

7. Лакин Г. Ф. Биометрия: учеб. пособие для биол. спец. ВУЗов. Москва: Высшая школа, 1990. 352 с.
8. Бююль А., Цефель П. SPSS: искусство обработки информации. Анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей. Санкт–Петербург: ООО ДиаСофтЮП, 2005. 608 с.

УДК 577.125:678.048

ДИНАМІКА АКТИВНОСТІ ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА СИСТЕМИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ОКИСНОГО СТРЕСУ ПРИ КОРЕКЦІЇ КОМПЛЕКСОМ АНТИОКСИДАНТІВ

Діордица Я. В., ¹Гаркович О. Л., Єзіков В. І.

Херсонський державний університет

73000, Україна, Херсонська обл., вул. Університетська, 27

¹*Одеська національна академія харчових технологій*

65039, Україна, Одеса, вул. Канатна, 112

diorditsa_yv@ukr.net

Наведено результати досліджень впливу комплексу антиоксидантів на динаміку показників перекисного окиснення ліпідів та стану антиоксидантної системи печінки щурів за умов окисного стресу, що викликаний одноразовим введенням гідразин сульфату. Внутрішньочеревне введення щурам дослідних груп розчину гідразин сульфату викликає ураження печінки, що зумовлене активізацією вільнорадикального окиснення біосубстратів, зокрема, ліпідів біомембран гепатоцитів. Про це свідчить зростання показників первинних – дієнових кон'югатів (ДК) та вторинних – малонового діальдегіду (МДА) продуктів перекисного окиснення ліпідів, а також пригнічення показників ферментів антиоксидантного захисту порівняно з контролем. Встановлено, що застосування комплексу антиоксидантів у складі «Тріовіт» та кверцетин за умов окисного стресу сприяє нормалізації процесів ПОЛ та антиоксидантного захисту організму, відновлюючи до норми показники МДА, ДК та СОД. При корекції комплексом антиоксидантів, що містить ліпоєву кислоту, «Тріовіт» та кверцетин спостерігаємо зростання показників МДА та СОД, а рівень ДК та каталази не зазнав достовірних змін.

Ключові слова: гідразин сульфат, дієнові кон'югати, малоновий діальдегід, каталаза, супероксиддисмутаза, кверцетин, «Тріовіт», α-ліпоєва кислота.

Diorditsa Y., Garkovich A., Yezikov V. DYNAMICS OF ACTIVITY OF LIPID PEROXIDATION PROCESSES AND SYSTEM OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT PROTECTION IN THE LIVER OF RATS IN CONDITIONS OF OXIDATIVE STRESS BY CORRECTION WITH ANTIOXIDANT COMPLEX / Kherson State University; 73000, Ukraine, Kherson region, University, 27.

Excessive environmental load, taking medicine, alcohol, drugs, food additives, using of pesticides and herbicides, household chemicals lead to structural and functional disorders of hepatocytes. The liver is an important gland of the body participated in the elimination of a number of endogenous toxic metabolites and exogenous xenobiotics, contributing to their excretion from the body. The complex effect of xenobiotics causes intensification of lipid peroxidation processes and destabilization of antioxidant defense of the organism. In the normal physiological state of the body, the rate of lipid peroxidation processes and the activity of the antioxidant system are in balance. When the balance move to the side of the lipid peroxidation processes - oxidative stress is developed, which is a predecessor for the development of pathologies of different origins. Products of lipid peroxidation processes – malonic dialdehyde (MDA) and diene conjugates (DC) are markers of tissue damage and have cytotoxic and mutagenic effects. These effects leveled with antioxidants.

The article present the result of testing the influence of the antioxidant complex on the dynamics of lipid peroxidation parameters and the activity of enzymes of the prooxidant and antioxidant system of rat's liver under conditions of oxidative stress caused by single administration of hydrazine sulfate.

The experiments carried out on white laboratory rats of the Vistar line weighing 280 g, which kept under standard vivarium conditions. The rats divided into 4 groups: I group – control (n = 6); II – acute toxic hepatitis, caused by a single intra-peritoneal injection of a solution of hydrazine sulfate (100 mg / kg) (n = 6); III – hepatitis + «Triovit» (50 mg / kg) and drug quercetin (20 mg / kg) (n = 6); IV – hepatitis + «Triovit» (50 mg / kg) + quercetin (20 mg / kg) + lipoic acid (100 mg / kg) (n = 6). Complex of preparations the rats obtained per os immediately after the introduction of hydrazine sulfate. Animals extracted from the experiment under ethereal anesthesia, the decapitation carried out 24 hours after started of experiment.

Intra-peritoneal administration hydrazine sulfate to experimental rats at a dose of 100 mg / kg causes liver damage due to increased formation of active forms of oxygen and activation of free radical oxidation of biomembranes of hepatocytes. It is confirmed by the growth of lipid peroxide oxidation products – malonaldehyde and diene conjugates, decrease in the activity of antioxidant enzymes. In animals, which not treated with antioxidants, the level of primary lipid peroxidation products – DC increased by 78.05 % and secondary products of lipid peroxidation – MDA – by 19 % compared to control one.

We used antioxidant complexes complex for normalization indexes of the lipid peroxidation. When we used for the treatment the antioxidant complex which containing quercetin and «Triovit», which includes vitamins A, E, C and microelement Selenium, we observe lowering the level of DC by 45 % and MDA by 8 % compared to a non-treated rats. When we use antioxidant complex, that including «Triovit», quercetin and α -lipoic acid the level of DC slightly lowered, and MDA increased by 44.6 % compared to non-treated animals with antioxidants.

The activation of lipid peroxidation led to a change in the activity of the main antioxidant enzymes - superoxide dismutase (SOD) and catalase. Introduction the xenobiotic decreased the level of the SOD by 20.43 % compared with intact. Probable changes in the catalase index we are not noted. With quercetin and «Triovit» correction, SOD indexes grew by 5.3 % compared to the non-treated group, but these indexes were 14.4 % lower than intact rats. The catalase index have not reliable change. Treatment of «Triovit», quercetin and lipoic acid decreased the level of SOD by 16.5 % compared with animals without antioxidant treatment and by 22.7 % compared to the rats which treated with «Triovit» and quercetin.

Using the complex of antioxidant, which includes «Triovit» and quercetin in the conditions of oxidative stress promote to the normalization of the processes of lipid peroxidation, returning to normal the index of MDA and DC, promote restoration of the SOD index.

Key words: hydrazine sulfate, diene conjugates, malonic dialdehyde, superoxide dismutase, catalase, quercetin, «Triovit», α -lipoic acid.

ВСТУП

Значне екологічне навантаження, прийом лікарських препаратів, вживання алкоголю, наркотиків, харчових добавок, барвників, використання пестицидів, гербіцидів, побутових хімічних засобів значно навантажують організм, зокрема печінку.

Печінка – це орган, який забезпечує перетворення всіх речовин, що до неї надходять, у речовини для крові та інших органів або для виведення з організму. Ці процеси забезпечуються мікросомальною монооксидазною ферментною системою мітохондрій гепатоцитів та мембран ендоплазматичного ретикулуму [1]. Мітохондрії печінки дуже чутливі до дії стресових факторів, що можуть викликати їх дисфункцію та стати однією з причин загибелі [2, 3].

Комплексний вплив ксенобіотиків призводить до структурно-функціональних порушень у мембранах гепатоцитів. Це спричиняє посилення перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і дестабілізації антиоксидантного захисту (АОЗ) [4]. За нормальних фізіологічних умов життєдіяльності організму швидкість ПОЛ і активність АОЗ зрівноважені. Проте при дії патологічних факторів рівновага зміщується в бік активізації процесів ПОЛ, що є потенційною передумовою виникнення оксидативного стресу та відіграє провідну роль у розвитку патологій різної етіології. Продукти вільнорадикального перекисного окиснення (малоновий діальдегід та дієнові кон'югати) виступають маркерами ушкодження тканин, оскільки за їх вмістом можна судити про інтенсивність перебігу вільнорадикальних процесів у різних системах організму [5]. Ці речовини володіють цитотоксичною та мутагенною дією, що призводить до порушення метаболізму клітин. Їх вплив нівелюється антиоксидантами (АО) – хімічними речовинами, що мають здатність зв'язувати вільні радикали, зменшуючи інтенсивність процесів окиснення в організмі [4, 6].

Рядом досліджень доведено позитивний вплив α -ліпоєвої кислоти [7], кверцетину [8-10] та «Тріовіту» [11] на гальмування процесів ПОЛ та підтверджено їхні потужні антиоксидантні властивості. Проте комплексна дія цих антиоксидантів не досліджувалася, тому актуальним є пошук і вивчення безпечних та ефективних комбінацій препаратів, які будуть гальмувати процеси ПОЛ.

Мета роботи – встановити вплив одноразового введення різних комплексів антиоксидантів на динаміку показників ПОЛ та ферментну ланку системи АОЗ печінки щурів за умов експериментального гострого гепатиту.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили на білих лабораторних щурах-самках лінії Вістар масою 280 г, які утримувались у стандартних умовах віварію. Протягом усього експерименту щурів утримували на збалансованому раціоні, що містив усі необхідні компоненти. Питну воду тварини отримували без обмежень з поїлок об'ємом 0,2 л. Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986).

Тварин було поділено на 4 групи по 6 особин у кожній: I група – контроль (інтактна); II – гострий токсичний гепатит, викликаний шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення розчину сірчанокислого гідразину (100 мг/кг); III – гепатит + «Тріовіт» (50 мг/кг) та препарат «Кверцетин» (20 мг/кг); IV – гепатит + «Тріовіт» (50 мг/кг), препарат «Кверцетин» (20 мг/кг) та ліпоєва кислота (100 мг/кг). Комплекс препаратів щури отримували *per os* відразу ж після введення розчину сірчанокислого гідразину. Тварин виводили з експерименту під етерним наркозом, декапітацію проводили через 24 години від початку експерименту. Видаляли печінку, промивали її у фізіологічному розчині та використовували для подальших досліджень.

Рівень маркерів перекисного окиснення ліпідів – дієнових кон'югатів (ДК) визначали за здатністю утворювати спряжені подвійні зв'язки за наявності вільних радикалів у молекулах поліненасичених вищих жирних кислот за методом Левицького та ін. [12]. Кількість ТБК-активних продуктів визначали фотометрично за концентрацією забарвленого комплексу, що утворюється при взаємодії малонового діальдегіду (МДА) з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) при нагріванні у кислому середовищі за методом Стальної [13]. Кількість ДК та МДА виражали в мікромолях цих продуктів на 1 мг протеїну мітохондріальної фракції. Активність супероксиддисмутази (СОД), (КФ 1.15.1.1.) визначали за здатністю СОД конкурувати з нітросинім тетразолієм за супероксидні аніони за методом Чевари [14]. Активність СОД виражали в умовних одиницях. Активність каталази (КФ 1.11.1.6) визначали за здатністю перекису водню утворювати з солями молібдену стійкий жовтогарячий комплекс за методом Корольок та ін. [15]. Активність каталази виражали в мкат/кг у мітохондріальній фракції.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили за допомогою програми BioStat 2008 5.8.4.3 для Windows. Вірогідність різниці між вибірками оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Розбіжності вважали вірогідними за $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як свідчать результати одержаних даних, після внутрішньоочеревинного введення сірчанокислого гідразину тваринам дослідних груп спостерігаємо розвиток гострого токсичного гепатиту, що підтверджується вірогідною зміною досліджуваних показників. Підвищення рівня ДК у печінці тварин другої групи на 78,05 % (табл. 1) порівняно з інтактом свідчить про активізацію процесів ПОЛ. Уведення «Тріовіту» та кверцетину тваринам третьої групи на тлі гострого гепатиту призводить до зниження рівня ДК порівняно з другою групою, що не отримувала антиоксидантів на 45 %, проте отримані показники є вищими ніж у інтакту на 22,8 %. У тварин четвертої групи, що отримували «Тріовіт», кверцетин та ліпоєву кислоту, на тлі гострого гепатиту спостерігалось зниження ДК у порівнянні з тваринами другої групи, однак при порівнянні з інтактною групою ці показники були досить

високими. Отримані дані свідчать про позитивний вплив застосування комплексів антиоксидантів на показники ДК у тварин як III так і IV груп. Проте комплекс антиоксидантів, що містив α -ліпоеву кислоту, суттєво не знижував показників ДК порівняно з комплексом антиоксидантів III групи.

Таблиця 1 – Показники прооксидантно-антиоксидантного статусу в печінці щурів

Групи щурів	Дієнові кон'югати, ммоль/кг n=6	МДА, ммоль/кг n=6	Каталаза, мкат/кг n=6	СОД, од/кг n=6
Інтактна група	9,66 ± 1,65	49,23 ± 6,31	5,68 ± 0,15	1002 ± 29
II група	17,20 ± 1,10 $p_1 < 0,05$	58,57 ± 6,45 $p_1 > 0,05$	5,84 ± 0,08 $p_1 > 0,05$	832 ± 22 $p_1 < 0,05$
III група	11,86 ± 1,69 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$	54,21 ± 6,09 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	5,75 ± 0,06 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	876 ± 19 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$
IV-група	16,56 ± 1,51 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$ $p_3 < 0,5$	84,67 ± 5,53 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	5,70 ± 0,08 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$	714 ± 33 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$

Примітка: p_1 – порівняння з інтактною групою; p_2 – порівняння з II групою; p_3 – порівняння з III групою.

Малоновий діальдегід (МДА) є проміжним продуктом перекисного окиснення ліпідів, тому його показники є також важливими маркерами інтенсивності перекисного окиснення ліпідів. При введенні гідразин сульфату спостерігаємо зростання показників МДА на 19 % (табл. 1) порівняно з інтактною групою. Уведення кверцетину та «Тривіту» тваринам третьої групи на фоні введення сірчанокислого гідразину призвело до невірогідного зниження показників МДА порівняно з другою групою, проте ці показники були вищими ніж в інтактній групі на 10,1 %. При введенні комплексу антиоксидантів тваринам четвертої групи ми отримали найвищі показники МДА серед усіх груп. Вони на 56,19 % вищі ніж у третій дослідній групі та на 72 % більше ніж в інтактній групі. Показники МДА в четвертій групі були вищими на 44,6 % ніж у групі тварин, що не отримували лікування антиоксидантами.

Зростання вмісту продуктів ПОЛ у печінці можна пояснити пошкодженням мембран гепатоцитів токсичним метаболітом унаслідок пероксидації фосфоліпідів та поліненасичених жирних кислот.

Активізація процесів перекисного окиснення ліпідів призводить до розвитку окисного стресу. Важливою ланкою захисту організму від окисного стресу є антиоксидантна система. До основних маркерів ферментної ланки антиоксидантного захисту відносять каталазу та супероксиддисмутазу (СОД), що сповільнюють процеси утворення вільних радикалів та інактивують надлишок активних форм кисню.

Під час проведення експерименту у тварин всіх дослідних груп достовірної зміни активності каталази в печінці не спостерігається (табл. 1).

При введенні сірчанокислого гідразину у тварин другої групи спостерігається зниження рівня СОД на 20,43 % в порівнянні з інтактом (табл. 1). При введенні кверцетину та «Тривіту» тваринам третьої групи рівень СОД підвищився на 5,3 % порівняно з групою, що не отримувала лікування антиоксидантами, проте ці показники були на 14,4 % нижчими від рівня інтакту. При корекції окисного стресу комплексом антиоксидантів у складі кверцетину, «Тривіту» та ліпоевої кислоти рівень СОД знизився на 22,7 % по відношенню до показників тварин третьої групи та на 40,3 % відносно інтактної групи. Показники рівня СОД у тварин четвертої групи були навіть нижчими на 16,5 % ніж у тварин другої групи, що не отримували лікування антиоксидантами.

Суттєве зменшення кількості МДА та ДК у тварин третьої дослідної групи вказує на потужні антиоксидантні властивості застосованих речовин і їх здатність активізувати ензими антиоксидантного захисту, які знижують кількість окиснених продуктів у клітині. Активізація СОД є позитивною ознакою гальмування процесів утворення окисних продуктів і активізацією адаптивних процесів за умов ксенобіотичного впливу.

Перспектива подальших досліджень – оцінка динаміки показників перекисного окиснення ліпідів та системи антиоксидантного захисту за умов тривалого оксидативного стресу при корекції комплексами антиоксидантів.

ВИСНОВКИ

1. Одноразове введення гідразин сульфату призводить до деструктивних змін, які спричинені активізацією процесів вільнорадикального окиснення ліпідів, що підтверджується вірогідними змінами показників ДК, МДА, СОД.
2. Комплекс антиоксидантів, що містить «Тріовіт» та кверцетин позитивно впливає на стан перекисного окиснення ліпідів та систему антиоксидантного захисту печінки за умов окисного стресу за рахунок підвищення адаптаційних процесів, що супроводжуються зростанням активності СОД та зменшенням рівня продуктів перекисного окиснення ліпідів – МДА та ДК.
3. Використання комплексу «Тріовіт» + кверцетин + ліпоєва кислота зумовило зростання МДА, суттєво знизило рівень СОД та майже не вплинуло на показники ДК порівняно з тваринами, що не отримували лікування антиоксидантами.
4. Використання комплексу «Тріовіт» + кверцетин є більш ефективним для лікування гострих гепатитів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Антонова Е. И., Цебржинский О. И. Влияние биологически активных веществ на прооксидантно-антиоксидантную систему печени: монография. Кременчуг: Изд. КНТУ, 2012. 160 с.
2. Begriche K., Massart J., Robin M.-A. & Borgne – Sanchez A. Drug-induced toxicity on mitochondria and lipid metabolism: Mechanistic diversity and deleterious consequences for the liver. *Bernard Fromenty Journal of Hepatology*. 2011. № 54 (4). P. 773-794.
3. Mitochondria and the lectin pathway of complement / Brinkmann C.R. et al. *The Journal of Biological Chemistry*. 2013. № 288 (12). P. 8016-8027.
4. Барабой В. А., Сутковой Д. А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. Киев: Чернобыльинтеринформ, 1997. Ч. 1. 202 с.
5. Барабой В. А. Биоантиоксиданты: монография. Киев : Книга плюс, 2006. 462 с.
6. Особа І. А. Особливості функціонування системи антиоксидантного захисту організму. *Рибогосподарська наука України*. Київ, 2009. № 1. С. 133-139.
7. Карлович Т. И., Ильченко Л. Ю. Альфа-липоєвая кислота в гепатологии. *Здоровье Украины*. 2009. № 21 (1). С. 28-29.
8. Присяжнюк В. П. Особливості використання кверцетину в комплексному лікуванні хворих на цироз печінки невірусного походження. *Вісник наукових досліджень*. Тернопіль, 2013. № 2. С. 25-27.
9. Вильчинская Т. В. Кверцетин и его роль как антиоксиданта, цитостатика и онкопротектора. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2014. № 1-2. С. 55-58.

10. Доркина Е. Г., Сергеева Е. О., Оганесян Э. Г. Влияние биофлавоноидов на перекисное окисление липидов и антиоксидантную систему печени крыс при остром алкогольном отравлении. *Вестник ВолГМУ*. Волгоград, 2007. № 3 (23). С. 50-52.
11. Чимпой К. А. Особливості корекції порушень тиреоїдного гомеостазу у хворих на хронічні дифузні захворювання печінки. *Український науково-медичний молодіжний журнал*. Київ, 2015. № 1. С. 78-80.
12. Левицький А. П., Макаренко О. А., Ходаков И. В. Методы исследования жиров и масел: методические рекомендации. Одесса: Кп «ОГТ», 2015. 32 с.
13. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. *Современные методы в биохимии* / ред. В. Н. Орехович. Москва : Медицина, 1977. С. 66-68.
14. Чевари С. Роль СОД в окислительных процессах и метод определения ее в биологических материалах. *Лабораторное дело*. 1985. №11. С. 678-680.
15. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова Н. Т. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*. 1988. № 1. С. 16-18.

УДК 612.699:Д13.11(477.64-2)

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ЕЯКУЛЯТУ ЧОЛОВІКІВ НА ФОНІ РІЗНОГО ГОРМОНАЛЬНОГО СТАНУ

Романова М. Д., Єщенко Ю. В., Бовт В. Д., ¹Добродуб І. В., ¹Якубенко Д. С.

Запорізький національний університет

69600, Україна, Запоріжжя, вул. Жуковського, 66

¹ ДЦ «Медлайф-Біо»

69061, Україна, Запоріжжя, вул. Жаботинського, 32

vd.bovt@gmail.com

Досліджено гормональний статус чоловіків відповідно до віку (І група – чоловіки від 19 до 30 років (15 осіб), ІІ група – від 30 до 40 років (34 особи) та ІІІ група – від 40 до 60 років (28 осіб) і параметри їх еякуляту та рівень простатичної кислоти фосфатази (ПКФ). Отримані результати вказують, що в чоловіків, починаючи із 30-річного віку, знижується концентрація головного андрогена – тестостерону. Хоча у всіх обстежених чоловіків рівень гормонів у нормі, результати інших параметрів репродуктивної системи мали патологічні значення. Ми спостерігали зміни в еякуляті та підвищення ПКФ, які негативно відображаються на фертильності чоловіків. Отже, рівень тестостерону у 30-річних чоловіків і старше не забезпечує в повному обсязі фізіологічного функціонування статевої системи, унаслідок чого репродуктивна система зазнає незворотних змін, які призводять до відхилення параметрів еякуляту від норми та порушення функції простати, що виражається в збільшенні ПКФ.

Ключові слова: віковий андрогенний дефіцит, андропауза, фертильність, сперматозоїди, тестостерон.

Romanova M. D., Eshenko Yu. V., Bovt V. D., ¹Dobrodub I. V., ¹Jakubenko D. S. MORPHO-FUNCTIONAL FEATURES OF MEN'S EJACULATE ON THE BACKGROUND OF DIFFERENT HORMONAL STATE / Zaporizhzhya National University, 69600, Ukraine, Zaporizhzhya, Zhukovsky, 66, ¹ «DC «Medlife-Bio», 69061, Ukraine, Zaporizhzhya, Zhabotinsky, 32

Hormones are the «conductors» of the body. We studied hormonal level of man all ages. Andropause is more and more serious problem of male health, which leads to more detailed study. Age androgen deficiency cause decrease of sexual function. Age androgen deficiency is a clinical and biochemical syndrome, associated with testosterone deficiency. Testosterone is main hormone of men health, sexual function, lipid metabolism, bone tissue metabolism, muscle mass, regulation of hemopoiesis, immune functions. We measured concentration of sex hormones, prostatic acid phosphatase, ejaculat parameters and made photographs of pathological spermatozoa's. We studied the concentrations such hormones as: