



Залежність біохімічних параметрів слини від етіопатогенетичних варіантів ларингофарингеального рефлюксу у чоловіків молодого віку: одноцентрове крос-секційне спостережне дослідження

В. М. Кришталь^{ID A,B,C,D}, О. В. Ганчева^{ID C,E,F}

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – верифікація біохімічних показників слини (pH, NO_2^-/NOS , –SH-групи, білкові карбоніли – АФГ та КФГ) та показників варіабельності серцевого ритму (SDNN, SI, LF/HF, TP, ПАРС) залежно від етіопатогенетичних фенотипів ларингофарингеального рефлюксу (ЛФР) у чоловіків молодого віку.

Матеріали і методи. Здійснили одноцентрове поперечне порівняльне (крос-секційне) спостережне дослідження, фокусувалися на біохімічних показниках слини (pH, NO_2^-/NOS , –SH-групи, білкові карбоніли) та показниках варіабельності серцевого ритму (BCR) як інструментах фенотип-орієнтованої стратифікації. Сформовано 2 групи з чоловіків молодого віку: основна група (ОГ; n = 91) – з діагностованим ЛФР; контрольна група (КГ; n = 64) – умовно здорові без ознак ЛФР. Обстеження здійснено з липня 2024 до червня 2025 року.

Результати. У пацієнтів ОГ переважали симпатикотонія (28,6 %) та ваготонія (24,2 %), у 13,2 % осіб виявлено зрив регуляції як ознаку виснаження резервів, на відміну від КГ. Статистично значущих відмінностей між підгрупами за типом вегетативної регуляції (за показниками BCR) у КГ не виявлено, в ОГ зафіксовано значущі міжпідгрупові розбіжності біохімічних параметрів слини. Надалі аналіз здійснили у межах підгруп – ПГ1–ПГ5. У пацієнтів з ОГ виявлено достовірне підвищення pH слини, рівня –SH-груп, активності NO-синтази, вмісту NO_2^- , білка та білкових карбонілів порівняно з КГ. Рівень pH слини варіював залежно від типу вегетативної регуляції: у ПГ1 він залишався близьким до контролю, у ПГ2 визначено ацидифікацію, а ПГ3–ПГ4 характеризувалися лужним зсувом із максимумом у ПГ4. Найбільш виражене зростання NOS-активності та NO_2^- встановлено у ПГ3–ПГ4; це свідчить про гіперактивацію NO-залежних процесів. Разом з тим у цих підгрупах виявлено максимальний вміст –SH-груп і білкових карбонілів, що є ознакою посилення тіол-залежного антиоксидантного захисту та окисного модифікування білків. У ПГ2 виявлено ознаки напруження адаптаційних механізмів, як-от низький pH при помірному зростанні NOS і АФГ/КФГ. У ПГ5 визначено тенденцію до зниження показників NO_2^- та –SH, що інтерпретовано як виснаження антиоксидантного потенціалу й перехід нітрозативного стресу у деструктивну фазу. Виявлені зміни підтверджують роль слини як індикатора окисно-антиоксидантної рівноваги й бар'єрної функції верхніх дихальних шляхів.

Висновки. У пацієнтів із ЛФР виявлено підвищення pH, активності NOS, NO_2^- , –SH, АФГ/КФГ та загального білка, що свідчить про нітрозативний стрес із напруженням антиоксидантних механізмів. Виразність змін суттєво залежить від типу вегетативної регуляції: максимальні зсуви характерні для парасимпатичного та гуморально-метаболического типів, коли фіксували максимальне підвищення NOS-активності, NO_2^- , білкових карбонілів і pH слини, а при зриві регуляції визначено зниження NO- та антиоксидантних маркерів, що є ознакою виснаження ферментативної активності та переходу компенсаторного нітрозативного стресу в деструктивний. Пацієнти із ЛФР мають різні біохімічні фенотипи, детерміновані вегетативним профілем, що необхідно враховувати для коректної інтерпретації результатів і прогнозування адаптаційних резервів антиоксидантної системи.

Ключові слова: ларингофарингеальний рефлюкс, pH слини, нітрити, NO-синтаза, тіолові групи, білкові карбоніли, варіабельність серцевого ритму, біохімічні показники, окисативний стрес, нітрозативний стрес, пероксидне окиснення ліпідів.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2025. Т. 18, № 3(49). С. 312-319

Association of salivary biochemical parameters with etiopathogenetic variants of laryngopharyngeal reflux in young adult men: a single-centre cross-sectional observational study

V. M. Kryshstal, O. V. Hancheva

Aim. To verify salivary biochemical parameters (pH, NO_2^-/NOS , –SH groups, protein carbonyls – aldehyde and ketone phenylhydrazones (APH, KPH)) and heart rate variability (HRV) indices (SDNN, SI, LF/HF, TP, PARS) according to etiopathogenetic LPR phenotypes in young adult men.

ARTICLE INFO



UDC 616.21+616.22:612.313:577.1:616.329-008.6
DOI: [10.14739/2409-2932.2025.3.341786](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2025.3.341786)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2025;18(3):312-319

Keywords: laryngopharyngeal reflux, salivary pH, nitrites, nitric oxide synthase, thiol groups, protein carbonyls, cardiac rate, biochemical parameters, oxidative stress, nitrosative stress, lipid peroxidation.

Received: 30.07.2025 // Revised: 18.09.2025 // Accepted: 23.09.2025

© The Author(s) 2025. This is an open access article under the [Creative Commons CC BY 4.0 license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Materials and methods. A single-center, cross-sectional, comparative observational study was conducted focusing on salivary biochemical parameters (pH, NOx/NOS, –SH groups, protein carbonyls) and HRV indices as tools for phenotype-oriented stratification. Two groups of young men were formed: the main LPR group (MG; n = 91) and a conditionally healthy control group without LPR signs (CG; n = 64). Examinations were performed between July 2024 and June 2025.

Results. In the MG, sympathetic predominance (28.6 %) and vagotonia / parasympathetic predominance (24.2 %) prevailed, whereas 13.2 % exhibited a breakdown of autonomic regulation – an indicator of depleted reserves – unlike the CG. No statistically significant differences between autonomic subtypes (by HRV) were found within the CG, whereas the MG showed significant inter-subgroup differences in salivary biochemical parameters; subsequent analyses were performed within subgroups (SG1–SG5).

Compared with controls, LPR patients demonstrated significantly higher salivary pH, –SH groups, NOS activity, NO_2^- , total protein, and protein carbonyls. Salivary pH varied by autonomic regulation type: SG1 remained close to control; SG2 showed acidification; SG3–SG4 exhibited an alkaline shift, maximal in SG4. The greatest increases in NOS activity and NO_2^- were observed in SG3–SG4, indicating hyperactivation of NO-dependent processes. These subgroups also showed maximal –SH groups and protein carbonyls, reflecting enhancement of thiol-dependent antioxidant defense and oxidative protein modification. SG2 displayed signs of adaptive strain – low pH with moderate increases in NOS and APH/KPH. SG5 tended toward reduced NOx and –SH, interpreted as depletion of antioxidant potential and transition of nitrosative stress to a destructive phase. The observed changes support saliva's role as an indicator of oxidative – antioxidant balance and the barrier function of the upper airways.

Conclusions. Patients with LPR exhibit elevated salivary pH, NOS activity, NO_2^- , –SH, APH/KPH, and total protein, indicating nitrosative stress with strained antioxidant mechanisms. The magnitude of changes depends substantially on the autonomic regulation type: the most pronounced shifts occur in parasympathetic and humoral-metabolic phenotypes, which show maximal increases in NOS activity, NO_2^- , protein carbonyls, and salivary pH, whereas regulation breakdown features decreases in NO-related and antioxidant markers, reflecting enzymatic exhaustion and a transition from compensatory to destructive nitrosative stress. LPR patients thus display distinct biochemical phenotypes determined by autonomic profile, which should be considered for proper interpretation of results and for forecasting the adaptive reserves of the antioxidant system.

Keywords: laryngopharyngeal reflux, salivary pH, nitrites, nitric oxide synthase, thiol groups, protein carbonyls, cardiac rate, biochemical parameters, oxidative stress, nitrosative stress, lipid peroxidation.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2025;18(3):312-319

Ларингофарингеальний рефлюкс (ЛФР) залишається одним із діагностично складних, поліетіологічних, мультифакторних клінічних синдромів. Комбінація його гетерогенних механізмів і поліморфних симптомів у поєднанні з обмеженою специфічністю інструментальних і морфологічних ознак створює діагностичну невизначеність, що обмежує валідність індивідуальних діагностичних висновків.

Багатогранні специфічні та неспецифічні ларингеальні й екстраларингеальні прояви ЛФР класифіковано у різні клініко-анатомічні групи з перехресною симптоматикою: ларингеальною (осиплість / зміна тембру, втомлюваність і зниження витривалості голосу, дисфонія, біль під час фонації, епізоди ларингоспазму тощо); фарингеальною (симптомокомплекс «клубка» в горлі (globus pharyngeus), першіння, подразнення у глотці, потреба в частому прочищенні горла, одинофагія, гіперсалівація, ксеростомія, галітоз тощо); назальною (закладеність носа, ринорея, постназальне затікання, рецидивний риносинусит тощо); отологічною (дисфункція євстахієвої труби, тубоотит, рецидивний середній отит); нижньореспіраторною (синдромакомплекс кашлю, бронхоспазм, загострення бронхіальної астми тощо); неспецифічні системні прояви включають печію / біль за грудиною, загальну втому, дисфагію, синдром обструктивного апное сну тощо [1,2].

Такий різновекторний спектр проявів, з одного боку, підтверджує поліетіологічність ЛФР (рефлюксат-залежний (кислотно- чи жовчнозумовлений), імунобіологічний, нейросенсорний, м'язовий механізми), а з іншого, – знижує позитивну прогностичну цінність поодиноких симптомів та ускладнює диференційну діагностику з

іншими отоларингологічними, пульмонологічними, гастроудоденальними, неврологічними та іншими станами [2,3,4,5]. У результаті цього, навіть коли в пацієнта є низка характерних скарг, остаточне рішення потребує інтеграції комплексу діагностичних заходів, зокрема застосування валідованих опитувальників (Reflux Symptom Index, RSI; Reflux Symptom Score, RSS-12), стандартизованого ендоскопічного оцінювання (Reflux Sign Assessment, RSA), функціональних тестів (наприклад, варіабельність серцевого ритму, BCP) та об'єктивних біомаркерів (слини) [1,5,6].

З огляду на діагностичну складність обстежень і їхні обмеження, результати кожного з них доцільно інтегрувати разом із визначенням функціонального стану організму та біомаркерами слини в межах мультипараметричної діагностичної стратегії. У цьому контексті BCP із визначенням параметрів вегетативного балансу й нейрогуморальної регуляції та біохімічний профіль слини, включаючи кислотність (pH), показники системи NO (стабільний метаболіт NO_2^- та вміст NO-синтази (NOS) і маркерів оксидативного стресу (пул тиолових –SH груп і білкові карбоніли за DNPН-методом альдегідфенілгідразонів (АФГ) і кетонфенілгідразонів (КФГ)), є перспективними інструментами для підвищення діагностичної точності та фенотип-орієнтованої стратифікації пацієнтів із ЛФР.

Мета роботи

Верифікація біохімічних показників слини (pH, NO_2^- /NOS, –SH-групи, білкові карбоніли – АФГ та КФГ) та показників варіабельності серцевого ритму (SDNN, SI,

LF/HF, TP, ПАРС) залежно від етіопатогенетичних фенотипів ЛФР у чоловіків молодого віку.

Матеріали і методи дослідження

Здійснили одноцентрове поперечне порівняльне (крос-секційне) спостережне дослідження, яке передбачало етіопатогенетичну фенотипізацію ЛФР [7,8], з акцентом на біохімічні показники слини (pH, NOx/NOS, –SH-групи, білкові карбоніли) та показники ВСР як інструменти фенотип-орієнтованої стратифікації.

Сформовано основну групу (ОГ), до якої залучили 91 чоловіка молодого віку з діагностованим ЛФР; до контрольної групи (КГ) залучено 64 умовно здорові чоловіки молодого віку без ознак ЛФР.

Обстеження здійснили у період з липня 2024 до червня 2025 року на базі Запорізького державного медико-фармацевтичного університету – у Навчально-науковому медичному центрі «Університетська клініка» та Навчально-науковому медико-лабораторному центрі з віварієм. Дослідження схвалено Комісією з питань біоетики Запорізького державного медико-фармацевтичного університету (протокол № 6 від 11.06.2024 р.) та виконано відповідно до Гельсінської декларації і Загальної декларації ЮНЕСКО з біоетики та прав людини. Усі учасники надали письмову інформовану згоду, мали право відмовитися від участі у дослідженні у будь-який час.

Діагностика передбачала збір анамнезу, загальноклінічне обстеження, використання стандартизованих опитувальників і виконання відеоендоскопії. Так, «рефлюксні» скарги оцінювали за RSI (P. C. Belafsky, 2002; 9 пунктів; 0–45 балів; поріг – ≥ 13) і RSS-12 (12 пунктів з окремим оцінюванням частоти / тяжкості; 0–300; поріг – > 11 для європейських популяцій) [9], які пацієнти заповнювали перед ендоскопією за стандартною інструкцією. Ендоскопічні ознаки фіксували під час відеоендоскопії (MedStar UE 3000; KARL STORZ зі стробоскопією) з наступним обрахунком за повною версією RSA (16 пунктів; 0–61 балів, +2 бали за гранульому / кератоз / виразку), де показник > 14 підтверджував діагноз ЛФР [10].

До ОГ залучали чоловіків віком 18–44 роки; тривалість скарг – > 1 міс.; RSS-12 ≥ 11 та RSI ≥ 13 ; клінічно підтверджений ЛФР; консультація гастроентеролога та/або відеоезофагогастроуденоскопія за останні ≤ 6 міс.; наявність письмової згоди на участь. Критерії залучення чоловіків до КГ – вік 18–44 роки; відсутність скарг (RSS-12 < 11 , RSI < 13); без серцево-судинних, ендокринних, дихальних і шлунково-кишкових захворювань і патологічних фізикальних даних; без тривалого вживання алкоголю чи тютюну; наявність письмової згоди на участь.

Критерії виключення – приймання препаратів, що пригнічують кислотність (інгібітори протонної помпи тощо), прокінетиків, інгібіторів ангіотензинперетворювального ферменту тощо протягом 1 міс.; пухлини дихальних шляхів або шлунково-кишкового тракту чи променева терапія ший в анамнезі; операції на верхніх відділах шлунково-кишкового тракту чи дихальних шляхів;

тяжкі захворювання серця, легень, щитоподібної залози, цукровий діабет; розлади харчової поведінки з блюванням; психічні розлади, що перешкоджають анкетуванню; виразка шлунка та/або дванадцятипалої кишки, виявлені під час попередньої відеоезофагогастроуденоскопії.

ВСР реєстрували з використанням комп'ютерного кардіографічного комплексу «КАРДІОЛАБ» (ХАІ-МЕДИКА) у положенні лежачи після десятихвилинного відпочинку. Дослідження здійснювали вранці, у тихому приміщенні (22–24 °C) зі спонтанним диханням і без вживання кофеїну чи нікотину ≥ 12 год. Виконували п'ятихвилинний запис відведення II ЕКГ (частота дискретизації – ≥ 500 Гц) та аналізували показники за міжнародними стандартами ВСР з автоматичним виявленням / корекцією артефактів і наступною візуальною перевіркою [11]. Обчислювали стандартне відхилення NN-інтервалів (SDNN, мс), загальну потужність спектра 0,003–0,40 Гц (TP, мс²), низькочастотну потужність 0,04–0,15 Гц (LF, мс²), високочастотну потужність 0,15–0,40 Гц (HF, мс²), відношення LF до HF (LF/HF, індекс вегетативної рівноваги), а також індекс напруження (SI, ум. од.), показник активності регуляторних систем (ПАРС, ум. од.) і визначали тип регуляції за алгоритмами програмного забезпечення комплексу [12]. Якість сигналу та частку корекцій наводили як похибку програми; до аналізу брали записи з внутрішньосерійним CV < 10 % і часткою артефактів ≤ 5 %.

У слині, зібраній вранці без стимуляції, визначали біохімічні параметри; процедуру здійснили за стандартним протоколом (натще, без використання ополіскувачів ≥ 12 год.). Після полоскання рота водою зразки негайно охолоджували, центрифугували (4 °C, 3000 g, 10 хв), брали супернатант, який аналізували того самого дня. У біохімічному блоці аналізів у супернатанті визначали кислотність (pH) pH-метром MP220 після передсерійного калібрування (буфери pH 4,00/7,00/9,18); загальний пул сульфгідрильних груп (–SH) оцінювали методом Елмана (G. L. Ellman, 1959) з DTNB при 412 нм на двопробеновому УФ–Vis спектрофотометрі Specord® 250 Plus; рівень нітритів (NO₂[–]) реакцією Грися (K. M. Miranda et al., 2001) при 540–545 нм на тому самому приладі, калібруючи розчинами NaNO₂ із перерахунком надалі в NO₂[–]-еквіваленти ($\times 0,667$), результати наведено у мкг/г білка. Активність загальної NO-синтази (NOS) визначали спектрофотометрично (J. M. Hevel & M. A. Marletta, 1994) за зменшенням NADPH при 340 нм у реакції L-аргінін $\rightarrow$ NO (37 °C, кювета 1 см) з контрольними пробами з N-нітро-L-аргініном; активність обчислювали за ΔE за 4 хв і наводили в нмоль/мг білка/хв (вміст білка для перерахунку – за Лоурі (O. H. Lowry et al, 1954)). Для верифікації NO₂[–] застосовували BEPX-МС на системі Agilent 1260 Infinity HPLC (DAD/MS) із зовнішнім калібруванням. Загальний білок у слині визначали біуретовим методом (~540 нм); білкові карбоніли (АФГ/КФГ) – за методом Галлівелла (B. Halliwell, 1999) з дериватизацією 2,4-ДНФГ і реєстрацією при 274 нм (АФГ) та 363 нм (КФГ). Усі показники (–SH, NO₂[–], АФГ/КФГ, активність NOS) нормували на

білок; вимірювання здійснювали щонайменше у дублеті з внутрішньосерійним CV <10 %, включаючи бланки і контрольні зразки у кожну аналітичну серію.

Аналіз виконано в IBM SPSS Statistics 13.0 (StatSoft Inc., ліцензія № JPZ804I382130ARCN10-J). Застосовано описову статистику (n, середнє, медіана, стандартне відхилення, min – max) та t-тест для незалежних вибірок за розподілом Стюдента. Як статистично значущі оцінювали відмінності при $p < 0,05$.

Результати

Аналіз результатів обстеження показав, що середній вік пацієнтів ОГ і КГ становив $37,04 \pm 6,75$ року та $28,36 \pm 9,70$ року відповідно. У чоловіків ОГ із ЛФР діагностовано широкий спектр рефлюкс-асоційованих уражень верхніх дихальних шляхів. Розподіл пацієнтів ОГ і КГ відповідно до типу регуляції за результатами визначення ВСР наведено в *таблиці 1*.

У результаті аналізу показників, що встановлені під час обстеження, визначили, що в ОГ переважали дисбалансовані варіанти регуляції роботи серця. Так, найчастіше виявляли симпатикотонію (28,57 %) та ваготонію (24,18 %). На відміну від КГ, де переважали 4 основні варіанти регуляції, в ОГ виявлено пацієнтів, у яких зафіксовано виснаження регуляторних систем – 13,19 % випадків (*табл. 1*).

Наступний етап передбачав узагальнене оцінювання біохімічних параметрів слини: рН, показників системи оксиду азоту та маркерів оксидативно-нітрозативного стресу (за стандартними лабораторними протоколами з наступним нормуванням на білок і базовим контролем якості).

У результаті аналізу біохімічних показників чоловіків із КГ не виявлено статистично значущих відмінностей ($p > 0,05$) між підгрупами залежно від типу вегетативної регуляції за показниками ВСР, тому показники підгруп об'єднано в одну групу даних. Натомість у пацієнтів ОГ зафіксовано значущі міжпідгрупові відмінності ($p < 0,05$) біохімічних параметрів слини, тому їх надалі аналізували окремо в межах кожної з підгруп (ПГ1–ПГ5). Результати вивчення біохімічних параметрів слини пацієнтів та їхні значення наведено в *таблиці 2*.

У результаті порівняльного аналізу рН слини встановлено підвищення цього показника при ЛФР на фоні значних внутрішньогрупових відмінностей, що характеризують вагосимпатичний баланс (*табл. 2*). У ПГ1 (збалансований тип) значення рН залишалися близькими до контрольних, без суттєвих відхилень. У ПГ2 (симпатична регуляція) визначено найнижчий рН, достовірно менший за КГ та інші підгрупи, що свідчить про ацидифікацію слини як наслідок стресорної симпатикотонії, ймовірно, через зниження слиновиділення / буферної ємності. Для ПГ3 (парасимпатична регуляція) визначено характерний виражений лужний зсув, а у ПГ4 (гуморально-метаболична) – максимальна лужна реакція, що свідчить про активацію секреторно-бікарбонатного буфера. У ПГ5 (зрив регуляції) значення рН займали проміжну позицію між

лужними та кислими варіантами. Отримані дані показали, що профіль рН слини при ЛФР є гетерогенним і чітко залежить від типу вегетативної регуляції: симпатикотонія асоціюється з ацидифікацією, а парасимпатичний і гуморально-метаболичний типи – з вираженим лужним зсувом (максимум – у ПГ4) (*табл. 2*). Отже, рН слини може бути чутливим фенотиповим індикатором вегетативного стану та компенсаторних механізмів у пацієнтів із ЛФР.

Результати біохімічного аналізу підтвердили, що у пацієнтів із ЛФР порівняно з обстеженими з КГ зафіксовано достовірне підвищення рівня сульфгідрильних груп (–SH), активності NOS, концентрації NO_2^- , білка, а також ферментів АФГ і КФГ ($p < 0,05$). Це свідчить про активацію окисно-нітрозативних процесів і компенсаторне посилення антиоксидантного захисту. Внутрішньогруповий аналіз ОГ дав змогу констатувати виражену варіабельність біохімічного профілю. Так, у ПГ1 показники лише помірно відрізнялися від контролю; у ПГ2 встановлено підвищення ферментативної активності, що може свідчити про напруження адаптаційних механізмів; для ПГ3 і ПГ4 характерні максимальні рівні рН, –SH, NOS, NO_2^- та білка, що свідчить про гіперактивацію обміну NO й виражені компенсаторні реакції антиоксидантної системи; у ПГ5 виявлено часткове зниження цих показників порівняно з ПГ3–4, що можна трактувати як виснаження резервів антиоксидантного захисту (*табл. 2*).

Отже, встановлено, що у пацієнтів із ЛФР відбуваються суттєві біохімічні зміни слини, що характеризують активацію нітрозативного стресу, підвищення білкової оксидатії та напруження антиоксидантних механізмів. Зафіксовані показники підтвердили чітку залежність від типу вегетативної регуляції: парасимпатичний і гуморально-метаболичний типи супроводжувалися гіперактивацією NO-залежних і антиоксидантних систем, а зрив регуляції асоціюється зі зниженням їхньої активності та виснаженням компенсаторних резервів. Така фенотипова різноманітність підтверджує необхідність урахування вегетативного профілю при інтерпретації біохімічних результатів і може бути підґрунтям для стратифікації пацієнтів із ЛФР за адаптаційним потенціалом.

Обговорення

Дослідження біохімічних параметрів слини – легкий і неінвазивний метод отримання широкого спектра параметрів, який, на відміну від інвазивних методів, характеризує локальні події у глотково-ларингеальній зоні: рН – кислотно-лужну експозицію слизової та буферні властивості слини; показники системи NO (NO_x , активність NOS) – інтенсивність NO-опосередкованої судинної та імунної регуляції, рівень нітрозативного стресу та мікроциркуляторну реактивність; –SH (тіолові) групи й білкові карбоніли – функціональний стан антиоксидантного захисту та ступінь оксидативного ушкодження білків / бар'єрних структур, що пов'язані з порушенням епітеліальної проникності й ремоделюванням слизової [13,14]. Саме на цьому положенні ґрунтувалося здійснене дослідження.

Таблиця 1. Розподіл пацієнтів КГ та ОГ залежно від типу вегетативної регуляції організму за показниками ВСР, n (%)

Групи пацієнтів	Рівень і співвідношення вегетативних впливів				
	Збалансоване функціонування відділів вегетативної нервової системи	Переважає парасимпатичної регуляції	Переважає симпатичної регуляції	Переважає гуморально-метаболическої регуляції	Виснаження регуляторних систем
Контрольна, n = 64 (100 %)	19 (29,69 %)	18 (28,13 %)	18 (28,13 %)	9 (14,06 %)	0
Основна, n = 91 (100 %)	15 (16,48 %)	22 (24,18 %)	26 (28,57 %)	16 (17,58 %)	12 (13,19 %)

Таблиця 2. Результати вивчення біохімічних параметрів слини пацієнтів із ЛФР, (M ± m, p)

Групи (підгрупи) пацієнтів	Біохімічні параметри слини						
	pH	SH, мкмоль/л	NOS, нмоль·хв ⁻¹ ·мг ⁻¹ білка	NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	Вміст білка, г/л	АФГ, у. о./л	КФГ, у. о./л
Контрольна, n = 64	6,62 ± 0,03	3,92 ± 0,18	3,34 ± 0,10	0,11 ± 0,01	1,65 ± 0,02	0,37 ± 0,02	0,06 ± 0,01
Основна, n = 91	7,09 ± 0,08 ¹	19,91 ± 1,03 ¹	11,96 ± 0,57 ¹	1,68 ± 0,15 ¹	2,94 ± 0,15 ¹	1,30 ± 0,05 ¹	0,6 ± 0,02 ¹
Підгрупа-1 (збалансована), n = 15	6,67 ± 0,04 ²	13,40 ± 0,74 ^{1,2}	5,82 ± 0,39 ^{1,2}	0,23 ± 0,03 ^{1,2}	1,84 ± 0,05 ^{1,2}	0,65 ± 0,06 ^{1,2}	0,57 ± 0,03 ¹
Підгрупа-2 (симпатична регуляція), n = 26	6,16 ± 0,02 ^{1,2,3}	13,84 ± 0,49 ^{1,2}	6,69 ± 0,34 ^{1,2}	0,39 ± 0,02 ^{1,2,3}	1,64 ± 0,05 ²	0,95 ± 0,05 ^{1,2,3}	0,47 ± 0,03 ^{1,2}
Підгрупа-3 (парасимпатична регуляція), n = 22	7,81 ± 0,06 ^{1,2,3,4}	29,63 ± 2,45 ^{1,2,3,4}	16,13 ± 0,46 ^{1,2,3,4}	2,31 ± 0,16 ^{1,2,3,4}	3,86 ± 0,22 ^{1,2,3,4}	1,52 ± 0,05 ^{1,2,3,4}	0,63 ± 0,03 ^{1,4}
Підгрупа-4 (гуморально-метаболическа регуляція), n = 16	7,93 ± 0,08 ^{1,2,3,4}	24,31 ± 2,15 ^{1,3,4}	17,32 ± 0,41 ^{1,2,3,4}	3,41 ± 0,28 ^{1,2,3,4,5}	4,71 ± 0,34 ^{1,2,3,4}	1,83 ± 0,05 ^{1,2,3,4,5}	0,79 ± 0,02 ^{1,2,3,4,5}
Підгрупа-5 (зрив регуляції), n = 12	7,22 ± 0,20 ^{1,4,5}	17,58 ± 0,84 ^{1,3,4,5,6}	16,29 ± 1,02 ^{1,2,3,4}	2,80 ± 0,23 ^{1,2,3,4}	3,11 ± 0,22 ^{1,3,4,6}	1,78 ± 0,13 ^{1,2,3,4}	0,62 ± 0,04 ^{1,4,6}

¹: достовірна різниця показників пацієнтів основної групи та 1–5 підгруп ($p_{st} < 0,05$) щодо відповідних показників контрольної групи; ²: вірогідна різниця показників пацієнтів 1–5 підгруп ($p_{st} < 0,05$) щодо значень, встановлених в основній групі; ³: достовірна різниця показників пацієнтів 2–5 підгруп ($p_{st} < 0,05$) щодо параметрів 1 підгрупи; ⁴: вірогідна різниця показників пацієнтів 3–5 підгруп ($p_{st} < 0,05$) щодо 2 підгрупи; ⁵: достовірна різниця показників пацієнтів 4–5 підгруп ($p_{st} < 0,05$) щодо значень, встановлених у 3 підгрупі; ⁶: вірогідна різниця показників пацієнтів 5 підгрупи ($p_{st} < 0,05$) щодо параметрів 4 групи.

Встановлено, що в пацієнтів із КГ рН слини був у межах нормативних значень, які, за даними інших дослідників, зазвичай відповідають нейтральному діапазону (~6,5–7,3) та тісно пов'язані з буферною здатністю бікарбонат-фосфатної системи [15]. Натомість у пацієнтів з ОГ встановлено високу варіабельність показника – від кислотних до лужних (табл. 2). Після поділу пацієнтів на підгрупи за показниками ВСР виявлено певну закономірність рН: кислу реакцію слини частіше визначали у пацієнтів із симпатикотонією (ПГ2), а лужну – у групах із домінуванням парасимпатичного (ПГ3) та гуморально-метаболического (ПГ4) типів регуляції (табл. 2).

Визначення рН слини досить широко виконують під час діагностики не тільки ЛФР. Так, за даними сучасної наукової літератури, у пацієнтів із гастроєзофагеальною рефлюксною хворобою порівняно з контролем частіше виявляють зниження рН, буферної ємності та швидкості слиновиділення. Втім, результати різних досліджень гетерогенні, а уніфікованих меж досі немає [15,16].

У пацієнтів із ЛФР ушкодження гортанно-глоткової слизової можливе й за нейтрального / лужного рН через токсичність жовчних кислот (рН 5–8). Це узгоджується з переважаючим слабосилних / лужних епізодів за даними

гіпофарингостравохідної багатоканальної внутрішньо-просвітної імпеданс-рН-метрії (НЕМП-рН), а для кислих впливів критичним для ларингеальної слизової вважають поріг рН ≈ 5 (на відміну від рН < 4 для стравоходу) [17,18]. Суперечливі результати отримано в проспективному дослідженні з НЕМП-рН у пацієнтів із ЛФР, де не виявили істотних відмінностей за показниками слизової функції між групами ЛФР / не-ЛФР, а отже рН слини навряд чи може бути ізолюваним діагностичним критерієм [19].

На нашу думку, те, що у пацієнтів із ЛФР не виявлено відмінності за рН слини, може бути пов'язано зі значною гетерогенністю за ВСР у групі обстежених. Іншими чинниками, які наводять дослідники, є те, що, по-перше, збільшення потоку слини підвищує вміст HCO_3^- і зсуває рН у лужний бік; по-друге, навіть невеликі відмінності протоколу (нестимульована слина порівняно зі стимульованою, жувальна провокація / бікарбонатна гумка) та преаналітичні затримки із втратою CO_2 можуть штучно підвищувати рН. Враховуючи добові, поведінкові коливання й ефект терапії, ізолюваний показник рН слини часто характеризує компенсаторне зростання бікарбонату або методичні аспекти вибірки, а не власне кислотну

агресію рефлюксату. Це і пояснює серії з вищим рН при ЛФР [20,21,22]. Незважаючи на це, інтерес до рН слини як елемента мультибіомаркерних панелей зростає та поряд з іншими маркерами демонструє діагностичний потенціал у разі ЛФР [23].

Дослідження показників оксидативного стресу та параметрів системи NO дало закономірний результат: виражене посилення активності NO-синтазного шляху та накопичення нітритів зі збільшенням вмісту окиснено модифікованих білків і загального пулу сульфгідрильних груп. Відомо, що в межах ентерослиновидільного циклу нітрат – нітрит – NO кислий вміст шлунка швидко відновлює проковтнутий зі слиною NO_2^- до NO на рівні гастроезофагеального переходу. Під час рефлюксу це ініціює нітрозативні реакції в просвіті, що може ушкоджувати слизову верхніх відділів дихально-травної системи [24,25]. У працях інших дослідників також показано, що це може бути наслідком тривалого впливу рефлюксату, який містить агресивні компоненти (жовчні кислоти, пепсин), що можуть активувати запальні й NO-залежні шляхи навіть при нейтральному або слаболужному рН [26,27].

Вагомою відмінністю нашого дослідження стало виявлення залежності змін показників оксидативного стресу та параметрів системи NO від типу вегетативної регуляції. Окрему увагу привертає виражена внутрішньогрупова варіабельність біохімічних показників, що зумовлена типом вегетативної регуляції. Цей факт підтверджує, що патогенез ЛФР не є суто локальним процесом, а тісно інтегрований у загальну нейрогуморальну регуляцію організму. Встановлено, що більш виражені порушення виявлено у пацієнтів із переважанням парасимпатичного та гуморально-метаболического типів. У групі пацієнтів зі зривом регуляції (ПГ5) зафіксовано тенденцію до зниження показників, але таку динаміку не слід оцінювати як поліпшення стану. Вважаємо, що наведені результати пов'язані з переходом компенсаторного нітрозативного стресу в деструктивний, виснаженням ферментативної активності NOS та антиоксидантних резервів.

Поєднання підвищеної NO-активності та білкової оксидатії з одночасним зростанням –SH-груп можна трактувати як вияв редокс-дисбалансу з тимчасовим утриманням антиоксидантної рівноваги. Відомо, що тіолові сполуки є ключовими компонентами глутатионової системи, і їх підвищення свідчить про активацію механізмів знешкодження вільних радикалів [28]. Отже, парасимпатичний і гуморально-метаболический типи регуляції, асоційовані з підвищеним рН і вмістом –SH-груп, характеризують фазу активного компенсаторного реагування, а симпатичний і «зривний» типи – фазу енергетичного виснаження. Наведені дані дають підстави зробити висновок, що при ЛФР формується комплексна система адаптаційних відповідей, у якій зростання NOS, NO_2^- , білкових карбонілів і –SH-груп є маркерами одночасного активаційного та компенсаторного компонентів. Переважання того чи іншого типу регуляції визначає

баланс між ними – від адаптивної гіперактивації (ПГ3, ПГ4) до етапу виснаження (ПГ5).

Результати дослідження відповідають концепції, за якою вегетативний профіль визначає характер локальних метаболічних реакцій, зокрема секрецію, буферну ємність і антиоксидантну активність слини. Подібні припущення наведено у працях, де показано зв'язок між варіабельністю серцевого ритму, рівнем оксиду азоту та реакціями оксидативного стресу [29,30]. Так, активація холінергічного протизапального шляху через активацію вагус-залежного шляху асоціюється зі зниженням прозапальних цитокінів, модифікацією редокс-профілю та зсувом автономного балансу, що підтверджено у результаті експериментальних і клінічних досліджень [31,32,33]. Причинний зв'язок між NO та парасимпатичним контролем серця підтверджено фармакологічними втручаннями: інгібування NOS зменшує вагус-залежні компоненти ВСР і барорефлекторну чутливість, а донори NO спричиняють протилежні зсуви. Разом із тим, при тривалій активації NO-шляху надлишкове утворення пероксинітриту призводить до оксидативно-нітрозативного ушкодження та виснаження антиоксидантного резерву [34,35]. Практично це підкреслює доцільність фенотип-орієнтованої інтерпретації та серійного моніторингу слинових маркерів у поєднанні з дослідженням ВСР, що дає змогу розрізняти компенсаторну фазу й етап енергетичного виснаження.

Відтак, поєднання аналізу біохімічних показників слини з оцінюванням за клінічними шкалами, ендоскопією, НЕМП-рН та використанням інших валідованих методів може істотно зменшити діагностичну невизначеність, сприятиме верифікації етіопатогенетичного варіанта ЛФР і дасть змогу зрозуміти ендоскопічно негативні фенотипи, виявлені раніше [8]. Оскільки ендоскопія, незважаючи на високу інформативність, не фіксує низку субклінічних ушкоджень слизової (мікроерозії, порушення міжклітинних контактів, нейроепітеліальна дисфункція, локальне нейрозапалення, активація вродженого імунітету, оксидативний стрес, ММП-залежне ремоделювання), перевагою дослідження слини й оцінювання ВСР є можливість неінвазивного серійного контролю, що полегшує повторні вимірювання, підвищує прихильність до діагностики та розширює охоплення пацієнтів у рутинній практиці.

Оцінивши біохімічні показники слини крізь призму типу вегетативної регуляції, отримали підстави для фенотип-орієнтованої стратифікації пацієнтів із ЛФР. Так, незважаючи на широкий спектр, на перший погляд, однотипних скарг, біохімічний профіль слини істотно відрізняється у пацієнтів із ЛФР. Характер і вираженість цих змін мають чіткий вегетативний патерн: тип переважної регуляції (парасимпатичної чи симпатичної, гуморально-метаболическої або зі зривом) детермінує напрям (ацидифікація чи лужний зсув) і масштаб нітрозативно-оксидативних зрушень. Тому під час інтерпретації результатів обов'язково слід враховувати домінування

того чи іншого типу регуляції, адже саме він визначає фенотипову варіабельність лабораторних показників.

Висновки

1. У пацієнтів із ЛФР біохімічні параметри слини характеризуються коливанням рН, підвищенням активності NO-синтази, концентрації NO_2^- , сульфгідрильних груп ($-\text{SH}$), білкових карбонілів (АФГ/КФГ) та вмісту загального білка ($p < 0,05$). Це свідчить про активацію нітрозативного стресу з напруженням антиоксидантних механізмів слини.

2. Біохімічні параметри слини у пацієнтів із ЛФР суттєво варіюють залежно від типу вегетативної регуляції: найбільш значущі зміни виявлено при переважанні парасимпатичного та гуморально-метаболического типів, коли фіксували максимальне підвищення NOS-активності, NO_2^- , білкових карбонілів і рН слини.

3. У разі зриву регуляції у пацієнтів із ЛФР показники системи NO та антиоксидантних маркерів знижуються, що характеризує виснаження ферментативної активності та перехід компенсаторного нітрозативного стресу в деструктивний.

4. Незважаючи на схожі клінічні прояви, пацієнти з ЛФР мають різні біохімічні фенотипи, детерміновані типом вегетативної регуляції. Для адекватної інтерпретації результатів і прогнозування адаптаційних резервів антиоксидантних систем необхідно враховувати переважання парасимпатичної чи симпатичної регуляції, що визначає спрямованість і вираженість метаболічних змін.

Перспективи подальших досліджень полягають у валідації фенотип-орієнтованих меж рН/ NO_x /АФГ–КФГ, уточненні причинно-наслідкових зв'язків між вегетативним профілем і нітрозативним стресом та оцінюванні їхньої прогностичної цінності для персоніфікованого ведення пацієнтів із ЛФР.

Фінансування

Дослідження здійснено в рамках НДР Запорізького державного медико-фармацевтичного університету: «Удосконалення діагностичного алгоритму ларингофарингеального рефлюксу» за програмою наукових досліджень і розробок, що фінансується за кошти виконавців, державний реєстраційний № 0124U004506 (2024–2028).

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Кришталь В. М., аспірант каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет; лікар-отоларинголог Навчально-наукового медичного центру «Університетська клініка» Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-3836-514X

Ганчева О. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-7339-7078

Information about the authors:

Kryshthal V. M., MD, Postgraduate Student of the Department of Pathological Physiology with a course in Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine; Otolaryngologist at the Educational and Scientific Medical Center "University Clinic" of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine. Hancheva O. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathophysiology with a Course in Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.



Ольга Ганчева (Olha Hancheva)
gancheva_olga@i.ua

References

1. Lechien JR, Vaezi MF, Chan WW, Allen JE, Karkos PD, Saussez S, et al. The Dubai Definition and Diagnostic Criteria of Laryngopharyngeal Reflux: The IFOS Consensus. *Laryngoscope*. 2024;134(4):1614-24. doi: [10.1002/lary.31134](https://doi.org/10.1002/lary.31134)
2. Brar S, Watters C, Watson N, Birchall M, Karagama Y. Ear, nose and throat (ENT) manifestations and complications of reflux. *Frontline Gastroenterol*. 2022;13(e1):e57-e64. doi: [10.1136/flgastro-2022-102184](https://doi.org/10.1136/flgastro-2022-102184)
3. Tan JJ, Dai YF, Wang F, Lv ZH, Huang LJ, Peng LY, et al. Pepsin-mediated inflammation in laryngopharyngeal reflux via the ROS/NLRP3/IL-1 β signaling pathway. *Cytokine*. 2024;178:156568. doi: [10.1016/j.cyt.2024.156568](https://doi.org/10.1016/j.cyt.2024.156568)
4. Li Y, Xu G, Zhou B, Tang Y, Liu X, Wu Y, et al. Effects of acids, pepsin, bile acids, and trypsin on laryngopharyngeal reflux diseases: physiopathology and therapeutic targets. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2022;279(6):2743-52. doi: [10.1007/s00405-021-07201-w](https://doi.org/10.1007/s00405-021-07201-w)
5. Lippincott M, Velanovich V. The upper esophageal sphincter in gastroesophageal reflux disease. *Ann Esophagus*. 2022;5:26. doi: [10.21037/aoe-21-3](https://doi.org/10.21037/aoe-21-3)
6. Yadlapati R, Weissbrod P, Walsh E, Carroll TL, Chan WW, Gartner-Schmidt J, et al. The San Diego Consensus for Laryngopharyngeal Symptoms and Laryngopharyngeal Reflux Disease. *Am J Gastroenterol*. 2025 Apr 8;10.14309/ajg.0000000000003482. doi: [10.14309/ajg.0000000000003482](https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000003482)
7. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, Hans S, Nacci A, Schindler A, Bohlender JE, et al. European clinical practice guideline: managing and treating laryngopharyngeal reflux disease. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2024 Dec 24. doi: [10.1007/s00405-024-09181-z](https://doi.org/10.1007/s00405-024-09181-z). Epub ahead of print. Erratum in: *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2025 Mar 27. doi: [10.1007/s00405-025-09307-x](https://doi.org/10.1007/s00405-025-09307-x)
8. Kryshthal VM, Melnikova OV, Khorolets OV, Hancheva OV. [Laryngopharyngeal reflux: current perspectives and controversies]. *Modern Medical Technology*. 2025;17(3):205-16. Ukrainian. doi: [10.14739/mmt.2025.3.335612](https://doi.org/10.14739/mmt.2025.3.335612)
9. Lechien JR, Bobin F, Rodriguez A, Dequanter D, Muls V, Huet K, et al. Development and validation of the short version of the Reflux Symptom Score: Reflux Symptom Score-12. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2021;164(1):166-74. doi: [10.1177/0194599820941003](https://doi.org/10.1177/0194599820941003)
10. Lechien JR, Rodriguez Ruiz A, Dequanter D, Bobin F, Mouawad F, Muls V, et al. Validity and Reliability of the Reflux Sign Assessment. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2020;129(4):313-25. doi: [10.1177/0003489419888947](https://doi.org/10.1177/0003489419888947)
11. Quigley KS, Gianaros PJ, Norman GJ, Jennings JR, Berntson GG, de Geus EJ. Publication guidelines for human heart rate and heart rate variability studies in psychophysiology-Part 1: Physiological underpinnings and foundations of measurement. *Psychophysiology*. 2024;61(9):e14604. doi: [10.1111/psyp.14604](https://doi.org/10.1111/psyp.14604)
12. Huizinga JD, Chen JH, Hussain A, Zheng D, Liu L, Lui H, et al. Determining autonomic sympathetic tone and reactivity using Baevsky's stress index. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2025;328(5):R562-77. doi: [10.1152/ajpregu.00243.2024](https://doi.org/10.1152/ajpregu.00243.2024)
13. Pang B, Qi X, Zhang H. Salivary-Gland-Mediated Nitrate Recirculation as a Modulator for Cardiovascular Diseases. *Biomolecules*. 2025;15(3):439. doi: [10.3390/biom15030439](https://doi.org/10.3390/biom15030439)
14. Maciejczyk M, Bielas M, Zalewska A, Gerreth K. Salivary Biomarkers of Oxidative Stress and Inflammation in Stroke Patients: From Basic Research to Clinical Practice. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:5545330. doi: [10.1155/2021/5545330](https://doi.org/10.1155/2021/5545330)
15. Bechir F, Pacurar M, Tohati A, Bataga SM. Comparative Study of Salivary pH, Buffer Capacity, and Flow in Patients with and without

- Gastroesophageal Reflux Disease. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;19(1):201. doi: [10.3390/ijerph19010201](https://doi.org/10.3390/ijerph19010201)
16. Hatipoğlu Ö, Yıldırım Ö, Hatipoğlu FP. Impact of Gastroesophageal Reflux Disease on Salivary Flow Rate, pH and Buffer Capacity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Oral Rehabil*. 2025;52(10):1682-98. doi: [10.1111/joor.14025](https://doi.org/10.1111/joor.14025)
 17. Cui N, Dai T, Liu Y, Wang YY, Lin JY, Zheng QF, et al. Laryngopharyngeal reflux disease: Updated examination of mechanisms, pathophysiology, treatment, and association with gastroesophageal reflux disease. *World J Gastroenterol*. 2024;30(16):2209-19. doi: [10.3748/wjg.v30.i16.2209](https://doi.org/10.3748/wjg.v30.i16.2209)
 18. Lechien JR, De Marrez LG, Hans S, Muls V, Spinato L, Briganti G, et al. Digestive Biomarkers of Laryngopharyngeal Reflux: A Preliminary Prospective Controlled Study. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2024;170(5):1364-71. doi: [10.1002/ohn.674](https://doi.org/10.1002/ohn.674)
 19. Jeon SY, Rim HS, Lee Y, Park JM, Lee MK, Il Kim S, et al. The Association Between Salivary Function and Laryngopharyngeal Reflux Measured Objectively. *J Voice*. 2025:S0892-1997(25)00368-6. doi: [10.1016/j.jvoice.2025.09.003](https://doi.org/10.1016/j.jvoice.2025.09.003)
 20. Schwerdt G, Schulz MC, Kopf M, Mildenerberger S, Reime S, Gekle M. Physiological regulation of oral saliva ion composition and flow rate are not coupled in healthy humans-Partial revision of our current knowledge required. *Pflügers Arch*. 2025;477(1):55-65. doi: [10.1007/s00424-024-03025-9](https://doi.org/10.1007/s00424-024-03025-9)
 21. Mortazavi H, Yousefi-Koma AA, Yousefi-Koma H. Extensive comparison of salivary collection, transportation, preparation, and storage methods: a systematic review. *BMC Oral Health*. 2024;24(1):168. doi: [10.1186/s12903-024-03902-w](https://doi.org/10.1186/s12903-024-03902-w)
 22. Basilicata M, Pieri M, Marrone G, Nicolai E, Di Lauro M, Paolino V, et al. Saliva as Biomarker for Oral and Chronic Degenerative Non-Communicable Diseases. *Metabolites*. 2023;13(8):889. doi: [10.3390/metabo13080889](https://doi.org/10.3390/metabo13080889)
 23. Lechien JR, El Ayoubi M, Muls V, Hans S, Saussez S, De Vos N. Accuracy and Clinical Findings of Saliva Digestive Biomarkers in Laryngopharyngeal Reflux Disease. *Laryngoscope*. 2025 Aug 20. doi: [10.1002/lary.70062](https://doi.org/10.1002/lary.70062)
 24. Ghasemi A. Quantitative aspects of nitric oxide production from nitrate and nitrite. *EXCLI J*. 2022;21:470-86. doi: [10.17179/excli2022-4727](https://doi.org/10.17179/excli2022-4727)
 25. Akimov OY, Kostenko VO. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride. *Ukr Biochem J*. 2016;88(6):70-5. doi: [10.15407/ubj88.06.070](https://doi.org/10.15407/ubj88.06.070)
 26. Sasaki CT, Doukas SG, Doukas PG, Vageli DP. Weakly Acidic Bile Is a Risk Factor for Hypopharyngeal Carcinogenesis Evidenced by DNA Damage, Antiapoptotic Function, and Premalignant Dysplastic Lesions In Vivo. *Cancers (Basel)*. 2021;13(4):852. doi: [10.3390/cancers13040852](https://doi.org/10.3390/cancers13040852)
 27. Lechien JR, De Vos N, Saussez S. Predictive Value of Digestive Enzymes in Patients With Reflux-Induced Chronic Cough. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2025;173(2):453-60. doi: [10.1002/ohn.1283](https://doi.org/10.1002/ohn.1283)
 28. Vašková J, Kočan L, Vaško L, Perjési P. Glutathione-Related Enzymes and Proteins: A Review. *Molecules*. 2023;28(3):1447. doi: [10.3390/molecules28031447](https://doi.org/10.3390/molecules28031447)
 29. Del Valle-Mondragón L, Becerra-Luna B, Cartas-Rosado R, Infante O, Pérez-Grovas H, Lima-Zapata LI, et al. Correlation between Angiotensin Serum Levels and Very-Low-Frequency Spectral Power of Heart Rate Variability during Hemodialysis. *Life (Basel)*. 2022;12(7):1020. doi: [10.3390/life12071020](https://doi.org/10.3390/life12071020)
 30. Lee CH, Shin HW, Shin DG. Impact of Oxidative Stress on Long-Term Heart Rate Variability: Linear Versus Non-Linear Heart Rate Dynamics. *Heart Lung Circ*. 2020;29(8):1164-73. doi: [10.1016/j.hlc.2019.06.726](https://doi.org/10.1016/j.hlc.2019.06.726)
 31. Alen NV. The cholinergic anti-inflammatory pathway in humans: State-of-the-art review and future directions. *Neurosci Biobehav Rev*. 2022;136:104622. doi: [10.1016/j.neubiorev.2022.104622](https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104622)
 32. Koopman FA, Chavan SS, Miljko S, Grazio S, Sokolovic S, Schuurman PR, et al. Vagus nerve stimulation inhibits cytokine production and attenuates disease severity in rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(29):8284-9. doi: [10.1073/pnas.1605635113](https://doi.org/10.1073/pnas.1605635113)
 33. Subramanian M, Edwards L, Melton A, Branen L, Herron A, Sivasubramanian MK, et al. Non-invasive vagus nerve stimulation attenuates proinflammatory cytokines and augments antioxidant levels in the brainstem and forebrain regions of Dahl salt sensitive rats. *Sci Rep*. 2020;10(1):17576. doi: [10.1038/s41598-020-74257-9](https://doi.org/10.1038/s41598-020-74257-9)
 34. Jurado-Castro JM, Casanova-Rodríguez D, Campos-Perez J, Llorente-Cantarero FJ, De La Florida-Villagran CA, Diaz-Bernier VM, et al. Beetroot Juice Produces Changes in Heart Rate Variability and Reduces Internal Load during Resistance Training in Men: A Randomized Double-Blind Crossover. *Nutrients*. 2022;14(23):5119. doi: [10.3390/nu14235119](https://doi.org/10.3390/nu14235119)
 35. Prolo C, Piacenza L, Radi R. Peroxynitrite: a multifaceted oxidizing and nitrating metabolite. *Curr Opin Chem Biol*. 2024;80:102459. doi: [10.1016/j.cbpa.2024.102459](https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2024.102459)