

УДК 577.121:[547/472/2+647/463]:576.7:636.8:616-092.4  
DOI <https://doi.org/10.35220/2078-8916-2024-53-3.2>

**О.О. Пахомова,**

кандидат біологічних наук, провідний фахівець  
наукового відділу,  
Одеський національний медичний університет,  
Валіховський провулок, 2, м. Одеса, Україна,  
індекс 65082

**О.Л. Аппельханс,**

доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри  
анатомії людини, Одеський національний медичний  
університет,  
Валіховський провулок, 2, м. Одеса, Україна,  
індекс 65082

**О.О. Протункевич,**

кандидат біологічних наук,  
доцент кафедри фармації, Інститут хімічних  
технологій та фармації,  
Національний університет «Одеська політехніка»,  
просп. Шевченка, 1, Одеса, Україна, індекс 65044

**М.Ф. Коновалов,**

кандидат медичних наук,  
доцент кафедри терапевтичної і дитячої стоматології,  
Одеський національний медичний університет,  
Валіховський провулок, 2, м. Одеса, Україна,  
індекс 65082

**О.Б. Соломатін,**

асистент кафедри загальної стоматології,  
Одеський національний медичний університет,  
Валіховський провулок, 2, м. Одеса, Україна,  
індекс 65082

## ЗМІНА ВМІСТУ МЕТАБОЛІТІВ ГЛІКОЛІЗУ І ЦИКЛУ ТРИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ В ТКАНИНАХ КОТІВ ПРИ ПАРОДОНТИТІ

**Мета роботи.** Визначення вмісту відновлених і окислених метаболітів гліколізу і циклу трикарбонних кислот (пірувату, лактату, ізоцитрату, малату, оксалоацетату, фосфоенілпірувату і  $\alpha$ -кетоглутарату) в тканинах котів при спонтанному пародонтиті. В останні роки накопичився експериментальний матеріал, який свідчить про те, що різні за своєю природою патологічні процеси і різноманітні види стресу викликають однотипні пошкодження в клітинній системі окислювально-відновного стану організму. Відомо, що регуляція клітинного обміну і енергозалежні процеси в організмі залежать від окисно-відновного стану піридинових нуклеотидів. **Матеріали та методи дослідження.** Були досліджені коти двох-трьохрічного віку з пародонтитом, всього 22 тварини, яких розділяли на дві групи: з хронічним перебігом захворювання та утворенням гострого

запального процесу в тканинах пародонту. Досліджували тканини печінки, альвеолярного відростка і ребра, які максимально швидко виділяли і заморожували за допомогою рідкого азоту. Після обробки гомогенатів в отриманих нейтралізованих екстрактах тканин за допомогою ферментативних методів за Bergmeyer Н.У. визначали кількість пірувату, лактату, ізоцитрату, малату, оксалоацетату, фосфоенілпірувату і  $\alpha$ -кетоглутарату. Про окисно-відновний стан тканин судили за співвідношенням вмісту окислених і відновлених метаболітів.

**Результати та їх обговорення.** Результати досліджень обробляли за допомогою загальноприйнятих статистичних методів програмного забезпечення Excel. При хронічному захворюванні пародонтитом у котів спостерігаються значні відмінності вмісту метаболітів як у печінці, так і в кістковій тканині. Хронічний перебіг пародонтиту характеризується меншою величиною відношення окислених субстратів до відновлених порівняно з таким при гострому перебігу захворювання. Накопичення лактату в клітинах організму при розвитку запального процесу в кістковій тканині веде до відновлення внутрішньоклітинного середовища і розвитку метаболічного ацидозу, цьому повинна відповідати зміна окислювально-відновного стану НАД-пар в тканинах. **Висновки.** Інгібування ліпогенезу і, відповідно, активація ліполізу у всіх досліджуваних тканинах котів при хронічній течії пародонтиту пов'язані з підвищенням відновних властивостей піридинових нуклеотидів. Збільшення окисних властивостей останніх при гострому перебігу захворювання сприяє активації зазначеного процесу. Однак регуляція ліпогенезу в умовах даної патології здійснюється іншим засобом, ніж у нормальних тканинах.

**Ключові слова:** пародонтит, тканини кішок, метаболіти гліколізу та циклу трикарбонних кислот.

**О.О. Pakhomova,**

PhD in Biology,  
Leading Specialist at the Department of Science,  
Odessa National Medical University,  
2 Valikhovskiy lane, Odesa, Ukraine, postal code 65082

**О.Л. Appelhans,**

MD, PhD in Medicine, Professor,  
Head of the Human Anatomy Department,  
Odessa National Medical University,  
2 Valikhovskiy lane, Odesa, Ukraine, postal code 65082

**О.О. Protunkevych,**

PhD in Biology,  
Associate Professor at the Department of Pharmacy,  
Institute of Chemical Technologies and Pharmacy,  
Odessa Polytechnic National University,  
1 Shevchenko ave., Odesa, Ukraine, postal code 65044

**М.Ф. Konovalov,**

PhD in Medicine,  
Associate Professor at the Department of Therapeutic  
Dentistry and Pedodontics,  
Odessa National Medical University,  
2 Valikhovskiy lane, Odesa, Ukraine, postal code 65082

**O.B. Solomatin,**

Assistant at the Department of General Dentistry,  
Odessa National Medical University,  
2 Valikhovskiy lane, Odesa, Ukraine, postal code 65082

## CHANGE OF THE CONTENT OF METABOLITES OF GLYCOLYSIS AND THE CITRIC ACID CYCLE IN TISSUES OF CATS WITH PERIODONTITIS

**Aim of the work.** To determine a contents of reduced and oxidized metabolites of glycolysis and the citric acid cycle (pyruvate, lactate, isocitrate, malate, oxaloacetate, phosphoenolpyruvate and  $\alpha$ -ketoglutarate) in tissues of cats with spontaneous periodontitis. Last years the experimental data demonstrate that different by their nature patologic processes and types of stress provoke similar types of damage in cellular system of the oxidation-reduction state of body. It is known the regulation of cellular metabolism and energy-dependent processes are related to oxidation-reduction state of pyridin nucleotides. **Materials and methods.** Experimental animals were 22 cats (2-3 years old) with periodonitis, divided into 2 groups: with the chronic going of the disease and with the acute inflammatory process in periodontal tissues. The tissue samples of liver, alveolar process and rib were removed in short time and cryoconserved with the liquid nitrogen. After the treatment of homogenates in neutralized tissue samples with the use of enzyme methods (Bergmeyer H.Y.) amounts of pyruvate, lactate, isocitrate, malate, oxaloacetate, phosphoenolpyruvate and  $\alpha$ -ketoglutarate were determined. The oxidation-reduction state was evaluated by the proportion of contents of oxidized and reduced metabolites. **Results and discussion.** The study results were processed with common statistic methods of the Excel software. In the case of chronic periodontitis in cats there are prominent changes of the metabolites contents both in liver and bone tissues. The chronic going of the disease is characterizes with the less value of the oxidized-reduced substrates ratio in comparison to the acute going of periodontitis. The accumulation of lactate in cells related with the inflammation development in the bone tissue leads to the reduction of intracellular medium and the metabolic acidosis. It is related to the change of oxidation-reduction state of NAD-pairs in tissues. **Conclusions.** The hypogenesis inhibition and lypolysis activation, relatively, in all cats tissue samples studied were related with the increase of reductive capabilities of pyridine nucleotides in the case of chronic periodonitis. The increase of their oxidative capabilities in the case of acute going of the disease promotes the activation of this process. But the hypogenesis regulation in conditions of this patologic state goes by the different way in comparison with normal tissues.

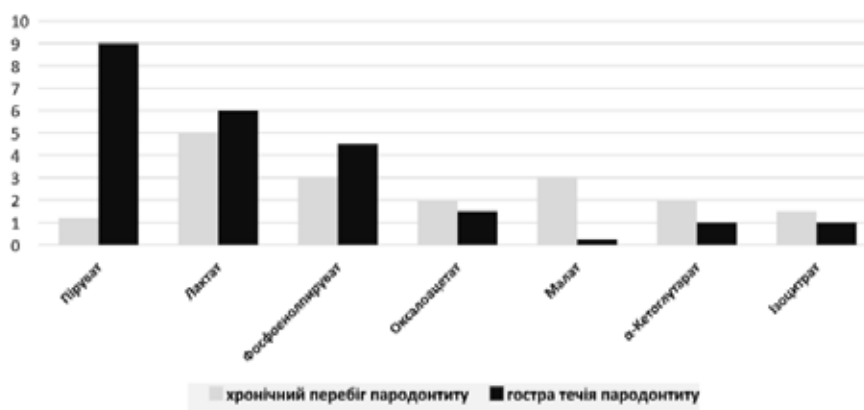
**Key words:** periodontitis, cat tissues, metabolites of glycolysis and the citric acid cycle.

Життєдіяльність організму з безліччю всіх фізіологічних функцій і біохімічних процесів можлива лише за умови його постійного енергозабезпечення і збереження гомеостазу. В останні роки накопичився експериментальний матеріал,

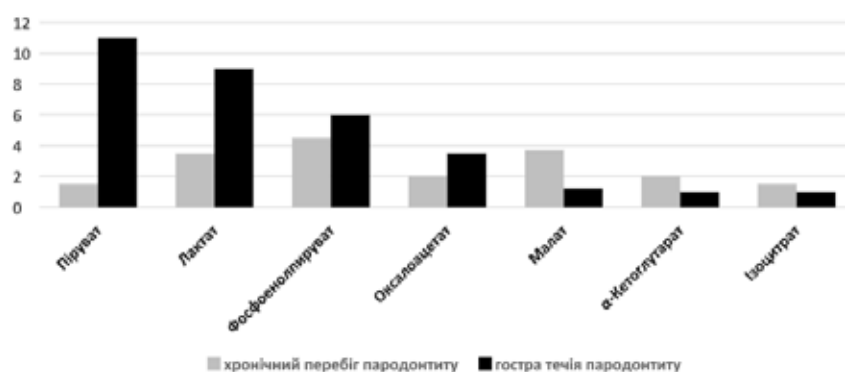
який свідчить про те, що різні за своєю природою патологічні процеси і різноманітні види стресу викликають однотипні пошкодження в клітинній системі окислювально-відновного стану організму. Відомо, що регуляція клітинного обміну і енергозалежні процеси в організмі залежать від окислювально-відновного стану піридино-вих нуклеотидів [1-4]. Інтегральним показником спрямованості окисно-відновного стану клітин є розрахунковий показник вільних пар НАД<sup>+</sup>/НАДН. Величина співвідношення окислених і відновлених форм нікотинамідних коферментів розраховується з концентрації окислених і відновлених метаболітів і константи балансу певної дегідрогеназної системи [5-7]. Порушення окисно-відновного стану та зниження резервів у клітині є істотним елементом патогенезу багатьох захворювань. Ціллю роботи було визначення вмісту відновлених і окислених метаболітів гліколізу і циклу трикарбонових кислот (пірувату, лактату, ізоцитрату, малату, оксалоацетату, фосфоенолпірувату і  $\alpha$ -кетоглутарату) в тканинах котів при спонтанному пародонтиті.

**Матеріали та методи дослідження.** Були досліджені коти двох-трьохрічного віку з пародонтитом, всього 22 тварини, яких розділяли на дві групи: з хронічним перебігом захворювання та утворенням гострого запального процесу в тканинах пародонту. Досліджували тканини печінки, альвеолярного відростка і ребра, які максимально швидко виділяли і заморожували за допомогою рідкого азоту. Після обробки гомогенатів [5] в отриманих нейтралізованих екстрактах тканин за допомогою ферментативних методів за Bergmeyer H.Y. [8] визначали кількість пірувату, лактату, фосфоенолпірувату, оксалоацетату, малату,  $\alpha$ -кетоглутарату та ізоцитрату. Про окисно-відновний стан тканин судили за співвідношенням вмісту окислених і відновлених метаболітів. Результати досліджень обробляли за допомогою загальноприйнятих статистичних методів програмного забезпечення Excel.

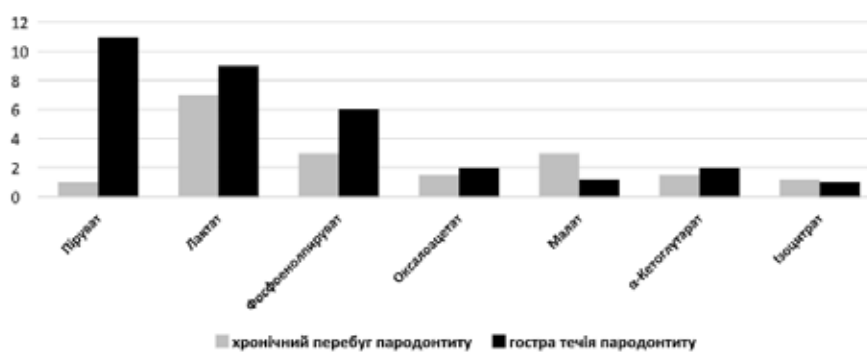
**Результати та їх обговорення.** При хронічному захворюванні пародонтитом у котів спостерігаються значні відмінності вмісту метаболітів як у печінці, так і в кістковій тканині (мал. 1-3). Характерні зміни були однотипними у всіх досліджуваних тканин. Хронічний перебіг пародонтиту характеризується меншою величиною відношення окислених субстратів (пірувату, оксалоацетату,  $\alpha$ -кетоглутарату) до відновлених (лактату, малату, ізоцитрату) порівняно з таким при гострій течії захворювання (мал. 4).



Мал. 1. Метаболіти гліколізу та ЦТК в альвеолярному відростку щелеп котів при пародонтиті (мкмоль/г тканини)



Мал. 2. Метаболіти гліколізу та ЦТК в тканинах ребра котів при пародонтиті (мкмоль/г тканини)

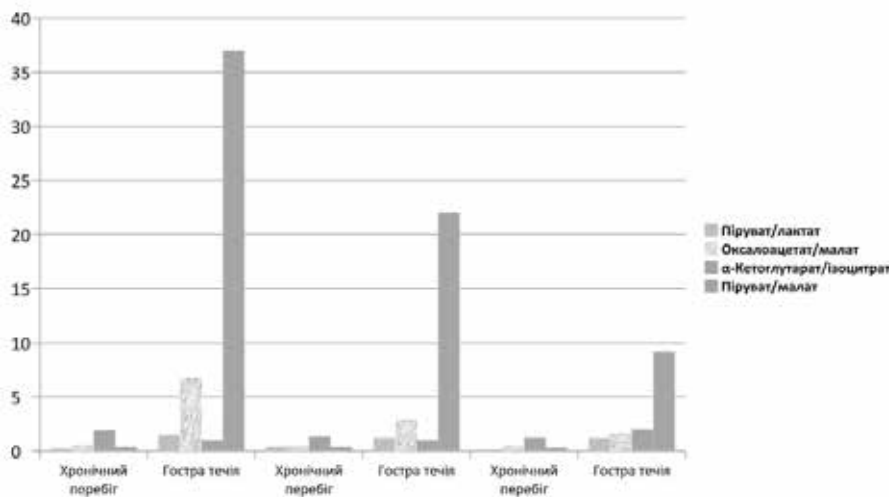


Мал. 3. Метаболіти гліколізу та ЦТК в тканинах печінки котів при пародонтиті (мкмоль/г тканини)

Накопичення лактату в клітинах організму при розвитку запального процесу в кістковій тканині веде до відновлення внутрішньоклітинного середовища і розвитку метаболічного ацидозу, цьому повинна відповідати зміна окислювально-відновного стану НАД-пар в тканинах [3-7].

Підвищення відновних властивостей при розвитку запалення гальмує гліколіз і активує глюконеогенез [7], при цьому малат (мал. 1-3) активно використовується, як попередник, в синтезі фосфоенолпірувата [9, 10] і його вміст знижується. При зниженій активності гліколізу

в досліджуваних тканинах [6, 11], активації протеолізу [6, 12] і трансаміназ [8, 13] субстратами для утворення фосфоенолпірувата слугують амінокислоти, а продуктом їх переамінування є оксалоацетат. Відзначений більш високий вміст α-кетоглутарату (мал. 1), необхідного для реакції утворення оксалоацетату з аспартату [8, 14]. Підвищення вмісту α-кетоглутарату при хронічному перебігу пародонтиту сприяє прискореному утворенню ізоцитрату. Цей процес особливо виражений в альвеолярних відростках щелеп. Відомо, що підвищений рівень α-кетоглутарату, цитрату



Мал. 4. Співвідношення окислених та відновлених метаболітів гліколізу та ЦТК у тканинах котів при пародонтиті.

та ізоцитрату в мітохондріях і зниження їх концентрації в цитоплазмі є результатом інгібування ліпогенезу [15, 16, 17].

При розвитку в тканинах пародонту запального процесу підвищення рівня пірувату в досліджуваних тканинах збільшує окисні властивості НАД-пар (мал. 1-4). Про інгібування ліпогенезу на цій стадії захворювання свідчить і достовірне зменшення вмісту  $\alpha$ -кетоглутарату та ізоцитрату в альвеолярних відростках клітини та  $\alpha$ -кетоглутарату в кістковій тканині. Krebs H.A. з співавторами встановив тісний паралелізм між швидкістю ліпогенезу та рівнем окислювально-відновного стану НАД-пар [17]. Збільшення відношення оксалоацетат/малат також сприяє активації вказаного процесу [17, 18].

Таким чином, інгібування ліпогенезу і, відповідно, активація ліполізу у всіх досліджуваних тканинах котів при хронічному перебігу пародонтиту пов'язані з підвищенням відновних властивостей піридинових нуклеотидів. Збільшення окисних властивостей останніх при гострому перебігу захворювання сприяє активації зазначеного процесу. Однак регуляція ліпогенезу в умовах даної патології здійснюється іншим засобом, ніж у тканинах без запалення.

Співвідношення окислених метаболітів до відновлених, як і співвідношення НАД<sup>+</sup>/НАДН-пар піридинових нуклеотидів, є чутливим інтегральним показником регуляції клітинного метаболіту та енергетичного обміну і може сприяти оцінці ефективності проведеної терапії та бути підґрунтям для її корекції.

### Література:

1. Anthony J. Covarrubias, Rosalba Perrone, Alessia Grozio, and Eric Verdin. NAD<sup>+</sup> metabolism and its roles in cellular processes during ageing. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2021. № 22(2). P. 119–141. doi: 10.1038/s41580-020-00313-x.
2. Williamson D.H., Bates M.W., Krebs H.A. Activity and intracellular distribution of enzymes of ketone-body metabolism in rat liver. *Biochem J.* 1968. № 108(3). P. 353-61. doi: 10.1042/bj1080353.
3. Harris, Robert, A., Kobayashi, Rumi, Murakami, Taro, Shimomura, Yoshiharu. Regulation of Branched-Chain  $\alpha$ -Keto Acid Dehydrogenase Kinase Expression in Rat Liver The Journal of Nutrition. 2001. V. 131, Issue 3. P. 841S-845S.
4. Holness M.J., Sugden M.C. Regulation of pyruvate dehydrogenase complex activity by reversible phosphorylation. *Biochem. Soc. Trans.* 2003. 31, (6). P. 1143-1151.
5. Пахомова Є.О., Білоклицька Г.Ф., Коновалов М.Ф. та ін. Аліментарний фактор в регуляції кислотно-лужного стану і атрофія кісткової тканини. *Вісник морської медицини.* 2005. № 4(31). С. 30.
6. Мельничук Д.О., Пахомова В.О., Білоклицька Г.Ф. та ін. Принципове обґрунтування та розробка засобів і методів інтегральної профілактики та базисної терапії розповсюджених хронічних захворювань людини та тварин. *Досягнення біології та медицини.* 2004. № 2 (4). С. 78-84.
7. Великий М.М., Кучмеровська Т.М., Пархомець П.К. Окислювально-відновний стан вільних нікотинамідних коферментів і синтез фосфоенілпірувату в печінці щурів і морських свинок. *Український біохімічний журнал.* 1981, 68, № 1. С. 60-66.

8. Bergmeyer H.Y. Methods of enzymatic analysis (Methoden der enzymatischen Analyse), 3<sup>rd</sup> Edition / Editor-in-Chief Bergmeyer H.Y. – Basel, Deerfield Beach: Verlag Chemie, Weinheim. 1983, XXVI. 605 p.

9. Lian W.S., Wu R.W., Lin Y.H., Chen Y.S., Jahr H., Wang F.S. Tricarboxylic Acid Cycle Regulation of Metabolic Program, Redox System, and Epigenetic Remodeling for Bone Health and Disease. *Antioxidants (Basel)*. 2024. № 13(4). P. 470. doi: 10.3390/antiox13040470.

10. Wang X., An P., Gu Z., Luo Y., Luo J. Mitochondrial Metal Ion Transport in Cell Metabolism and Disease. *Int J Mol Sci*. 2021. № 22(14) P. 7525. doi: 10.3390/ijms22147525.

11. Sun H.T., Zhang J., Hou N., Zhang X., Wang J., Bai Y. Spontaneous periodontitis is associated with metabolic syndrome in rhesus monkeys. *Arch Oral Biol*. 2014. № 59(4). P. 386-92. doi: 10.1016/j.archoralbio.2014.01.004

12. Aizenbud I., Wilensky A., Almozino G. Periodontal Disease and Its Association with Metabolic Syndrome-A Comprehensive Review. *Int J Mol Sci*. 2023. № 24(16). P. 13011. doi: 10.3390/ijms241613011.

13. Balci N., Kurgan Ş., Çekici A., Çakır T., Serdar M.A. Free amino acid composition of saliva in patients with healthy periodontium and periodontitis. *Clin Oral Investig*. 2021. № 25(6). P. 4175-4183. doi: 10.1007/s00784-021-03977-7.

14. Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. Entry to the Citric Acid Cycle and Metabolism Through It Are Controlled. *Biochemistry*. 5th edition. New York: W.H. Freeman; 2002. Section 17.2, URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

15. Greenbaum A.L., Gumma K.A., McLean P. The distribution of hepatic metabolites and the control of the pathways of carbohydrate metabolism in animals of different dietary and hormonal states. *Arch. Biochem and Biophys.*, 1971. 143 N3. P. 617-663.

16. Biju Sam Kamalam, Françoise Medale, Sadasivam Kaushik, Sergio Polakof, Sandrine Skiba-Cassy, Stephane Panserat. Regulation of metabolism by dietary carbohydrates in two lines of rainbow trout divergently selected for muscle fat content. *J. Exp. Biol*. 2012. № 215(15). P. 2567–2578. URL: <https://doi.org/10.1242/jeb.070581>

17. Krebs H.A., Johnson W.A. The role of citric acid in intermediate metabolism in animal tissues. *FEBS Lett*. 1980. № 25. P. 117 Suppl: K1-10. doi: 10.4159/harvard.9780674366701.

18. Agnieszka Jankowska-Kulawy, Joanna Klimaszewska-Łata, Sylwia Gul-Hinc, Anna Ronowska, Andrzej Szutowicz. Metabolic and Cellular Compartments of Acetyl-CoA in the Healthy and Diseased Brain. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. № 17, P. 10073. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms231710073>.

## References:

1. Anthony, J. (2021). Covarrubias, Rosalba Perone, Alessia Grozio, and Eric Verdin. NAD<sup>+</sup> metabolism and its roles in cellular processes during ageing. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 22(2), 119–141. doi: 10.1038/s41580-020-00313-x.

2. Williamson, D.H., Bates, M.W., & Krebs, H.A. (1968). Activity and intracellular distribution of enzymes of ketone-body metabolism in rat liver. *Biochem J.*, 108(3), 353-61. doi: 10.1042/bj1080353.

3. Harris, Robert, A., Kobayashi, Rumi, Murakami, Taro, & Shimomura, Yoshiharu. (2001). Regulation of Branched-Chain  $\alpha$ -Keto Acid Dehydrogenase Kinase Expression in Rat Liver. *The Journal of Nutrition*, 131, 3, 841S-845S.

4. Holness M.J., & Sugden M.C. (2003). Regulation of pyruvate dehydrogenase complex activity by reversible phosphorylation. *Biochem. Soc. Trans.* 31, (6), 1143-1151.

5. Pahomova, Je.O., Biloklyc'ka, G.F., Konov-alov, M.F. & ta in. (2005). Alimentarnyj faktor v reguljacii' kyslotno-luzhnogo stanu i atrofija kistkovoï' tkanyiny [Alimentary factor in the regulation of acid-base state and bone atrophy]. *Visnyk mors'koi' medycyny – Bulletin of marine medicine*, 4(31), 30. [in Ukrainian]

6. Mel'nychuk, D.O., Pahomova, V.O., Biloklyc'ka, G.F. & ta in. (2004). Pryncypove obg'runtuvannja ta rozrobka zasobiv i metodiv integral'noi' profilaktyky ta bazysnoi' terapii' rozpovsjudzenyh hronichnyh zahvorjuvan' ljudyny ta tvaryn [Fundamental justification and development of means and methods of Integral prevention and basic therapy of common chronic diseases of humans and animals]. *Dosjagnennja biologii' ta medycyny – Achievements in biology and medicine*, 2 (4), 78-84. [in Ukrainian].

7. Velykyj, M.M., Kuchmerovs'ka, T.M., & Parhomec', P.K. (1981). Okysljuval'no-vidnovnyj stan vil'nyh nikotynamidnyh kofermentiv i syntezy fosfoenolpiruvatu v pechinci shhuriv i mors'kyh svynok [Redox state of free nicotinamide coenzymes and phosphoenolpyruvate synthesis in the liver of rats and guinea pigs]. *Ukrai'ns'kyj biohimichnyj zhurnal – Ukrainian Biochemical Journal*, 68, 1, 60-66. [in Ukrainian].

8. Bergmeyer H.Y. Methods of enzymatic analysis (Methoden der enzymatischen Analyse), 3<sup>rd</sup> Edition. Editor-in-Chief Bergmeyer H.Y. Basel, Deerfield Beach: Verlag Chemie, Weinheim. 1983, XXVI. 605.

9. Lian, W.S., Wu, R.W., Lin, Y.H., Chen, Y.S., Jahr, H., & Wang, F.S. (2024). Tricarboxylic Acid Cycle Regulation of Metabolic Program, Redox System, and Epigenetic Remodeling for Bone Health and Disease. *Antioxidants (Basel)*, 13(4), 470. doi: 10.3390/antiox13040470.

10. Wang, X., An, P., Gu, Z., Luo, Y., & Luo, J. (2021). Mitochondrial Metal Ion Transport in Cell Metabolism and Disease. *Int J Mol Sci*, 22(14), 7525. doi: 10.3390/ijms22147525.

11. Sun, H.T., Zhang, J., Hou, N., Zhang, X., Wang, J., & Bai, Y. (2014). Spontaneous periodontitis is associated with metabolic syndrome in rhesus monkeys. *Arch Oral Biol.*, 59(4), 386-92. doi: 10.1016/j.archoralbio.2014.01.004
12. Aizenbud, I., Wilensky, A., & Almozino, G. (2023). Periodontal Disease and Its Association with Metabolic Syndrome-A Comprehensive Review. *Int J Mol Sci.*, 24(16), 13011. doi: 10.3390/ijms241613011.
13. Balci, N., Kurgan, Ş., Çekici, A., Çakır, T., & Serdar, M.A. (2021). Free amino acid composition of saliva in patients with healthy periodontium and periodontitis. *Clin Oral Investig.*, 25(6), 4175-4183. doi: 10.1007/s00784-021-03977-7.
14. Berg, J.M., Tymoczko, J.L., & Stryer, L. (2002). Entry to the Citric Acid Cycle and Metabolism Through It Are Controlled. *Biochemistry*. 5th edition. New York: W.H. Freeman; Section 17.2, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
15. Greenbaum, A.L., Gumma, K.A., & McLean, P. (1971). The distribution of hepatic metabolites and the control of the pathways of carbohydrate metabolism in animals of different dietary and hormonal states. *Arch. Biochem and Biophys.*, 143, 3, 617-663.
16. Biju, Sam, Kamalam, Françoise, Medale, Sadasivam, Kaushik, Sergio, Polakof, Sandrine, Skiba-Cassy, & Stephane, Panserat. (2012). Regulation of metabolism by dietary carbohydrates in two lines of rainbow trout divergently selected for muscle fat content. *J. Exp. Biol.* 215 (15), 2567-2578. <https://doi.org/10.1242/jeb.070581>
17. Krebs, H.A., & Johnson, W.A. (1980). The role of citric acid in intermediate metabolism in animal tissues. *FEBS Lett.*, 25, 117 Suppl: K1-10. doi: 10.4159/harvard.9780674366701.
18. Agnieszka, Jankowska-Kulawy, Joanna, Klimaszewska-Lata, Sylwia, Gul-Hinc, Anna, Ronowska, & Andrzej, Szutowicz. (2022). Metabolic and Cellular Compartments of Acetyl-CoA in the Healthy and Diseased Brain. *International Journal of Molecular Sciences.*, 17, 10073. <https://doi.org/10.3390/ijms231710073>.