактна місцева та вільнорадикальна окиснювальна дія на тканини шлунка» [148].

Дослідження на тваринах показують, що хронічне споживання MSG викликає пошкодження нирок внаслідок оксидативного стресу (ОС). ОС спричинений надмірною продукцією або зниженою елімінацією вільних радикалів у клітинах, більшість із яких є кисневими радикалами та іншими активними формами кисню (АФК) [149]. Однак основні механізми досі не ясні, незважаючи на зростаючу кількість доказів і консенсус про те, що α -кетоглутератдегідрогеназа, рецептори глутамата і цистеїн-глутаматний антипортер відіграють важливу роль у посиленні ОС при нирковій токсичності, спричиненої MSG [149]. Метаболізм харчування та декілька позаклітинних і внутрішньоклітинних факторів, таких як гормони, цитокіни та процеси детоксикації, сприяють ОС [150-152]. Таким чином, надмірний нирковий метаболізм MSG при тривалому споживанні MSG може бути джерелом АФК. Знижений рівень основних антиоксидантних ензимів і підвищене ПОЛ було продемонстровано в нирках щурів, які постійно зазнали впливу MSG [153]. Крім того, було показано, що високі дози MSG викликають значну токсичність у клітинах ниркової культури [129].

Утворення АФК в нирках тварин внаслідок впливу MSG, було основним фактором їх нефротоксичного ефекту, що призвело до клітинного та функціонального пошкодження [152]. Paul M.V. та співавт. [129] виявили зниження активності супероксиддисмутази, каталази, глутатіон-S-трансферази та глутатіону (GSH) у нирках тварин після введення MSG. Вони також повідомили, що маркери ПОЛ, такі як малоновий діальдегід (MDA) і кон'юговані дієни, були підвищені в тканині нирок за умови застосування MSG. Цілком можливо, що MSG призводить до надмірного

виробництва вільних радикалів, а ендогенних антиоксидантів недостатньо для їх нейтралізації. Згідно з результатами наукових даних, додавання MSG в раціон експериментальних тварин зменшує виведення Na, K та води з гіперфільтрацією. Затримка NaCl, що призводить до артеріальної гіпертензії, супроводжується патологічними змінами нирок, внутрішньонирковим окиснювальним стресом та зниженням екскреції оксиду азоту [154].

Щодо впливу на репродуктивну систему, MSG має токсичну дію на яєчка, викликаючи значну олігозооспермію та збільшуючи аномальну морфологію сперматозоїдів залежно від дози у самців щурів Wistar [155]. Він був причетний до чоловічого безпліддя, викликаючи крововилив у яєчка, дегенерацію та зміну популяції та морфології сперматозоїдів [156]. Зміни були зворотними, оскільки покращення спостерігалося після припинення застосування MSG [157].

Вплив MSG на дорослих самок щурів Wistar в дозі 0,04–0,08 мг/кг MSG, визначив патологічні зміни ооцитів [158] і маткових труб [159], в дозозалежний спосіб. Споживання MSG було пов'язано зі збільшенням кількості первинних фолікулів і первинних сперматоцитів в двох різних дослідженнях, в яких брали участь новонароджені миші [160, 161]. Інша важлива проблема, пов'язана з MSG, – це вплив під час вагітності. Повідомлялося про негативний вплив на здоров'я потомства після введення MSG під час вагітності, наприклад зниження порогу судом, порушення розпізнавання Y-лабіринту, збільшення маси тіла та зниження сироваткового рівня гормону росту та фактора росту інсуліну 1 (IGF-1) [162]. Потомство на стадії плода, піддане впливу MSG, демонструвало функціональні та морфологічні церебральні зміни з підвищеною експресією генів, пов'язаних з апоптозом, і генетичною токсичністю [162].

Концентрації MSG дуже різноманітні в різних тканинах організму. У ЦНС його концентрація в клітинах вища, ніж у позаклітинній рідині, що

дозволяє функціонувати нейронами і гліями. Глутаматні рецептори є в багатьох органах, таких як: головний мозок, спинний мозок, нерви, серце, легені, печінка, яєчка та селезінка, де він бере участь у передачі сигналів клітин [163]. Мало що відомо про вплив MSG на легені. Доступні дані численних клінічних досліджень не змогли продемонструвати чіткої і послідовної зв'язок між глутаматом натрію (MSG) і астмою. Встановлено, що споживання 0,5 % або 5 % не впливало на інфільтрацію легеневої еозинофілів, вироблення цитокінів Th2, концентрацію циркулюючого IgE або гіперчутливість дихальних шляхів (індукованої метахоліном). Гістологічні спостереження не виявили запалення легенів, включаючи вторинні зміни, у мишей з астмою. Введення перорального зонда розчином MSG (0,5 % або 5 %) не виявило гострого впливу на запалення легенів або гіперчутливість дихальних шляхів у мишей з астмою. Результати досліджень свідчать про те, що MSG не бере участь у розвитку астми або гострих астматичних реакцій [164, 165]. За даними Said S.I., гостре введення високих концентрацій MSG може спричинити набряк легень з високою проникністю та звуження дихальних шляхів. Активація ендogenous рецептора MSG може відігравати ключову роль у посередництві окиснювального ураження легень і гіперреактивності дихальних шляхів, що є основною ознакою бронхіальної астми [166]. Stevenson D.D. повідомив, що MSG спричинив напади астми у ряду пацієнтів з астмою, і у таких пацієнтів була порушена функція легенів [167]. В іншому дослідженні пневмоцити I типу показали гіпертрофію, вакуолізацію та некроз. Пневмоцити типу II також мали ознаки пошкодження, але в меншому ступені, ніж клітини типу I. Ці клітини показали дегенеровані цитоплазматичні органели, а в альвеолярному просторі були виявлені десквамовані клітини [168]. В основі отриманих змін, автори вважають пряме пошкодження ендотеліальних клітин циркулюючими токсинами або вивільненням вазоактивних цитокінів з макрофагів і тромбоцитів або

внаслідок вивільнення лізосомальних ензимів, а також підвищення ПОЛ, що призводить до втрати цілісності мембран і клітин.

Пероральне введення MSG у дозах 75 або 150 мг/кг здоровим добровольцям призвело до значного збільшення частоти повідомлень про головний біль і суб'єктивно повідомлялося про болючість перикраніальних м'язів. Результати цього подвійного сліпого плацебо-контрольованого перехресного дослідження також показали підвищення систолічного артеріального тиску для більш високої дози, проте був відсутній біль у м'язах або сильні зміни механічної чутливості [169]. Загалом, існують певні докази на підтримку гіпотези про те, що MSG може викликати головний біль, але, знову ж таки, можуть бути й інші молекули харчового походження [170, 171].

Отримані результати аналітичного огляду наукової літератури вказують на виражені патологічні зміни в тканинах організму за умови болюсного чи надмірного споживання натрію глютамату.

1.3 Дослідження карагінанів: встановлена користь та потенційні негативні ефекти

Карагінан (CGN), сімейство морських полісахаридів, виділених з морських водоростей, був в центрі значних дебатів в останні роки. На сьогоднішній день CGN загалом визнається безпечним на основі історії безпечного використання, різноманітних досліджень гострої та хронічної токсичності. Результати аналізу сучасної літератури показують, що багато досліджень у різних країнах сьогодні зосереджені на вивченні полісахаридів та екстрактів водоростей як джерел природних антиоксидантів та можливості використання їх як гепатопротекторів. Необхідність цих досліджень визначається наступними факторами. По-перше, імунна функція водоростей і полісахаридів [172, 173], зниження вмісту ліпідів у крові [174],

адсорбуюча функція [175], впливають на стан шлунково-кишкового тракту та печінки. Печінка відіграє центральну роль у метаболічних процесах. По-друге, є дослідження щодо гіпоглікемічної [176], антиоксидантної [177] та детоксикаційної [178] дії сульфатованих полісахаридів, які залучають ферменти та метаболіти, що утворюються в печінці. Вчені визначили потенційну антиоксидантну активність усіх досліджуваних сульфатованих полісахаридів, яка проявляється у здатності захоплювати оксид азоту, гідроксильні радикали та супероксидні аніони. Ефективність цих досліджень залежить від наступних факторів. По-перше, імунною регуляцією водоростей і полісахаридів [172, 173], зниженням вмісту ліпідів у крові [174], адсорбуючими властивостями [175] вплив на функцію шлунково-кишкового тракту та печінки.

Дослідження, проведені останніми роками, показали, що карагінан також має значну антиоксидантну активність, властивість, пов'язану з вмістом сульфатної групи [179, 180]. Аналіз полісахаридів з найвищим ступенем сульфатації і найвищою молекулярною масою показав, що вони мають найкращі результати щодо антиоксидантної та антикоагулянтної здатності *in vitro*. Це підтверджує, що кількість сульфатних груп впливає на антиоксидантну активність, а висока молекулярна маса відіграє роль у антикоагулянтній здатності. Ці автори виявили, що різні методи екстракції впливають на біоактивність карагінанів [181]. Інше дослідження продемонструвало антиоксидантну здатність багатошарового покриття на основі каппа-карагінану та лецитину/хітозану, наповненого кверцетином за допомогою пошарової техніки, і визначило, що хімічна структура шарів є важливим фактором для отримання антиоксидантної активності багатошарової рлівки [182].

Вчені визначили потенційну антиоксидантну активність усіх досліджуваних сульфатованих полісахаридів, яка проявляється у здатності захоплювати оксид азоту, гідроксильні радикали та супероксидні аніони.

Антиоксидантна активність їх зменшується зі збільшенням рН, залежить від моносахаридного складу, кількості й розташування сульфатних груп у полісахаридах і не пов'язана з їх відновлювальною здатністю [183].

На антикоагулянтну активність може впливати глікозидний зв'язок (або (1 → 3), або (1 → 4)) і сусідні сульфатні групи [184]. Liang L. та співавт. вивчали антикоагулянтний потенціал різних типів карагінану та їх похідних: олігосахариду каппа-карагінану, сульфатованого каппа-карагінану та десульфатованого каппа-карагінану [87]. Лямбда-карагінан демонструє найвищу антикоагулянтну активність в аналізі цільної крові кроликів, тоді як олігосахарид каппа-карагінану та десульфатований каппа-карагінан не виявляють антикоагулянтної активності. У випадку з олігосахаридом це, ймовірно, пов'язано з відсутністю вторинної структури, викликані зниженням молекулярної маси, а в десульфатованому каппа-карагінані – з відсутністю сприятливих сульфатних груп. Положення заміщення сульфатних груп має більший вплив, ніж ступінь заміщення, як на антикоагулянтну активність, так і на проліферацію клітин. Вторинні структури гліканів також відіграють ключову роль у біологічній діяльності [87]. Головною основою антикоагулянтної активності карагінану є його антитромботична властивість [99, 185]. Отримані дані свідчать про те, що карагінани мають антикоагулянтні та антитромботичні властивості, але вимагають структурних модифікацій, які дозволяють їм проявляти цю біологічно активну активність.

Кілька досліджень показали, що карагінан має імуномодулюючу та протипухлинну активність [186, 187]. Протипухлинна активність карагінанів може бути пов'язана з дестабілізацією взаємодії глікозаміногліканів частини протеогліканів і білків позаклітинного матриксу, таким чином усуваючи адгезію ракових клітин до матриксу, що необхідно для поширення метастазів [188]. Біоактивні властивості карагінанів залежать від їх хімічної структури, молекулярної маси, кількості та положення сульфатації, тому

лямбда-карагінан можна розкласти на кілька продуктів з різною молекулярною масою, кожен з яких має протипухлинну дію, ймовірно, завдяки імуномодуляції. Сполуки з нижчою молекулярною масою, 15 і 9,3 кДа, показали більш високі протипухлинні та імуномодулюючі ефекти [189, 190].

Противірусну активність сульфатованих полісахаридів, виділених з червоних водоростей, вперше продемонстрували Gerber P. та співавт., коли вони помітили, що полісахариди, отримані з *Gelidium cartilagenium*, захищають ембріональні яйцеклітини від вірусу грипу В або епідемічного паротиту [191].

Хімічна структура, ступінь сульфатації, розподіл сульфатних груп, молекулярна маса, складові цукрів, конформація та динамічна стереохімія визначають противірусну активність сульфатованих полісахаридів [88]. Противірусна дія карагінану обумовлена специфічним скринінгом клітинних структур, які беруть участь у зв'язуванні вірусу з його рецептором [192]. Так, наприклад, противірусна активність лямбда-карагінану може бути зумовлена необоротним утворенням стабільних комплексів віріон-карагінан, і тому сайти вірусної оболонки, необхідні для зв'язування вірусу з клітинами-хазяїном, зайняті карагінаном, запобігаючи можливості вірусу завершення інфекційного процесу.

Карагінан є новітнім потенційним засобом лікування застуди. Лабораторні дослідження показують, що він впливає на різні респіраторні вірусні інфекції, у тому числі викликані риновірусом та грипом А [193-195], але, згідно з науковими даними, не аденовірусом [196]. Хоча лабораторні дані, які вказують на те, що карагінан може запобігати вірусним інфекціям, сягають 1980-х років, клінічні випробування проводилися лише з 2010 року [197-199].

Попередній мета-аналіз двох досліджень карагінану [198, 200] показав, що застуда була в середньому на 1,9 дня коротшою у пацієнтів,

яким вводили назальний карагінан [201], проте не було враховано можливість того, що ефект карагінану може бути неоднорідним.

За даними Frediansyah A., численні підтипи карагінану, включаючи каппа-, йота- та лямбда-, інгібують інфікування SARS-CoV-2 *in vitro*, перешкоджаючи адсорбції та інтерналізації вірусу. Протівірусна активність йота-карагінану у вигляді одноразової дози, що вводиться назально, вивчається в кількох клінічних дослідженнях, тоді як його спільне застосування з івермектином вивчалось в двох клінічних дослідженнях і продемонструвало покращення результатів для пацієнтів із COVID-19. Однак, автори зазначають, що необхідно провести широкомасштабні клінічні випробування, щоб продемонструвати ефективність йота-карагінану та його каппа- і лямбда-підтипів у лікуванні пацієнтів з COVID-19 [202].

Карагінани також мають велике біомедичне значення для розвитку тканин, оскільки їх використання в одержанні гідроксиапатит-вмісних сполук для цілей тканинної інженерії добре встановлено [203]. Дослідники продемонстрували, що композити, виготовлені з каппа-карагінану, відповідають деяким вимогам до матеріалів каркасу для регенерації кістки, оскільки вони мають взаємопов'язану пористість понад 90% і діаметр пор більше 100 мкм, що важливо для проникнення в клітини та правильної васкуляризації врослої тканини [204].

Feng та ін. повідомили, що включення каппа-карагінану до колаген-гідроксиапатитового композитного гелю утворює композитний матеріал зі структурними характеристиками натуральної кістки, оскільки каппа-карагінан підвищує міцність, а композитний матеріал володіє хорошою біосумісністю, що робить його перспективним заміником матеріалів для розвитку кісткової тканини [205].

Окрім встановлених позитивних ефектів карагінанів, продовжують розглядатися потенційні ризики їх застосування. Карагінан має

здатність відновлювати ферум та інгібує дію гідроксильних радикалів та вільних радикалів супероксид-аніону. Вони підсилюють каталітичну активність СОД і каталази. Однак, як зазначають вчені, лише на ранній стадії пошкодження клітин, тобто в гострій фазі, може бути достатньо антиоксидантних ферментів для нейтралізації накопиченого АФО. У міру подальшого прогресування оксидативного стресу їх активність зростає або навіть недостатня для компенсації збільшеної генерації АФО. В даному випадку ступінь активності карагінану залежить від дозування і тривалості прийому, але також важливе місце має його структура [206].

Відомо, карагінан є потужним індуктором запалення, а ступінь токсичності залежить від молекулярної маси біополімера і кількості залишків сірчаної кислоти [207, 208]. Чим вище рівень сульфатування, тим більше виражена здатність карагінану індукувати запальний процес. Наприклад, тривале пероральне вживання λ -карагінану, який характеризується високим ступенем сульфатування, здатне приводити до розвитку інтерстиціального запалення, яке підтверджується морфологічно і біохімічно [209, 210]. Вчені довели, що після чотирьох тижнів безперервного вживання карагінану інтенсивність вільнорадикального окиснення буде зростати, особливо ПОЛ, що сприяє розвитку різних патологічних процесів, які яскраво проявляються в кишкових клітинах кишечника. Найбільш інформативним показником активації ПОЛ є активні продукти тіобарбітурової кислоти. Встановлено, що при шлунково-кишковому коліті, викликаному вживанням карагінану, підвищується рівень активних продуктів ТБК та концентрація ДК. Ці результати вказують на те, що вільнорадикальний процес активується за рахунок виробництва АФО та перекисного окиснення ліпідів. Добре відомо, що карагінан безпосередньо стимулює епітеліальні клітини кишечника до вироблення АФО [211], що

може вказувати на те, що вільнорадикальні процеси відіграють важливу роль у ініціації запалення за умов коліту [212, 213].

Запропонований науковій спільноті огляд літератури David S. та співавт. висвітлює деякі прогалини у дослідженні карагінанів. По-перше, мало інформації про вплив карагінану на населення. По-друге, зв'язок між фізико-хімічними властивостями карагінанів, його впливом на травний протеоліз, мікробіом товстої кишки та запалення ще повністю не з'ясовано. По-третє, існують мізерні наукові докази про різницю перетравлення карагінанів у кишківнику хворих груп населення, таких як літні люди або пацієнти з діабетом чи хронічним колітом. Загалом, перегляд наукових даних вказує на те, що необхідні додаткові дослідження, щоб з'ясувати можливість того, що постійний вплив зростаючих добових доз карагінану в раціоні людини може поставити під загрозу її здоров'я [214].

Отримані дані свідчать про виражений ефект карагінанів як антиоксидантів, антикоагулянтів, імуномодуляторів, протипухлинних, противірусних засобів, проте залишається не вивченою їх дія як в умовах комбінованого впливу харчових добавок, так і за умови наявності патологічного процесу в організмі людини.

РЕЗЮМЕ

На основі представлених літературних даних можна зробити висновок, що харчові добавки використовуються не тільки в харчовій, але й у косметичній, текстильній промисловості, біотехнологічному виробництві та інших. Однак останні дослідження викликають запитання, зокрема щодо ролі, яку хронічна токсичність харчових добавок у неконтрольованому добовому дозуванні, а також за умови їх поєднання може відіграти у виникненні хронічних захворювань

Отримані результати аналітичного огляду наукової літератури вказують на виражені патологічні зміни в тканинах організму за умови

болюсного чи надмірного споживання натрію глутамату. У той же час встановлений виражений ефект карагінанів як антиоксидантів, антикоагулянтів, імуномодуляторів, протипухлинних, протівірусних засобів.

Аналітичний огляд основних тенденцій наукових досліджень вказує на потребу подальше розширити і поглибити уявлення про основні процеси, що відбуваються при комбінованому застосуванні натрію глутамату та карагінану.

Результати розділу опубліковані у наукових працях автора [215].

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Робота виконана на базі кафедри функціональної і лабораторної діагностики, центральної науково-дослідної лабораторії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я.Горбачевського МОЗ України (свідоцтво про технічну компетентність № 001/18 від 26.09.2018 р.) та міжкафедральної навчально-дослідної лабораторії Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України (свідоцтво про технічну компетентність № 132/17 від 29.12.2017 р.).

Всі експериментальні дослідження виконано з дотриманням норм Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для досліджень та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.) і ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001), що підтверджено комісією з біоетики Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України (протокол засідання № 65 від 01.09.2021 р.).

2.1 Характеристика експериментального дослідження

Експериментальна робота дисертаційного дослідження виконана на 96 білих безпородних самцях-щурах. Вказані тварини утримувалися у віварії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України на стандартному раціоні відповідно до санітарно-гігієнічних норм та вимог GLP.

Піддослідних щурів поділили на 4 групи: 1 – контроль (інтактні тварини), 2 – тварини, яким внутрішньошлунково вводили к-карагінан у дозі 40 мг/кг, розчинений в 0,5 мл дистильованої води кімнатної температури, протягом 1 міс [216, 217]; 3 група – тварини, яким внутрішньошлунково

вводили натрію глютамат в дозі 50 мг/кг, розчинений в 0,5 мл дистильованої води кімнатної температури, протягом 1 міс [218]; 4 група – тварини, яким внутрішньошлунково вводили карагінан і натрію глютамат у вищевказаних дозах.

Згідно з даними ВООЗ і FAO (Food and Agriculture Organization), добова дозволена доза карагану для дорослої людини становить 20-40 мг/кг маси тіла на добу, тобто в середньому 1,5-3,0 г/добу, тому ми вибрали максимально-допустиму 40 мг/кг.

Середньодобові оцінки споживання глютамату як харчової добавки коливаються в різних країнах від 0,3 до 3,0 г/добу. Проте дані дослідження показали, що поріг системного впливу глютамату після перорального дозування як у щурів, так і у людини знаходиться в діапазоні 100–150 мг/кг маси тіла. Тому, ми вибрали максимально допустиму дозу 50 мг/кг, що становить 3 г/добу.

Враховуючи заплановану кількість досліджень, було проведено 2 серії експериментів (табл. 2.1).

Евтаназію тварин проводили шляхом пункції серця під глибокою анестезією, відповідно до вимог Комітету по догляду за тваринами [219].

Для приготування 10 % гомогенату відібрані зразу ж після евтаназії зразки легень і печінки охолоджували у фізіологічному розчині до 1-3 °С, підсушували фільтрувальним папером, потім подрібнювали ножицями та гомогенізували в 0,05 М трис-НСІ буфері (рН 7,4) за допомогою магнітного гомогенізатора SilentCrusher S, (Heidolph, Germany) у співвідношенні 1:9 (маса тканини:об'єм буфера). Отриманий гомогенат центрифугували протягом 30 хв при 3000 об/хв на центрифугі з охолодженням Hermle Z 32 НК. Для досліджень використовували надосадову рідину [220].

Для проведення дослідження в гемолізатах еритроцитів, цільну кров протягом 15 хвилин центрифугували при 3000 об/хв, сироватку відбирали, а еритроцити двічі промивали ізотонічним розчином натрій хлориду.

Таблиця 2.1 – Розподіл тварин залежно від проведених методів дослідження

Методи дослідження		Кров	Печінка	Легені
1 серія (48 тварин)	Визначення показників пероксидного окиснення ліпідів (ДК, ТБК-АП)	+	+	+
	Дослідження ензимної ланки антиоксидантного захисту (СОД, каталаза)	+	+	+
	Маркери лізосомального пошкодження	+	+	+
	Визначення відсотку клітин з явищами апоптозу і некрозу	+		
2 серія (48 тварин)	Показники гемопоезу	+		
	Оцінка спонтанної та стимульованої окиснювальної модифікації білків	+	+	+
	Показники ендогенної інтоксикації	+ (плазма крові, еритроцити, сеча)		
	Дослідження системи мітохондріального окиснення (СДГ, ЦХО)	+	+	+

Для приготування гемолізату еритроцитів використовували метод Nishikimi N. та співав. [221]. За цим методом, до 0,1 мл відмитих еритроцитів додавали 0,9 мл трис-НСl буфера 0,05 М (рН 7,4), 0,25 мл етилового спирту, 0,15 мл хлороформу, отриману суміш перемішували,

центрифугували на центрифугі з охолодженням Hermle Z 32 НК 15 хв при 3000 об/хв. Для досліджень використовували надосадову рідину

2.2 Визначення показників гемопоезу

Підрахунок кількості еритроцитів здійснювали за допомогою мікроскопа в лічильних камерах з сіткою Горяєва, визначення гемоглобіну крові – геміглобінціанідним методом. Для підрахунку ретикулоцитів в 0,3 мл крові додавалося 100 мкл 1 % барвника діамантового крезилового блакитного, пошук і підрахунок проводили в 1000 еритроцитів за допомогою мікроскопа. Концентрацію еритропоєтину (ЕПО) визначали імуноферментним методом за допомогою набору реагентів «Rat Erythropoietin ELISA (RAB1897-1KT)» (Sigma Aldrich).

2.3 Дослідження показників вільнорадикального окиснення й системи антиоксидантного захисту

Для оцінки спонтанної окиснювальної модифікації протеїнів (ОМП) використовували методику визначення рівня карбонільних похідних за R.L. Levine в модифікації Е.Е. Дубініної [222]. Метод оцінки ОМП базується на реакції взаємодії карбонільних похідних окиснених амінокислотних залишків білків з 2,4-дінітрофенілгіdraзином (2,4-ДНФГ) з утворенням 2,4-дінітрофенілгіdraзонів, що реєструються за допомогою спектрофотометра в ультрафіолетовій частині спектру на довжині хвилі 370 нм (кетон-дінітрофенілгіdraзони нейтрального характеру (КДНФГ)) та в області видимого світла – 430 нм (альдегід-дінітрофенілгіdraзони основного характеру (АДНФГ)). Отримані результати виражали в ум.од./г протеїну. Вміст білка в тканинах організму та лізаті еритроцитів визначали методом Лоурі [223]. Для оцінки стимульованої ОМП

визначення карбонільних протеїнів проводиться аналогічним чином, як і спонтанної, з попереднім додаванням до дослідної та контрольної проб по 0,1 мл приготовлених *ex tempore* $4 \cdot 10^{-3}$ М FeSO₄, $110 \cdot 10^{-3}$ М EDTA, 310^{-4} М H₂O₂, при цьому взаємодія Fe²⁺ з H₂O₂ сприяє подальшому утворенню гідроксильного радикала (OH[•]) за реакцією Фентона.

Оцінка спонтанної і стимульованої окисної модифікації протеїнів на різних довжинах хвиль поглинання інтерпретувалася окремо, а також шляхом співвідношення результатів вимірювання продуктів спонтанного до стимульованого окиснення, що характеризує резервно-адаптаційний потенціал [224].

Вміст дієнових кон'югатів (ДК) у сироватці крові (гомогенатах тканин) оцінювали за класичним методом Z. Placer (1968) у модифікації В.Б. Гаврилова, М.И. Мишкорудной (1983) [225]. До 0,2 мл сироватки додавали 2,0 мл суміші ізопропанол-гептан (у співвідношенні 1:1). Отриману суміш струшували протягом 1 год, потім додавали 0,5 мл гідрохлоридної кислоти при рН 2,0, струшували протягом 2 хв, далі додавали 1,0 мл гептана і продовжували струшувати протягом 15 хв. Приблизно через 1 год проводили фотометрію верхньої фази при 232 нм проти контрольної проби. Розрахунок проводили з використанням коефіцієнта молярної екстинкції $2,20 \times 10^5$ М⁻¹см⁻¹. і виражали у мкмоль/л сироватки крові або мкмоль/кг тканини.

Вміст активних продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК) в сироватці крові оцінювали за методом М. Uchiyama і М. Mihara [226]. Для цього 0,2 мл сироватки крові змішували з 2,0 мл 1,4 % розчину ортофосфорної кислоти і 1,0 мл 0,5 % розчину тіобарбітурової кислоти. Суміш інкубували на водяній бані протягом 45 хв, потім охолоджували і додавали 2,0 мл н-бутанола для екстракції забарвленого комплексу. Пробірки струшували і центрифугували протягом 20 хв при 4000 g. Проводили фотометрію верхньої фази при 532–

570 нм проти контрольної проби. Розрахунок проводили з використанням коефіцієнта молярної екстинкції $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. і виражали у мкмоль/л сироватки крові або мкмоль/кг тканини.

Для визначення супероксиддисмутазної активності (СОД) у гемолізатах еритроцитів використовували методику Чеварі С. та співавт. [227]. Для цього до 0,2 мл супернатанту гемолізату еритроцитів (супернатанту гомогенату легень або печінки) додавали 1,3 мл пірофосфатного буферу (рН=8,3, молярна концентрація 0,1 моль/л), 1,0 мл розчину нітротетразолію синього, 0,3 мл розчину феназинметасульфату і 2,0 мл розчину НАДН₂ (молярна концентрація 0,2 ммоль/л). Далі проби протягом 10 хв витримували в темному місці й фотометрували при довжині хвилі 540 нм на СФ-46 в 1 см кюветі проти проб без НАДН₂. В якості контролю були проби з 0,2 мл фосфатного буферу замість гемолізату або гомогенату. Ензимну активність розраховували за формулою:

$$A_{\text{сод}} = T / (100 \% - T) / C, \quad (2.1)$$

де $A_{\text{сод}}$ – супероксиддисмутазна активність;

T – відсоток інгібування,

C – концентрація протеїну.

При цьому відсоток інгібування визначали за формулою:

$$T = (E_{\text{к}} - E_{\text{д}}) \times 100 / E_{\text{к}}, \quad (2.2)$$

де T – відсоток інгібування;

$E_{\text{к}}$ – екстинкція контрольної проби;

$E_{\text{д}}$ – екстинкція дослідної проби.

Виражали активність СОД в умовних одиницях на 1 мг протеїну (ум. од./мг протеїну).

Для визначення каталазної активності у супернатанті гемолізату еритроцитів та гомогенату легень і печінки використовували

спектрофотометричний метод, в основі якого лежить здатність ензиму високоефективно каталізувати реакцію розкладання гідроген пероксиду на воду і кисень [228]. У контрольну і дослідну проби, які містили досліджуваній ензимний розчин, додавали фосфатний буфер, гідроген пероксид і Na_2EDTA . Протягом 10 хв пробірки залишали при кімнатній температурі, попередньо реакцію в контрольній пробі зупиняли додаванням 1,0 мл 10 % розчину сульфатної кислоти. Відповідний об'єм сульфатної кислоти додавали у дослідну пробу після закінчення інкубації. Каталазну активність визначали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 250 нм. Холоста проба для врахування спонтанної реакції розкладання гідроген пероксиду відрізняється тим, що замість зразка, який містить каталазу, в неї додають такий же об'єм фосфатного буфера. За одиницю активності приймали таку кількість гідроген пероксиду, який розклався при інкубації за одиницю часу. Виразали каталазну активність у ммоль гідроген пероксиду за 1 хв на 1 мг протеїну.

2.4 Показники ендogenousної інтоксикації

Рівень трихлороцтових екстрактів визначали шляхом осадженням крупномолекулярних частинок сироватки крові, еритроцитів і сечі 15 % розчином трихлороцтової кислоти. Дослідження проводили спектрофотометрично на спектрофотометрі СФ-2000. Вимірювання проводили на довжинах хвиль E242, E254, E280 нм (екстракти сироватки крові та еритроцитів) і на довжинах хвиль E236, E254 і E280 нм (трихлороцтові екстракти сечі) [229, 230]. Числа виражали в умовних одиницях (у.о.) оптичної щільності. За результатами розраховувалися коефіцієнти, що характеризують інтенсивність синдрому ендogenousної інтоксикації:

Кз – загальний пул РНіСММ в сироватці:

$$K_3 = (E_{242} + E_{254} + E_{280}) \times 40 \text{ у.о.}; \quad (2.3)$$

K_k – величина катаболічного пулу РНіСММ сироватки:

$$K_k = (E_{242} + E_{254}) \times 12 \text{ у.е.}; \quad (2.4)$$

$K_k\%$ – катаболічний пул сироватки в процентах від загального:

$$K_k\% = K_k / K_3 \times 100 \%; \quad (2.5)$$

ІКП – інтенсивність катаболічних процесів в сироватці:

$$\text{ІКП} = (E_{242} + E_{254}) / (E_{254} + E_{280}), \text{ у.о.}; \quad (2.6)$$

K_1 – показник розподілу РНіСММ між білками сироватки крові і глікокаліксом еритроцитів:

$$K_1 = (E_{242} + E_{254} + E_{280}) \text{ пл.} / (E_{242} + E_{254} + E_{280}) \text{ ер.}, \text{ у.о.}; \quad (2.7)$$

K_2 – характеристика процесу елімінації, тобто здатність нирок до виведення продуктів ендотоксикозу:

$$K_2 = (E_{236} + E_{254} + E_{280}) \text{ сеча} / (E_{242} + E_{254} + E_{280}) \text{ пл.} + \\ (E_{242} + E_{254} + E_{280}) \text{ ер.}, \text{ у.о.}; \quad (2.8)$$

Отримані результати виражали в умовних одиницях.

2.5 Показники енергозабезпечення клітин

Із 10 % гомогенату печінки і легень поетапно осаджували фракцію ядер методом диференційного центрифугування (3 хв при 150 g і 3 хв при 330 g). Мітохондріальну фракцію отримували центрифугуючи супернатант протягом 10 хв при 9000 g на рефрижаторній центрифугі HERMLE Z 32 НК.

Визначення сукцинатдегідрогеназної (СДГ, КФ 1.3.99.1) активності полягало у її здатності відновлювати фериціанід калію сукцинатом під дією

СДГ до безбарвного фероціаніду калію [231]. Активність ферменту пропорційна кількості відновленого фероціаніду.

Для визначення цитохромоксидазної (ЦХО, КФ 1.9.3.1) активності використовували її можливість утворення пігменту червоного кольору (індофіолетового синього) з максимумом поглинання при 510 нм., окислюючи диметил-пара-фенілендіамін і 6-нафтол за його інкубації з мітохондріями і цитохромом С [232]. Кількість пігменту пропорційна цитохромоксидазній активності мітохондрій.

2.6 Маркери лізосомального пошкодження

Активність катепсинів визначали у лейкоцитах крові, легенях і печінці щурів за методичними принципами, які викладені в праці Barret A. і Kirschke H. [233], із субстратами N²-бензоіл-DLаргінін-4-нітроанлід (катепсин В). Активність катепсину В виражали у наномолях паранітроаніліну, який відщепився від субстрату за годину інкубації, на 1 мг протеїну.

Активність кислої фосфатази (КФ) визначали у сироватці крові та гомогенаті легень і печінки при рН 4,8. Субстратом для дії ензимів служив п-нітрофенілфосфат натрію, який під дією фосфатаз гідролізується до п-нітрофенолу, що має жовте забарвлення [234]. Інтенсивність забарвлення пропорційна активності ензимів. Вимірювання оптичної густини проводили на спектрофотометрі СФ-46. Активність ензимів виражали у мккат/л або мккат/кг.

2.7 Методи дослідження ініціації апоптозу клітин лейкоцитарної суспензії

Оцінка апоптозу клітин лейкоцитарної суспензії. Дослідження проводили на проточному цитометрі Epics XL («Beckman Coulter», США),

використовуючи набір реагентів «ANNEXIN V FITC» («BeckmanCoulter», США).

У пробірку до 200 мкл суспензії лейкоцитів додавали 400 мкл охолодженого фосфатно-сольового буферу («Helikon», США) і центрифугували (Вортекс) 5 хв при 1500 об/хв. Надосадову рідину зливали, а осад ресуспензували в 100 мкл Ca^{2+} -зв'язуючого буферу і додавали 1 мкл ANNEXIN V FITC згідно з інструкцією виробника, змішували проби на центрифугу. Після охолодження в темряві протягом 10 хв. додавали 400 мкл охолодженого буферу і перемішували. Аналіз на наявність флуоресценції в координатах проводили на основі Dot Plot. Результати відзначали у відсотках (співвідношення числа аннексин-позитивних клітин до загальної кількості фракції лейкоцитів) [235].

Результати виражали у відсотках наступним чином: живі клітини не фарбувалися взагалі (V^-/PI^-), клітини з ранніми ознаками апоптозу фарбувалися анексином (V^+/PI^-), клітини з пізніми ознаками апоптозу мали позитивне подвійне флуоресцентне фарбування (V^+/PI^+), а клітини з ознаками некрозу фарбувалися прорідію йодидом (V^-/PI^+).

2.8 Методи статистичного аналізу, використані у дослідженні

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення «Excel» («Microsoft», США) та «STATISTICA» 6.0 («Statsoft», США) з використанням параметричних і непараметричних методів оцінки одержаних даних. Для перевірки на відповідність вибірок даних нормальному закону розподілу було застосовано розрахунок критерію Шапіро–Уїлка. У зв'язку з непараметричним розподілом вибірки для всіх показників розраховували значення медіани (Me) і кватилей. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою U-критерію Мана–Уїтні. Якщо р-значення знаходилося у межах

до 0,05 існував твердий доказ того, що альтернативна гіпотеза вірна, результат вважався статистично значущим.

Аналіз кореляційних зв'язків отриманих результатів проводили з використанням статистики Спірмена [236]. Рангова кореляція Спірмена є непараметричною мірою статистичної залежності між двома змінними, який визначають між рангами, тобто рядами одержаних кількісних значень, ранжованих у порядку спадання або зростання.

РОЗДІЛ 3
ОСОБЛИВОСТІ ГЕМОПОЕЗУ ТА ОКСИДАТИВНИХ ПРОЦЕСІВ
У ТКАНИНАХ ЩУРІВ ЗА УМОВИ КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ
КАРАГІНАНУ ТА НАТРІЮ ГЛУТАМАТУ

У досліджах на білих нелінійних щурах-самцях, який вводили карагінан, натрію глутамат та їх комбінацію, вивчено показники червоної крові, пероксидного окиснення білків і ліпідів (альдегідо- і кетондинітрофенілгідрозонів нейтрального і основного характеру, дієнові кон'югати, активні продукти тіобарбітурової кислоти), ензимної ланки антиоксидантної системи захисту (СОД і каталаза), ендогенної інтоксикації в крові й тканинах легень та печінки для встановлення механізмів поєднаної дії харчових добавок.

3.1 Вплив комбінованої дії карагінану та натрію глутамату на показники гемопоезу

При дослідженні показників червоної крові та концентрації ЕПО у тварин 1 і 2 дослідних груп патологічних змін не відмічалось. Встановлено, що рівень гемоглобіну крові усіх дослідних груп вірогідно різнився при проведенні аналізу рангових варіацій Краскела-Уолісса (табл.). При цьому у тварин, яким застосовували комбіноване введення карагінану і натрію глутамату були вірогідно нижчі показники кількості еритроцитів та гемоглобіну, як стосовно 1 і 2 дослідних груп, так і контролю. Концентрація ЕПО в 3 дослідній групі перевищувала значення даного показника як в контролі (на 32,05 %), так і в 1 (на 34,64 %) та 2 (на 32,61 %) дослідних групах (табл. 3.1).

Таблиця 3.1 – Показники еритропоезу при комбінованій дії харчових добавок

Група тварин	Показник			
	Еритроцити, $\times 10^{12}/\text{л}$	Гемоглобін, г/л	Ретикулоцити (абс. значення), $\times 10^{12}/\text{л}$	Еритропоетин, пг/мл
Контроль	6,86 (6,75; 7,10)	149,00 (147,50; 152,70)	0,007 (0,06; 0,07)	23,40 (22,75; 23,90)
Група 1 (карагінан)	6,94 (6,78; 7,13)	149,50 (148,00; 152,00)	0,007 (0,06; 0,07)	22,95 (22,45; 23,98)
Група 2 (натрію глутамат)	6,85 (6,75; 7,03)	149,00 (146,00; 152,00)	0,007 (0,06; 0,07)	23,30 (22,80; 23,60)
Група 3 (карагінан + натрію глутамат)	5,85* (5,75; 6,15)	140,00* (138,75; 142,00)	0,007 (0,06; 0,07)	30,90* (29,25; 32,35)
Критерій Краскела-Уолліса, р				
	N=4,47; р>0,05	N=21,10; р<0,001*	N=0,16; р>0,05	N=2,44; р>0,05
Примітка. * – статистично значущі результати; ^ – вірогідність відмінностей між 3 та іншими групами.				

Комбіноване застосування розчину к-карагінану та натрію глутамату має негативний вплив на гемопоез, що проявляється статистично значимим зниженням показників еритроцитів і гемоглобіну та підвищенням концентрації еритропоетину.

3.2 Комбінована дія харчових добавок к-карагінану та натрію глутамату: вплив на вільнорадикальне окиснення

Встановлено, що рівень дієнових кон'югатів (ДК) в крові, гомогенаті легень і печінки усіх дослідних груп вірогідно різнився при проведенні аналізу рангових варіацій Краскела-Уолісса (табл. 3.2).

Таблиця 3.2 – Показники дієнових кон'югатів у тканинах організму щурів (мкмоль/л(кг)) при комбінованій дії харчових добавок

Група тварин	Кров	Легені	Печінка
Контроль	2,80 (2,58; 3,13)	4,15 (3,90; 4,23)	4,55 (4,25; 4,83)
Група 1 (карагінан)	3,45 ^ (3,28; 3,60)	5,05 ^ (4,80; 5,23)	5,90^ (5,80; 6,10)
Група 2 (натрію глутамат)	4,6 ^ (4,48; 4,93)	6,15 ^ (5,88; 6,40)	6,65 ^ (6,38; 6,88)
Група 3 (карагінан+натрію глутамат)	6,10 ^ (5,80; 6,50)	7,10 ^ (6,88;7,23)	8,05 ^ (7,68; 8,33)
Критерій Краскела-Уолліса, p			
	H=9,89; p=0,02*	H=8,52; p=0,04*	H=15,22; p=0,002*
Примітка. * – статистично значущі результати; ^ – вірогідність відмінностей стосовно контролю.			

При цьому у сироватці крові піддослідних тварин рівень ДК 1 групи вірогідно перевищував контрольні значення на 23,21 %, відповідно, 2 групи – на 64,29 % і 3 групи – на 117,86 %. У гомогенаті легень рівень ДК 1 групи вірогідно перевищував контрольні значення на 21,69 %, відповідно, 2 групи

– на 48,19 % і 3 групи – на 71,08 %. У тканинах печінки рівень ДК 1 групи вірогідно перевищував контрольні значення на 29,67 %, відповідно, 2 групи – на 46,15 % і 3 групи – на 76,92 % (див. табл. 3.2).

Рівень ДК в тканинах організму експериментальних тварин вірогідно відрізнявся в сироватці крові й тканинах легень у щурів 1 і 2, 1 і 3 дослідних груп з найвищим значенням при комбінованому застосуванні к-карагінану й натрію глутамату (табл. 3.3). У тканинах печінки рівень ДК вірогідно відрізнявся у щурів 1 і 3, 2 і 3 дослідних груп з найвищим значенням показника при комбінованому застосуванні к-карагінану й натрію глутамату.

Таблиця 3.3 – Рівні достовірності (р) при множинному порівнянні показника дієнових кон'югатів між досліджуваними групами

	Група 1	Група 2	Група 3
	сироватка		
Група 1	-	0.025*	0.01*
Група 2	0.025*	-	0.07
Група 3	0.01*	0.07	-
	легені		
Група 1	-	0,03*	0,046*
Група 2	0,03*	-	0,27
Група 3	0,046*	0,27	-
	печінка		
Група 1	-	0,37	0,03*
Група 2	0,37	-	0,03*
Група 3	0,03*	0,03*	-
Примітка. * – статистично достовірні результати.			

Встановлено, що рівень активних продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК) в крові, гомогенаті легень і печінки усіх дослідних груп вірогідно різнився при проведенні аналізу рангових варіацій Краскела-Уолліса (табл. 3.4).

Таблиця 3.4 – Показник активних продуктів тіобарбітурової кислоти у тканинах організму щурів (мкмоль/л(кг)) при комбінованій дії харчових добавок

Група тварин	Кров	Легені	Печінка
Контроль	3,22 (3,08; 3,34)	2,15 (2,08; 2,43)	4,45 (4,10; 4,65)
Група 1 (карагінан)	4,30 ^ (4,10; 4,50)	2,80^ (2,60; 3,10)	5,30^ (5,08; 5,60)
Група 2 (натрію глутамат)	5,10^ (4,98; 5,23)	4,40 ^ (4,18; 4,50)	6,10^ (5,95; 6,40)
Група 3 (карагінан+натрію глутамат)	6,30 ^ (6,08; 6,60)	5,35 ^ (5,10; 5,88)	6,95^ (6,78; 7,13)
Критерій Краскела-Уолліса, p			
	H=9,19; p=0,03*	H=11,62; p=0,009*	H=15,27; p=0,002*
Примітка. * – статистично значущі результати; ^ – вірогідність відмінностей стосовно контролю.			

При цьому у сироватці крові піддослідних тварин рівень ТБК 1 групи вірогідно перевищував контрольні значення на 33,75 %, відповідно, 2 групи – на 58,63 % і 3 групи – на 95,96 %. У гомогенаті легень рівень ДК 1 групи вірогідно перевищував контрольні значення на 30,23 %, відповідно, 2 групи – на 104,65 % і 3 групи – на 148,84 %. У тканинах печінки рівень ДК 1 групи

вірогідно перевищував контрольні значення на 19,10 %, відповідно, 2 групи – на 37,08 % і 3 групи – на 56,18 % (табл. 3.4).

Рівень ТБК в тканинах організму експериментальних тварин вірогідно відрізнявся в сироватці крові у щурів всіх дослідних груп, в гомогенаті легень у щурів 1 і 2, 1 і 3 груп, у тканинах печінки у щурів 1 і 3, 2 і 3 груп з найвищим значенням при комбінованому застосуванні к-карагінану й натрію глютамату (табл. 3.5).

Таблиця 3.5 – Рівні достовірності (р) при множинному порівнянні показника активних продуктів тіобарбітурової кислоти між досліджуваними групами

	Група 1	Група 2	Група 3
	сироватка		
Група 1	-	0.045*	0.001*
Група 2	0.045*	-	0.03*
Група 3	0.001*	0.01*	-
	легені		
Група 1	-	0,03*	0,046*
Група 2	0,03*	-	0,27
Група 3	0,046*	0,27	-
	печінка		
Група 1	-	0,37	0,03*
Група 2	0,37	-	0,03*
Група 3	0,03*	0,03*	-
Примітка. * – статистично достовірні результати.			

При співставленні показників ПОЛ (стосовно контролю) встановлено найвищі значення досліджуваних показників у 3 дослідній групі, при цьому найвища активація вільнорадикального окиснення спостерігалася в

тканинах легень при застосуванні натрію глутамату та комбінованій дії к-карагінану й натрію глутамату, тоді як найнижчі досліджувані показники ПОЛ реєструвалися в усіх тканинах 1 дослідної групи (рис. 3.1).

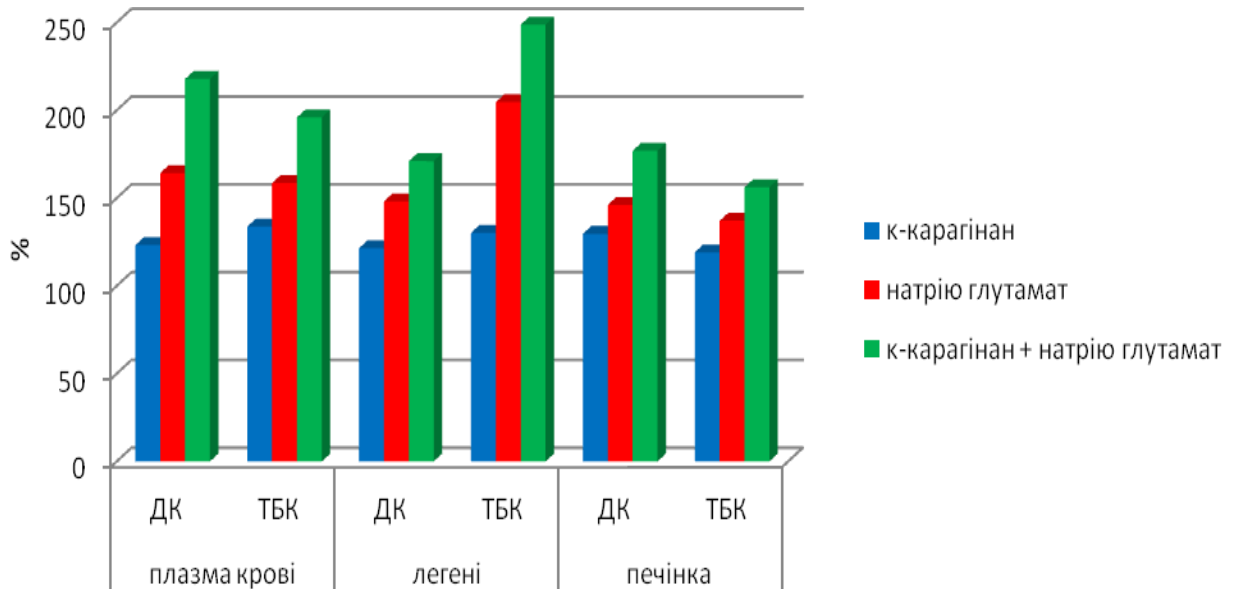


Рисунок 3.1 – Співставлення показників пероксидного окиснення ліпідів (%) у тканинах організму щурів при комбінованій дії харчових добавок

Встановлено, що рівень супероксиддисмутазної активності (СОД) в гомогенаті легень і печінки усіх дослідних груп вірогідно відрізнявся при проведенні аналізу рангових варіацій Краскела-Уолісса (табл. 3.6). При цьому у сироватці крові піддослідних тварин рівень супероксиддисмутазної активності у всіх дослідних групах статистично значимо не відрізнявся від контролю. У тканинах легень активність СОД була вірогідно вища у тварин 1 групи (на 21,77 %) та, відповідно, нижча у тварин 2 (на 23,39 %) і 3 груп (на 56,18 %) проти контрольних значень. У тканинах печінки активність СОД була вірогідно вища у тварин 1 групи (на 40,74 %) та, відповідно, нижча у тварин 2 (на 25,23 %) і 3 груп (на 59,95 %) проти контрольних значень (табл. 3.6). При цьому активність СОД в легенях щурів вірогідно відрізнялась у тварин 2 і 3 груп ($p=0,01$) і, відповідно, в печінці щурів – у 2 і

3 ($p=0,03$) з найвищим значенням при комбінованому застосуванні к-к-карагінану й натрію глутамату.

Таблиця 3.6 – Показник супероксиддисмутазної активності у тканинах організму щурів (ум.од./мг протеїну) при комбінованій дії харчових добавок

Група тварин	Кров	Легені	Печінка
Контроль	31,55 (30,6; 32,18)	18,60 (18,48; 19,13)	21,60 (21,18; 22,53)
Група 1 (карагінан)	34,95 (33,78; 36,33)	22,65 [^] (21,98; 23,43)	30,40 [^] (29,38; 31,25)
Група 2 (натрію глутамат)	27,05 (26,30; 27,45)	14,25 [^] (13,50; 15,88)	16,15 [^] (15,78; 16,45)
Група 3 (карагінан+ натрію глутамат)	24,65 (23,55; 25,35)	8,15 [^] (7,8; 8,50)	8,65 [^] (8,20; 9,10)
Критерій Краскела-Уолліса, p			
	H=3,91; p<0,05	H=6,08*; p=0,047	H=6,31*; p=0,043
Примітка. * – статистично значущі результати; ^ – вірогідність відмінностей стосовно контролю.			

Встановлено, що рівень каталазної активності (КАТ) у гомогенаті легень і печінки усіх дослідних груп вірогідно відрізнявся при проведенні аналізу рангових варіацій Краскела-Уолліса (табл. 3.7). При цьому у сироватці крові піддослідних тварин рівень КАТ у всіх дослідних групах статистично значимо не відрізнявся від контролю. У тканинах легень рівень КАТ був вірогідно нижчий у тварин 2 групи (на 29,26 %) та 3 групи (на 45,66 %) проти контрольних значень. У тканинах печінки рівень КАТ був вірогідно нижчий у тварин 2 групи (на 38,25 %) та 3 групи (на 43,86 %) проти контрольних значень (табл. 3.7).

Таблиця 3.7 – Показник каталазної активності у тканинах організму щурів (ум.од./мг протеїну) при комбінованій дії харчових добавок

Група тварин	Кров	Легені	Печінка
Контроль	17,55 (16,98; 18,10)	15,55 (15,13; 15,88)	14,25 (13,75; 14,83)
Група 1 (κ-карагінан)	18,95 (18,48; 19,58)	16,40 (16,18; 16,88)	16,10 (15,90; 16,23)
Група 2 (натрію глутамат)	12,20 (11,80; 12,80)	11,00 (10,55; 11,58)	8,80 [^] (8,45; 9,05)
Група 3 (κ-карагінан+натрію глутамат)	11,40 (10,68; 11,75)	8,45 [^] (8,20; 8,83)	8,00 [^] (7,78; 8,20)
Критерій Краскела-Уолліса, p			
	H=4,41; p<0,05	H=6,31; P=0,04*	H=8,03; p=0,045*
Примітка. * – статистично значущі результати; ^ – вірогідність відмінностей стосовно контролю.			

При цьому каталазна активність в легенях щурів вірогідно відрізнялась у тварин 1 і 3 груп (p=0,02) і, відповідно, в печінці щурів – у 1 і 3 (p=0,03) та 2 і 3 групах (p=0,03) з найвищим значенням при комбінованому застосуванні κ-κ-карагінану й натрію глутамату.

При співставленні показників ензимної ланки системи антиоксидантного захисту (стосовно контролю) встановлено найнижчі значення досліджуваних показників у 3 експериментальній групі, тоді як застосування κ-карагінану зумовлювало підвищення активності СОД і КАТ з найвищими показниками в тканинах печінки (рис. 3.2).

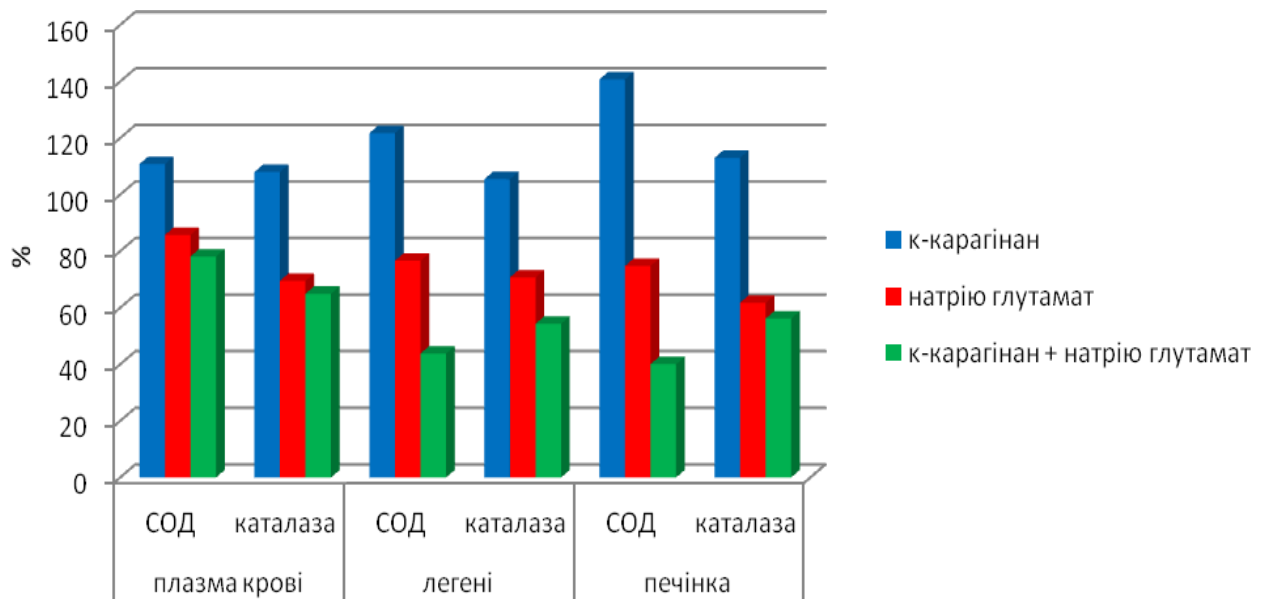


Рисунок 3.2 – Співставлення показників ензимної ланки системи антиоксидантного захисту (%) у тканинах організму щурів при комбінованій дії харчових добавок

Проведення кореляційного аналізу показало пряму залежність між активністю СОД й концентрацією ТБК у сироватці крові та досліджуваними показниками ПОЛ у печінці щурів, яким вводили к-карагінан. У 2 групі встановлено негативний зв'язок між активністю КАТ й досліджуваними показниками ПОЛ у легенях й печінці. Варто зазначити також середньої сили обернений зв'язок між активністю СОД й концентрацією ТБК у гомогенаті легень й печінки щурів 2 групи. При комбінованому застосуванні к-карагінану й натрію глутамату виявлено негативний взаємозв'язок між показниками ПОЛ й ензимами антиоксидантної системи в тканинах печінки, а також між активністю КАТ та досліджуваними продуктами ПОЛ у легенях (табл. 3.8).

Комбіноване застосування розчину к-карагінану та натрію глутамату має негативний вплив на процеси вільнорадикального окиснення, що проявляється статистично значимим підвищенням рівня продуктів пероксидного окиснення ліпідів у сироватці крові, легенях і печінці та

зниженням активності ензимів антиоксидантної системи захисту в легенях і печінці, при цьому встановлено вірогідний середньої сили зв'язок між про- та антиоксидантами.

Таблиця 3.8 – Кореляційний взаємозв'язок між показниками пероксидного окиснення ліпідів та показниками антиоксидантного захисту тканинах організму щурів при комбінованій дії харчових добавок

Показ- ники	Група 1 (κ-карагінан)		Група 2 (натрію глутамат)		Група 3 (κ-карагінан+натрію глутамат)	
	СОД	каталаза	СОД	каталаза	СОД	каталаза
	сироватка					
ДК	r=0,38; p=0,07	r=0,32; p=0,13	r=-0,31; p=0,14	r=-0,25; p=0,23	r=-0,13; p=0,52	r=-0,11; p=0,41
ТБК	r=0,42*; p=0,04	r=0,40; p=0,06	r=-0,30; p=0,15	r=-0,34; p=0,11	r=-0,27; p=0,21	r=-0,29; p=0,17
	легені					
ДК	r=0,11; p=0,41	r=0,13; p=0,52	r=-0,38; p=0,07	r=-0,46*; p=0,02	r=-0,37; p=0,07	r=-0,48*; p=0,02
ТБК	r=0,15; p=0,41	r=0,18; p=0,52	r=-0,42*; p=0,04	r=-0,48*; p=0,02	r=-0,29; p=0,17	r=-0,55*; p=0,005
	печінка					
ДК	r=0,55*; p=0,005	r=0,39; p=0,06	r=-0,37; p=0,07	r=-0,46*; p=0,02	r=-0,42*; p=0,04	r=-0,52*; p=0,01
ТБК	r=0,52*; p=0,01	r=0,37; p=0,07	r=-0,55*; p=0,005	r=-0,52*; p=0,01	r=-0,48*; p=0,02	r=-0,46*; p=0,02
Примітка 1. r – коефіцієнт кореляції; p – рівень достовірності. Примітка 2. * – статистично достовірні результати.						

3.3 Особливості окиснювальної модифікації протеїнів при комбінованій дії харчових добавок

Одним з надійних індикаторів оксидативного стресу і ушкодження тканин за умови активації процесів вільно радикального окиснення є ОМП, в результаті якої змінюються структура, фізико-хімічні та біологічні властивості білкової молекули, що, веде до інактивації великої групи ензимів [237]. Встановлено, що у сироватці крові рівень АДНФГ зростав у 1 групі на 24,10 %, у 2 і 3 групах, відповідно, на 40,96 % і 102,41 %, стосовно контролю. При цьому досліджуваний показник був найвищий у групі 3 та найнижчий – у групі 1. У тканинах легень рівень АДНФГ зростав у 1 групі на 12,93 %, у 2 і 3 групах, відповідно, на 59,48 % і 81,90 %, стосовно контролю. Порівнюючи дослідні групи між собою встановлено вірогідно вище значення досліджуваного показника у групі 3 та найнижчі – у групі 1, стосовно інших груп. У печінці рівень АДНФГ зростав у 1 групі на 31,37 %, у 2 і 3 групах, відповідно, на 47,06 % і 70,59 % проти контрольних значень. Варто зазначити, що при комбінованому використанні к-карагінану й натрій глутамату досліджуваний показник був найвищий (табл. 3.9).

Таблиця 3.9 – Показники спонтанної окиснювальної модифікації протеїнів у сироватці крові щурів за рівнем альдегідодинітрофенілгідразонів основного характеру (ум.од./г протеїну) при комбінованій дії харчових добавок

Група тварин	Кров	Легені	Печінка
1	2	3	4
Контроль	0,42 (0,38; 0,48)	0,58 (0,54; 0,63)	0,26 (0,24; 0,28)

Продовження таблиці 3.9

1	2	3	4
Група 1 (карагінан)	0,52 (0,51; 0,54) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	0,66 (0,64; 0,68) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	0,34 (0,31; 0,36) $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$
Група 2 (натрію глутамат)	0,59 (0,58; 0,61) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	0,93 (0,85; 0,95) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	0,38 (0,34; 0,40) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$
Група 3 (карагінан+натрію глутамат)	0,84 (0,78; 0,87) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	1,06 (0,98; 1,09) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	0,44 (0,41; 0,47) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$
Примітка. p_1 – зміни достовірні відносно показників контрольних тварин; p_2 – достовірність змін між 1 і 2 групами; p_3 – достовірність змін між 2 і 3 групами; p_4 – достовірність змін між 1 і 3 групами.			

Рівень КДНФГ у сироватці крові зростав у 1 групі на 29,28 %, у 2 і 3 групах, відповідно, на 22,10 % і 93,92 %, стосовно контролю. При цьому досліджуваний показник був найвищий у групі 3. У тканинах легень рівень КДНФГ зростав у 1 групі на 9,35 %, у 2 і 3 групах, відповідно, на 36,69 % і 93,53 %, стосовно контролю. Порівнюючи дослідні групи між собою встановлено вірогідно вище значення досліджуваного показника у групі 3 та найнижчі – у групі 1, стосовно інших груп. У печінці рівень КДНФГ зростав у 1 групі на 20,83 %, у 2 і 3 групах, відповідно, на 47,92 % і 72,92 % проти контрольних значень. Варто зазначити, що при комбінованому використанні к-карагінану й натрій глутамату досліджуваний показник був найвищий (табл. 3.10).

Таблиця 3.10 – Показники спонтанної окиснювальної модифікації протеїнів у сироватці крові щурів за рівнем кетондинітрофенілгідрозонів нейтрального характеру (ум.од./г протеїну) при комбінованій дії харчових добавок

Група тварин	Кров	Легені	Печінка
Контроль	0,91 (0,88; 0,95)	1,39 (1,34; 1,43)	0,48 (0,45; 0,51)
Група 1 (карагінан)	1,17 (1,11; 1,21) $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	1,52 (1,48; 1,57) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	0,58 (0,55; 0,61) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
Група 2 (натрію глутамат)	1,11 (1,08; 1,15) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	1,90 (1,87; 1,95) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	0,71 (0,68; 0,75) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$
Група 3 (карагінан+натрію глутамат)	1,76 (1,69; 1,78) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	2,69 (2,60; 2,72) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	0,83 (0,76; 0,93) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$
Примітка. p_1 – зміни достовірні відносно показників контрольних тварин; p_2 – достовірність змін між 1 і 2 групами; p_3 – достовірність змін між 2 і 3 групами; p_4 – достовірність змін між 1 і 3 групами.			

З метою оцінки первинних (АДНФГ) і вторинних (КДНФГ) маркерів окисдатовного стресу та функціонального стану клітини в процесі накопичення окиснених білків було проаналізовано окремо частку альдегідів і кетонів у сумарній ОМП [238].

Встановлено, що в сироватці крові частка первинних і вторинних маркерів дослідних груп практично не відрізнялася від співвідношення в

контрольній групі (рис. 3.3). Варто зазначити більше значення частки вторинних маркерів у групі 2, стосовно групи 1.

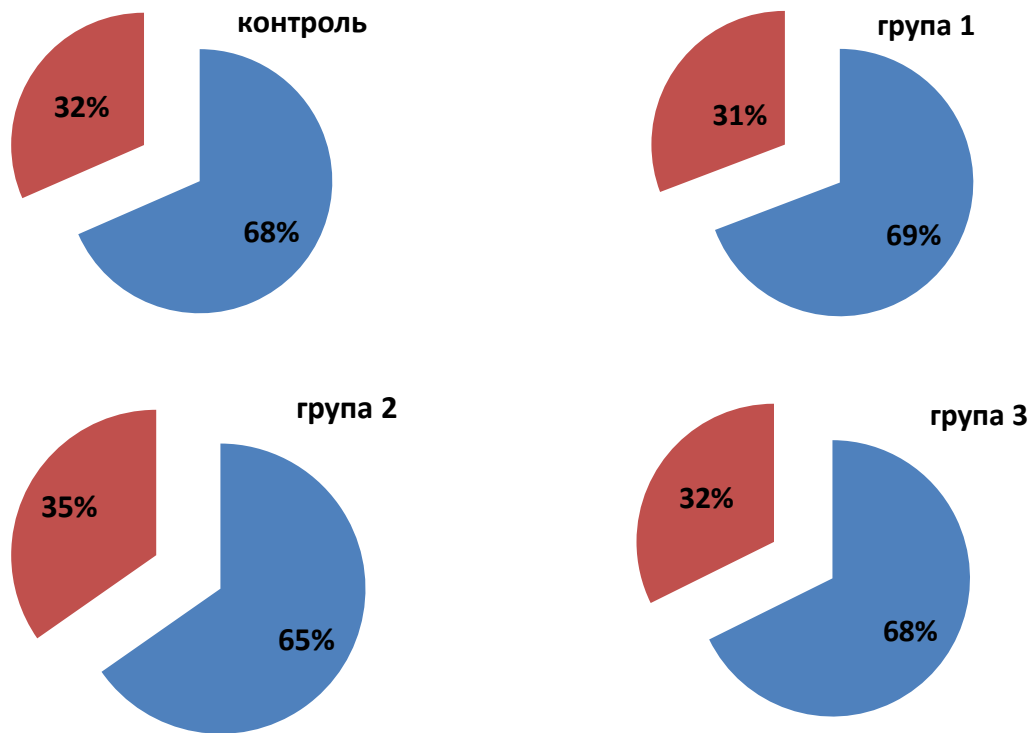


Рисунок 3.3 – Частка первинних і вторинних маркерів окиснювальної модифікації протеїнів у сироватці крові щурів при комбінованій дії харчових добавок (■ – ОМБ370 (вторинні маркери), ■ – ОМБ430 (первинні маркери))

У тканинах легень при введенні експериментальним тваринам натрій глутамату змінювалося співвідношення АДНФГ до КДНФГ у бік зростання частки вторинних маркерів окислативного стресу, тоді як в інших дослідних групах їх співвідношення практично не відрізнялося від контролю (рис. 3.4).

В тканинах печінки частка первинних і вторинних маркерів дослідних груп практично не відрізнялася від співвідношення в контрольній групі (рис. 3.5).

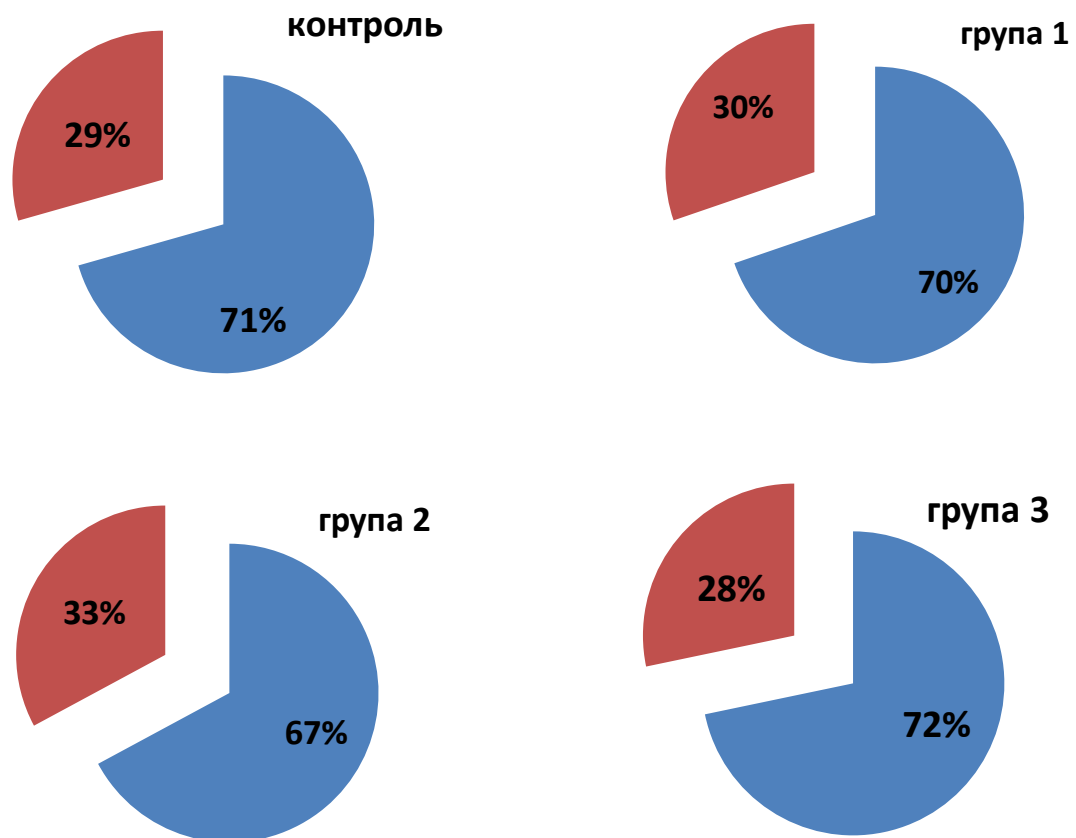


Рисунок 3.4 – Частка первинних і вторинних маркерів окиснювальної модифікації протеїнів у легенях щурів при комбінованій дії харчових добавок (■ – ОМБ370 (вторинні маркери), ■ – ОМБ430 (первинні маркери))

Аналіз співвідношення первинних і вторинних маркерів окиснювальної модифікації протеїнів вказує на зростання маркерів пізньої деструкції в тканинах легень при застосуванні натрій глутамату. Нижча частка вторинних маркерів у сироватці крові при введенні карагінану, стосовно групи тварин, яким вводили натрій глутамат, може свідчити про швидшу утилізацію змінених протеїнів, так званий вторинний антиоксидантний ефект.

Стимульоване окиснення в даний час розглядають як посттранскрипційну окиснювальну модифікацію протеїнів [239], яке виявляє зміни амінокислот, що входять до складу поліпептидного ланцюга, і

модифікації, пов'язані з конформацією молекули і станом білкового оточення [240]. Необхідність вивчення спонтанної й індукованої іонами металів ОМП також дозволяє провести непряму оцінку антиоксидантних можливостей протеїнів за допомогою резервно-адаптаційного потенціалу (РАП) [241].

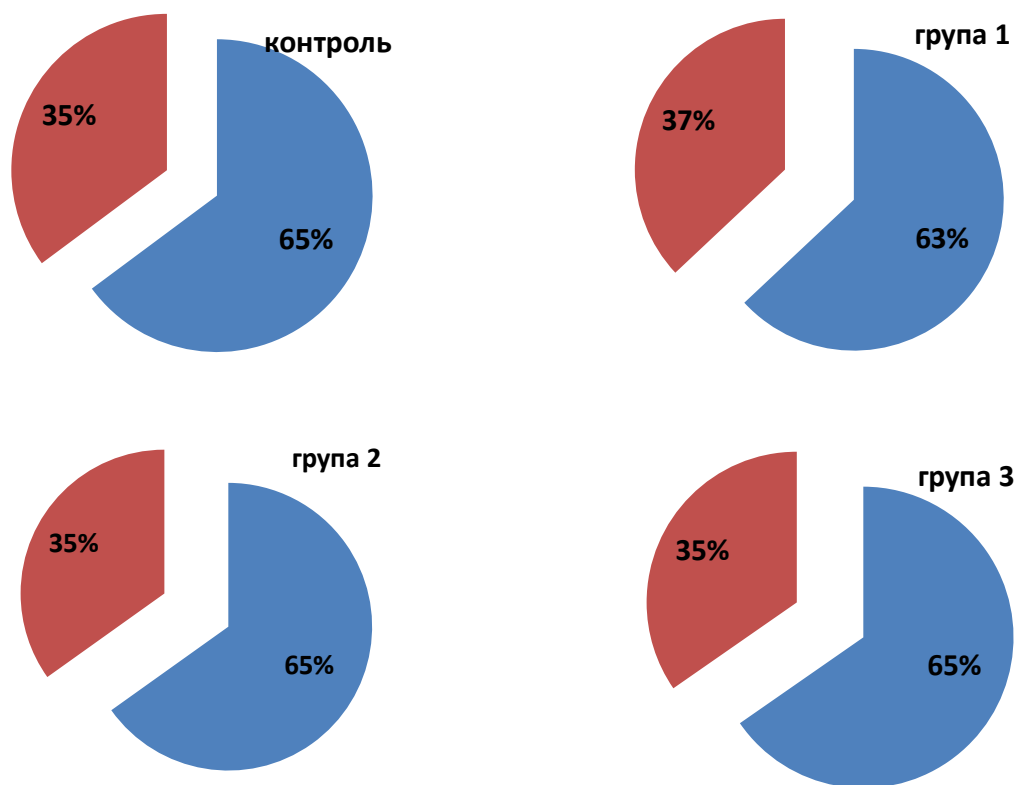


Рисунок 3.5 – Частка первинних і вторинних маркерів окиснювальної модифікації протеїнів у печінці щурів при комбінованій дії харчових добавок (■ – OMB370 (вторинні маркери), ■ – OMB430 (первинні маркери))

При оцінці стимульованої ОМП встановлено вірогідно вищі значення АДНФГ у всіх дослідних групах у сироватці крові, легенях і печінці відносно контрольних значень. При цьому рівень АДНФГ у сироватці крові у групі 3 вірогідно був вищий даних групи 1 та практично не відрізнявся в групах 2 і 3; у легенях рівень АДНФГ у групах 1 і 3 статистично значимо не відрізнявся проте був вищий даних групи 2, тоді як в печінці

найвищі значення досліджуваного показника зареєстровані в групі 1 (табл. 3.11).

Таблиця 3.11 – Показники стимульованої окиснювальної модифікації протеїнів у сироватці крові щурів за рівнем альдегідодінітрофенілгідразонів основного характеру (ум.од./г протеїну) при комбінованій дії харчових добавок

Група тварин	Кров	Легені	Печінка
Контроль	0,94 (0,89; 0,95)	1,15 (1,09; 1,19)	0,69 (0,66; 0,71)
Група 1 (карагінан)	1,02 (0,96; 1,05) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	1,29 (1,24; 1,31) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	1,08 (1,00; 1,12) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
Група 2 (натрію глутамат)	1,16 (1,14; 1,25) $p_1 < 0,05$ $p_3 > 0,05$	1,22 (1,18; 1,27) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	0,78 (0,75; 0,81) $p_1 < 0,05$ $p_3 > 0,05$
Група 3 (карагінан+натрію глутамат)	1,19 (0,99; 1,09) $p_1 < 0,05$ $p_4 > 0,05$	1,29 (1,24; 1,31) $p_1 < 0,05$ $p_4 > 0,05$	0,77 (0,75; 0,78) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$
Примітка. p_1 – зміни достовірні відносно показників контрольних тварин; p_2 – достовірність змін між 1 і 2 групами; p_3 – достовірність змін між 2 і 3 групами; p_4 – достовірність змін між 1 і 3 групами.			

Рівень КДНФГ у сироватці крові, легенях та печінці був вірогідно вищий у всіх дослідних групах, стосовно контролю. Порівнюючи дослідні групи між собою встановлено вірогідно вище значення досліджуваного

показника у групі 1, стосовно практично однакових значення у групах 2 і 3 (табл. 3.12).

Таблиця 3.12 – Показники стимульованої окиснювальної модифікації протеїнів у сироватці крові щурів за рівнем кетондинітрофенілгідрозонів нейтрального характеру (ум.од./г протеїну) при комбінованій дії харчових добавок

Група тварин	Кров	Легені	Печінка
Контроль	1,52 (1,48; 1,58)	2,37 (2,24; 2,44)	0,78 (0,75; 0,86)
Група 1 (карагінан)	1,93 (1,88; 1,97) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	2,88 (2,80; 2,92) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	1,37 (1,33; 1,42) $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$
Група 2 (натрію глутамат)	1,70 (1,67; 1,75) $p_1 < 0,05$ $p_3 > 0,05$	2,57 (2,54; 2,59) $p_1 < 0,05$ $p_3 > 0,05$	0,89 (0,85; 0,95) $p_1 < 0,05$ $p_3 > 0,05$
Група 3 (карагінан+натрію глутамат)	1,73 (1,67; 1,75) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	2,62 (2,58; 2,65) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	0,91 (0,88; 0,94) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$
Примітка. p_1 – зміни достовірні відносно показників контрольних тварин; p_2 – достовірність змін між 1 і 2 групами; p_3 – достовірність змін між 2 і 3 групами; p_4 – достовірність змін між 1 і 3 групами.			

Для оцінки резервно-адаптаційного потенціалу (РАП) в тканинах організму щурів визначали частку спонтанного ОМП в стимульованому ОМП, яке приймали за 100 %. Встановлено, що в контрольній групі частка спонтанного ОМП : РАП становили у сироватці крові 54,7:45,3 (%); в

легенях – 56,5:43,5 (%) та в печінці – 50,5:49,5 (%). За умови введення 1,0 % розчину карагінану зростав резервно-адаптаційний потенціал в легенях (на 4,7 %) і печінці (на 19,6 %) стосовно контролю. За умови введення тваринам натрій глутамату резервно-адаптаційний потенціал знижувався в усіх досліджуваних тканинах стосовно контролю, зокрема, в сироватці – на 4,8 %, в легенях – на 17,4 % і в печінці – на 15,2 %. Комбінована дія харчових добавок зумовлювала максимальне виснаження РАП в усіх досліджуваних тканинах, зокрема, в сироватці – на 33,4 %, в легенях – на 32,9 % і в печінці – на 24,0 % (рис. 3.6). Отже, за умови комбінованої дії харчових добавок підвищення окислювального стресу супроводжується виснаженням резервно-адаптаційного потенціалу в крові, легенях і печінці.

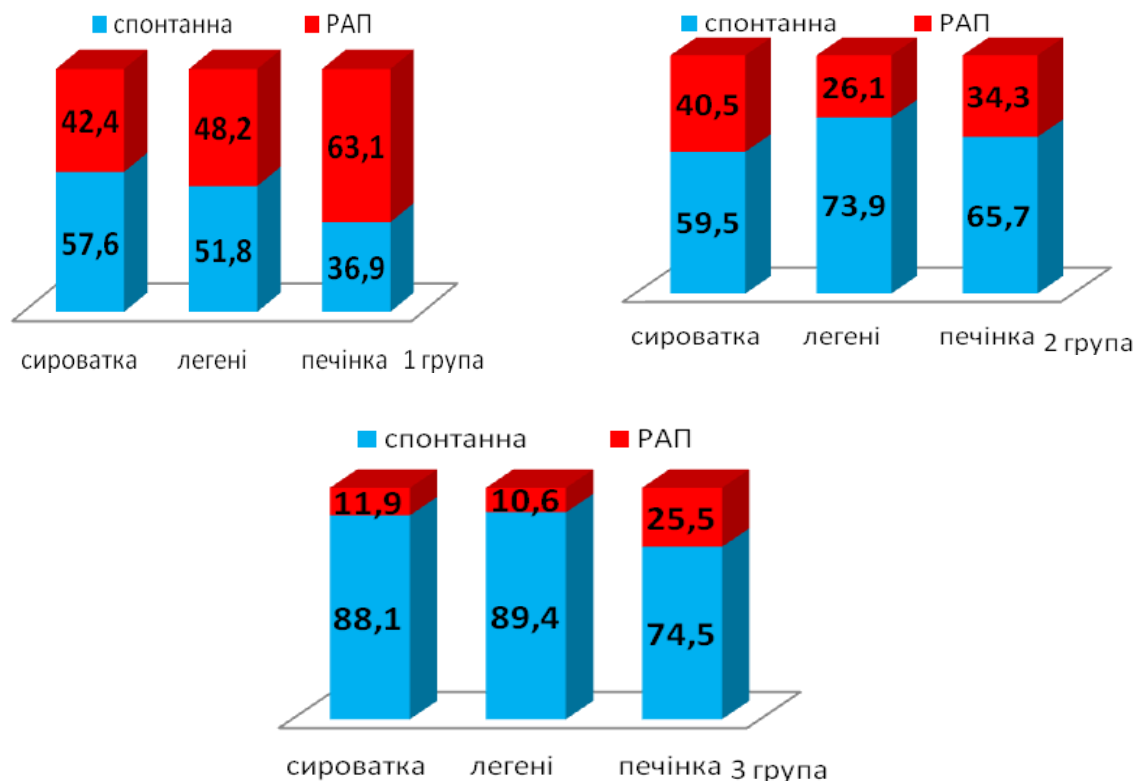


Рисунок 3.6 – Оцінка резервно-адаптаційного потенціалу в тканинах організму щурів при комбінованій дії харчових добавок (%)

За умови комбінованої дії розчинів к-карагінану та натрій глутамату вірогідно підвищується спонтанна окиснювальна модифікація протеїнів стосовно контролю та окремої дії харчових добавок, що супроводжується виснаженням резервно-адаптаційного потенціалу в крові, легенях і печінці, відповідно, на 33,4 %, 32,9 % і 24,0 %.

3.4 Показники ендогенної інтоксикації за умови комбінованої дії к-карагінану та натрію глутамату

Активация процесів пероксидного окиснення веде до порушення метаболічних процесів в організмі, що проявляється накопиченням в тканинах та біологічних рідинах організму проміжних та кінцевих продуктів обміну речовин – молекул низької та середньої молекулярної маси (РНіСММ), розмір яких коливається від 500 до 5000 дальтон. РНіСММ об'єднує гетерогенну групу речовин та включає пептиди, нуклеопептиди, глікопептиди, аміноцукри, ендорфіни, поліаміни, багатоатомні спирти, деякі гуморальні регулятори – інсулін, адренкортикотропний гормон, глюкагон, вазопресин, ангіотензин, окситоцин, кальцитонін, ліпофусцин (внутрішньоклітинні комплекси ліпідів і білків), атерогенні окиснені ліпопротеїни, деякі нуклеотиди, олігосахариди, вітаміни та інші, при цьому 80 % з них є продуктами порушеного білкового обміну та деструкції тканин [242].

При дослідженні показників ендогенної інтоксикації в плазмі крові щурів встановлено вірогідно вищі значення речовин низької і середньої молекулярної маси (РНіСММ) у 2 дослідній групі у діапазоні довжин хвиль 242 нм – на 60,9 %, 254 нм – на 91,7 % та 282 нм – на 53,2 % стосовно контролю, відповідно у 3 групі ці показники перевищували контрольні значення на 134,8 %, 137,5 % та 93,6 %.

Варто відмітити, що показники ендогенної інтоксикації при комбінованій дії харчових добавок були вірогідно вищі стосовно окремого застосування карагінану (у плазмі крові фракція речовин, що має максимум поглинання 242 нм – на 95,7 %, 254 нм – 93,8 % та 282 нм – на 63,8 %) та натрію глютамату (відповідно на 73,9 %, 48,5 % та 40,4 %), табл. 3.13.

Таблиця 3.13 – Показники ендогенної інтоксикації в плазмі крові щурів при комбінованій дії харчових добавок

Показник	E242	E254	E282
Контроль	0,12 (0,09; 0,15)	0,24 (0,22; 0,31)	0,24 (0,19; 0,25)
Група 1 (карагінан)	0,16 [^] (0,15; 0,17)	0,35 [^] (0,33; 0,40)	0,31 [^] (0,29; 0,35)
Група 2 (натрію глютамат)	0,19* [^] (0,18; 0,21)	0,46* [^] (0,43; 0,49)	0,36* [^] (0,35; 0,39)
Група 3 (карагінан + натрію глютамат)	0,27* (0,25; 0,29)	0,57* (0,53; 0,62)	0,46* (0,42; 0,46)
Примітка. * – статистично значущі результати; [^] – вірогідність відмінностей між 3 та іншими групами.			

При дослідженні показників ендогенної інтоксикації глікокаліксі еритроцитів щурів встановлено вірогідно вищі значення РНіСММ у 2 дослідній групі у діапазоні довжин хвиль 242 нм – на 96,8 %, 254 нм – на 38,3 % та 282 нм – на 58,5 % стосовно контролю, відповідно у 3 групі ці показники перевищували контрольні значення на 129,0 %, 71,3 % та 87,8 %. Варто відмітити, що показники ендогенної інтоксикації при комбінованій дії харчових добавок були вірогідно вищі стосовно окремого застосування карагінану (у плазмі крові фракція речовин, що має максимум поглинання 242 нм – на 83,9 %, 254 нм – 45,7 % та 282 нм –

на 51,2 %) та натрію глутамату (відповідно на 32,3 %, 33,0 % та 29,3 %), табл. 3.14.

Таблиця 3.14 – Показники ендогенної інтоксикації на глікокаліксі еритроцитів щурів при комбінованій дії харчових добавок

Показник	E242	E254	E282
Контроль	0,16 (0,15; 0,18)	0,47 (0,41; 0,49)	0,21 (0,17; 0,24)
Група 1 (карагінан)	0,23 [^] (0,20; 0,14)	0,59 [^] (0,51; 0,60)	0,28 [^] (0,26; 0,30)
Група 2 (натрію глутамат)	0,31* (0,29; 0,31)	0,65* (0,62; 0,67)	0,33* (0,31; 0,35)
Група 3 (карагінан + натрію глутамат)	0,36* (0,32; 0,39)	0,81* (0,78; 0,85)	0,39* (0,37; 0,41)
Примітка. * – статистично значущі результати; [^] – вірогідність відмінностей між 3 та іншими групами.			

При дослідженні показників ендогенної інтоксикації в сечі щурів не встановлено вірогідних змін РНіСММ у дослідних групах у діапазоні довжин хвиль 238 нм, 254 нм та 282 нм стосовно контролю (табл. 3.15).

Таблиця 3.15 – Показники ендогенної інтоксикації в сечі щурів при комбінованій дії харчових добавок

Показник	E236	E254	E282
1	2	3	4
Контроль	0,49 (0,45; 0,52)	0,44 (0,41; 0,48)	0,39 (0,34; 0,48)
Група 1 (карагінан)	0,50 (0,46; 0,51)	0,43 (0,42; 0,49)	0,40 (0,38; 0,43)

Продовження таблиці 3.15

1	2	3	4
Група 2 (натрію глутамат)	0,51 (0,48; 0,53)	0,46 (0,44; 0,49)	0,42 (0,39; 0,44)
Група 3 (карагінан + натрію глутамат)	0,54 (0,50; 0,58)	0,47 (0,46; 0,50)	0,43 (0,41; 0,44)
Примітка. * – статистично значущі результати; ^ – вірогідність відмінностей між 3 та іншими групами.			

Аналіз розрахункових коефіцієнтів вказує на те, зростання ендогенної інтоксикації при застосуванні харчових добавок окремо або при їх поєднанні, відбувається, в основному, за рахунок катаболічного пулу РНіСММ плазми: у 1 групі катаболічний пул РНіСММ був вищий на 38,3 %, у 2 групі – на 76,5 % і в 3-й – на 124,2 % стосовно контролю ($p < 0,01$) (рис. 3.7).

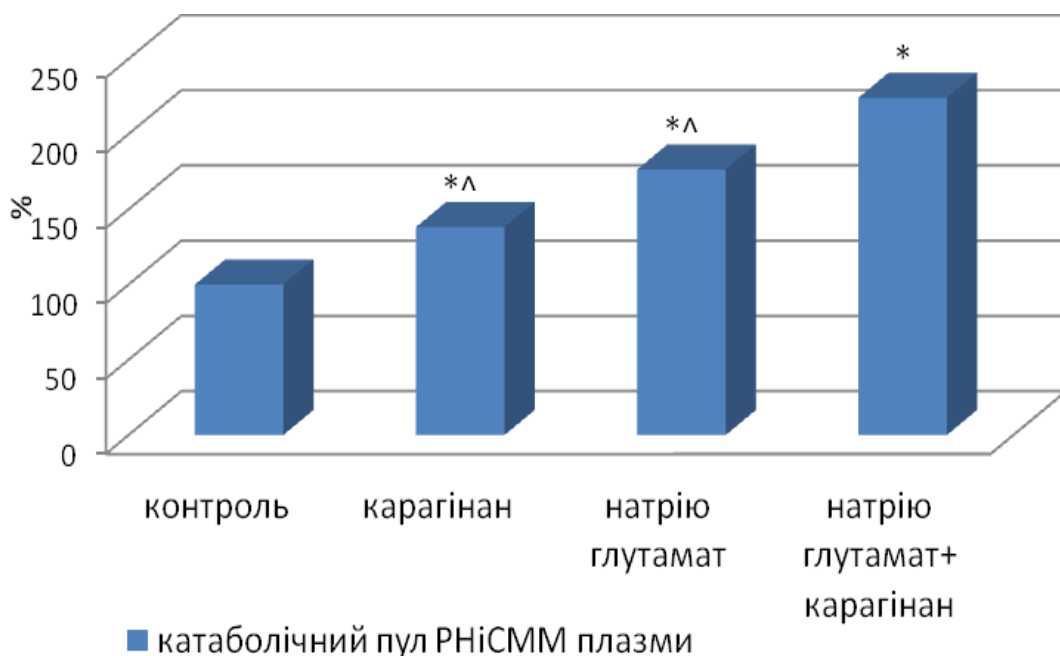


Рисунок 3.7 – Катаболічний пул РНіСММ в плазмі крові щурів при комбінованій дії харчових добавок (* – статистично значущі результати; ^ – вірогідність відмінностей між 3 та іншими групами)

При цьому інтенсивність катаболічних процесів статистично значимо не відрізнялася в дослідних групах і в контрольній (рис. 3.8).

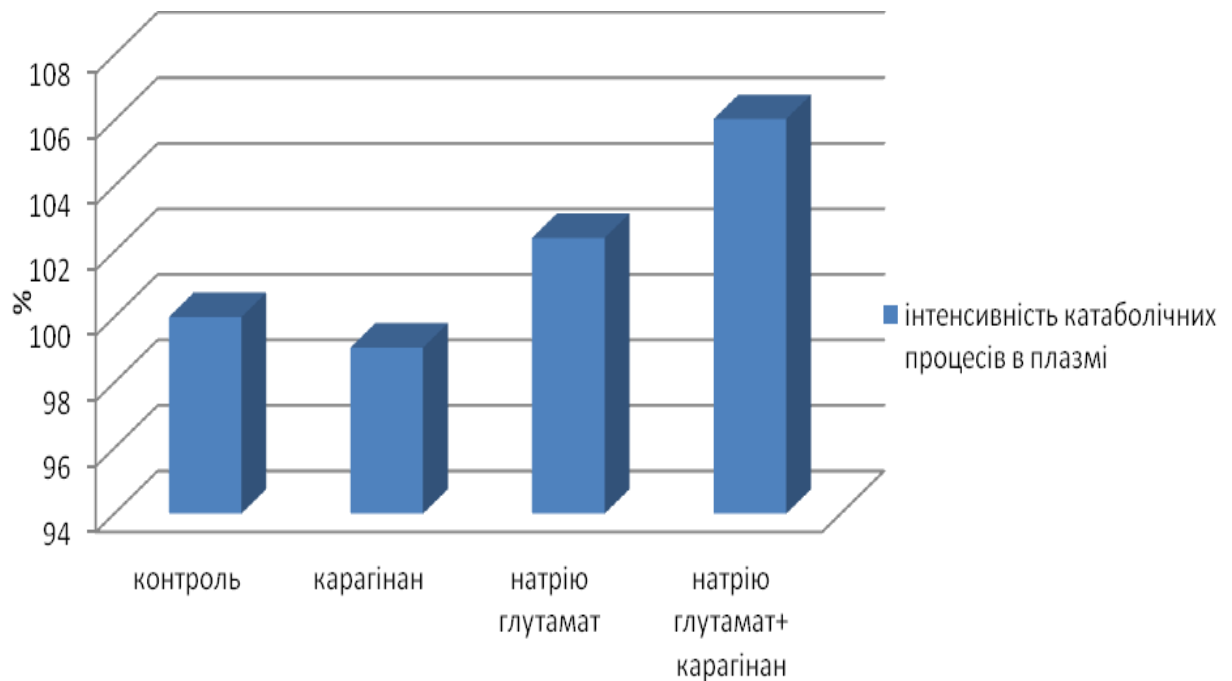


Рисунок 3.8 – Інтенсивність катаболічних процесів у плазмі крові щурів при комбінованій дії харчових добавок

Показник розподілу RH_{iCMM} між білками плазми крові і глікокаліксом еритроцитів у щурів 3-ї дослідної групи був вищий на 11,6 % поруч з високими значеннями досліджуваних фракцій молекул при довжинах хвиль 242, 254 і 280 нм у суспензії еритроцитів (рис. 3.9). Отримані результати вказують на зниження адсорбційних можливостей еритроцитів, особливо при поєднаному застосуванні харчових добавок.

Аналіз показника, що характеризує здатність нирок до виведення продуктів ендотоксикозу показав, що у всіх дослідних групах вірогідно знижується показник елімінації токсичних продуктів, зокрема, в

1 групі він нижчий на 26,6 %, у 2 групі на 33,2 %, у 3-й групі – на 48,7 % ($p < 0,01$).

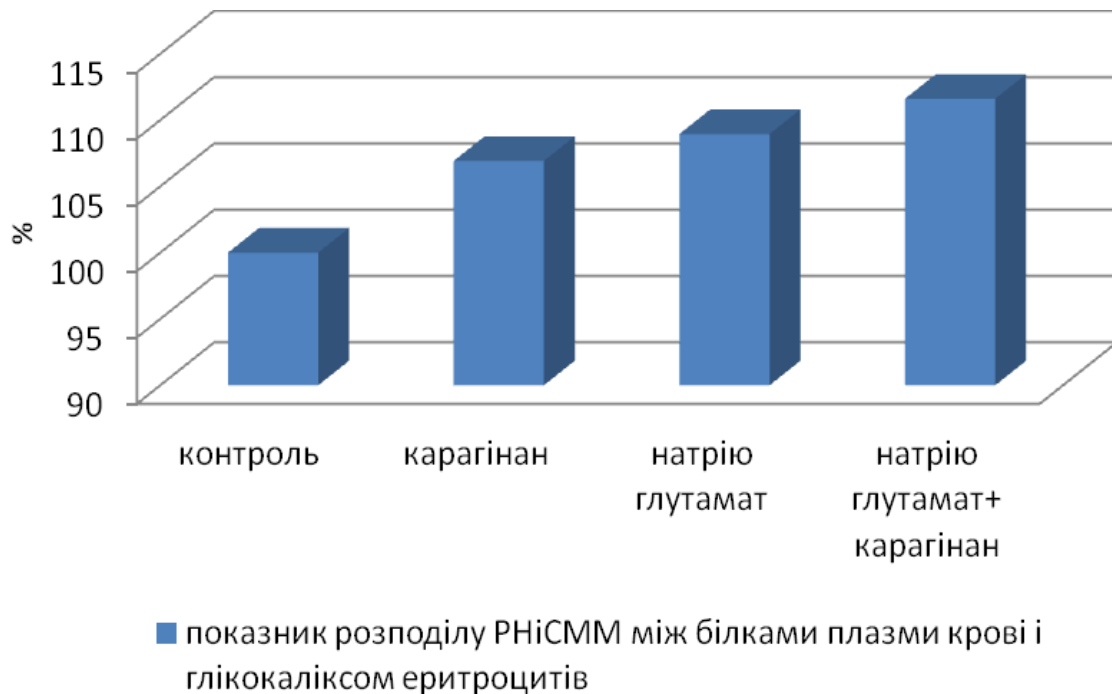


Рисунок 3.9 – Показник розподілу РНіСММ між білками плазми крові і глікокаліксом еритроцитів щурів при комбінованій дії харчових добавок

Варто зазначити, що при комбінованій дії харчових добавок показник елімінації токсичних продуктів був достовірно нижчий стосовно даних 2 (на 22,2 %) та 3 (на 15,5 %) дослідних груп ($p < 0,05$), рис. 3.10.

Отримані нами результати свідчать про порушення процесів елімінації продуктів ендотоксикозу за умови комбінованій дії харчових добавок внаслідок їх надмірного утворення в тканинах організму, що підтверджується вірогідно вищими значеннями РНіСММ у плазмі крові та на глікокаліксі еритроцитів щурів.

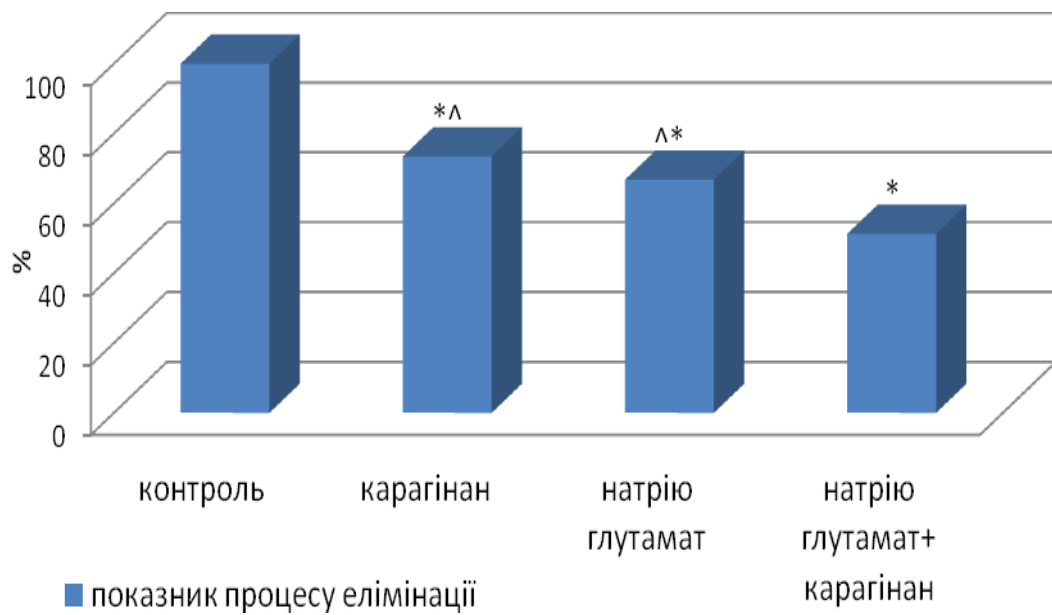


Рисунок 3.10 – Показник елімінації токсичних продуктів у щурів при комбінованій дії харчових добавок (* – статистично значущі результати; ^ – вірогідність відмінностей між 3 та іншими групами)

На основі наведених у розділі 3 результатів можна зробити такі проміжні висновки:

1. Комбіноване застосування розчину κ-карагінану та натрію глутамату має негативний вплив на гемопоез, що проявляється статистично значимим зниженням показників еритроцитів і гемоглобіну та підвищенням концентрації еритропоетину.

2. Комбіноване застосування розчину κ-карагінану та натрію глутамату має негативний вплив на процеси вільнорадикального окиснення, що проявляється статистично значимим підвищенням рівня продуктів пероксидного окиснення ліпідів у сироватці крові, легенях і печінці та зниженням активності ензимів антиоксидантної системи захисту в легенях і печінці, при цьому встановлено вірогідний середньої сили зв'язок між про- та антиоксидантами.

3. За умови комбінованої дії розчинів κ-карагінану та натрій глутамату вірогідно підвищується спонтанна окиснювальна модифікація протеїнів стосовно контролю та окремої дії харчових добавок, що супроводжується виснаженням резервно-адаптаційного потенціалу в крові, легенях і печінці, відповідно, на 33,4 %, 32,9 % і 24,0 %.

4. Встановлено порушення процесів елімінації продуктів ендотоксикозу за умови комбінованої дії харчових добавок внаслідок їх надмірного утворення в тканинах організму, що підтверджується вірогідно вищими значеннями РНіСММ у плазмі крові та на глікокаліксі еритроцитів щурів.

Результати розділу опубліковані у наукових працях автора [243-248].

РОЗДІЛ 4

ОСОБЛИВОСТІ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧУВАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ТА МЕХАНІЗМИ КЛІТИННОЇ ЗАГИБЕЛІ ПРИ КОМБІНОВАНІЙ ДІЇ ХАРЧОВИХ ДОБАВОК

У досліджах на білих нелінійних щурах-самцях, який вводили карагінан, натрію глутамат та їх комбінацію, вивчено показники енергозабезпечувального окиснення, маркери лізосомального пошкодження в тканинах організму щурів, а також показники клітинної загибелі лейкоцитів крові при застосуванні κ-карагінану, натрію глутамату та їх комбінації для встановлення механізмів поєднаної дії харчових добавок.

4.1 Стан енергозабезпечувального окиснення в тканинах організму щурів при комбінованій дії харчових добавок

Продукти ліпопероксидації порушують окиснення субстратів дегідрогеназами, транспорт електронів по дихальному ланцюгу, спричиняючи роз'єднання дихання та окисного фосфорилування. При цьому порушення у структурі та функціонуванні мітохондрій, зумовлені гіперпродукцією вільних кисневих радикалів, ведуть до зсуву енергетичного метаболізму в бік зростання інтенсивності гліколізу та пригнічення окисного фосфорилування [249].

При дослідженні показників системи мітохондріального транспорту електронів у тканинах легень встановлено вірогідно нижчі значення у 2 дослідній групі сукцинатдегідрогеназної активності (СДГ) на 13,7 % та цитохромоксидазної активності (ЦХО) на 10,4 % стосовно контролю ($p < 0,05$), відповідно у 3 групі ці показники були нижчі контрольних значень на 24,8 % та 19,1 %. Варто відмітити, що показники системи мітохондріального транспорту електронів у тканинах легень при

комбінованій дії харчових добавок були вірогідно нижчі стосовно окремого застосування карагінану (СДГ – на 23,7 % та ЦХО – на 15,4 %) та натрію глутамату ($p < 0,05$), табл. 4.1.

Таблиця 4.1 – Показники системи мітохондріального транспорту електронів у тканинах легень щурів при комбінованій дії харчових добавок

Група тварин	Показник активності	
	сукцинатдегідрогенази, нМ сукцинату/мг протеїну в хв	цитохромоксидази, нМ диметил-п- фенілендіаміну/мг протеїну в хв
Контроль	6,54 (6,47; 6,72)	6,18 (6,13; 6,21)
Група 1 (карагінан)	6,48 (6,42; 6,55)	5,99 (5,89; 6,11)
Група 2 (натрію глутамат)	5,75 (5,67; 5,83) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	5,60 (5,54; 5,64) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
Група 3 (карагінан+натрію глутамат)	5,24 (5,17; 5,29) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	5,19 (5,09; 5,21) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,05$
Примітка. p_1 – зміни достовірні відносно показників контрольних тварин; p_2 – достовірність змін між 1 і 2 групами; p_3 – достовірність змін між 2 і 3 групами; p_4 – достовірність змін між 1 і 3 групами.		

При дослідженні показників системи мітохондріального транспорту електронів у тканинах печінки встановлено вірогідно нижчі значення у 2 дослідній групі СДГ на 17,2 % та ЦХО на 16,0 % стосовно контролю ($p < 0,05$), відповідно у 3 групі ці показники були нижчі на 27,7 % та 25,6 % стосовно контрольних значень Варто відмітити, що показники системи мітохондріального транспорту електронів у тканинах печінки при

комбінованій дії харчових добавок були вірогідно нижчі стосовно окремого застосування карагінану (СДГ – на 22,4 % та ЦХО – на 19,2 %) та натрію глутамату ($p < 0,05$), табл. 4.2.

Таблиця 4.2 – Показники системи мітохондріального транспорту електронів у тканинах печінки щурів при комбінованій дії харчових добавок

Група тварин	Показник активності	
	сукцинатдегідрогенази, нМ сукцинату/мг протеїну в хв	цитохромоксидази, нМ диметил-п- фенілендіаміну/мг протеїну в хв
Контроль	12,00 (11,78; 12,17)	11,72 (11,49; 11,93)
Група 1 (карагінан)	11,51 (10,68; 11,74)	11,12 (10,88; 11,26)
Група 2 (натрію глутамат)	10,24 (10,11; 10,72) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	10,10 (9,95; 10,18) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
Група 3 (карагінан+натрію глутамат)	9,40 (9,15; 9,92) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	9,33 (9,29; 9,38) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,05$
Примітка. p_1 – зміни достовірні відносно показників контрольних тварин; p_2 – достовірність змін між 1 і 2 групами; p_3 – достовірність змін між 2 і 3 групами; p_4 – достовірність змін між 1 і 3 групами.		

При співставленні показників системи мітохондріального транспорту електронів у тканинах легень та печінки встановлено односпрямовані зміни досліджуваних показників, які характеризувалися вірогідним зменшенням енергозабезпечення в печінці та легенях з максимально вираженими змінами при комбінованому застосуванні карагінану та натрію глутамату (рис. 4.1).

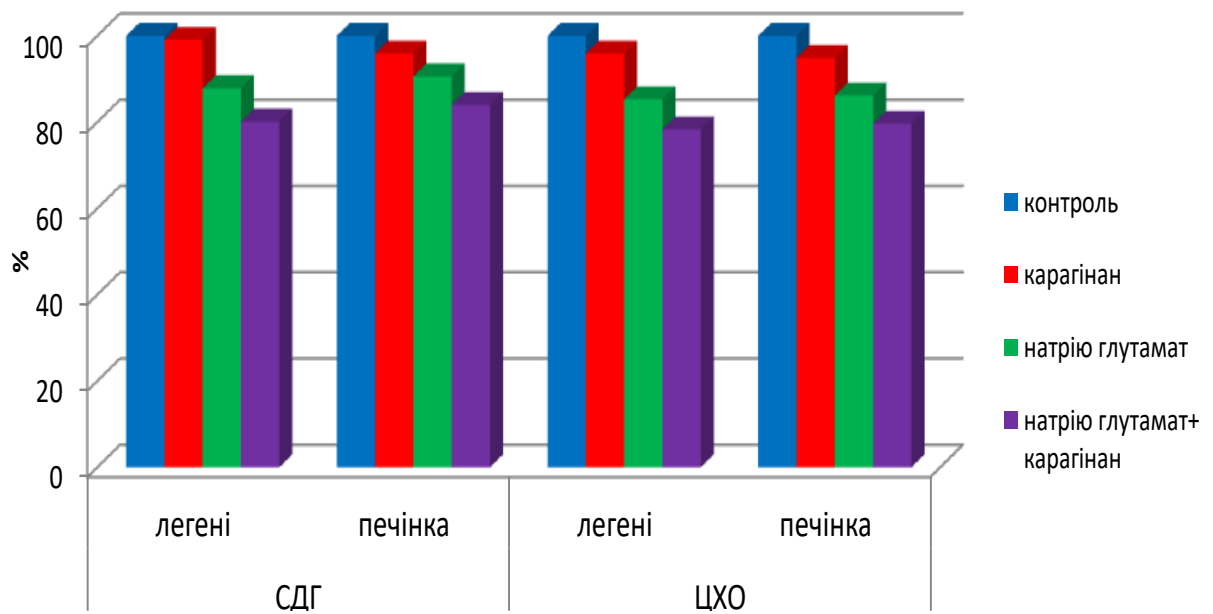


Рисунок 4.1 – Співставлення змін сукцинатдегідрогеназної і цитохромоксидазної активностей в тканинах організму щурів за умови комбінованої дії κ-карагінану та натрію глутамату

Отже, при дослідженні показників системи мітохондріального транспорту електронів у тканинах легень та печінки встановлено вірогідно нижчі значення сукцинатдегідрогеназної активності та цитохромоксидазної активності за умови застосування натрію глутамату та при його комбінації з карагінаном стосовно контролю ($p < 0,05$). При цьому показники системи мітохондріального транспорту електронів при комбінованій дії харчових добавок були вірогідно нижчі стосовно окремого застосування карагінану та натрію глутамату у тканинах легень та печінки ($p < 0,05$).

4.2 Маркери лізосомального пошкодження за умови комбінованої дії κ-карагінану та натрію глутамату в експерименті

Враховуючи те, що кисла фосфатаза (КФ) є маркерним ензимом стабільності лізосом, нами було проаналізовано її активність в тканинах щурів при комбінованій дії харчових добавок. Встановлено вірогідно вищу

активність КФ у 1 дослідній групі у сироватці крові (на 26,50 %), а також в печінці (на 35,70 %) і легенях (на 22,50 %) щурів, стосовно контролю. У тварин 2 групи активність КФ також була вірогідно вища у сироватці крові (на 36,80 %), а також в печінці (на 30,40 %) і легенях (на 57,40 %) щурів, стосовно контролю. Варто відмітити найвищі значення активності КФ у тварин 3 дослідної групи, які були вірогідно вищі у сироватці крові (на 90,20 %), а також в печінці (на 69,60 %) і легенях (на 82,20 %) щурів, стосовно контролю (табл. 4.3).

Таблиця 4.3 – Активність кислої фосфатази (мккат/л(кг)) в тканинах щурів при комбінованій дії харчових добавок

Група тварин	Кров	Легені	Печінка
Контроль	1,17 (1,08; 1,22)	0,65 (0,61; 0,70)	0,28 (0,24; 0,31)
Група 1 (карагінан)	1,48 (1,46; 1,53) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	0,79 (0,75; 0,82) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	0,38 (0,36; 0,41) $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$
Група 2 (натрію глутамат)	1,60 (1,57; 1,65) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	1,02 (0,89; 1,10) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	0,37 (0,34; 0,40) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$
Група 3 (карагінан+натрію глутамат)	2,23 (2,18; 2,30) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	1,18 (1,12; 1,26) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	0,48 (0,45; 0,51) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$
Примітка 1. p_1 – зміни достовірні відносно показників контрольних тварин; p_2 – достовірність змін між 1 і 2 групами; p_3 – достовірність змін між 2 і 3 групами; p_4 – достовірність змін між 1 і 3 групами.			

При цьому, комбіноване застосування харчових добавок в експерименті характеризувалось вірогідно вищими значення активності КФ відносно даних у печінці тварин 1 (на 33,90 %) і 2 (на 39,20 %) дослідних груп, а також відповідно у легенях на 59,70 % та 24,80 %, а також у сироватці крові на 63,70 % і 53,40 %.

Окрім прямого пошкодження лізосом, що можна оцінити активністю КФ, для порушення проникності мембрани лізосом використовують рівень катепсинів [250]. При виході катепсинів у цитозоль вони руйнують позаклітинний матрикс, зумовлюючи апоптоз. Встановлено вірогідно вищу активність катепсину В у 1 дослідній групі у сироватці крові (на 27,10 %), а також в печінці (на 27,10 %) і легенях (на 19,30 %) щурів, стосовно контролю. У тварин 2 групи активність катепсину В також була вірогідно вища у сироватці крові (на 43,60 %), а також в печінці (на 27,50 %) і легенях (на 55,10 %) щурів, стосовно контролю. Варто відмітити найвищі значення активності катепсину В у тварин 3 дослідної групи, які були вірогідно вищі у сироватці крові (на 97,70 %), а також в печінці (на 52,10 %) і легенях (на 83,10 %) щурів, стосовно контролю (табл. 4.4).

Таблиця 4.4 – Активність катепсину В (нмоль/год×мг протеїна) в тканинах щурів при комбінованій дії харчових добавок

Група тварин	Лейкоцити крові	Легені	Печінка
1	2	3	4
Контроль	1,09 (0,93; 1,19)	1,04 (0,87; 1,25)	1,20 (0,91; 1,40)
Група 1 (карагінан)	1,39 (1,36; 1,42) p1<0,05 p2<0,05	1,24 (1,18; 1,29) p1<0,05 p2<0,05	1,53 (1,48; 1,57) p1<0,05 p2>0,05

Продовження таблиці 4.4

1	2	3	4
Група 2 (натрію глутамат)	1,57 (1,51; 1,60) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	1,61 (1,56; 1,66) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	1,53 (1,46; 1,57) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$
Група 3 (карагінан+натрію глутамат)	2,16 (2,09; 2,25) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	1,90 (1,85; 1,97) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	1,83 (1,78; 1,89) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$
Примітка. p_1 – зміни достовірні відносно показників контрольних тварин; p_2 – достовірність змін між 1 і 2 групами; p_3 – достовірність змін між 2 і 3 групами; p_4 – достовірність змін між 1 і 3 групами.			

При цьому, комбіноване застосування харчових добавок в експерименті характеризувалось вірогідно вищими значення активності катепсину В відносно даних у печінці тварин 1 (на 25,00 %) і 2 (на 24,60 %) дослідних груп, а також відповідно у легенях на 63,80 % та 28,00 %, а також у сироватці крові на 70,60 % і 54,10 %.

При співставленні маркерів лізосомального пошкодження встановлено найвищі значення активності КФ та катепсину В за умови комбінованої дії к-карагінану та натрію глутамату. Також виявлено найнижчі значення досліджуваних показників в легенях щурів при застосуванні карагінану, тоді як у групі, де застосовували натрію глутамату в експерименті, встановлені найвищі значення маркерів лізосомального пошкодження в легенях (рис. 4.4).

За умови комбінованої дії розчинів к-карагінану та натрій глутамату вірогідно підвищується активність кислої фосфатази та катепсину В у сироватці крові (на 90,2 % та 97,7 %), печінці (на 69,6 % та 52,1 %) і легенях (на 82,2 % та 83,1 %) щурів відносно контролю, що також статистично

значимо вище проти значень цих показників при окремому застосуванні к-карагінану, а також натрію глутамату.

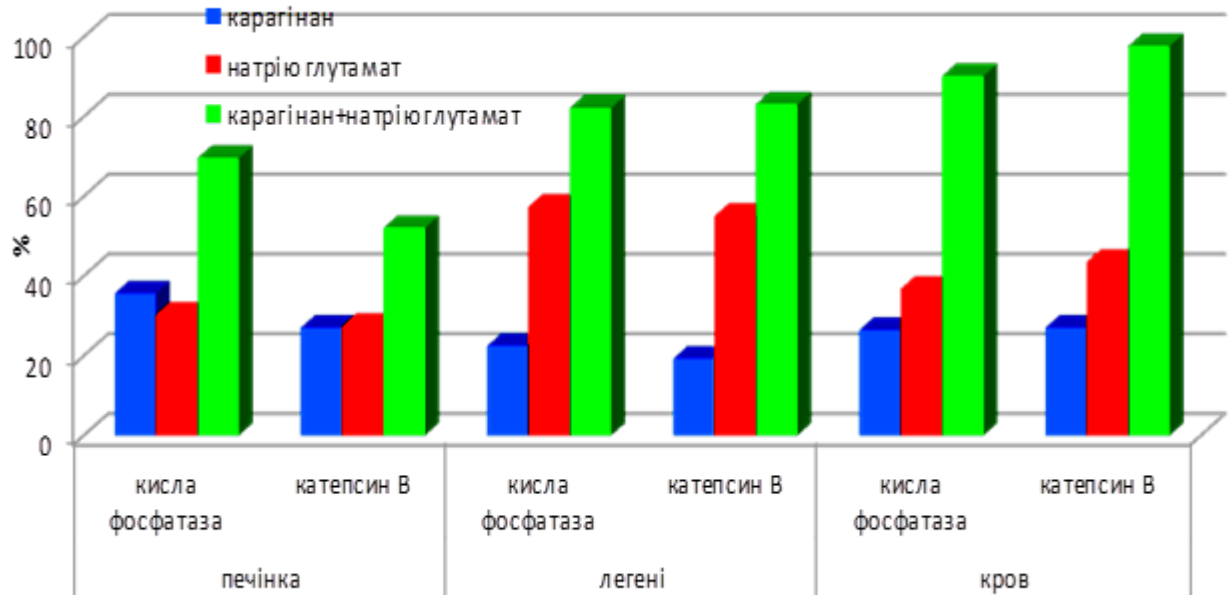


Рисунок 4.4 – Співставлення активності кислої фосфатази та катепсину В у тканинах щурів за умови комбінованої дії к-карагінану та натрію глутамату

При встановленні взаємозв'язків між показниками лізосомального пошкодження у щурів при окремому застосуванні к-карагінану, натрію глутамату та їх поєднанні встановлено вірогідні прямі зв'язки між рівнем кислої фосфатази в печінці та легенях, а також між рівнем катепсину В в печінці та легенях у 2 та 3 дослідних групах, що вказує на взаємозалежність даних змін в досліджуваних тканинах організму (табл. 4.5).

При аналізі взаємозв'язків між показниками лізосомального пошкодження і пероксидного окиснення у щурів при окремому застосуванні к-карагінану, натрію глутамату та їх поєднанні встановлено вірогідні прямі зв'язки між рівнем кислої фосфатази, катепсину В у легенях тварин, яким вводили натрію глутамат (2 група) та комбінацію к-карагінану та натрію

глутамату (3 група), а також між рівнем показників лізосомального пошкодження та концентрацією ТБК-АП в крові тварин 3 дослідної групи ($p < 0,05$), табл. 4.6. Це вказує на те, що за умови застосування натрію глутамату або ж при комбінації його з к-карагінаном розвиваються деструктивні процеси, викликані продуктами оксидативного стресу, в результаті чого порушується стабільність лізосомальних мембран з виходом гідролітичних ензимів – катепсинів і кислій фосфатази. Вірогідна залежність встановлена в легенях і крові.

Таблиця 4.5 – Кореляційний взаємозв'язок між показниками лізосомального пошкодження у щурів при комбінованій дії харчових добавок

Показники		Група 1 (к-карагінан)		Група 2 (натрію глутамат)		Група 3 (к-карагінан+натрію глутамат)	
		Кисла фосфатаза	Катепсин В	Кисла фосфатаза	Катепсин В	Кисла фосфатаза	Катепсин В
		легені					
Кисла фосфатаза	печінка	r=0,18; p=0,40	r=0,08; p=0,71	r= 0,58*; p=0,003	r=0,21; p=0, 32	r=0,64*; p=0,52	r=0,33; p=0,12
Катепсин В		r=0,11; p=0,61	r=0,12; p=0,62	r=0,29; p=0,17	r=0,61*; p=0,002	r=0,275; p=0,21	r=0,54*; p=0,006
Примітка 1. r – коефіцієнт кореляції; p – рівень достовірності. Примітка 2. * – статистично достовірні результати.							

Отримані нами результати свідчать про підвищення активності показників лізосомального пошкодження (активність кислій фосфатази та катепсину В) в сироватці крові, печінці і легенях щурів у всіх дослідних групах стосовно контролю.

Таблиця 4.6 – Кореляційні зв'язки між показниками лізосомального пошкодження і пероксидного окиснення при комбінованій дії харчових добавок

Показники		Група 1 (κ-карагінан)		Група 2 (натрію глутамат)		Група 3 (κ-карагінан+натрію глутамат)	
		Кисла фосфатаза	Кате псин В	Кисла фосфатаза	Кате псин В	Кисла фосфатаза	Кате псин В
Кров	ТБК-АП	r=0,28; p=0,19	r=0,31; p=0,14	r= 0,31; p=0,14	r=0,20; p=0,35	r=0,56*; p=0,004	r=0,47*; p=0,02
Легені		r=0,37; p=0,08	r=0, 21; p=0,32	r=0,54*; p=0,006	r=0,49*; p=0,02	r=0,58*; p=0,003	r=0,51*; p=0,01
Печінка		r=0,37; p=0,08	r=0, 26; p=0,22	r=0,36; p=0,09	r=0,28; p=0,19	r=0,37; p=0,08	r=0,40; p=0,053
Примітка 1. r – коефіцієнт кореляції; p – рівень достовірності. Примітка 2. * – статистично достовірні результати.							

Оскільки досліджувані параметри є непрямими маркерами апоптозу, вважаємо, що у поєднанні з активацією білкової і ліпідної пероксидації, комбінована дії κ-карагінану та натрію глутамату супроводжується підвищеною апоптичною загибеллю. При цьому встановлена вірогідна взаємозалежність між рівнем показників лізосомального пошкодження та ТБК-АП в легенях і крові тварин при комбінованій дії харчових добавок.

4.3 Показники клітинної загибелі лейкоцитів крові при комбінованому застосуванні κ-карагінану та натрію глутамату

Для підтвердження нашої гіпотези щодо зростання апоптотичної загибелі клітин за умови комбінованого застосування κ-карагінану та натрію

глутамату, нами було проведено визначення відсотку живих лейкоцитів крові, а також лейкоцитів з ранніми та пізніми ознаками апоптозу, а також з ознаками некрозу.

Встановлено вірогідно вищий відсоток лейкоцитів з ранніми ознаками апоптозу у 1 (на 50,70 %), 2 (на 83,40 %) та 3 дослідних групах (на 120,00 %) стосовно контролю. Варто зазначити, що у всіх дослідних групах відносно контрольних значень зростав також відсоток лейкоцитів з пізніми ознаками апоптозу, зокрема, у 1 (на 100,00 %), 2 (на 141,51 %) та 3 дослідних групах (на 296,23 %). Аналіз відсотку лейкоцитів з ознаками некрозу показав, що в 1 і 2 дослідних групах їх рівень зростав однаково (на 33,33 %), тоді як в 3 дослідній групі цей показник перевищував на 110,67 % дані контролю (табл. 4.7).

Таблиця 4.7 – Показники клітинної загибелі лейкоцитів крові при комбінованій дії харчових добавок

Група тварин	Живі лейкоцити, %	Лейкоцити з ранніми ознаками апоптозу (V ⁺ /PI ⁻), %	Лейкоцити з пізніми ознаками апоптозу (V ⁺ /PI ⁺), %	Лейкоцити з ознаками некрозу (V ⁻ /PI ⁺), %
1	2	3	4	5
Контроль	96,78 (95,77; 97,29)	2,05 (1,58; 2,65)	0,53 (0,44; 0,63)	0,75 (0,67; 0,85)
Група 1 (карагінан)	94,90 (94,77; 95,03) p ₁ <0,05	3,09 (2,93; 3,17) p ₁ <0,05	1,06 (1,00; 1,17) p ₁ <0,05	1,00 (0,94; 1,07) p ₁ <0,05

Продовження таблиці 4.7

1	2	3	4	5
Група 2 (натрію глутамат)	93,90 (93,81; 94,01) $p_1 < 0,05$	3,76 (3,69; 3,96) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	1,28 (1,21; 1,37) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	1,00 (0,95; 1,09) $p_1 < 0,05$
Група 3 (карагінан+ натрію глутамат)	91,88 (91,64; 91,97) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	4,51 (4,45; 4,64) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	2,10 (2,05; 2,18) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	1,58 (1,47; 1,64) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,05$
Примітка. p_1 – зміни достовірні відносно показників контрольних тварин; p_2 – достовірність змін між 1 і 2 групами; p_3 – достовірність змін між 2 і 3 групами; p_4 – достовірність змін між 1 і 3 групами.				

При співставленні досліджуваних показників клітинної загибелі лейкоцитів за умови застосування карагінану, натрію глутамату та їх комбінації встановлено що у всіх дослідних групах найбільше зростання спостерігалось стосовно пізнього апоптозу, який є незворотним. При цьому найбільших змін зазнавали досліджувані показники за умови комбінованої дії харчових добавок, тоді як найменші – за умови дії к-карагінану (рис. 4.5).

При аналізі взаємозв'язків між показниками лізосомального пошкодження, пероксидного окиснення та показниками клітинної загибелі лейкоцитів крові у щурів при окремому застосуванні к-карагінану, натрію глутамату та їх поєднанні встановлено вірогідні прямі зв'язки між концентрацією ТБК-АП, а також активністю кислої фосфатази та відсотком лейкоцитів з пізніми ознаками апоптозу в тварин 2 дослідної групи. Також зафіксовано вірогідні прямі зв'язки між відсотком лейкоцитів з ранніми та пізніми ознаками апоптозу та показниками лізосомального пошкодження і

пероксидного окиснення в 3 дослідній групі при комбінованому застосуванні харчових добавок (табл. 4.8).

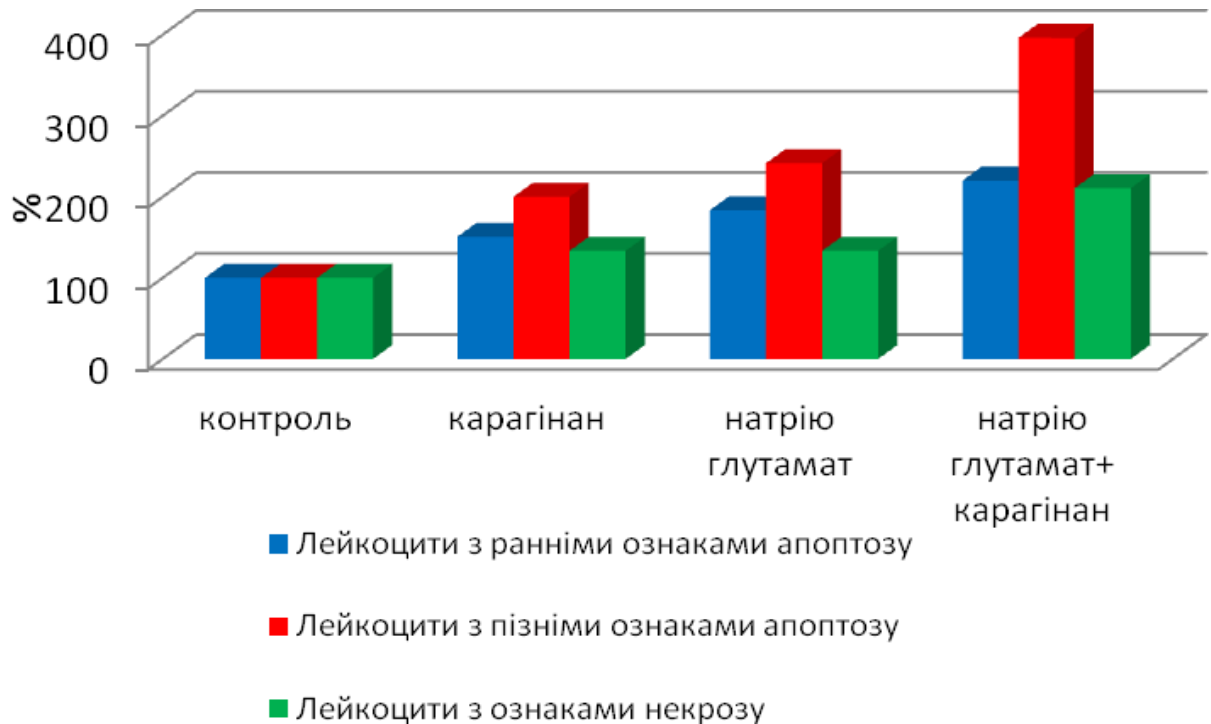


Рисунок 4.5 – Співставлення показників клітинної загибелі лейкоцитів крові за умови дії κ-карагінану, та натрію глутамату та їх комбінації

Отримані результати вказують на вірогідно вищий відсоток лейкоцитів з ранніми й пізніми ознаками апоптозу, а також з ознаками некрозу у всіх дослідних групах стосовно контролю, при цьому найбільших змін зазнають досліджувані показники за умови комбінованої дії харчових добавок, відповідно, на 120,0 %, 296,2 % та 110,7 % ($p < 0,001$).

На рівень клітинної загибелі лейкоцитів крові за умови застосування глутамату натрію впливають оксидативні процеси й лізосомальне пошкодження (V^+/PI^+ - ТБК-АП: $r=0,47$; $p=0,03$; V^+/PI^+ - кисла фосфатаза: $r=0,49$; $p=0,02$), тоді як при комбінованій дії харчових добавок концентрація ТБК-АП й активність кислої фосфатази впливає як на апоптотичну, так і некротичну загибель лейкоцитів крові ($p < 0,05$).

Таблиця 4.8 – Кореляційні зв'язки між показниками клітинної загибелі лейкоцитів і показниками лізосомального пошкодження та пероксидного окиснення в крові щурів при комбінованій дії харчових добавок

Показники	Група 1 (κ-карагінан)		Група 2 (натрію глутамат)		Група 3 (κ-карагінан+натрію глутамат)	
	ТБК-АП	Кисла фосфатаза	ТБК-АП	Кисла фосфатаза	ТБК-АП	Кисла фосфатаза
V ⁺ /PI ⁻ лейкоцити, %	r=0,35; p=0,09	r=0,31; p=0,14	r=0,37; p=0,08	r=0,20; p=0,35	r=0,54*; p=0,006	r=0,49*; p=0,02
V ⁺ /PI ⁺ лейкоцити, %	r=0,28; p=0,19	r=0,21; p=0,32	r=0,47*; p=0,03	r=0,49*; p=0,02	r=0,58*; p=0,003	r=0,51*; p=0,01
V/PI ⁺ лейкоцити, %	r=0,31; p=0,14	r=0,20; p=0,35	r=0,26; p=0,22	r=0,28; p=0,19	r=0,47*; p=0,03	r=0,49*; p=0,02

Примітка 1. r – коефіцієнт кореляції; p – рівень достовірності.
Примітка 2. * – статистично достовірні результати.

На основі наведених у розділі 4 результатів можна зробити такі проміжні висновки:

При дослідженні показників системи мітохондріального транспорту електронів у тканинах легень та печінки встановлено вірогідно нижчі значення сукцинатдегідрогеназної активності та цитохромоксидазної активності за умови застосування натрію глутамату та при його комбінації з карагінаном стосовно контролю ($p < 0,05$). При цьому показники системи мітохондріального транспорту електронів при комбінованій дії харчових добавок були вірогідно нижчі стосовно окремого застосування карагінану та натрію глутамату у тканинах легень та печінки ($p < 0,05$).

Встановлено підвищення активності показників лізосомального пошкодження в сироватці крові, печінці і легнях щурів за умови окремого

застосування карагінану та натрію глютамату стосовно контролю ($p < 0,05$). За умови комбінованої дії розчинів κ -карагінану та натрій глютамату вірогідно підвищується активність кислій фосфатази та катепсину В у сироватці крові (на 90,2 % та 97,7 %), печінці (на 69,6 % та 52,1 %) і легенях (на 82,2 % та 83,1 %) щурів відносно контролю, що також статистично значимо вище проти значень цих показників при окремому їх застосуванні.

Аналіз кореляційних зв'язків вказує на вірогідну взаємозалежність між рівнем показників лізосомального пошкодження та ТБК-АП в легенях і крові тварин при комбінованій дії харчових добавок.

Встановлено вірогідно вищий відсоток лейкоцитів з ранніми й пізніми ознаками апоптозу, а також з ознаками некрозу за умови окремого застосування карагінану та натрію глютамату та їх комбінації стосовно контролю, при цьому найбільших змін зазнають досліджувані показники при комбінованій дії харчових добавок, відповідно, на 120,0 %, 296,2 % та 110,7 % ($p < 0,001$).

На рівень клітинної загибелі лейкоцитів крові за умови застосування глютамату натрію впливають оксидативні процеси й лізосомальне пошкодження (V^+/PI^+ - ТБК-АП: $r=0,47$; $p=0,03$; V^+/PI^+ - кисла фосфатаза: $r=0,49$; $p=0,02$), тоді як при комбінованій дії харчових добавок концентрація ТБК-АП й активність кислій фосфатази впливає як на апоптотичну, так і некротичну загибель лейкоцитів крові ($p < 0,05$).

Результати розділу опубліковані у наукових працях автора [251].

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Харчові добавки широко використовуються в харчовій промисловості для збереження якості їжі, досягнення однорідності, підвищення смаку або поліпшення текстури харчового продукту [1]. Вагоме місце після харчової індустрії по споживанню добавок займає косметична промисловість для виготовлення лосьйонів, кремів, шампунів [2]. Харчові добавки також використовуються в текстильній промисловості та біотехнології, для фіксації клітин і як замітник бактеріального агару [3]. З розширенням виробництва харчових добавок постійно зменшується асортимент харчових й промислових продуктів, одержаних без їх використання [4].

Отримані результати аналітичного огляду наукової літератури вказують на виражені патологічні зміни в тканинах організму за умови болюсного чи надмірного споживання натрію глютамату. У той же час встановлений виражений ефект карагінанів як антиоксидантів, антикоагулянтів, імуномодуляторів, протипухлинних, противірусних засобів.

Незважаючи на велику кількість наукових доказів на підтримку безпеки застосування натрій глютамата і карагінану, деякі дослідники стверджують про упередженість даних про безпеку їх застосування, що створює передумови для глибшого вивчення їх комбінованого впливу в умовах експерименту.

Тому, метою даного дослідження стало з'ясувати особливості метаболічних процесів у легенях і печінці експериментальних тварин при комбінованому застосуванні розчинів к-карагінану й натрій глютамату.

Для реалізації цієї мети, 96 білих безпородних самців-щурів поділили на 4 групи: 1 – контроль (інтактні тварини), 2 – тварини, яким внутрішньошлунково вводили к-карагінан у дозі 40 мг/кг, розчинений в 0,5

мл дистильованої води кімнатної температури, протягом 1 міс [216, 217]; 3 група – тварини, яким внутрішньошлунково вводили натрію глутамат в дозі 50 мг/кг, розчинений в 0,5 мл дистильованої води кімнатної температури, протягом 1 міс [218]; 4 група – тварини, яким внутрішньошлунково вводили карагінан і натрію глутамат у вищевказаних дозах.

При дослідженні показників червоної крові та концентрації ЕПО у тварин 1 і 2 дослідних груп патологічних змін не відмічалось. Встановлено, що рівень гемоглобіну крові усіх дослідних груп вірогідно різнився при проведенні аналізу рангових варіацій Краскела-Уолісса. При цьому у тварин, яким застосовували комбіноване введення карагінану і натрію глутамату були вірогідно нижчі показники кількості еритроцитів та гемоглобіну, як стосовно 1 і 2 дослідних груп, так і контролю. Концентрація ЕПО в 3 дослідній групі перевищувала значення даного показника як в контролі (на 32,05 %), так і в 1 (на 34,64 %) та 2 (на 32,61 %) дослідних групах.

Комбіноване застосування розчину к-карагінану та натрію глутамату має негативний вплив на гемопоез, що проявляється статистично значимим зниженням показників еритроцитів і гемоглобіну та підвищенням концентрації еритропоєтину.

Отримані результати AL-Sharkawy A.N.A. та співавт. [5] продемонстрували зниження еритроцитів та рівня гемоглобіну в крові щурів за умови застосування натрію глутамату. Інше дослідження показало, що споживання MSG та рівень гемоглобіну позитивно пов'язані між собою через життєво важливу роль лептину у кровотворенні людини. Sharma та співавт. вказують на те, що α -кетоглутаратдегідрогеназа, рецептори глутамату та антиспортери цистеїн-глутамату відіграють потенційну роль у регуляції окиснювального стресу при токсичності, яку зумовив MSG [252]. Результати Ashaolu J.O. та співавт. [253] та Ibrahim O.M.S. та співавт. [254] вказують на опосередкований негативний вплив MSG на гемопоетичні

стовбурові клітини в кістковому мозку. З іншого боку, MSG може зумовлювати оксидативний стрес, який зумовлює утворення мікроядерних поліхроматичних еритроцитів [255]. Дослідження карагінану також показали активацію пероксидного окиснення ліпідів як у стінці тонкої кишки, так і в тканинах печінки та міокарда, що веде до тканинної гіпоксії [20]. Комбінована дія досліджуваних харчових добавок може сумувати токсичний ефект кожної добавки, що проявляється зниженням рівня еритроцитів і гемоглобіну, та підвищення концентрації ЕПО. Процес еритропоезу регулюється еритропоетином за принципом негативного зворотного зв'язку. Гіпоксія може збільшити вироблення еритропоетину нирками. Він циркулює в плазмі і зв'язується з клітинами-попередниками еритроцитів у кістковому мозку. В результаті підвищується їх життєздатність, блокується процес апоптозу клітин, стимулюється проліферація і диференціювання, що призводить до збільшення кількості еритроцитів. У свою чергу, це призведе до збільшення кисню крові та зменшення секреції еритропоетину.

Дослідження останніх десяти років підтвердили, що натрію глутамат викликає розвиток таких розладів як головний біль, астма, діабет, біль у м'язах, фібриляція передсердь, ішемія, травми, судоми, інсульт, хвороба Альцгеймера, бічний аміотрофічний склероз (ALS), хвороба Хантінгтона, хвороба Паркінсона, депресія, розсіяний склероз, шизофренія, обсессивно-компульсивний розлад, епілепсія, наркоманія дефіцит уваги / гіперактивність, лобно-скронева деменція та аутизм [256, 257]. В основі розвитку даних порушень лежать типові патологічні процеси. Універсальним механізмом, який відіграє ключову роль у реалізації дії більшості токсичних агентів є активація вільнорадикальних процесів та розвиток оксидативного стресу [258]. Механізм ушкодження клітин вільними радикалами полягає у їх здатності ініціювати пероксидне окиснення ліпідів та протеїнів, ковалентно зв'язуватися з

біомакромолекулами, а також генерувати активні форми кисню та нітрогену, що є високотоксичними і здатні ініціювати клітинну загибель [259].

Встановлено, що рівень ДК в крові, гомогенаті легень і печінки усіх дослідних груп вірогідно різнився при проведенні аналізу рангових варіацій Краскела-Уолісса. При цьому у сироватці крові піддослідних тварин рівень ДК 1 групи вірогідно перевищував контрольні значення на 23,21 %, відповідно, 2 групи – на 64,29 % і 3 групи – на 117,86 %. У гомогенаті легень рівень ДК 1 групи вірогідно перевищував контрольні значення на 21,69 %, відповідно, 2 групи – на 48,19 % і 3 групи – на 71,08 %. У тканинах печінки рівень ДК 1 групи вірогідно перевищував контрольні значення на 29,67 %, відповідно, 2 групи – на 46,15 % і 3 групи – на 76,92 %. При цьому рівень ДК в тканинах організму експериментальних тварин вірогідно відрізнявся в сироватці крові й тканинах легень у щурів 1 і 2, 1 і 3 дослідних груп з найвищим значенням при комбінованому застосуванні к-карагінану й натрію глютамату. У тканинах печінки рівень ДК вірогідно відрізнявся у щурів 1 і 3, 2 і 3 дослідних груп з найвищим значенням показника при комбінованому застосуванні к-карагінану й натрію глютамату.

Встановлено, що рівень активних продуктів ТБК в крові, гомогенаті легень і печінки усіх дослідних груп вірогідно різнився при проведенні аналізу рангових варіацій Краскела-Уолісса. При цьому у сироватці крові піддослідних тварин рівень ТБК 1 групи вірогідно перевищував контрольні значення на 33,75 %, відповідно, 2 групи – на 58,63 % і 3 групи – на 95,96 %. У гомогенаті легень рівень ДК 1 групи вірогідно перевищував контрольні значення на 30,23 %, відповідно, 2 групи – на 104,65 % і 3 групи – на 148,84 %. У тканинах печінки рівень ДК 1 групи вірогідно перевищував контрольні значення на 19,10 %, відповідно, 2 групи – на 37,08 % і 3 групи – на 56,18 %.

При цьому рівень ТБК в тканинах організму експериментальних тварин вірогідно відрізнявся в сироватці крові у щурів всіх дослідних груп, в гомогенаті легень у щурів 1 і 2, 1 і 3 груп, у тканинах печінки у щурів 1 і 3, 2 і 3 груп з найвищим значенням при комбінованому застосуванні к-карагінану й натрію глютамат.

При співставленні показників ПОЛ (стосовно контролю) встановлено найвищі значення досліджуваних показників у 3 дослідній групі, при цьому найвища активація вільнорадикального окиснення спостерігалася в тканинах легень при застосуванні натрію глютамату та комбінованій дії к-карагінану й натрію глютамату, тоді як найнижчі досліджувані показники ПОЛ реєструвалися в усіх тканинах 1 дослідної групи.

Встановлено, що рівень супероксиддисмутази (СОД) в гомогенаті легень і печінки усіх дослідних груп вірогідно відрізнявся при проведенні аналізу рангових варіацій Краскела-Уолісса. При цьому у сироватці крові піддослідних тварин рівень супероксиддисмутази активності у всіх дослідних групах статистично значимо не відрізнявся від контролю. У тканинах легень активність СОД була вірогідно вища у тварин 1 групи (на 21,77 %) та, відповідно, нижча у тварин 2 (на 23,39 %) і 3 груп (на 56,18 %) проти контрольних значень. У тканинах печінки активність СОД була вірогідно вища у тварин 1 групи (на 40,74 %) та, відповідно, нижча у тварин 2 (на 25,23 %) і 3 груп (на 59,95 %) проти контрольних значень (табл. 3.6). При цьому активність СОД в легенях щурів вірогідно відрізнялась у тварин 2 і 3 груп ($p=0,01$) і, відповідно, в печінці щурів – у 2 і 3 ($p=0,03$) з найвищим значенням при комбінованому застосуванні к-карагінану й натрію глютамату.

Встановлено, що рівень КАТ у гомогенаті легень і печінки усіх дослідних груп вірогідно відрізнявся при проведенні аналізу рангових варіацій Краскела-Уолісса. При цьому у сироватці крові піддослідних тварин рівень КАТ у всіх дослідних групах статистично значимо не

відрізнявся від контролю. У тканинах легень рівень КАТ був вірогідно нижчий у тварин 2 групи (на 29,26 %) та 3 групи (на 45,66 %) проти контрольних значень. У тканинах печінки рівень КАТ був вірогідно нижчий у тварин 2 групи (на 38,25 %) та 3 групи (на 43,86 %) проти контрольних значень. При цьому каталазна активність в легенях щурів вірогідно відрізнялась у тварин 1 і 3 груп ($p=0,02$) і, відповідно, в печінці щурів – у 1 і 3 ($p=0,03$) та 2 і 3 групах ($p=0,03$) з найвищим значенням при комбінованому застосуванні к-к-карагінану й натрію глютамату.

При співставленні показників ензимної ланки системи антиоксидантного захисту (стосовно контролю) встановлено найнижчі значення досліджуваних показників у 3 експериментальній групі, тоді як застосування к-карагінану зумовлювало підвищення активності СОД і КАТ з найвищими показниками в тканинах печінки.

Проведення кореляційного аналізу показало пряму залежність між активністю СОД й концентрацією ТБК у сироватці крові та досліджуваними показниками ПОЛ у печінці щурів, яким вводили к-карагінан. У 2 групі встановлено негативний зв'язок між активністю КАТ й досліджуваними показниками ПОЛ у легенях й печінці. Варто зазначити також середньої сили обернений зв'язок між активністю СОД й концентрацією ТБК у гомогенаті легень й печінки щурів 2 групи. При комбінованому застосуванні к-карагінану й натрію глютамату виявлено негативний взаємозв'язок між показниками ПОЛ й ензимами антиоксидантної системи в тканинах печінки, а також між активністю КАТ та досліджуваними продуктами ПОЛ у легенях.

Отримані нами результати свідчать про активацію процесів вільнорадикального окиснення та зниження активності ензимної ланки системи антиоксидантного захисту в крові, тканинах легень і печінки щурів за умови внутрішньошлункового введення натрію глютамату в дозі 50 мг/кг, що може бути пов'язане з прямою дією гіперпродукції активних форм

оксигену внаслідок введення досліджуваної харчової добавки. Слід зауважити, що у печінці є автономна система детоксикації організму, де в нормі відбувається витік неспарених електронів, а отже, і активних форм кисню. Дихальні та метаболічні функції легенів тісно пов'язані з ліпідним обміном, що робить тканини легенів вразливими до перекисного окислення ліпідів, окислювальної модифікації білків, пошкодження ДНК та інших механізмів. Це, в свою чергу, вплине на стан фосфоліпідів в організмі людини, а також вплине на склад легеневих поверхнево-активних речовин, найбільшої біоплівки в організмі людини, аж до. До них належать насичені та ненасичені жирні кислоти, в яких також відбуваються вільнорадикальні процеси, які можуть регулювати поверхнево-активні властивості поверхнево-активних речовин та підтримувати вентиляцію легеневої тканини [260]. У роботі Онуєта О. та співавт. тривале застосування глютамат натрію може викликати окислювальний стрес і посилити вільнорадикальне окислення ліпідів і білків в організмі [261]. Paul M.V. та співавт. [262] та Thomas M. та співавт. [263] продемонстрували, що рівень основних антиоксидантних ферментів у нирках щурів, які споживали глютамат натрію, зменшився, а перекисне окислення ліпідів зросло. Зниження рівня основних антиоксидантних ферментів та посилення пероксидного окислення ліпідів у нирках щурів, які споживали натрію глютамат було продемонстровано у роботах. При цьому автори зазначають, що виснаження антиоксидантного захисту корелює зі збільшенням ПОЛ. За даними Гордієнка Л.П. та співавт. показано, що у слинних залозах піддослідних щурів за умов глютамат-індукованого ожиріння достовірно підвищувався вміст ТБКактивних продуктів порівняно з контролем. При цьому у тканинах слинних залоз тварин каталазна і супероксиддисмутазна активність достовірно знижувалася щодо контрольних тварин [264]. Namza R.Z. та співавт. дослідили, що глютамат натрію викликає підвищення рівня ПОЛ паралельно зі значним зниженням активності СОД, і КАТ у

тканинах яєчок [265]. Результати нашого дослідження можна пояснити даними Tezcan E. та співавт. [14], які зазначають, що ТБК є одним із кінцевих продуктів ПОЛ, а також він утворюється як продукт реакції циклооксигенази в метаболізмі простагландинів, що підтверджує наявність оксидативного стресу у щурів, які отримували натрій глютамат. Дослідження Kumari S. та співавт. [264] показало, що токсичність натрій глютамату безпосередньо пов'язана з гіперполяризацією мітохондріальної мембрани, збільшенням продукції кисневих радикалів, збільшенням споживання мітохондріями кисню, динамічним дисбалансом мітохондрій, що завершується поділом та активацією аутофагії [265, 266]. Що стосується змін активності супероксиддисмутази та каталази у випадку лише глютамату натрію, наші результати також узгоджуються з дослідженням Бевзо В.В., яке показало, що при введенні 3% глютамінової кислоти з розрахунку 30 мг/кг розчину натрію 4 тижні отримали дані про втрату ваги щура, ферментів в сироватці та гомогенаті печінки [15]. Інше дослідження показало, що тривале використання глютамату натрію може збільшити продукцію активних кисневих радикалів, що виробляються нейтрофілами крові, на 40,3 %. Тривале застосування глютамату натрію може призвести до збільшення вмісту ТБК у сироватці крові на 56,2 % і гомогенаті легень у 2,1 раза [146, 267]. Варто відмітити, що рецептори натрію глютамату є у багатьох тканинах організму, включаючи мозок, серце, легені, підшлункову залозу, де глютамат виступає нейромедіатором [268]. Споживання великої кількості MSG може перевантажувати його рецептори в організмі і штучно збільшувати рівень вільного MSG в організмі [269].

Результати нашого дослідження показали вірогідне зростання пероксидного окиснення ліпідів паралельно з підвищенням супероксиддисмутазної активності в тканинах легень та печінки за умови застосування к-карагінану у дозі 40 мг/кг. Наукові дані показують, що за звичайних умов травлення, к-карагінан розщеплюється на

низькомолекулярні та високомолекулярні частинки внаслідок кислотного гідролізу. При двох досліджуваних концентраціях κ-карагінану вони запускають в стінці кишечника вільнорадикальні процеси [21, 270]. Автор вказує, що застосування 1,0 % розчину κ-карагінану супроводжується участю в патологічному процесі органів, особливо печінки та серця, що свідчить про доцільність узагальнення біохімічних процесів на рівні організму. Попередні дослідження показали, що макрофаги беруть участь у поглинанні κ-карагінану і утворюють гетеролізосоми, що призводить до реалізації шкідливого впливу лізосомальних ферментів. З іншого боку, відомо, що макрофаги є джерелом вільних радикалів [271]. Активація процесів вільнорадикального окиснення в тканинах печінки може бути результатом, згідно з даними Ткаченка О.С. і співавт., прямою стимуляцією генерації кисневих радикалів κ-карагінаном, так і опосередкованим, впливом фактора некрозу пухлин-альфа, концентрація якого зростає при застосуванні карагінану [272].

У сучасних умовах люди щодня вживають різні харчові добавки у різних комбінаціях та різних концентраціях, що обумовлює необхідність їх комбінованого впливу на організм. За результатами нашого дослідження, в умовах комбінованої дії κ-карагінану й натрію глютамату максимально зростає пероксидне окиснення ліпідів та виснаження системи антиоксидантного захисту в легенях і печінці, при цьому встановлено вірогідний середньої сили зв'язок між про- та антиоксидантами. На даний час важко сказати, яку дію проявляють досліджувані харчові добавки у комбінації: адитивну дію чи потенціювання ефектів. З одного боку, обидві харчові добавки впливають на оксидативний стрес, з другого боку, токсична дія досліджуваних добавок пов'язана також з іншими механізмами: запалення при дії κ-карагінану [23] та нейротоксичність при дії натрій глютамату [273]. Проте, як за умов застосування натрію глютамату, так і при його комбінованій дії з κ-карагінаном, згідно з отриманими нами

результатами, спостерігається виснаження антиоксидантних резервів, тоді як при використанні κ-карагінану антиоксидантна активність зростає, зменшуючи тим самим негативний вплив на тканини. Тому, ми вважаємо домінуючим негативний ефект на процеси вільнорадикального окиснення натрію глютамат.

Отже, комбіноване застосування розчину κ-карагінану та натрію глютамату має негативний вплив на процеси вільнорадикального окиснення, що проявляється статистично значимим підвищенням рівня продуктів пероксидного окиснення ліпідів у сироватці крові, легенях і печінці та зниженням активності ензимів антиоксидантної системи захисту в легенях і печінці, при цьому встановлено вірогідний середньої сили зв'язок між про- та антиоксидантами.

Одним з надійних індикаторів оксидативного стресу і ушкодження тканин за умови активації процесів вільно радикального окиснення є ОМП, в результаті якої змінюються структура, фізико-хімічні та біологічні властивості білкової молекули, що, веде до інактивації великої групи ензимів [237]. Встановлено, що у сироватці крові рівень АДНФГ зростав у 1 групі на 24,10 %, у 2 і 3 групах, відповідно, на 40,96 % і 102,41 %, стосовно контролю. При цьому досліджуваний показник був найвищий у групі 3 та найнижчий – у групі 1. У тканинах легень рівень АДНФГ зростав у 1 групі на 12,93 %, у 2 і 3 групах, відповідно, на 59,48 % і 81,90 %, стосовно контролю. Порівнюючи дослідні групи між собою встановлено вірогідно вище значення досліджуваного показника у групі 3 та найнижчі – у групі 1, стосовно інших груп. У печінці рівень АДНФГ зростав у 1 групі на 31,37 %, у 2 і 3 групах, відповідно, на 47,06 % і 70,59 % проти контрольних значень. Варто зазначити, що при комбінованому використанні κ-карагінану й натрій глютамату досліджуваний показник був найвищий.

Рівень КДНФГ у сироватці крові зростав у 1 групі на 29,28 %, у 2 і 3 групах, відповідно, на 22,10 % і 93,92 %, стосовно контролю. При цьому

досліджуваний показник був найвищий у групі 3. У тканинах легень рівень КДНФГ зростав у 1 групі на 9,35 %, у 2 і 3 групах, відповідно, на 36,69 % і 93,53 %, стосовно контролю. Порівнюючи дослідні групи між собою встановлено вірогідно вище значення досліджуваного показника у групі 3 та найнижчі – у групі 1, стосовно інших груп. У печінці рівень КДНФГ зростав у 1 групі на 20,83 %, у 2 і 3 групах, відповідно, на 47,92 % і 72,92 % проти контрольних значень. Варто зазначити, що при комбінованому використанні к-карагінану й натрій глутамату досліджуваний показник був найвищий.

З метою оцінки первинних (АДНФГ) і вторинних (КДНФГ) маркерів оксидативного стресу та функціонального стану клітини в процесі накопичення окиснених білків було проаналізовано окремо частку альдегідів і кетонів у сумарній ОМП [238].

У тканинах легень при введенні експериментальним тваринам натрій глутамату змінювалося співвідношення АДНФГ до КДНФГ у бік зростання частки вторинних маркерів оксидативного стресу, тоді як в інших дослідних групах їх співвідношення практично не відрізнялося від контролю.

У тканинах печінки частка первинних і вторинних маркерів дослідних груп практично не відрізнялася від співвідношення в контрольній групі

Аналіз співвідношення первинних і вторинних маркерів окиснювальної модифікації протеїнів вказує на зростання маркерів пізньої деструкції в тканинах легень при застосуванні натрій глутамату. Нижча частка вторинних маркерів у сироватці крові при введенні карагінану, стосовно групи тварин, яким вводили натрій глутамат, може свідчити про швидшу утилізацію змінених протеїнів, так званий вторинний антиоксидантний ефект.

Стимульоване окиснення в даний час розглядають як посттранскрипційну окиснювальну модифікацію протеїнів [239], яке виявляє зміни амінокислот, що входять до складу поліпептидного ланцюга, і

модифікації, пов'язані з конформацією молекули і станом білкового оточення [240]. Необхідність вивчення спонтанної й індукованої іонами металів ОМП також дозволяє провести непряму оцінку антиоксидантних можливостей протеїнів за допомогою резервно-адаптаційного потенціалу (РАП) [241].

При оцінці стимульованої ОМП встановлено вірогідно вищі значення АДНФГ у всіх дослідних групах у сироватці крові, легенях і печінці відносно контрольних значень. При цьому рівень АДНФГ у сироватці крові у групі 3 вірогідно був вищий даних групи 1 та практично не відрізнявся в групах 2 і 3; у легенях рівень АДНФГ у групах 1 і 3 статистично значимо не відрізнявся проте був вищий даних групи 2, тоді як у печінці найвищі значення досліджуваного показника зареєстровані в групі 1.

Рівень КДНФГ у сироватці крові, легенях та печінці був вірогідно вищий у всіх дослідних групах, стосовно контролю. Порівнюючи дослідні групи між собою встановлено вірогідно вище значення досліджуваного показника у групі 1, стосовно практично однакових значення у групах 2 і 3.

Для оцінки РАП в тканинах організму щурів визначали частку спонтанного ОМП в стимульованому ОМП, яке приймали за 100 %. Встановлено, що в контрольній групі частка спонтанного ОМП : РАП становили у сироватці крові 54,7:45,3 (%); в легенях – 56,5:43,5 (%) та в печінці – 50,5:49,5 (%). За умови введення 1,0 % розчину карагінану зростав резервно-адаптаційний потенціал в легенях (на 4,7 %) і печінці (на 19,6 %) стосовно контролю. За умови введення тваринам натрій глутамату резервно-адаптаційний потенціал знижувався в усіх досліджуваних тканинах стосовно контролю, зокрема, в сироватці – на 4,8 %, в легенях – на 17,4 % і в печінці – на 15,2 %. Комбінована дія харчових добавок зумовлювала максимальне виснаження РАП в усіх досліджуваних тканинах, зокрема, в сироватці – на 33,4 %, в легенях – на 32,9 % і в печінці – на 24,0 %. Отже, за

умови комбінованої дії харчових добавок підвищення окиснювального стресу супроводжується виснаженням резервно-адаптаційного потенціалу в крові, легенях і печінці.

За даними інших авторів встановлено, що споживання щурами 1,0 % розчину карагінану зумовлювало зростання спонтанного ОМП, при цьому автори також припускають виснаження резервно-адаптаційних можливостей організму тварин [21, 274]. Проте, проведене нами дослідження спонтанної й стимульованої ОМП дозволяє об'єктивніше оцінити РАП. Дослідження вченими особливостей ОМП за дії натрій глутамату підтверджує наші дані щодо більш вираженого зростання ОМП на різних довжинах хвиль з розвитком карбонільного стресу [146]. Виявлене посилення ступеня окиснювальної деструкції білкових молекул з виснаженням резервно-адаптаційного потенціалу в крові, легенях і печінці щурів за умови комбінованої дії харчових добавок свідчить про порушення механізмів регуляції ензимних систем, які забезпечують клітинний гомеостаз, оскільки відомо, що за умов окисдативного стресу активні форми кисню впливають передусім на білки плазматичних мембран, що веде до вираженої гістодеструкції [275, 276].

Активация процесів пероксидного окиснення веде до порушення метаболічних процесів в організмі, що проявляється накопиченням в тканинах та біологічних рідинах організму проміжних та кінцевих продуктів обміну речовин – молекул низької та середньої молекулярної маси (РНіСММ), розмір яких коливається від 500 до 5000 дальтон. РНіСММ об'єднує гетерогенну групу речовин та включає пептиди, нуклеопептиди, глікопептиди, аміноцукри, ендорфіни, поліаміни, багатоатомні спирти, деякі гуморальні регулятори – інсулін, адренкортикотропний гормон, глюкагон, вазопресин, ангіотензин, окситоцин, кальцитонін, ліпофусцин (внутрішньоклітинні комплекси ліпідів і білків), атерогенні окиснені ліпопротеїни, деякі нуклеотиди, олігосахариди, вітаміни та інші, при цьому

80 % з них є продуктами порушеного білкового обміну та деструкції тканин [242].

При дослідженні показників ендогенної інтоксикації в плазмі крові щурів встановлено вірогідно вищі значення речовин низької і середньої молекулярної маси (РНіСММ) у 2 дослідній групі у діапазоні довжин хвиль 242 нм – на 60,9 %, 254 нм – на 91,7 % та 282 нм – на 53,2 % стосовно контролю, відповідно у 3 групі ці показники перевищували контрольні значення на 134,8 %, 137,5 % та 93,6 %. Варто відмітити, що показники ендогенної інтоксикації при комбінованій дії харчових добавок були вірогідно вищі стосовно окремого застосування карагінану (у плазмі крові фракція речовин, що має максимум поглинання 242 нм – на 95,7 %, 254 нм – 93,8 % та 282 нм – на 63,8 %) та натрію глутамату (відповідно на 73,9 %, 48,5 % та 40,4 %),

При дослідженні показників ендогенної інтоксикації глікокаліксі еритроцитів щурів встановлено вірогідно вищі значення РНіСММ у 2 дослідній групі у діапазоні довжин хвиль 242 нм – на 96,8 %, 254 нм – на 38,3 % та 282 нм – на 58,5 % стосовно контролю, відповідно у 3 групі ці показники перевищували контрольні значення на 129,0 %, 71,3 % та 87,8 %. Варто відмітити, що показники ендогенної інтоксикації при комбінованій дії харчових добавок були вірогідно вищі стосовно окремого застосування карагінану (у плазмі крові фракція речовин, що має максимум поглинання 242 нм – на 83,9 %, 254 нм – 45,7 % та 282 нм – на 51,2 %) та натрію глутамату (відповідно на 32,3 %, 33,0 % та 29,3 %).

При дослідженні показників ендогенної інтоксикації в сечі щурів не встановлено вірогідних змін РНіСММ у дослідних групах у діапазоні довжин хвиль 238 нм, 254 нм та 282 нм стосовно контролю.

Аналіз розрахункових коефіцієнтів вказує на те, зростання ендогенної інтоксикації при застосуванні харчових добавок окремо або при їх поєднанні, відбувається, в основному, за рахунок катаболічного пулу

РНіСММ плазми: у 1 групі катаболічний пул РНіСММ був вищий на 38,3 %, у 2 групі – на 76,5 % і в 3-й – на 124,2 % стосовно контролю ($p < 0,01$). При цьому інтенсивність катаболічних процесів статистично значимо не відрізнялася в дослідних групах і в контрольній.

Показник розподілу РНіСММ між білками плазми крові і глікокаліксом еритроцитів у щурів 3-ї дослідної групи був вищий на 11,6 % поруч з високими значеннями досліджуваних фракцій молекул при довжинах хвиль 242, 254 і 280 нм у суспензії еритроцитів. Отримані результати вказують на зниження адсорбційних можливостей еритроцитів, особливо при поєднаному застосуванні харчових добавок.

Аналіз показника, що характеризує здатність нирок до виведення продуктів ендотоксикозу показав, що у всіх дослідних групах вірогідно знижується показник елімінації токсичних продуктів, зокрема, в 1 групі він нижчий на 26,6 %, у 2 групі на 33,2 %, у 3-й групі – на 48,7 % ($p < 0,01$). Варто зазначити, що при комбінованій дії харчових добавок показник елімінації токсичних продуктів був достовірно нижчий стосовно даних 2 (на 22,2 %) та 3 (на 15,5 %) дослідних груп ($p < 0,05$).

Дослідження показують, що за умов застосування MSG у нирках виникають зміни, зокрема, MSG може спричинити зміни цитоархітектури нирки, підвищити гіперклітинність клубочків, інфільтрацію запальних клітин у корі нирки, набряк трубчастих клітин і, зрештою, дегенерацію ниркових каналців [129, 263, 272]. Хоча інфільтрація запальних клітин вказує на патологію, точна патофізіологія до кінця не вивчена. Клітинна дисфункція розглядається як важлива причина подальшого розвитку більшості морфологічних змін, незалежно від механізмів токсичної дії MSG на нирки [149]. Згідно з результатами нашого дослідження, монодія MSG, а також у поєднанні з карагінаном проявляється розвитком оксидативного стресу з поліорганністю уражень, порушенням детоксикаційної функції печінки, накопиченням продуктів розпаду ліпідів та білків. Отримані нами

результати свідчать про порушення процесів елімінації продуктів ендотоксикозу за умови комбінованій дії харчових добавок внаслідок їх надмірного утворення в тканинах організму, що підтверджується вірогідно вищими значеннями РНіСММ у плазмі крові та на глікокаліксі еритроцитів щурів.

Підсумовуючи отримані результати, а також наявні літературні дані можна стверджувати, що після всмоктування MSG рецептори глутамата, α -кетоглутаратдегідрогеназа та цистин-глутаматний антипортер є основними причинами пошкодження різних тканин [273, 274]. Метаболізм MSG викликає активацію процесів вільнорадикального окиснення, накопичення ендогенних продуктів і зниження рівня основних антиоксидантних ензимів [275], що запускає механізми, які направлені на клітинну загибель.

Багато досліджень показали існування глутаматної системи, включаючи метаботропні (mGlu) та іонотропні глутаматні рецептори та транспортери в різних тканинах [276, 277], в тому числі в легенях і печінці. Активація рецепторів дає можливість виробляти в клітинах внутрішньоклітинні хвилі Ca^{2+} , що активує багато реакцій, які відіграють основну роль у диференціації та рості клітин [278, 279]. Таким чином, наявність надлишку глутамату через споживання MSG викликає сильну активацію глутаматних рецепторів. З іншого боку, коли Ca^{2+} в клітині збільшується або велика кількість кальцію потрапляє в органели, такі як ендоплазматична сітка, ядро та мітохондрії, кальцій-залежні ферменти, такі як протеази та ендонуклеази (каспази), стають активними та забезпечують апоптоз [280].

Мітохондрії – це спеціальні органели для генерації клітинного АТФ за допомогою системи транспорту електронів і секвестра внутрішньоклітинних Ca^{2+} . Оскільки надмірне накопичення іонів кальцію в мітохондріях роз'єднує передачу електронів для синтезу АТФ, а враховуючи, що порушення енергетичного метаболізму збільшує утворення вільних

радикалів, мітохондрії вірогідно пов'язані між підвищенням Ca^{2+} та токсичністю глутамату [280]. Ключова роль мітохондрій в ексайтотоксичності була підкреслена детермінованим впливом мітохондріальної функції на рішення між апоптотичною або некротичною загибеллю клітин і захисною дією трансформуючих факторів росту, імовірно, завдяки посиленню мітохондріальної енергії [281].

При дослідженні показників системи мітохондріального транспорту електронів у тканинах легень та печінки встановлено вірогідно нижчі значення сукцинатдегідрогеназної активності та цитохромоксидазної активності за умови застосування натрію глутамату та при його комбінації з карагінаном стосовно контролю ($p < 0,05$). При цьому показники системи мітохондріального транспорту електронів при комбінованій дії харчових добавок були вірогідно нижчі стосовно окремого застосування карагану та натрію глутамату у тканинах легень та печінки ($p < 0,05$). Варто відмітити дані інших досліджень, які зазначають, що саме клітинний енергодефіцит зумовлює компенсаторну активацію нейроендокринних та імунних медіаторів, що з часом веде до формування патологічних станів [282, 283].

Враховуючи те, що КФ є маркерним ензимом стабільності лізосом, нами було проаналізовано її активність в тканинах щурів при комбінованій дії харчових добавок. Встановлено вірогідно вищу активність КФ у 1 дослідній групі у сироватці крові (на 26,50 %), а також в печінці (на 35,70 %) і легенях (на 22,50 %) щурів, стосовно контролю. У тварин 2 групи активність КФ також була вірогідно вища у сироватці крові (на 36,80 %), а також в печінці (на 30,40 %) і легенях (на 57,40 %) щурів, стосовно контролю. Варто відмітити найвищі значення активності КФ у тварин 3 дослідної групи, які були вірогідно вищі у сироватці крові (на 90,20 %), а також в печінці (на 69,60 %) і легенях (на 82,20 %) щурів, стосовно контролю. При цьому, комбіноване застосування харчових добавок в

експерименті характеризувалось вірогідно вищими значення активності КФ відносно даних у печінці тварин 1 (на 33,90 %) і 2 (на 39,20 %) дослідних груп, а також відповідно у легенях на 59,70 % та 24,80 %, а також у сироватці крові на 63,70 % і 53,40 %.

При співставленні маркерів лізосомального пошкодження встановлено найвищі значення активності КФ та катепсину В за умови комбінованої дії к-карагінану та натрію глютамату. Також виявлено найнижчі значення досліджуваних показників в легенях щурів при застосуванні карагінану, тоді як у групі, де застосовували натрію глютамату в експерименті, встановлені найвищі значення маркерів лізосомального пошкодження в легенях.

За умови комбінованої дії розчинів к-карагінану та натрій глютамату вірогідно підвищується активність кислої фосфатази та катепсину В у сироватці крові (на 90,2 % та 97,7 %), печінці (на 69,6 % та 52,1 %) і легенях (на 82,2 % та 83,1 %) щурів відносно контролю, що також статистично значимо вище проти значень цих показників при окремому застосуванні к-карагінану, а також натрію глютамату.

При встановленні взаємозв'язків між показниками лізосомального пошкодження у щурів при окремому застосуванні к-карагінану, натрію глютамату та їх поєднанні встановлено вірогідні прямі зв'язки між рівнем кислої фосфатази в печінці та легенях, а також між рівнем катепсину В в печінці та легенях у 2 та 3 дослідних групах, що вказує на взаємозалежність даних змін в досліджуваних тканинах організму

При аналізі взаємозв'язків між показниками лізосомального пошкодження і пероксидного окиснення у щурів при окремому застосуванні к-карагінану, натрію глютамату та їх поєднанні встановлено вірогідні прямі зв'язки між рівнем кислої фосфатази, катепсину В у легенях тварин, яким вводили натрію глютамат (2 група) та комбінацію к-карагінану та натрію глютамату (3 група), а також між рівнем показників лізосомального

пошкодження та концентрацією ТБК-АП в крові тварин 3 дослідної групи ($p < 0,05$). Це вказує на те, що за умови застосування натрію глютамату або ж при комбінації його з к-карагінаном розвиваються деструктивні процеси, викликані продуктами оксидативного стресу, в результаті чого порушується стабільність лізосомальних мембран з виходом гідролітичних ензимів – катепсинів і кислій фосфатази. Вірогідна залежність встановлена в легенях і крові.

Отримані нами результати свідчать про підвищення активності показників лізосомального пошкодження (активність кислій фосфатази та катепсину В) в сироватці крові, печінці і легенях щурів у всіх дослідних групах стосовно контролю. Оскільки досліджувані параметри є непрямими маркерами апоптозу, вважаємо, що у поєднанні з активацією білкової і ліпідної пероксидації, комбінована дії к-карагінану та натрію глютамату супроводжується підвищеною апоптичною загибеллю. При цьому встановлена вірогідна взаємозалежність між рівнем показників лізосомального пошкодження та ТБК-АП в легенях і крові тварин при комбінованій дії харчових добавок.

Для підтвердження нашої гіпотези щодо зростання апоптотичної загибелі клітин за умови комбінованого застосування к-карагінану та натрію глютамату, нами було проведено визначення відсотку живих лейкоцитів крові, а також лейкоцитів з ранніми та пізніми ознаками апоптозу, а також з ознаками некрозу.

Встановлено вірогідно вищий відсоток лейкоцитів з ранніми ознаками апоптозу у 1 (на 50,70 %), 2 (на 83,40 %) та 3 дослідних групах (на 120,00 %) стосовно контролю. Варто зазначити, що у всіх дослідних групах відносно контрольних значень зростав також відсоток лейкоцитів з пізніми ознаками апоптозу, зокрема, у 1 (на 100,00 %), 2 (на 141,51 %) та 3 дослідних групах (на 296,23 %). Аналіз відсотку лейкоцитів з ознаками некрозу показав, що в 1 і 2 дослідних групах їх рівень зростав однаково (на

33,33 %), тоді як в 3 дослідній групі цей показник перевищував на 110,67 % дані контролю.

При співставленні досліджуваних показників клітинної загибелі лейкоцитів за умови застосування карагінану, натрію глютамату та їх комбінації встановлено що у всіх дослідних групах найбільше зростання спостерігалось стосовно пізнього апоптозу, який є незворотним. При цьому найбільших змін зазнавали досліджувані показники за умови комбінованої дії харчових добавок, тоді як найменші – за умови дії к-карагінану.

При аналізі взаємозв'язків між показниками лізосомального пошкодження, пероксидного окиснення та показниками клітинної загибелі лейкоцитів крові у щурів при окремому застосуванні к-карагінану, натрію глютамату та їх поєднанні встановлено вірогідні прямі зв'язки між концентрацією ТБК-АП, а також активністю кислій фосфатази та відсотком лейкоцитів з пізніми ознаками апоптозу в тварин 2 дослідної групи. Також зафіксовано вірогідні прямі зв'язки між відсотком лейкоцитів з ранніми та пізніми ознаками апоптозу та показниками лізосомального пошкодження і пероксидного окиснення в 3 дослідній групі при комбінованому застосуванні харчових добавок.

Отримані результати вказують на вірогідно вищий відсоток лейкоцитів з ранніми й пізніми ознаками апоптозу, а також з ознаками некрозу у всіх дослідних групах стосовно контролю, при цьому найбільших змін зазнають досліджувані показники за умови комбінованої дії харчових добавок, відповідно, на 120,0 %, 296,2 % та 110,7 % ($p < 0,001$).

Отримані дані вказують на те, що при комбінованої дії харчових добавок зростають продукти ПОЛ, володіючи мембранодеструктивними властивостями, порушують функціонування мембрано-зв'язаних ензимних комплексів, що веде до ініціації апоптичної загибелі. Варто також відмітити

встановлену роль оксидативних процесів та лізосомального пошкодження у механізмах ініціації апоптозу, що має пошкоджуючий вплив на тканини легень і печінки.

Узагальнюючи механізми токсичної дії MSG та карагінану на основі власних даних та літературних джерел встановлено, що споживання досліджуваних харчових добавок має місцеву дію. MSG активує черевні та шлункові гілки блукаючого нерва, коли знаходиться в шлунково-кишковому тракті, викликаючи активацію лімбічних, гіпоталамусових, острівцевих і ядерних, а також солітарних шляхів [284]. В умовах нормального травлення внаслідок кислотного гідролізу караганан розщеплюється на низько- і високомолекулярні частинки, які запускають вільнорадикальні процеси.

Досліджувані харчові добавки можуть значно підвищувати печінкові ензими, завдяки цитотоксичному ефекту MSG, що призводить до пошкодження клітин печінки та каналців та вивільнення цих ферментів у кровообіг [285]. Більше того, токсичність MSG створюють іони амонію, які викликають токсичність печінки через утворення АФК, які реагують з поліненасиченими жирними кислотами, що містяться в клітинних мембранах, що спричиняє погіршення плазмових і мітохондріальних мембран із вивільненням печінкових ферментів [286] шляхом збереження структурної цілісності клітинної мембрани печінки або регенерації пошкоджених клітин печінки [287]. Токсична дія карагану, на нашу думку, пов'язана з активацією макрофагів як джерела активних форм кисню й цитокінів (фактору некрозу пухлин – альфа й інтерлейкіну-6).

Пероральне застосування досліджуваних харчових добавок призводить до збільшення маркерів оксидативного стресу внаслідок вичерпання антиоксидантних резервів і накопичення продуктів ліпідної і білкової пероксидації в результаті утворення АФК. Підвищені рівні ТБК-АП і моно оксиду нітрогену зумовлюють труднощі у транспортуванні глутамату через клітинну мембрану, що ініціює ПОЛ і змінює окиснювальню-

відновний стан клітини [288], що призводить до пошкодження мембрани [289].

Результати нашого дослідження підтверджують активацію апоптотичних процесів, що, на думку дослідників [290], пов'язане з індукцією припливу Ca^{2+} і руйнуванням потенціалу внутрішньої мітохондріальної мембрани, що призводить до нерегульованої проникності мітохондріальних пор для апоптотичних маркерів [291].

Представлені результати досліджень розширюють існуючі уявлення про патогенетичні механізми при експериментальному застосуванні глутамату натрію, карагінану та їх комбінації та є теоретичним підґрунтям для подальшого дослідження у цій галузі.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено нове, науково-обґрунтоване теоретичне узагальнення та здійснено розв'язання актуального завдання, яке полягало у встановленні особливостей метаболічних процесів у легенях і печінці експериментальних тварин при комбінованому застосуванні розчинів к-карагінану й натрій глутамату.

1. Комбіноване застосування розчину к-карагінану та натрію глутамату має негативний вплив на гемопоез, що проявляється статистично значимим зниженням показників еритроцитів і гемоглобіну ($p < 0,05$) та підвищенням концентрації еритропоєтину (на 32,1 %) стосовно контролю.

2. Комбіноване застосування розчину к-карагінану та натрію глутамату зумовлює активацію вільнорадикального окиснення, що проявляється статистично значимим підвищенням рівня продуктів пероксидного окиснення ліпідів у сироватці крові, легенях і печінці, та зниження активності ензимів антиоксидантної системи захисту в легенях і печінці. При цьому виявляється негативний взаємозв'язок між показниками пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) й ензимами антиоксидантної системи в тканинах печінки, а також між каталазою активністю та досліджуваними продуктами ПОЛ у легенях.

3. За умови комбінованої дії розчинів к-карагінану та натрій глутамату вірогідно підвищується спонтанна окиснювальна модифікація протеїнів стосовно контролю та окремої дії харчових добавок, що супроводжується виснаженням резервно-адаптаційного потенціалу в крові, легенях і печінці, відповідно, на 33,4 %, 32,9 % і 24,0 % ($p < 0,01$).

4. Порушення процесів елімінації продуктів ендотоксикозу за умови комбінованої дії харчових добавок внаслідок їх надмірного утворення в тканинах організму підтверджується вірогідно вищими значеннями РНіСММ у плазмі крові та на глікокаліксі еритроцитів щурів.

5. У тканинах легень та печінки вірогідно нижчі значення сукцинатдегідрогеназної активності та цитохромоксидазної активності за умови застосування натрію глютамату та при його комбінації з карагінаном стосовно контролю ($p < 0,05$). При цьому показники системи мітохондріального транспорту електронів при комбінованій дії харчових добавок вірогідно нижчі стосовно окремого застосування карагану та натрію глютамату у тканинах легень та печінки ($p < 0,05$).

6. Активність показників лізосомального пошкодження (активність кислої фосфатази та катепсину В) підвищується в сироватці крові, печінці і легнях щурів у всіх дослідних групах стосовно контролю. При цьому встановлена вірогідна взаємозалежність між рівнем показників лізосомального пошкодження та ТБК-активними продуктами в легнях і крові тварин при комбінованій дії харчових добавок.

7. Як при окремій дії харчових добавок, так і при їх поєднанні виявляється вірогідно вищий відсоток лейкоцитів з ранніми й пізніми ознаками апоптозу, а також з ознаками некрозу стосовно контролю, при цьому найбільших змін зазнають досліджувані показники за умови комбінованої дії харчових добавок, відповідно, на 120,0 %, 296,2 % та 110,7 % ($p < 0,001$).

8. На рівень клітинної загибелі лейкоцитів крові за умови застосування глютамату натрію впливають оксидативні процеси й лізосомальне пошкодження (V^+/PI^+ – ТБК-АП: $r=0,47$; $p=0,03$; V^+/PI^+ – кисла фосфатаза: $r=0,49$; $p=0,02$), тоді як при комбінованій дії харчових добавок концентрація ТБК-АП й активність кислої фосфатази впливає як на апоптотичну, так і некротичну загибель лейкоцитів крові ($p < 0,05$).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Mahindru S. N. Food Additives: Characteristics, Detection and estimation. New Delhi : APH Publishing Corporation, 2009. 350 p.
2. Carrageenans-Sulfated Polysaccharides from Red Seaweeds as Matrices for the Inclusion of Echinochrome / I. M. Yermak, N. P. Mischchenko, V. N. Davydova et al. *Mar. Drugs*. 2017. Vol. 15, № 337. URL: pdfs.semanticscholar.org/a362/ea5f488b1351b7073ace53d9327a34916d33.pdf
3. Structural characteristics of carrageenan gels: Temperature and concentrations dependence / Y. Yuguchi, T. T. Thu Thuy, H. Urakawa, K. Kajiwara. *Food Hydrocolloids*. 2002. Vol. 16, № 6. P. 515–522.
4. List of substances scheduled for evaluation and request for data. *85th JECFA* (Geneva – Switzerland, 24 October – 2 November 2017). URL: <http://www.fao.org/3/a-bq692e.pdf>.
5. Pathological study on the effect of some food additives in male albino rats / A. N. A. AL-Sharkawy, M. S. Gab-Allah, A.-B. I. El-Mashad, D. F. Khater. *Benha Veterinary Medical Journal*. 2017. Vol. 33, № 2. P. 75–87.
6. Simple and inexpensive flow L-glutamate determination using pumpkin tissue / N. J. Arruda, J. L. Filho, M. C. Montenegro et al. *J. Agricul. and Food Chemistry*. 2003. Vol. 51. P. 6945–6948.
7. Orexin astimulates hypothalamic- pituitv- adrenal (HPA) axis function, but not food intake in the absence of full hypothalamic NPY- ergic activity / G. Moreno, M. Perello, R. C. Gaillardand, E. Spine. *Endocrine*. 2005. Vol. 26, № 2. P. 99–106.
8. Аналіз потенціалу системи глутатіону у щурів з аліментарним ожирінням / М. І. Марущак, О. П. Мялюк, У. П. Гевко та ін. *Медична та клінічна хімія*. 2017. Т. 19, № 2. С. 60–65.

9. A comparative study on the effects of excessive consumption of ginger, clove, red pepper and black pepper on the histology of the Kidney / A. O. Nwaopara, M. A. C. Odike, U. Inegbenebor et al. *Pak. J. Nutr.* 2008. Vol. 7, № 2. P. 287–291.
10. Soliman A. M. Extract of *coelatura aegyptiaca*, a freshwater clam, ameliorates hepatic oxidative stress induced by monosodium glutamate in rats. *African J. of Pharmacy and Pharmacology*. 2010. Vol. 5, № 3. P. 398–408.
11. The Toxic Impact of Monosodium Glutamate in Rats / I. Krynytska, M. Marushchak, L. Naumova, L. Mazur. *Jordan Medical Journal*. 2019. Vol. 53, № 2. P. 91–101.
12. Бевзо В. В. Дослідження токсикодинаміки глутамату натрію на організм щурів за умов тривалого його введення. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2016. Т. XV, № 2 (56), ч. 2. С. 13–16.
13. Модуляторні ефекти глутамату натрію на функції циркулюючих фагоцитарних клітин щурів *in vivo* та *in vitro* / М. П. Рудик, В. В. Позур, Є. В. Опейда та ін. *Доповіді Національної академії наук України*. 2017. № 5. С. 89–97.
14. Розвиток оксидативного стресу в тканинах слинних залоз щурів за умов глутаматіндукованого ожиріння / Л. П. Гордієнко, Т. В. Берегова, К. С. Непорада, Т. М. Фалалєєва. *Фізіологічний журнал*. 2014. Т. 60, № 4. С. 105–107.
15. Бевзо В. В. Супероксиддисмутаза, каталаза й загальна антиоксидантна активності крові та печінки щурів за дії глутамату натрію. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2017. № 1. С. 12–16.
16. Effect of Treatment With Msg on Growth, Satiety and Epididymal Adiposity in Neonatal Rats / L. C. Lemos, J. A. Pochapski, A. Raczenski et al. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2013. Vol. 3, № 01. P. 021–025.

17. Ginger and propolis exert neuroprotective effects against monosodium glutamate-induced neurotoxicity in rats / U. K. Hussein, N. E.-H. Hassan, M. E. Elhalwagy et al. *Molecules*. 2017. Vol. 22, № 11. P. 1928.

18. Protective Effect of *Calendula officinalis* L. Flowers Against Monosodium Glutamate Induced Oxidative Stress and Excitotoxic Brain Damage in Rats / B. D. Shivasharan, P. Nagakannan, P. S. Thippeswamy, V. P. Veerapur. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2013. Vol. 28, № 3. P. 292–298.

19. Effect of monosodium glutamate on behavioral phenotypes, biomarkers of oxidative stress in brain tissues and liver enzymes in mice / S. Umukoro, G. Oluwafemi Oluwole, H. Egbewunmi Olamijowon et al. *World Journal of Neuroscience*. 2015. Vol. 5, № 5. P. 339–349.

20. Копаниця О. М., Марущак М. І., Щербатий А. А. Метаболічні процеси у стінці тонкої кишки, серці й печінці при експериментальному застосуванні карагінану. *Медична та клінічна хімія*. 2017. Т. 19, № 3 (72). С. 108–113.

21. The indices of endogenous intoxication in rats with carrageenan solution consumption / I. Krynytska, M. Marushchak, O. Svan et al. *Georgian medical news*. 2018. № 279. P. 196–200.

22. Weiner M. L. Food additive carrageenan: Part II: A critical review of carrageenan in vivo safety studies. *Crit. Rev. Toxicol.* 2014. Vol. 44, № 3. P. 244–269.

23. Tobacman J. K. The common food additive carrageenan and the alpha-gal epitope. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015. Vol. 136, № 6. P. 1708–1709.

24. Johari N. S. C., Aizad S., Zubairi S. I. Efficacy study of carrageenan as an alternative infused material (filler) in poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Porous 3D Scaffold. *International Journal of Polymer Science*. 2017. Vol. 2017. ID 5029194.

25. Revisiting the carrageenan controversy: do we really understand the digestive fate and safety of carrageenan in our foods? / S. David, C. S. Levi, L. Fahoum et al. *Food Funct.* 2018. Vol. 9, № 3. P. 1344–1352.

26. Kukk M., Torres D. Risk assessment related to food additives and food processing-derived chemical contaminants exposure for the Portuguese population. *EFSA Journal.* 2020. Vol. 18. P. e181110.

27. Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives / European Union. Strasburg : 2008. URL: [https://eur-](https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:354:0016:0033:en:PDF)

[lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:354:0016:0033:en:PDF](https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:354:0016:0033:en:PDF)

28. Смоляр В. І. Токсичні ефекти харчових добавок. *Проблеми харчування.* 2005. № 1. С. 5–15.

29. Закон України «Про безпечність та якість харчових продуктів. URL: https://zakononline.com.ua/documents/show/198223___570498.

30. Про Національний план дій на 2013 рік щодо впровадження Програми економічних реформ на 2010–2014 роки «Заможне суспільство, конкурентоспроможна економіка, ефективна держава» : Указ Президента України від 12.03.2013 № 128/2013 / Верховна Рада України. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/128/2013#Text>.

31. Commission Regulation (EU) No 257/2010 of 25 March 2010 setting up a programme for the re-evaluation of approved food additives in accordance with Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council on food additives / European Union. Strasburg : 2010. URL: [https://eur-](https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:080:0019:0027:EN:PDF)

[lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:080:0019:0027:EN:PDF](https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:080:0019:0027:EN:PDF).

32. Кошкалда І. В. Актуальні питання продовольчого забезпечення. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія «Економіка і менеджмент».* 2017. № 4 (71). С. 207–212.

33. Helal E. G. E., El-Sayed R. A. A., Hedeab G. M. Effects of some food additives on some biochemical parameters in young male albino rats and the ameliorative role of royal jelly. *Egypt. J. Hosp. Med.* 2017. Vol. 67. P. 605–613.

34. Stanska K., Krzeski A. The umami taste: From discovery to clinical use. *Otolaryngologia Polska.* 2016. Vol. 70, № 4. P. 10–15.

35. An analysis of 5'-inosine and 5'-guanosine monophosphate taste in rats / T. C. Wifall, T. M. Faes, C. C. Taylor-Burds et al. *Chemical Senses.* 2007. Vol. 32, № 2. P. 161–172.

36. Kurihara K. Umami the fifth basic taste: History of studies on receptor mechanisms and role as a food flavor. *BioMed Research International.* 2015. Vol. 2015. P. 189402.

37. Kochem M., Breslin P. A. Clofibrate inhibits the umami-savory taste of glutamate. *PLoS One.* 2017. Vol. 12, № 3. P. e0172534.

38. Genetic and molecular basis of individual differences in human umami taste perception / N. Shigemura, S. Shirosaki, K. Sanematsu et al. *PLoS One.* 2009. Vol. 4, № 8. P. e6717.

39. Masic U., Yeomans M. R. Does acute or habitual protein deprivation influence liking for monosodium glutamate? *Physiology & Behavior.* 2017. Vol. 171. P. 79–86.

40. Conn H. «Umami»: The fifth basic taste. *Food Science.* 1992. Vol. 92, № 2. P. 21–23.

41. Rubemamine and rubescenamine, two naturally occurring n-cinnamoyl phenethylamines with umami-taste-modulating properties / M. Backes, K. Obst, J. Bojahr et al. *J. Agric. Food Chem.* 2015. Vol. 63, № 39. P. 8694–704.

42. Sharma E., Joshi R., Gulati A. l-Theanine: An astounding sui generis integrant in tea. *Food Chemistry.* 2018. Vol. 242. P. 601–610.

43. Turkozu D., Sanlier N. L-theanine, unique amino acid of tea, and its metabolism, health effects, and safety. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2017. Vol. 57, № 8. P. 1681–1687.

44. The beneficial health effects of green tea amino acid l-theanine in animal models: Promises and prospects for human trials / J. Williams, D. Sergi, A. J. McKune et al. *Phytotherapy Research*. 2019. Vol. 33, № 3. P. 571–583.

45. Novel umami ingredients: Umami peptides and their taste / Y. Zhang, C. Venkitasamy, Z. Pan et al. *Journal of Food Science*. 2016. Vol. 82, № 1. P. 16–23.

46. Niaz K., Zaplatic E., Spoor J. Extensive use of monosodium glutamate: A threat to public health? *EXCLI J*. 2018. Vol. 17. P. 273–278.

47. Aramesh M., Ajoudanifar H. Alkaline protease producing *Bacillus* isolation and identification from Iran. *Banat's Journal of Biotechnology*. 2017. Vol. 8, № 16. P. 140–147

48. In vitro bioassay investigations of suspected obesogen monosodium glutamate at the level of nuclear receptor binding and steroidogenesis / M. Shannon, J. Wilson, Y. Xie et al. *Toxicology letters*. 2019. Vol. 301. P. 11–16.

49. Investigation of the induced antibiosis resistance by zinc element in different cultivars of sugar beet to long snout weevil, *Lixus incanescens* (Col: Curculionidae) / F. Hariri Moghadam, J. Khalghani, S. Moharramipour et al. *Banat's Journal of Biotechnology*. 2018. Vol. 9, № 17. P. 5–12.

50. Characterization of the quality of the steamed yoghurts enriched by dates flesh and date powder variety H'loua / A. Hariri, N. Ouis, D. Bouhadi et al. *Banat's Journal of Biotechnology*. 2018. Vol. 9, № 17. P. 31–39.

51. Roberts A., Lynch B., Rietjens I. M. C. M. Risk Assessment Paradigm for Glutamate. *Ann. Nutr. Metab*. 2018. Vol. 73, Suppl. 5. P. 53–64.

52. Effect of administration routes of monosodium glutamate on plasma glutamate levels in infant, weanling and adult mice / Y. O'Hara, S. Iwata, M. Ichimura, M. Sasaoka. *J. Toxicol. Sci.* 1977. Vol. 2, № 3. P. 281–290.

53. Comparative metabolism of glutamate in the mouse, monkey, and man / L. D. Stegink, W. A. Reynolds, L. J. Filer et al. *Glutamic Acid: Advances in Biochemistry and Physiology* ; L. J. Jr. Filer et al., editors. New York : Raven Press, 1979. P. 85–102.

54. Stegink L. D., Filer L. J., Baker G. L. Plasma amino acid concentrations in normal adults fed meals with added monosodium L-glutamate and aspartame. *J. Nutr.* 1983. Vol. 113, № 9. P. 1851–1860.

55. Stegink L. D., Filer L. J., Jr, Baker G. L. Effect of carbohydrate on plasma and erythrocyte glutamate levels in humans ingesting large doses of monosodium l-glutamate in water. *Am. J. Clin. Nutr.* 1983. Vol. 37, № 6. P. 961–968.

56. Stegink L. D., Filer L. J., Jr, Baker G. L. Plasma glutamate concentrations in adult subjects ingesting monosodium L-glutamate in consomme. *Am. J. Clin. Nutr.* 1985. Vol. 42, № 2. P. 220–225.

57. Metabolism and functions of L-glutamate in the epithelial cells of the small and large intestines / F. Blachier, C. Boutry, C. Bos, D. Tomé. *Am. J. Clin. Nutr.* 2009. Vol. 90, № 3. P. 814S–821S.

58. Food intake regulation: amino acid toxicity and changes in rat brain and plasma amino acids / Y. Peng, J. Gubin, A. E. Harper et al. *J. Nutr.* 1973. Vol. 103, № 4. P. 608–617.

59. Airoidi L., Garattini S. Glutamic-acid and sodium-levels in the nucleus arcuatus of the hypothalamus of adult and infant guinea-pigs after oral monosodium glutamate. *Toxicol. Lett.* 1979. Vol. 4, № 4. P. 313–316.

60. Plasma and brain levels of glutamate and pyroglutamate after oral monosodium glutamate to rats / S. Caccia, S. Garattini, P. Ghezzi, M. G. Zanini. *Toxicol. Lett.* 1982. Vol. 10, № 2–3. P. 169–175.

61. Tung T. C., Tung K. S. Serum free amino-acid levels after oral glutamate intake in infant and adult humans. *Nutr. Rep. Intern.* 1980. Vol. 22. P. 431–443.

62. Blood and brain levels of glutamic acid in young rats given MSG / J. M. McLaughlan, F. J. Noel, H. G. Botting, J. E. Knipfel. *Nutr. Rep. Int.* 1970. Vol. 1. P. 131–138.

63. Effect of oral monosodium glutamate on glutamic acid levels in the nucleus arcuatus of the hypothalamus and on serum osmolality of adult and infant mice / L. Airoidi, M. Bonfanti, P. Ghezzi et al. *Toxicol Lett.* 1980. Vol. 7, № 2. P. 107–111.

64. Stegink L. D., Filer L. J., Jr, Baker G. L. Monosodium glutamate metabolism in the neonatal pig: effect of load on plasma, brain, muscle and spinal fluid free amino acid levels. *J. Nutr.* 1973. Vol. 103, № 8. P. 1138–1145.

65. Monosodium glutamate neurotoxicity, hyperosmolarity, and blood-brain barrier dysfunction / A. McCall, B. S. Glaeser, W. Millington, R. J. Wurtman. *Neurobehav Toxicol.* 1979. Vol. 1, № 4. P. 279–283.

66. Bogdanov M. B., Tjurmina O. A., Wurtman R. J. Consumption of a high dietary dose of monosodium glutamate fails to affect extracellular glutamate levels in the hypothalamic arcuate nucleus of adult rats. *Brain Res.* 1996. Vol. 736, № 1–2. P. 76–81.

67. Consensus meeting: monosodium glutamate – an update / K. Beyreuther, H. K. Biesalski, J. D. Fernstrom et al. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2007. Vol. 61, № 3. P. 304–313.

68. A survey of the monosodium glutamate content of foods and an estimation of the dietary intake of monosodium glutamate / J. Rhodes, A. C. Titherley, J. A. Norman et al. *Food Addit. Contam.* 1991. Vol. 8, № 5. P. 663–672.

69. Lee E. H., Lee D. I. A study of intake of monosodium glutamate in Korea. *Korean J. Environ. Health Soc.* 1986. Vol. 12. P. 75–85.

70. Unaeze H. N. Consumer knowledge attitude and practice towards the use of monosodium glutamate and food grade bouillon cubes as dietary constituents. *Pak. J. Nutr.* 2010. Vol. 9, № 1. P. 76–80.

71. Brosnan J. T., Drewnowski A., Friedman M. I. Is there a relationship between dietary MSG and obesity in animals? *Amino Acids.* 2014. Vol. 46, № 9. P. 2075–2087.

72. Maluly H. D. B., Ariseto-Bragotto A. P., Reyes F. G. R. Monosodium glutamate as a tool to reduce sodium in foodstuffs: technological and safety aspects. *Food Sci. Nutr.* 2017. Vol. 5, № 6. P. 1039–1048.

73. Allen D. H., Baker G. Chinese restaurant asthma. *New Eng. J. Med.* 1981. Vol. 305. P. 1154–1155.

74. The monosodium glutamate symptom complex: assessment in a double blind placebo controlled randomized study / W. H. Yang, M. A. Drouin, M. Herbert et al. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1997. Vol. 99, № 6 (Pt. 1). P. 757–762.

75. Review of alleged reaction to monosodium glutamate and outcome of a multicenter double blind placebo controlled study / R. S. Geha, A. Beiser, C. Ren et al. *J. Nutr.* 2000. Vol. 130 (4S Suppl.). P. 1058S–1062S.

76. Fast food based hyper-alimentation can induce rapid and profound elevation of serum alanine aminotransferase in healthy subjects / S. Kechagias, A. Ermersson, O. Dahlqvist et al. *Gut.* 2008. Vol. 57, № 5. P. 649–654.

77. Therapeutic neuroprotective agents for amyotrophic lateral sclerosis / R. S. Pandya, H. Zhu, W. Li et al. *Cell Mol. Life Sci.* 2013. Vol. 70, № 24. P. 4729–4745.

78. Chijioke C. P., Chijioke O. U., Okolo T. Personalized diet for psoriasis: side benefit on blood pressure and metabolic parameters. *J. Hypertens.* 2012. Vol. 30 (e-suppl. 1). P. 158.

79. Monosodium glutamate consumption is associated with urolithiasis and urinary tract obstruction in rats / A. Sharma, V. Prasongwattana, U. Cha'on et al. *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8, № 9. P. e75546.

80. Proteomic analysis of kidney in rats chronically exposed to monosodium glutamate / A. Sharma, C. Wongkham, V. Prasongwattana et al. *PLoS ONE*. 2014. Vol. 9, № 12. P. e116233.

81. Nutritoxigenetics of psoriasis: a ten year online case diary of dietary challenge and avoidance effects on chronic disease phenotype / C. P. Chijioke, U. O. Chijioke, T. Okolo, E. Ekwe. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2014. Vol. 115 (Suppl. 1). P. 361.

82. Nutritoxigenetics of hypertension: efficacy of a personalized categorical food avoidance dietary approach / C. Chijioke, O. Chijioke, T. Okolo et al. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2014. Vol. 115 (Suppl. 1). P. 361.

83. Case study of essential hypertension: efficacy of an antipsoriatic dietary approach / C. P. Chijioke, U. O. Chijioke, T. Okolo et al. *J. Hypertens.* 2014. Vol. 32 (e-suppl. 1). P. 660.

84. Cohen S. M., Ito N. A Critical Review of the Toxicological Effects of Carrageenan and Processed Eucheuma Seaweed on the Gastrointestinal Tract. *Crit. Rev. Toxicol.* 2002. Vol. 32, № 5. P. 413–444.

85. Мартинов С. В., Маренкова Т. І. Застосування каппа-карагінану у складі харчових продуктів. *Матеріали наук. конф. студентів Сумського НАУ*, 17–19 лист. 2015 р. Суми, 2015. Т. III. С. 182.

86. US Food and Drug Administration. 2018. Database of inactive ingredients in approved drugs: Carrageenan. Accessed April 04, 2021. URL: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/getiigWEB.cfm>.

87. Carrageenan and its applications in drug delivery / L. Liang, N. Rui, Y. Shao, S. Mao. *Carbohydrate Polymers*. 2014. Vol. 103. P. 1–11.

88. Wijesekara I., Pangestuti R., Kim S. K. Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. *Carbohydrate Polymers*. 2011. Vol. 84, № 1. P. 14–21.

89. Yang L. Q., Zhang L. M. Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources. *Carbohydrate Polymers*. 2009. Vol. 76, № 3. P. 349–361.

90. Weiner M. L., McKim J. M., Blakemore W. Addendum to Weiner, M. L. (2016) Parameters and pitfalls to consider in the conduct of food additive research, carrageenan as a case study. *Food Chemical Toxicology* 87, 31–44. *Food and Chemical Toxicology*. 2017. Vol. 107 (Pt. A). P. 208–214.

91. Weiner M. L. Parameters and pitfalls to consider in the conduct of food additive research, carrageenan as a case study. *Food and Chemical Toxicology*. 2016. Vol. 87. P. 31–44.

92. McKim J. M. Food additive carrageenan: Part I: A critical review of carrageenan in vitro studies, potential pitfalls, and implications for human health and safety. *Critical Reviews in Toxicology*. 2014. Vol. 44, № 3. P. 211–243.

93. Corrigendum to “A study of orally-administered degraded carrageenan in the baboon”. [Food Cosmet. Toxicol. 8 (1970) 257-266] / I. A. Beattie, W. R. Blakemore, E. T. Dewar, M. H. Warwick. *Food and Chemical Toxicology*. 2015. Vol. 75. P. 1–190.

94. Reply to critique of "A randomized trial of the effects of the no-carrageenan diet on ulcerative colitis disease activity" / S. Bhattacharyya, H. Xie, A. Dodda et al. *Nutr Healthy Aging*. 2019. Vol. 5, № 2. P. 159–163.

95. Carrageenan: New studies reinforce link to inflammation, cancer, and diabetes. Updated report by the Cornucopia Institute. April, 2016. URL: <https://www.cornucopia.org/wp-content/uploads/2016/04/CarageenanReport-2016.pdf>.

96. Effects of carrageenan on cell permeability, cytotoxicity, and cytokine gene expression in human intestinal and hepatic cell lines /

J. M. McKim Jr., H. Baas, G. P. Rice et al. *Food and Chemical Toxicology*. 2016. Vol. 96. P. 1–10.

97. JECFA: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Safety evaluation of certain food additives. *WHO Food Additives Series 70* : Prepared by the Seventy-ninth Meeting of the JECFA. Geneva : World Health Organization, 2015. URL:

http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/171781/3/9789240693982_eng.pdf?ua1/41

98. Carrageenan: A Wonder Polymer from Marine Algae for Potential Drug Delivery Applications / D. Qureshi, S. K. Nayak, S. Maji et al. *Curr. Pharm. Des.* 2019. Vol. 25, № 11. P. 1172–1186.

99. Guan J., Li L., Mao S. Applications of Carrageenan in Advanced Drug Delivery. *Seaweed Polysaccharides* ; J. Venkatesan, S. Anil, S.-K. Kim, eds. Amsterdam : Elsevier, 2017. P. 283–303.

100. Carrageenan based hydrogels for drug delivery, tissue engineering and wound healing / R. Yegappan, V. Selvaprithiviraj, S. Amirthalingam, R. Jayakumar. *Carbohydr. Polym.* 2018. Vol. 198. P. 385–400.

101. Preparation and in vitro antioxidant activity of κ -carrageenan oligosaccharides and their oversulfated, acetylated, and phosphorylated derivatives / H. Yuan, W. Zhang, X. Li et al. *Carbohydr. Res.* 2005. Vol. 340, № 4. P. 685–692.

102. Degradation and antioxidant activity of κ -Carrageenans / T. Sun, H. Tao, J. Xie et al. *J. Appl. Polym. Sci.* 2010. Vol. 117, № 1. P. 194–199.

103. Gómez-Ordóñez E., Jiménez-Escrig A., Rupérez P. Bioactivity of sulfated polysaccharides from the edible red seaweed *Mastocarpus stellatus*. *Bioact. Carbohydr. Diet. Fibre.* 2014. Vol. 3, № 1. P. 29–40.

104. Antiherpetic and anticoagulant properties of carrageenans from the red seaweed *Gigartina skottsbergii* and their cyclized derivatives:

Correlation between structure and biological activity / M. J. Carlucci, C. A. Pujol, M. Ciancia et al. *Int. J. Biol. Macromol.* 1997. Vol. 20, № 2. P. 97–105.

105. Carlucci M. J., Scolaro L. A., Damonte E. B. Inhibitory Action of Natural Carrageenans on Herpes simplex Virus Infection of Mouse Astrocytes. *Chemotherapy.* 1999. Vol. 45, № 6. P. 429–436.

106. Carrageenan Is a Potent Inhibitor of Papillomavirus Infection / C. B. Buck, C. D. Thompson, J. N. Roberts et al. *PLoS Pathog.* 2006. Vol. 2, № 7. P. e69.

107. Iota-Carrageenan is a potent inhibitor of rhinovirus infection / A. Grassauer, R. Weinmuellner, C. Meier et al. *Viol. J.* 2008. Vol. 5, № 1. P. 107.

108. Effects of iota-carrageenan on ocular Chlamydia trachomatis infection in vitro and in vivo / A. Inic-Kanada, E. Stein, M. Stojanovic et al. *J. Appl. Phycol.* 2018. Vol. 30, № 4. P. 2601–2610.

109. Blood cholesterol and lipid-lowering effects of carrageenan on human volunteers / L. N. Panlasigui, O. Q. Baello, J. M. Dimatangal, B. D. Dumelod. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 2003. Vol. 12, № 2. P. 209–214.

110. In vivo antitumor and immunomodulation activities of different molecular weight lambda-carrageenans from *Chondrus ocellatus* / G. Zhou, Y. P. Sun, H. Xin et al. *Pharmacol. Res.* 2004. Vol. 50, № 1. P. 47–53.

111. Immunomodulation and antitumor activity of κ -carrageenan oligosaccharides / H. Yuan, J. Song, X. Li et al. *Cancer Lett.* 2006. Vol. 243, № 2. P. 228–234.

112. Components of the Cultivated Red Seaweed *Chondrus crispus* Enhance the Immune Response of *Caenorhabditis elegans* to *Pseudomonas aeruginosa* through the pmk-1, daf-2/daf-16, and skn-1 Pathways / J. Liu, J. Hafting, A. T. Critchley, et al. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013. Vol. 79, № 23. P. 7343–7350.

113. Freeman M. Reconsidering the effects of monosodium glutamate: a literature review. *J. Am. Acad. Nurse Pract.* 2006. Vol. 18, № 10. P. 482–486.
114. Quercetin ameliorates glucose and lipid metabolism and improves antioxidant status in postnatally monosodium glutamate induced metabolic alterations / F. R. F. Seiva, L. G. A. Chuffa, C. P. Braga et al. *Food Chem. Toxicol.* 2012. Vol. 50, № 10. P. 3556–3561.
115. Genetic variants of glutamate receptor gene family in Taiwanese Kawasaki disease children with coronary artery aneurysms / Y. J. Lin, J. S. Chang, X Liu et al. *Cell Biosci.* 2014. Vol. 4, № 1. P. 67.
116. Mattson M. P. Glutamate and Neurotrophic Factors in Neuronal Plasticity and Disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2008. Vol. 1144. P. 97–112.
117. Interactive Effects of Neonatal Exposure to Monosodium Glutamate and Aspartame on Glucose Homeostasis / K. S. Collison, N. J. Makhoul, M. Z. Zaidi et al. *Nutr. Metab. (Lond.)*. 2012. Vol. 9, № 1. P. 58.
118. Meldrum B. S. Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. *J. Nutr.* 2000. Vol. 130, № 4. P. 1007S–1015S.
119. Chakraborty S. P. Patho-physiological and toxicological aspects of monosodium glutamate. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 2019. Vol. 29, № 6. P. 389–396.
120. Nelson L. R., Bulun S. E. Estrogen production and action. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2001. Vol. 45, № 3. P. 116–124.
121. Toxicological Effect of Monosodium Glutamate in Seasonings on Human Health / A. I. Airaodion, E. O. Ogbuagu, E. U. Osemwowa et al. *Glob. J. Nutri. Food Sci.* 2019. Vol. 1, № 5. URL: <https://irispublishers.com/gjnfs/pdf/GJNFS.MS.ID.000522.pdf>.

122. Zhou Y., Danbolt N. C. Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. *J. Neural. Transm.* 2014. Vol. 121, № 8. P. 799–817.
123. Kumar P., Bhandari U. Protective effect of *Trigonella foenum-graecum* Linn. on monosodium glutamate-induced dyslipidemia and oxidative stress in rats. *Indian J. Pharmacol.* 2013. Vol. 45, № 2. P. 136–140.
124. A preliminary experimental study on the cardiac toxicity of glutamate and the role of α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor in rats / Y. Liu, L. Zhou, H. F. Xu et al. *Chin. Med. J. (Engl.)*. 2013. Vol. 126, № 7. P. 1323–1332.
125. Monosodium glutamate (MSG) intake is associated with the prevalence of metabolic syndrome in a rural Thai population / T. Insawang, C. Selmi, U. Cha'on et al. *Hammock BD Nutr. Metab. (Lond.)*. 2012. Vol. 9, № 1. P. 50.
126. Monosodium glutamate is not associated with obesity or a greater prevalence of weight gain over 5 years: findings from the Jiangsu Nutrition Study of Chinese adults / Z. Shi, N. D. Luscombe-Marsh, G. A. Wittert et al. *Br. J. Nutr.* 2010. Vol. 104, № 3. P. 457–463.
127. Eweka A., Igbigbi P., Ucheya R. Histochemical studies of the effects of monosodium glutamate on the liver of adult wistar rats. *Ann. Med. Health Sci. Res.* 2011. Vol. 1, № 1. P. 21–29.
128. El-Meghawry El-Kenawy A., Osman H. E., Daghestani M. H. The effect of vitamin C administration on monosodium glutamate induced liver injury. An experimental study. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2012. Vol. 65, № 5. P. 513–521.
129. Protective effects of alpha-tocopherol against oxidative stress related to nephrotoxicity by monosodium glutamate in rats / M. V. Paul, M. Abhilash, M. V. Varghese et al. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 2012. Vol. 22, № 8. P. 625–630.

130. Serological and histological examination of a nonalcoholic steatohepatitis mouse model created via the administration of monosodium glutamate / A. Takai, K. Kikuchi, Y. Kajiyama et al. *International Scholarly Research Notices*. 2014. Vol. 2014. P. 725351.
131. A dietary restriction influences the progression but not the initiation of MSG-Induced nonalcoholic steatohepatitis / M. Fujimoto, K. Tsuneyama, Y. Nakanishi et al. *Journal of Medicinal Food*. 2014. Vol. 17, № 3. P. 374–383.
132. Hepatotoxic effects of low dose oral administration of monosodium glutamate in male albino rats / A. C. C. Egbunu, O. Obidoa, C. A. Ezeokonkwo et al. *African Journal of Biotechnology*. 2009. Vol. 8, № 13. P. 3031–3035.
133. Bhattacharya T., Bhakta A., Ghosh S. K. Long term effect of monosodium glutamate in liver of albino mice after neonatal exposure. *Nepal Medical College Journal*. 2011. Vol. 13, № 1. P. 11–16.
134. Effects of Monosodium Glutamate on the Liver of Male Adult Albino Rat and the Possible Protective Role of Vitamin C (Light and Electron Microscopic Study) / M. A. Dosuky, D. A. Zaghlol, S. M. Ouies, H. A. Abdel-Naeim. *Med. J. Cairo Univ*. 2018. Vol. 86, № 7. P. 3407–3418.
135. Cheville N.F.: Ultrastructural pathology: The comparative cellular basis of disease. 2nd ed. Wiley-Blackwell. A John Wiley of Sons. Inc. USA., 2009. 1000 p.
136. Monosodium glutamate-induced damage in liver and kidney: A morphological and biochemical approach / G. G. Ortiz, O. K. Bitzer-Quintero, C. Beaszarate et al. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2006. Vol. 60, № 2. P. 86–91.
137. A review of the alleged health hazards of monosodium glutamate / A. Zangfirescu, A. Ungurianu, A.M. Tsatsakis. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf*. 2019. Vol. 18, № 4. P. 1111–1134.

138. Hepatoprotective effect of n-acetyl cysteine and/or β -carotene on monosodium glutamate induced toxicity in rats / Y. Hazar, A. Nayira, B. Abdel et al. *Research Journal of Medicine and Medical Science*. 2008. Vol. 3, № 2. P. 206–215.
139. Role of melatonin and vitamin C in ameliorating monosodium glutamate induced oxidative stress and morphological changes in rats / A. H. Abduh Al-Yafei, A.-A. B. Mahmoud, B. M. H. Khidr, G. H. Abdel-Sabour Elsokkary. *Msc thesis department of zoology, faculty of science*. Assiut University, 2010. URL: http://www.aun.edu.eg/thesis_files/4082.pdf
140. Effects of a saturated fat and high cholesterol diet on memory and hippocampal morphology in the middle-aged rat / A. C. Granholm, H. A. Bimonte-Nelson, A. B. Moore et al. *J. Alzheimers Dis*. 2008. Vol. 14, № 2. P. 133–145.
141. The changes of activity of effector caspase cascade components in case of alimentary obesity in rats / M. Marushchak, I. Krynytska, L. Milevska et al. *Bangladesh Journal of Medical Science*. 2017. Vol. 16, № 2. P. 252–258.
142. Type II Diabetes Mellitus in Obese Mous Model Induced by Monosodium Glutamate / M. Nagata, W. Suzuki, S. Iizuka, et al. *Experimental Animals*. 2006. Vol. 55, № 2. P. 109–115.
143. Elevated AT1 Receptor Protein but Lower Angiotensin II-Binding in Adipose Tissue of Rats with Monosodium Glutamate-Induced Obesity / L. Pinterova, B. Zelezna, M. Fickova et al. *Hormone and Metabolic Research*. 2001. Vol. 33, № 12. P. 708–712.
144. Effects of Monosodium Glutamate-Induced Obesity in Spontaneously Hypertensive Rats Vs. Wistar Kyoto Rats: Serum Leptin and Blood Flow to Brown Adipose Tissue / M. Iwase, K. Ichikawa, K. Tashiro et al. *Hypertension Research*. 2000. Vol. 23, № 5. P. 503–510.

145. Toxicity of hypercaloric diet and monosodium glutamate: Oxidative stress and metabolic shifting in hepatic tissue / Y. S. Diniz, L. A. Fernandes, K. E. Campos, F. Mani. *Food and Chemical Toxicology*. 2004. Vol. 42, № 2. P. 313–319.
146. Krynytska I., Marushchak M., Rutska A. Gender-specific differences of oxidative processes in the population of circulating neutrophils of rats in a setting of prolonged administration of monosodium glutamate. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases*. 2019. Vol. 26, № 2. P. 119–127.
147. Lutz T. A., Woods S. C. Overview of animal models of obesity. *Current Protocols in Pharmacology*. Chapter: Unit5.61. 2012. doi: 10.1002/0471141755.ph0561s58.
148. Руцька А. В., Гецько Н. В., Криницька І. Я. Токсичний вплив глутамату натрію на живий організм. *Медична та клінічна хімія*. 2017. Т. 19, № 1, С. 119–127.
149. Sharma A. Monosodium glutamate-induced oxidative kidney damage and possible mechanisms: a mini-review. *Journal of Biomedical Science*. 2015. Vol. 22. P. 93.
150. Positive and negative regulation of insulin signaling by reactive oxygen and nitrogen species / N. Bashan, J. Kovsan, I. Kachko et al. *Physiol. Rev*. 2009. Vol. 89, № 1. P. 27–71.
151. Rapid reaction oxygen species production by mitochondria in endothelial cells exposed to tumor necrosis factor-alpha is mediated by ceramide / S. Corda, C. Laplace, E. Vicaut, J. Duranteau. *Am. J. Repair. Cell Mol. Biol*. 2001. Vol. 24, № 6. P. 762–768.
152. Natural products as safeguards against monosodium glutamate-induced toxicity/ M. M. Hajjhasani, V. Soheili, M. R. Zirak. *Iran J. Basic Med. Sci*. 2020. Vol. 23, № 4. P. 416–430.

153. Stankiewicz A., Skrzydlewska E., Makiela M. Effects of amifostine on liver oxidative stress caused by cyclophosphamide administration to rats. *Drug Metabol. Drug Interact.* 2002. Vol. 19, № 2. P. 67–82.
154. Adverse effects in kidney function, antioxidant systems and histopathology in rats receiving monosodium glutamate diet / M. del Carmen Contini, A. Fabro, N. Millen et al. *Experimental and Toxicologic Pathology.* 2017. Vol. 69, № 7. P. 547–556.
155. Maha A. Reproductive Functions of Progesterone. *Journal of Middle East Fertility Society.* 2007. Vol. 12, № 3. P. 1–6.
156. Wang R. S., Yeh C., Tzeng C. C. Androgen receptor roles in spermatogenesis and fertility: Lessons from testicular cell specific androgen receptor knockout mice. *Endocr. Rev.* 2009. Vol. 30, № 2. P. 119–132.
157. Nosseir N. S., Ali M. H. M., Ebaid H. M. A histological and morphometric study of monosodium glutamate toxic effect on testicular structure and potentiality of recovery in adult albino rats. *Research Journal of Biological Sciences.* 2012. Vol. 2, № 2. P. 66–78.
158. Eweka A., Om'iniabohs F. Histological studies of the effects of monosodium glutamate on the ovaries of adult wistar rats. *Annals of Medical and Health Science Research.* 2011. Vol. 1, № 1. P. 37–43.
159. Eweka A. O., Eweka A., Om'iniabohs F. A. Histological studies of the effects of monosodium glutamate of the fallopian tubes of adult female Wistar rats. *North American Journal of Medicine and Science.* 2010. Vol. 2, № 3. P. 146–149.
160. Das R. S., Ghosh S. K. Long-term effects in ovaries of the adult mice following exposure to monosodium glutamate during neonatal life – a histological study. *Nepal Medical College Journal.* 2011. Vol. 13, № 2. P. 77–83.
161. Das R. S., Ghosh S. K. Long-term effects of monosodium glutamate on spermatogenesis following neonatal exposure in albino mice – a

histological study. *Nepal Medical College Journal*. 2011. Vol. 12, № 3. P. 149–153.

162. Potent protection of ferulic acid against excitotoxic effects of maternal intragastric administration of monosodium glutamate at a late stage of pregnancy on developing mouse fetal brain / L. Yu, Y. Zhang, R. Ma et al. *European Neuropsychopharmacology*. 2006. Vol. 16, № 3. P. 170–177.

163. Alvarez J. I., Katayama T., Prat A. Glial influence on the blood brain barrier. *Glia*. 2013. Vol. 61. P. 1939–1958.

164. Effects of oral monosodium glutamate in mouse models of asthma / J. Yoneda, K. Chin, K. Torii, R. Sakai. *Food Chem. Toxicol.* 2011. Vol. 49, № 1. P. 299–304.

165. Monosodium Glutamate Intake, Dietary Patterns and Asthma in Chinese Adults / Z. Shi, B. Yuan, G. A. Wittert et al. *PLoS ONE*. 2012. Vol. 7, № 12. P. e51567.

166. Said S. I. Glutamate Toxicity in Lung and Airway Disease. *Glutamate Receptors in Peripheral Tissue: Excitatory Transmission Outside the CNS* ; S. Gill, O. Pulido (eds). Boston : Springer, MA, 2005. P. 191–196.

167. Stevenson D. D. Monosodium glutamate and asthma. *J. Nutr.* 2000. Vol. 130, № 4. P. 1067–1073.

168. Sakr A. A. Light and electron microscopic studies on lung and myocardium of the mice fetuses maternally treated with monosodium glutamate and role of vitamin E against toxicity. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 2004. Vol. 15, № 1. P. 95–117.

169. Effect of systemic monosodium glutamate (MSG) on headache and pericranial muscle sensitivity / L. Baad-Hansen, B. Cairns, M. Ernberg, P. Svensson *Cephalalgia*. 2010. Vol. 30, № 1. P. 68–76.

170. Finocchi C., Sivori G. Food as trigger and aggravating factor of migraine. *Neurol. Sci.* 2012. Vol. 33, Suppl. 1. P. S77–80.

171. Taheri S. Effect of exclusion of frequently consumed dietary triggers in a cohort of children with chronic primary headache. *Nutr. Health.* 2017. Vol. 23, № 1. P. 47–50.
172. Имуноотропные и антикоагулянтные свойства фукоидана из бурой водоросли *Fucus evanescens*: перспективы применения в медицине / Н. Н. Беседнова, Н. М. Шевченко, Т. П. Смолина и др. *Журнал микробиологии.* 2006. № 3. С. 54–58.
173. Кузнецова Т. А. Применение фукоидана из бурой водоросли *Fucus evanescens* для коррекции нарушения иммунитета и гемостаза на модели эндотоксемии. *Бюлл. эксп. биол. и мед.* 2009. Т. 147, № 1. С. 71–74.
174. Hypolipidemic effect of fucoidan from *Laminaria japonica* in hyperlipidemic rats / L. Huang, K. Wen, X. Gao et al. *Pharmaceutical Biology.* 2010. Vol. 48, № 4. P. 422–426.
175. Хотимченко М. Ю. Сорбционные свойства и фармакологическая активность некрахмальных полисахаридов : автореф. дисс. на соискание уч. степени д-ра биол. наук : спец. 14.03.06. Владивосток, 2011. 46 с.
176. Влияние иммуномодулятора фукоидана из бурой водоросли *Fucus evanescens* на показатели антиоксидантной системы, липидного и углеводного обмена у мышей / К. В. Майстровский, Т. С. Запорожец, Л. Н. Федянина и др. *Тихоокеан. мед. журн.* 2009. № 3. С. 97–99.
177. Chemical characterization and antioxidant activity of sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria birdiae* / W. S. S. Bartolomeu, M. A. Cerqueira, A. I. Bourbon et al. *Food Hydrocolloid.* 2012. Vol. 27, № 2. P. 287–292.
178. Abd El Baky H. H., El-Baroty G. S. Healthy benefit of microalgal bioactive substances. *J. Aquatic. Sci.* 2013. Vol. 1, № 1. P. 11–23.

179. Carboxymethyl-kappa-carrageenan: A study of biocompatibility, antioxidant and antibacterial activities / L. Y. C. Madruga, R. M. Sabino, E. C. G. Santos et al. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020. Vol. 152. P. 483–491.
180. Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds / M. C. Rocha de Souza, C. T. Marques, C. M. Guerra Dore et al. *J. Appl. Phycol.* 2007. Vol. 19, № 2. P. 153–160.
181. Structural characterization and bioactivities of sulfated polysaccharide from *Monostroma oxyspermum* / P. Seedeви, M. Moovendhan, S. Sudharsan et al. *Int. J. Biol. Macromol.* 2015 Vol. 72. P. 1459–1465.
182. Construction of a Biocompatible and Antioxidant Multilayer Coating by Layer-by-Layer Assembly of κ -Carrageenan and Quercetin Nanoparticles / M. P. Souza, A. F. M. Vaz, T. B. Costa et al. *Food Bioprocess Technol.* 2018. Vol. 11, № 3. P. 1050–1060.
183. In vitro antioxidant properties of red algal polysaccharides / E. V. Sokolova, A. O. Barabanova, R. N. Bogdanovich et al. *Biomed. Preven. Nut.* 2011. Vol. 1, № 3. P. 161–167.
184. Effect of (1→3)- and (1→4)-linkages of fully sulfated polysaccharides on their anticoagulant activity / A. Chaidedgumjorn, H. Toyoda, E. R. Woo et al. *Carbohydr. Res.* 2002. Vol. 337, № 10. P. 925–933.
185. Necas J., Bartosikova L. Carrageenan: A review. *Vet. Med. (Praha.)*. 2013. Vol. 58, № 4. P. 187–205.
186. In vivo growth-inhibition of S180 tumor by mixture of 5-Fu and low molecular λ -carrageenan from *Chondrus ocellatus* / G. Zhou, H. Xin, W. Sheng et al. *Pharmacol. Res.* 2005. Vol. 51, № 2. P. 153–157.
187. Anti-Cancer Activity of Porphyrin and Carrageenan from Red Seaweeds / Z. Liu, T. Gao, Y. Yang et al. *Molecules*. 2019. Vol. 24, № 23. P. 4286.

188. Haijin M., Xiaolu J., Huashi G. A κ -carrageenan derived oligosaccharide prepared by enzymatic degradation containing anti-tumor activity. *J. Appl. Phycol.* 2003. Vol. 15, № 4. P. 297–303.
189. Enhanced immunostimulatory and antitumor activity of different derivatives of κ -carrageenan oligosaccharides from *Kappaphycus striatum* / H. Yuan, J. Song, X. Li, et al. *J. Appl. Phycol.* 2011. Vol. 23, № 1. P. 59–65.
190. Pacheco-Quito E.-M., Ruiz-Caro R., Veiga M.-D. Carrageenan: Drug Delivery Systems and Other Biomedical Applications. *Marine Drugs.* 2020. Vol. 18, № 11. P. 583.
191. Protective Effect of Seaweed Extracts for Chicken Embryos Infected with Influenza B or Mumps Virus / P. Gerber, J. D. Dutcher, E. V. Adams, J. H. Sherman. *Exp. Biol. Med.* 1958. Vol. 99, № 3. P. 590–593.
192. Metabolites of Seaweeds as Potential Agents for the Prevention and Therapy of Influenza Infection / N. Besednova, T. Zaporozhets, T. Kuznetsova et al. *Mar. Drugs.* 2019. Vol. 17, № 6. P. 373.
193. Bichiri D., Rente A.R., Jesus Â. Safety and efficacy of iota-carrageenan nasal spray in treatment and prevention of the common cold. *Med. Pharm. Rep.* 2021. Vol. 94, № 1. P. 28–34.
194. Iota-carrageenan is a potent inhibitor of influenza A virus infection / A. Leibbrandt, C. Meier, M. König-Schuster et al. *PLoS One.* 2010. Vol. 5, № 12. P. e14320.
195. The intranasal application of zanamivir and carrageenan is synergistically active against influenza A virus in the murine model / M. Morokutti-Kurz, M. König-Schuster, C. Koller et al. *PLoS One.* 2015. Vol. 10, № 6. P. e0128794.
196. Sulfated polysaccharides are potent and selective inhibitors of various enveloped viruses, including herpes simplex virus, cytomegalovirus, vesicular stomatitis virus, and human immunodeficiency virus / M. Baba,

R. Snoeck, R. Pauwels, E. de Clercq. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1988. Vol. 32, № 11. P. 1742–1745.

197. Efficacy and safety of an antiviral Iota-Carrageenan nasal spray: a randomized, double-blind, placebo-controlled exploratory study in volunteers with early symptoms of the common cold / R. Eccles, C. Meier, M. Jawad et al. *Respir. Res.* 2010. Vol. 11, № 1. P. 108.

198. Efficacy of a carrageenan nasal spray in patients with common cold: a randomized controlled trial / M. Ludwig, E. Enzenhofer, S. Schneider et al. *Respir. Res.* 2013. Vol. 14. P. 124.

199. Efficacy and safety of iota-carrageenan nasal spray versus placebo in early treatment of the common cold in adults: the ICICC trial / R. Eccles, B. Winther, S. L. Johnston et al. *Respir. Res.* 2015. Vol. 16. P. 121.

200. Lessons learned from a double-blind randomised placebo-controlled study with a iota-carrageenan nasal spray as medical device in children with acute symptoms of common cold / T. Fazekas, P. Eickhoff, N. Pruckner et al. *BMC Complement. Altern. Med.* 2012. Vol. 12. P. 147.

201. Carrageenan nasal spray in virus confirmed common cold: individual patient data analysis of two randomized controlled trials / M. Koenighofer, T. Lion, A. Bodenteich et al. *Multidiscip. Respir. Med.* 2014. Vol. 9, № 1. P. 57.

202. Frediansyah A. The antiviral activity of iota-, kappa-, and lambda-carrageenan against COVID-19: A critical review. *Clinical Epidemiology and Global Health.* 2021. Vol. 12. P. 100826.

203. Thermoreversible behavior of κ -carrageenan and its apatite-forming ability in simulated body fluid / I. Y. Kim, R. Iwatsuki, K. Kikuta et al. *Mater. Sci. Eng. C.* 2011. Vol. 31, № 7. P. 1472–1476.

204. Synthesis and characterization of porous κ -carrageenan/calcium phosphate nanocomposite scaffolds / A. L. Daniel-Da-

Silva, A. B. Lopes, A. M. Gil, R. N. Correia. *J. Mater. Sci.* 2007. Vol. 42, № 20. P. 8581–8591.

205. A novel composite of collagen-hydroxyapatite/kappa-carrageenan / W. Feng, S. Feng, K. Tang et al. *J. Alloys Compd.* 2017. Vol. 693. P. 482–489.

206. Изучение *in vitro* и *ex vivo* антиоксидантной активности каррагинанов – сульфатированных полисахаридов красных водорослей / Е. В. Соколова, А. О. Барабанова, В. А. Хоменко и др. *Бюлл. эксп. биол. и мед.* 2010. № 10. С. 398–401.

207. Krynytska I., Marushchak M. The indices of nitric oxide system in rats with carrageenan-induced enterocolitis combined with diabetes mellitus. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases.* 2018. Vol. 25, № 3. P. 283–288.

208. A 90-day dietary study on kappa carrageenan with emphasis on the gastrointestinal tract / M.L. Weiner, D. Nuber, W.R. Blakemore et al. *Food Chem. Toxicol.* 2007. Vol. 45, № 1. P. 98–106.

209. Ткаченко А. С., Горбач Т. В., Пономаренко О. М. Особливості білкового спектра і цитокінового складу сироватки крові щурів при хронічному карагенан-індукованому інтестинальному запаленні. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2014. № 1 (14). С. 73–75.

210. Damage and regeneration of small intestinal enterocytes under the influence of carrageenan induces chronic enteritis / G. I. Gubina-Vakyulyk, T. V. Gorbach, A. S. Tkachenko et al. *Comparative Clinical Pathology.* 2015. Vol. 24, № 6. P. 1473–1477.

211. Bhattacharyya S., Dudeja P. K., Tobacman J. K. Carrageenan-induced NF kappa B activation depends on distinct pathways mediated by reactive oxygen species and Hsp27 or by Bcl10. *Biochim. Biophys. Acta.* 2008. Vol. 1780, № 7–8. P. 973–982.

212. Денисенко Н., Федевич Ю., Скляр О. Особливості активності NO-синтази у слизовій оболонці товстої кишки щурів за умов введення гідрогенсульфіду натрію на тлі коліту. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2016. Вип. 73. С. 359.
213. Пероксидне окиснення білків стінки тонкої кишки, міокарда та печінки щурів при експериментальному застосуванні карагінану / М. І. Марущак, О. М. Копаниця, І. Я. Криницька та ін. *Медична та клінічна хімія*. 2017. Т. 19, № 4 (73). С. 109–114.
214. Digestive fate of dietary carrageenan: Evidence of interference with digestive proteolysis and disruption of gut epithelial function / L. Fahoum, A. Moscovici, S. David et al. *Mol Nutr Food Res*. 2017. Vol. 61, № 3. doi: 10.1002/mnfr.201600545.
215. Копаниця О. М., Ліснянська Н. В., Бучко П. І. Особливості процесів вільнорадикального окиснення у тканинах організму в нормі й при застосуванні полісахаридів. *Вісник медичних і біологічних досліджень*. 2020. № 1. С. 67–73.
216. Іваненко Т. О., Коробчанський В. О., Губіна-Вакулик Г. І., Горбач Т. В., Колоусова Н. Г. Спосіб моделювання хронічного гастроентероколіту : пат. 97322 Україна, МПК G09B 23/28. № a201014510 ; заявл. 06.12.2010; опубл. 25.01.2012, Бюл. № 2.
217. Moyana T. N., Lalonde J. M. Carrageenan-induced intestinal injury in the rat – a model for inflammatory bowel disease. *Ann. Clin. Lab. Sci*. 1990. Vol. 20, № 6. P. 420–426.
218. Влияние глипролинов на структурно–функциональное состояние слизистой оболочки желудка и массу тела крыс в условиях длительного введения глутамата натрия / Т. М. Фалалеева, Г. Е. Самонина, Т. В. Береговая и др. *Фізика живого*. 2010. Т. 18, № 1. С. 154–159.
219. Резніков О. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. *Ендокринологія*. 2003. № 8 (1). С. 142–145.

220. Досвядчинська М. Р., Антоняк Г. Л. Пероксидне окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ензимів у клітинах легень щурів за щодобового введення афлатоксину В1. *Біологія тварин*. 2012. Т. 14, № 1–2. С. 108–112.
221. Nishikimi N., Rao N. A., Iagi K. The occurrence of superoxide anion in the reduced phenazine methosulfate and zinc molecular oxygen. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1972. Vol. 46, № 2. P. 849–854.
222. Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия, деперсонализация) / Е. Е. Дубинина, М. Г. Морозова, Н. В. Леонова и др. *Вопр. мед. химии*. 2000. Т. 46, № 4. С. 398–409.
223. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowery, N. I. Rosebrough, A. L. Farr, R. I. Randall. *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193, № 1. P. 265–275.
224. Jones L. A., Holmes J. C., Seligman R. B. Spectrophotometric Studies of Some 2,4-Dinitrophenylhydrazones. *Analytical chemistry*. 1956. Vol. 28, № 2. P. 191–198.
225. Гаврилов В. Б., Мишкорудная М. И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови. *Лаб. дело*. 1983. № 3. С. 33–36.
226. Uchiyama M., Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.* 1978. Vol. 86, № 1. P. 271–278.
227. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале. *Лаб. дело*. 1985. № 11. С. 678–681.
228. Дудин В. И. Колориметрическое определение перекиси водорода при измерении активности каталазы в крови. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2008. № 2. С. 96–99.

229. Малахова М. Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме. *Эфферентная терапия*. 2000. № 4. С. 3–14.
230. Карякина Е. В., Белова С. В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2004. № 3. С. 3–8
231. Ещенко Н. Д., Вольский Г. Г. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы. *Методы биохимических исследований*. Л. : Изд-во Ленинградского университета, 1982. С. 207–210.
232. Кривченкова Р. С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий. *Современные методы в биохимии* ; под ред. В. Н. Ореховича. М. : Медицина, 1977. С. 47–49.
233. Barret A., Kirschke H. Cathepsins B, Cathepsins H, and Cathepsins L. *Methods in enzymology*. 1981. Vol. 80, part C. P 535–561.
234. Левицкий А. П., Макаренко О. А., Деньга О. В. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза : Метод. рекомендации. К. : ГФЦ, 2005. 30 с.
235. Apoptosis of neutrophils / N. A. Maianski, A. N. Maianski, T. W. Kuijpers, D. Roos. *Acta Haematol.* 2004. Vol. 111, № 1–2. P. 56–66.
236. Зінькевич Т., Лісовська В., Стасюк В. Застосування величини р-значення р-value при перевірці статистичних гіпотез. *Ринок цінних паперів України*. 2012. № 1–2. С. 89–94.
237. Шевелькова А. А., Вьюшина А. В. Окислительная модификация белков и содержание тиолов в крови при физиологически протекающей беременности. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2012. Т. LXI, № 4. С. 109–112.
238. Губский Ю. И. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических

состояниях (обзор литературы). *Современные проблемы токсикологии*. 2005. Т. 8, № 3. С. 20–27.

239. Дубинина Е. Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клиничко-биохимические аспекты. СПб. : Издательство «Медицинская пресса», 2006. 400 с.

240. Ведунова М. В., Сазанов А. И., Конторщикова К. Н. Влияние низких терапевтических доз озона на уровень окислительной модификации белков. *Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского*. 2010. № 2. С. 504–507.

241. Ergin V., Hariry R. E., Karasu Ç. Carbonyl Stress in Aging Process: Role of Vitamins and Phytochemicals as Redox Regulators. *Aging and Disease*. 2013. Vol. 4, № 5. P. 279–294.

242. Концентрація С-реактивного білка та молекул низької та середньої молекулярної маси у сироватці крові щурів за умов каррагінан-індукованого запалення та тривалого профілактичного введення хондроїтина сульфату / О. Блохіна, Л. Кот, Є. Торгалю, К. Дворщенко. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка*. 2019. № 1 (26). С. 17–21.

243. Buchko P., Krynyska I., Marushchak M. Combined effects of κ-carrageenan and monosodium glutamate food additives: effect on free radical oxidation. *Rom. J. Diabetes Nutr. Metab. Dis*. 2021. Vol. 28, № 2. P. 185–195.

244. Бучко П. І., Марущак М. І. Особливості окиснювальної модифікації протеїнів при комбінованій дії харчових добавок. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 4. С. 47–55.

245. Бучко П. І., Марущак М. І. Вплив комбінованої дії карагінану та натрію глутамату на показники гемопоезу. *Вісник медичних і біологічних досліджень*. 2020. № 4 (6). С. 15–19.

246. Бучко П. І. Показники гемопоезу при комбінованій дії карагінану та натрію глютамату в експерименті. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2021* : зб. тез доп. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів, 15–16 квітня 2021 р. Запоріжжя : ЗДМУ, 2021. С. 14–15.

247. The effect of monosodium glutamate on markers of endogenous intoxication in rats / P. I. Buchko, I. V. Birchenko, I. Ya. Krynytska, M. I. Marushchak. *Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм* : матеріали XI наук.-практ. конф. (з міжнар. участю), 04–05 жовтня 2018 р. Тернопіль, 2018. С. 45.

248. Особливості пероксидного окиснення ліпідів за умов комбінованого впливу карагінану і натрій глютамату / П. І. Бучко, Н. В. Ліснянська, О. М. Копаниця, М. І. Марущак. *Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм* : матеріали XII Всеукр. наук.-практ. конф., присв. Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О. Галицькі читання II, 29–30 жовтня 2020 р. Тернопіль, 2020. С. 18.

249. Rutska A. V., Krynytska I. Ya. The changes of bioenergetics processes in rats of different sex and age in case of tobacco smoke and monosodium glutamate affection. *International Journal of Medicine and Medical Research*. 2018. Vol. 2, № 4. P. 79–86.

250. Lysosomal labilization / A. Terman, T. Kurz, B. Gustafsson, U. T. Brunk. *IUBMB Life*. 2006. Vol. 58. P. 531–539.

251. Бучко П. І., Марущак М. І. Маркери лізосомального ушкодження за умови комбінованої дії к-карагінану та натрію глютамату в експерименті. *Медична та клінічна хімія*. 2021. Т. 23. № 2. С. 48–54.

252. Monosodium glutamate intake increases hemoglobin level over 5 years among Chinese adults / Z. Shi, B. Yuan, A. W. Taylor et al. *Amino Acids*. 2012. Vol. 43, № 3. P. 1389–1397.
253. Effect of monosodium glutamate on hematological parameters in Wistar rats / J. O. Ashaolu, V. O. Ukwanya, A. B. Okonoboh et al. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*. 2011. Vol. 3, № 6. P. 219–222.
254. Ibrahim O. M. S., Abdulhamza N. N., Abbass H. K. Some Hematological and Histological Impact of sub-acute exposure to Mono Sodium Glutamate in Mice. *Proceeding of the Eleventh Veterinary Scientific Conference*. 2012. P. 127–131.
255. Farmobi E. O., Onyema O. O. Monosodium glutamate-induced oxidative damage and genotoxicity in the rat: Modulatory role of vitamin C, vitamin E and quercetin. *Hum. Exp. Toxicol.* 2006. Vol. 25, № 5. P. 251–259.
256. Excitotoxicity in the Pathogenesis of Neurological and Psychiatric Disorders: Therapeutic Implications / J. Olloquequi, E. Cornejo-Córdova, E. Verdaguer et al. *J. Psychopharmacol.* 2018. Vol. 32, № 3. P. 265–275.
257. Binvignat O., Olloquequi J. Excitotoxicity as a Target against Neurodegenerative Processes. *Curr. Pharm. Des.* 2020. Vol. 26, № 12. P. 1251–1262.
258. Xenobiotics, Oxidative Stress, and Antioxidants / M. El-Demerdash Fatma, M. Tousson Ehab, J. Kurzepa, L. Habib Samy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018. Vol. 2018. P. 9758951.
259. Нетюхайло Л. Г., Харченко С. В. Активні форми кисню (огляд літератури). *Молодий вчений*. 2014. № 9. С. 131–135.
260. Pikas O. B. Diagnostic and prognostic value changes in indicators of blood lipid metabolism in patients with pulmonary tuberculosis.

Досягнення біології та медицини. 2015. Vol. 2, № 26. P. 48–52.

261. Onyema O. O., Alisi C. S., Ihetuge A. P. Monosodium Glutamate Induces Oxidative Stress and Affects Glucose Metabolism in the Kidney of Rats. *Int. J. Biochem. Res. Rev.* 2012. Vol. 2, № 1. P. 1–11.

262. Protective effects of alpha-tocopherol against oxidative stress related to nephrotoxicity by monosodium glutamate in rats / M. V. Paul, M. Abhilash, M. V. Varghese et al. *Toxicol. Mech. Methods*. 2012. Vol. 22, № 8. P. 625–630.

263. Thomas M., Sujatha K. S., George S. Protective effect of Piper longum Linn. on monosodium glutamate induced oxidative stress in rats. *Indian J. Exp. Biol.* 2009. Vol. 47, № 3. P. 186–192.

264. Hamza R. Z., Al-Harbi M. S. Monosodium glutamate induced testicular toxicity and the possible ameliorative role of vitamin E or selenium in male rats. *Toxicology Reports*. 2014. Vol. 1. P. 1037–1045.

265. Free radicals in patients with posttraumatic stress disorder / E. Tezcan, M. Atmaca, M. Kuloglu, B. Ustundag. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 2003. Vol. 253, № 2. P. 86–91.

266. Kumari S., Mehta S. L., Li P. A. Glutamate Induces Mitochondrial Dynamic Imbalance and Autophagy Activation: Preventive Effects of Selenium. *PLoS ONE*. 2012. Vol. 7, № 6. P. e39382.

267. The influence of monosodium glutamate administration on generation of reactive oxygen species and apoptosis of blood leukocytes in rats / D. Delibashvili, Z. Dumbadze, I. Krynytska et al. *Georgian medical news*. 2018. Vol. 10, № 283. P. 144–148.

268. Albrahim T., Binobead M. A. Roles of Moringa oleifera Leaf Extract in Improving the Impact of High Dietary Intake of Monosodium Glutamate-Induced Liver Toxicity, Oxidative Stress, Genotoxicity, DNA Damage, and PCNA Alterations in Male Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018. Vol. 2018. P. 4501097.

269. Belkhodja H., Belmimoun A., Meddah B. Chemical characterization of polyphenols extracted from different honeys. *Banat's Journal of Biotechnology*. 2017. Vol. 8, № 15. P. 78–82.
270. Марущак М. И., Лиснянская Н. В., Криницкая И. Я. Особенности окислительных процессов в стенке тонкой кишки при хроническом энтероколите на фоне экспериментального диабета. *АТЛ*. 2019. № 1. С. 102–106.
271. Moyana T., Lalonde J.-M. Carrageenan-induced Intestinal Injury: Possible Role of Oxygen Free Radicals. *Annals of clinical and laboratory science*. 2016. Vol. 21, №. 4. P. 258–263.
272. Ткаченко А. С., Гопкалов В. Г., Мартынова С. Н. Способ коррекции хронического каррагинан-индуцированного гастроэнтероколита витаминами-антиоксидантами. *Вісник проблем біології і медицини*. 2015. Вип. 3, т. 1 (122). С. 315–317.
273. Vorhees C. V. A Test of Dietary Monosodium Glutamate Developmental Neurotoxicity in Rats: A Reappraisal. *Ann. Nutr. Metab.* 2018. Vol. 73 (suppl. 5). P. 36–42.
274. Мялюк О. П. Стан вільнорадикального окиснення у тканинах печінки експериментальних щурів при аліментарному ожирінні. *Вісник проблем біології і медицини*. 2015. Вип. 4, т. 1 (124). С. 120–123.
275. Зинь А., Головчак Н., Санагурський Д. Окисна модифікація білків у зародках в'юна MISGURNUS FOSSILIS L. упродовж ембріогенезу за дії гіпохлориту натрію. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2013. Вип. 61. С. 11–19.
276. Марущак М. І. Роль активних форм кисню у розвитку і прогресуванні гострого ураження легень в експерименті. *Медична хімія*. 2012. Т. 14, № 1. С. 104–108.

277. To study the effect of monosodium glutamate on histomorphometry of cortex of kidney in adult albino rats / S. G. Dixit, P. Rani, A. Anand et al. *Ren. Fail.* 2014. Vol. 36, № 2. P. 266–270.

278. Walker R., Lupien J. R. The Safety Evaluation of Monosodium Glutamate. *The Journal of Nutrition.* 2000. Vol. 130, № 4. P. 1049S–1052S.

279. Hamza Reham Z., Al-Harbi Mohammad S. Monosodium glutamate induced testicular toxicity and the possible ameliorative role of vitamin E or selenium in male. *Biomed.* 2019. Vol. 17, № 4. P. 261–270.

280. Lalwani Aisha D. Monosodium glutamate induced testicular lesions in rats (histological study). *Middle East Fertility Society Journal.* 2014. Vol. 19, № 4. P. 274–280.

281. Analysis of DNA Fragmentation of Porcine Embryos Exposed to Cryoprotectants / F. Rajaei, N. W. K. Karja, B. Agung et al. *Reproduction in Domestic Animals.* 2005. Vol. 40, № 5. P. 429–432.

282. Apoptosis and necrosis: two distinct events induced, respectively, by mild and intense insults with N-methyl-d-aspartate or nitric oxide/superoxide in cortical cell cultures / E. Bonfoco, D. Krainc, M. Ankarcona et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. Vol. 92, № 16. P. 7162–7166.

283. Шляхи та механізми трансмембранного обміну Ca^{2+} в мітохондріях / О. В. Коломієць, Ю. В. Данилович, Г. В. Данилович, С. О. Костерін. *Фізіол. журн.* 2017. Т. 63, № 4. С. 87–104.

284. Функціональний стан мітохондрій за умов експериментального алергічного енцефаломієліту та його корекція вітамінами / Е. П. Пасічна, Г. В. Донченко, А. П. Бурлака, Н. В. Делеменчук. *Лабораторна діагностика.* 2012. № 3 (61). С. 23–30.

285. Husarova V., Ostatníková D. Monosodium glutamate toxic effects and their implications for human intake: A review. *JMED Res.* 2013. Vol. 2013. P. 1–12.

286. Ameliorative Effect of Graviola (*Annona muricata*) on Mono Sodium Glutamate-Induced Hepatic Injury in Rats: Antioxidant, Apoptotic, Anti-inflammatory, Lipogenesis Markers, and Histopathological Studies / M. Shukry, A. M. El-Shehawi, W. M. El-Kholy et al. *Animals (Basel)*. 2020. Vol. 10, № 11. P. 1996.

287. Tawfik M. S., Al-Badr N. Adverse effects of monosodium glutamate on liver and kidney functions in adult rats and potential protective effect of vitamins C and E. *Food Nutr. Sci.* 2012. Vol. 3. P. 651–659.

288. Hepatoprotective and antioxidant effect of *Pisonia aculeata* L. against CCl₄-induced hepatic damage in rats / M. G. Palanivel, B. Raj Kapoor, R. S. Kumar et al. *Sci. Pharm.* 2008. Vol. 76, № 2. P. 203–215.

289. The anti-inflammatory effect of erythropoietin and melatonin on renal ischemia reperfusion injury in male rats / N. A. Asl, S. Banaei, A. Alihemmati et al. *Adv. Pharm. Bull.* 2013. Vol. 4, № 1. P. 49–54.

290. Weinstein D. M., Mihm M. J., Bauer J. Cardiac peroxynitrite formation and left ventricular dysfunction following doxorubicin treatment in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2000. Vol. 294, № 1. P. 396–401.

291. Sarhan N. R. The ameliorating effect of sodium selenite on the histological changes and expression of caspase-3 in the testis of monosodium glutamate-treated rats: Light and electron microscopic study. *J. Microsc. Ultrastruct.* 2018. Vol. 6, № 2. P. 105–115.

ДОДАТОК А

Список опублікованих праць за темою дисертації

1. Бучко П. І., Марущак М. І. Особливості окиснювальної модифікації протеїнів при комбінованій дії харчових добавок. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 4. С. 47–55.
2. Копаниця О. М., Ліснянська Н. В., Бучко П. І. Особливості процесів вільнорадикального окиснення у тканинах організму в нормі й при застосуванні полісахаридів. *Вісник медичних і біологічних досліджень*. 2020. № 1. С. 67–73.
3. Бучко П. І., Марущак М. І. Вплив комбінованої дії карагінану та натрію глютамату на показники гемопоезу. *Вісник медичних і біологічних досліджень*. 2020. № 4 (6). С. 15–19.
4. Buchko P., Krynytska I., Marushchak M. Combined effects of κ-carrageenan and monosodium glutamate food additives: effect on free radical oxidation. *Rom. J. Diabetes Nutr. Metab. Dis.* 2021. Vol. 28, № 2. P. 185–195.
5. Бучко П. І., Марущак М. І. Маркери лізосомального ушкодження за умови комбінованої дії κ-карагінану та натрію глютамату в експерименті. *Медична та клінічна хімія*. 2021. Т. 23, № 2. С. 48–54.
6. The effect of monosodium glutamate on markers of endogenous intoxication in rats / P. I. Buchko, I. V. Birchenko, I. Ya. Krynytska, M. I. Marushchak. *Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм* : матеріали XI наук.-практ. конф. (з міжнар. участю), 04–05 жовтня 2018 р. Тернопіль, 2018. С. 45.
7. Особливості пероксидного окиснення ліпідів за умов комбінованого впливу карагінану і натрій глютамату / П. І. Бучко, Н. В. Ліснянська, О. М. Копаниця, М. І. Марущак. *Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм* : матеріали XII Всеукраїнської наук.-практ. конф., присв. Ювілейним датам засновників

кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О. Галицькі читання II, 29–30 жовтня 2020 року. Тернопіль, 2020. С. 18.

8. Бучко П. І. Показники гемопоезу при комбінованій дії карагінану та натрію глютамату в експерименті. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2021* : зб. тез доп. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів, 15–16 квітня 2021 р. Запоріжжя : ЗДМУ, 2021. С. 14–15.

ДОДАТОК Б

Відомості про апробацію результатів дисертації:

- XI науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (м. Тернопіль, 04–05 жовтня 2018 р.) *(усна доповідь і публікація)*;
- XII науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присвячена Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О. Галицькі читання II (м. Тернопіль, 29–30 жовтня 2020 р.) *(усна доповідь і публікація)*;
- науково-практична конференція з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2021» (м. Запоріжжя, 15–16 квітня 2021 р.) *(публікація)*.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної роботи
Української медичної стоматологічної академії
професор

Творник В.М.

« 03 »

2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив комбінованої дії харчових добавок на показники гемопоезу.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПП авторів:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України, кафедра функціональної і лабораторної діагностики, Бучко Петро Іванович.
3. **Джерело інформації:** Бучко П.І., Марущак М.І. Вплив комбінованої дії карагінану та натрію глютамату на показники гемопоезу. Вісник медичних і біологічних досліджень, 2020. № 4. С. 15–19.
4. **Базова установа, де впроваджено:** кафедра патофізіології Української медичної стоматологічної академії.
5. **Форма впровадження:** у навчальний процес – у матеріали лекцій і практичні заняття.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Бучка П.І. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів щодо негативного впливу на гемопоез розповсюджених харчових добавок карагінану та натрію глютамату.
7. **Термін впровадження:** січень – лютий 2021 р.
8. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.
9. **Обговорено та затверджено на засіданні кафедри:** протокол № 5 від 2 березня 2021 року.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патофізіології
Української медичної стоматологічної академії,
доктор медичних наук, професор

В.О. Костенко

ДОДАТОК В.1

ДОДАТОК В.2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор
науково-педагогічної роботи
Буковинського державного
медичного університету
доцент І.В. Геруш

„21” Квітень 2021 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального та наукового процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Особливості окиснювальної модифікації протеїнів при комбінованій дії харчових добавок.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПП авторів:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України, кафедра функціональної і лабораторної діагностики, Бучко Петро Іванович.
3. **Джерело інформації:** Бучко П.І., Марушак М.І. Особливості окиснювальної модифікації протеїнів при комбінованій дії харчових добавок. Медична та клінічна хімія. 2020; 4: 47–55.
4. **Базова установа, де впроваджено:** кафедра патологічної фізіології Буковинського державного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** у навчальний процес – у матеріали лекцій і практичні заняття.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Бучка П.І. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів щодо особливостей окиснювальної модифікації протеїнів в крові, легенях і печінці експериментальних тварин за умови комбінованої дії ксенобіотиків.
7. **Термін впровадження:** січень – квітень 2021 р.
8. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.
9. **Обговорено та затверджено на засіданні кафедри:** протокол № 15 від «20» 04 2021 р.

Відповідальний за впровадження
Завідувач кафедри патологічної фізіології
Буковинського державного
медичного університету
доктор медичних наук, професор


Ю.Є. Роговий

ДОДАТОК В.3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Івано-Франківського національного
медичного університету
доктор медичних наук,
професор І.І. Вакалюк

„15”

2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального та наукового процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Особливості окиснювальної модифікації протеїнів при комбінованій дії харчових добавок.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІП авторів:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України, кафедра функціональної і лабораторної діагностики, Бучко Петро Іванович.
3. **Джерело інформації:** Бучко П.І., Марущак М.І. Особливості окиснювальної модифікації протеїнів при комбінованій дії харчових добавок. Медична та клінічна хімія. 2020; 4: 47–55.
4. **Базова установа, де впроваджено:** кафедра патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** у навчальний процес – у матеріали лекцій і практичні заняття.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Бучка П.І. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів щодо особливостей окиснювальної модифікації протеїнів в крові, легенях і печінці експериментальних тварин за умови комбінованої дії ксенобіотиків.
7. **Термін впровадження:** 2021 р.
8. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження
Завідувач кафедри патологічної фізіології
Івано-Франківського національного
медичного університету
доктор медичних наук, професор



Л.М. Заяць

ДОДАТОК В.4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Тернопільського національного медичного
університету імені І.Я.Горбачевського МОЗ України
професор І.М. Кліщ



2021 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального та наукового процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Особливості вільнорадикального окиснення при комбінованій дії харчових добавок.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПП авторів:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України, кафедра функціональної і лабораторної діагностики, Бучко Петро Іванович
3. **Джерело інформації:** 1. Копаниця О. М., Ліснянська Н. В., Бучко П. І. Особливості процесів вільнорадикального окиснення у тканинах організму в нормі й при застосуванні полісахаридів. *Вісник медичних і біологічних досліджень*. 2020. № 1. С. 67–73.
2. Buchko P., Krynytska I., Marushchak M. Combined effects of κ-carrageenan and monosodium glutamate food additives: effect on free radical oxidation. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases*. 2021. Vol. 28, № 2. P. 185–195.
4. **Базова установа, де впроваджено:** кафедра патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я.Горбачевського МОЗ України.
5. **Форма впровадження:** у навчальний процес – у матеріали лекцій і практичні заняття.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Бучка П.І. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів щодо особливостей пер оксидного окиснення ліпідів та системи антиоксидантного захисту при комбінованій дії харчових добавок.
7. **Термін впровадження:** січень – вересень 2021 р.
8. **Зауваження і пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження
Завідувач кафедри патологічної фізіології
Тернопільського національного медичного
університету імені І.Я.Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор

О.В. Денефіль