



УДК 615.9:616.36-099:576.2.24:577.161.3

О. Є. Ткаченко, Г. М. Шаяхметова, А. К. Вороніна, В. М. Коваленко

СТАН ПРООКСИДАНТНОЇ І АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ, ЩО РОЗВИНУВСЯ В ЮВЕНІЛЬНОМУ ВІЦІ

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», Київ, Україна

УДК 615.9:616.36-099:576.2.24:577.161.3

А. Е. Ткаченко, С. М. Шаяхметова, А. К. Воронина, В. М. Коваленко
СОСТОЯНИЕ ПРООКСИДАНТНОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ СЕМЕННИКОВ КРЫС С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ, РАЗВИВШИМСЯ В ЮВЕНИЛЬНОМ ВОЗРАСТЕ

ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины», Киев, Украина

Целью работы была оценка биохимических показателей семенников крыс с метаболическим синдромом (МС), индуцированным в ювенильном возрасте. Крысы линии Вистар в возрасте 21 дня были разделены на 2 группы: 1-я — контроль, 2-я — МС (замена питьевой воды на 10 % раствор фруктозы). Развитие МС в детском возрасте оказало сильное влияние на про/антиоксидантную систему семенников: в 2,2 раза интенсифицировались процессы перекисного окисления липидов, на 15 % возрастала активность каталазы, на 9 % снижался уровень содержания глутатиона. Таким образом, индукция МС в детстве вызывала отдаленные нарушения в тестикулярных клетках на биохимическом уровне. Результаты обосновывают необходимость дальнейших исследований, в том числе разработку эффективных методов профилактики и лечения мужского бесплодия, вызванного МС.

Ключевые слова: про/антиоксидантная система, метаболический синдром, ювенильный возраст.

UDC 615.9:616.36-099:576.2.24:577.161.3

О. Ye. Tkachenko, G. M. Shayakhmetova, A. K. Voronina, V. M. Kovalenko
TESTICULAR PROOXIDANT AND ANTIOXIDANT SYSTEM STATE IN RATS WITH METABOLIC SYNDROME DEVELOPED IN THE JUVENILE AGE

SI "Institute of Pharmacology and Toxicology, NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine

Adolescence is decisive with regard to the formation of reproductive function, so almost in half of cases childhood and adolescence diseases are causes of male infertility. To date no emphasis has been placed on examination of effect of childhood metabolic syndrome (MS) on testes parameters in puberty.

The aim of present study was an estimation of biochemical indices in rat testes following MS induced in juvenile age.

Wistar albino male rats of 21 days age were divided into 2 groups (10 animals in each): (1) control, (2) MS. MS was induced by full replacement of drinking water by 10 % fructose solution. To confirm the adequacy of the applied model of MC, the relevant clinical biochemical parameters of blood serum were evaluated. It was shown an increase in the glucose content by 71 %, triglycerides by 43 %, total cholesterol by almost 20 %, and low density lipoprotein content by 36 % as compared with control. Development of MS in childhood greatly affected testicular pro- and antioxidant systems: we recorded lipid peroxidation processes intensification 2.2 times, increase of catalase activity 15 % and decrease of glutathione content 9 % as compared with control.

Changes in the activity of testicular glutathione-dependent enzymes have not been revealed at this stage of the pathological process.



Thus, induction of MS in childhood provoked remote disturbances in testicular cells at biochemical level. These and other pathological events in testicular tissues need to be investigated profoundly as processes affecting spermatogenesis and probably underlying male infertility in adults. The results substantiate further studies, including the development of effective methods of prevention and treatment of male infertility caused by MS.

Key words: pro/antioxidant system, metabolic syndrome, juvenile age.

Вступ

Серед порушень репродуктивної функції у чоловіків за умов метаболічного синдрому (МС) привертає увагу той факт, що репродуктивна функція підлітків — це одна з найбільш чутливих систем організму, яка тонко реагує на різні зовнішні впливи. Підлітковий вік — від початку пубертатного періоду і до його завершення — є визначальним у становленні репродуктивної функції, і саме захворювання дитячого та підліткового періоду розвитку зумовлюють майже половину випадків чоловічої інфертильності. Численні дослідження показали, що розв'язати проблеми андрологічного характеру у дорослих чоловіків складно саме через занедбаність і необоротні зміни внаслідок несвоєчасної діагностики або неадекватних лікувальних заходів у дитячому віці [1].

Зважаючи на вищезазначене, актуальним є експериментальне вивчення вікових особливостей формування порушень чоловічої репродуктивної функції за МС.

Метою даної роботи було вивчення впливу МС, що розвинувся в ювенільному віці, на біохімічні показники гонад щурів-самців.

Матеріали та методи дослідження

Для досліджень використовували щурят-самців, у яких щойно закінчився підсосний період (віком 3 тиж.) з початковою масою тіла 50–70 г. Тварини були надані розплідником експериментально-біоло-

гічної клініки ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» і утримувалися в стандартних умовах віварію за температури 22–24 °С і відносної вологості 30–70 %, з вільним доступом до корму та води. План досліджень був розглянутий та схвалений Комітетом з біоетики ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»; усі процедури, пов'язані з гуманним поводженням із тваринами та їхнім використанням в експериментах, були дотримані.

Тварин було розподілено на 2 групи по 10 у кожній: 1-ша група — контроль; 2-га група — модель МС (заміна води для пиття на 10 % розчин фруктози протягом 8 тиж.) [2]. Через 8 тиж. споживання 10 % розчину фруктози самців під легким ефірним наркозом піддавали евтаназії дислокацією шийних хребців. Перед евтаназією у тварин під легким ефірним наркозом брали кров із стегнової вени для виділення сироватки для біохімічних досліджень. У роботі керувалися методичними рекомендаціями з доклінічного вивчення лікарських засобів [3]. Біохімічні показники сироватки крові, що характеризують розвиток МС, визначали на біохімічному аналізаторі Prestig 24i (Японія), використовуючи біотести виробництва фірми “P. Z. Cormany” (Польща). Вилучені для біохімічних досліджень зразки сім'яників зберігали до використання у рідкому азоті. У гомогенаті сім'яників оцінювали стан про- і антиоксидантної систем, визначаючи швидкість утворення продуктів реакції з тіобарбітуровою кислотою [4],

вміст відновленого глутатіону [5], активність глутатіон-S-трансферази [6] та глутатіонредуктази [7], а також каталази [8]. Білок у гомогенаті сім'яників визначали за методом Lowry і співавт. [9].

Статистичний аналіз результатів експерименту проводили з використанням t-критерію Стьюдента. Дані представляли як середнє значення ± похибка середнього ($M \pm m$). Різницю між досліджуваними показниками вважали статистично достовірною при значенні $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Згідно з рекомендаціями Американської асоціації кардіологів 2001 р., виділяють 5 основних компонентів МС: надмірна маса тіла або ожиріння, підвищення рівня холестерину ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), гіпертригліцеридемія, порушення глікозотолерантності, артеріальна гіпертензія. Висновок про наявність МС роблять за наявності 3 компонентів із 5 [10].

Для підтвердження адекватності застосованої моделі МС нами були оцінені відповідні клінічні біохімічні показники сироватки крові, результати (табл. 1). Відмічено зростання вмісту глюкози на 71 %, тригліцеридів — на 43 %, загального холестерину майже на 20 % та вмісту ЛПНЩ на 36 % порівняно з контролем.

Розвиток гіперглікемії, збільшення вмісту ЛПНЩ, загального холестерину та тригліцеридів у сироватці крові пубертатних щурів, яких утримували



Біохімічні показники сироватки крові щурів-самців з метаболічним синдромом, що розвинувся в ювенільному віці, ммоль/л, M±m, n=10

Показник	Експериментальна група	
	Контроль	МС
Глюкоза	5,45±0,76	9,33±0,42*
Загальний холестерин	1,48±0,05	1,73±0,10*
Тригліцериди	0,47±0,03	0,67±0,08*
ЛПНЩ	0,230±0,021	0,312±0,015*

Примітка. У табл. 1 і 2: * — $p \leq 0,05$ порівняно з контрольною групою.

Таблиця 2

Показники про- і антиоксидантної активності в сім'яниках щурів-самців з метаболічним синдромом, що розвинувся в ювенільному віці, M±m, n≥6

Показник	Експериментальна група	
	Контроль	МС
Швидкість аскорбатзалежного утворення продуктів реакції з ТБК, мкмоль/(хв · мг білка)	0,083±0,022	0,184±0,013*
Активність каталази, нмоль/(хв · мг білка)	20,14±0,49	23,22±0,78*
Вміст відновленого глутатіону, нмоль/мг білка	3,91±0,11	3,58±0,32*

на високовуглеводному раціоні, є підтвердженням індукування МС.

Вважається, що при МС важливу роль відіграє оксидативний стрес як неспецифічний фактор у розвитку патологічних змін [11]. Збільшення прооксидантної ємності організму за умов МС, як правило, супроводжується зниженням продуктивності антиоксидантного захисту, що створює умови для розвитку окисного стресу. Внаслідок підвищеної продукції активних форм кисню (АФК) ушкоджуються життєво важливі макромолекули клітин, такі як ДНК, білки, ліпіди та вуглеводи [12].

Наразі оксидативний стрес у дітей не визначається як фактор розвитку МС, але є повідомлення про кореляцію між підвищенням окиснювального стресу й ендотеліальною дисфункцією у дітей з ожирінням [13].

Незважаючи на низьку напругу кисню, що характеризує тестикулярне мікросередовище, ця тканина залишається вразливою до окиснювального стресу внаслідок великої кількості високоненасичених жирних кислот, а також наявності систем, що потенційно можуть генерувати АФК [14].

Підтвердженням цього є наведені у табл. 2 дані, які свідчать, що в сім'яниках щурів з МС активність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) зростала у 2,2 разу порівняно з контролем. Одночасно в сім'яниках тварин фіксували не значне, але достовірне зростання активності каталази на 15 % та зниження вмісту відновленого глутатіону на 9 %.

Багатофункціональні гемовмісні каталази — гетерогенна група ферментів, які проявляють найбільшу активність у каталізі реакції розкладання пероксиду водню (H_2O_2), що є

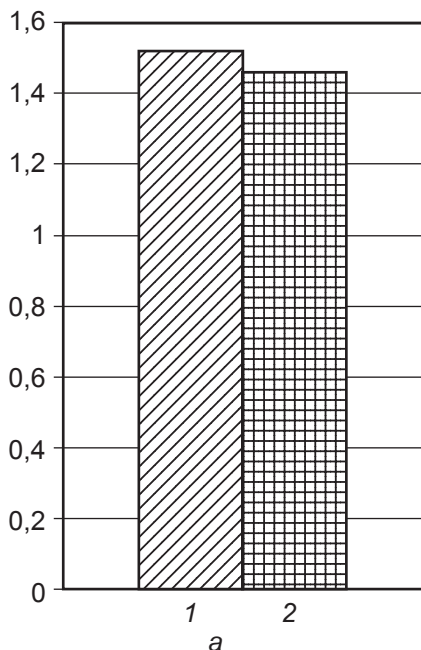
токсичним продуктом утилізації молекулярного кисню. Каталаза метаболізує H_2O_2 з утворенням води і кисню, запобігаючи його накопиченню в клітині. Це високоактивний фермент, що не потребує енергії для активації, належить до першої ланки внутрішньоклітинного захисту від активних форм кисню [15]. Наші дані стосовно компенсаторного підвищення активності каталази цілком узгоджуються з результатами інших авторів, які виявили подібну спрямованість змін активності даного ферменту при цукровому діабеті [16].

Глутатіон має плейотропні властивості, відіграючи роль донора електронів для деяких антиоксидантних ферментів та утворюючи кон'югати з низкою шкідливих ендогенних речовин і ксенобіотиків за участі глутатіон-S-трансферази. Підтрим-

ка рівня відновленої форми глутатіону відбувається двома шляхами. Одним з них є синтез *de novo* із залученням с-глутамілцистеїн-синтетази та глутатіон-синтетази. Другий являє собою систему рециркуляції за участі глутатіонредуктази, яка відновлює окиснений глутатіон завдяки НАДФН. Крім прямої взаємодії відновленого глутатіону з АФК, він служить донором електронів для деяких пероксидаз, у тому числі глутатіонпероксидази і пероксиредоксинів [17]. У сім'яниках надходження відновленого глутатіону з клітин Сертолі не обхідне не лише для захисту від АФК, а й як амінокислотне джерело для процесів сперматогенезу [17]. Рівень відновленого глутатіону є важливим лімітуючим фактором для активності глутатіон-S-трансферази та глутатіонредуктази. Враховуючи зазначене нами, було



мкмоль/(хв·мг білка)



нмоль/(хв·мг білка)

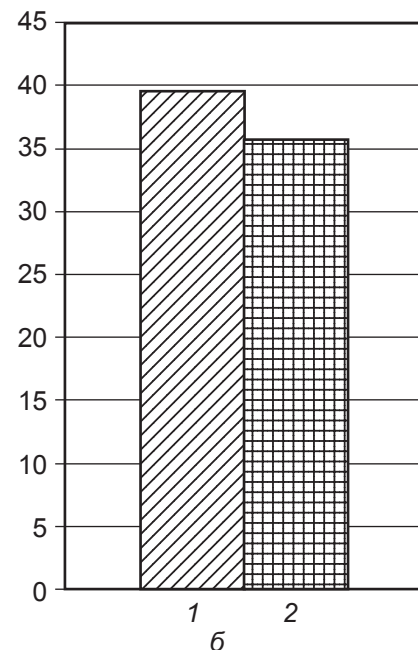


Рис. 1. Активність глутатіон-S-трансферази (а) та глутатіонредуктази (б) у сім'яниках щурів із метаболічним синдромом, що розвинувся в ювенільному віці, $M \pm m$, $n \geq 6$: 1 — контроль; 2 — метаболічний синдром

досліджено активність цих ензимів у сім'яниках щурів з МС. На даній стадії патологічного процесу змін активності глутатіонзалежних ферментів не виявлено (рис. 1). Даний феномен потребує більш ґрунтовних механістичних досліджень, але можна припустити залучення певних компенсаторних механізмів.

Висновок

Отримано нові важливі дані стосовно біохімічних порушень у сироватці крові та сім'яниках щурів внаслідок МС, що розвинувся в ювенільному віці. Виявлений нами розвиток дисбалансу в антиоксидантній системі сім'яників і посилення окисного стресу за умов МС може призводити до того, що АФК виходять з-під контролю антиоксидантної системи, ушкоджуючи різні структури клітин, залучених до сперматогенезу. Результатом цих процесів у тестикулах може стати ушкодження сперматозоїдів, що

призводить до їх загибелі, порушень структури і/або функціональних якостей (рухливості та здатності до запліднення). Представлені результати дослідження поглиблюють уявлення щодо механізмів розвитку порушень чоловічої репродуктивної функції за умов МС і створюють підґрунтя для подальших досліджень, у тому числі розробки ефективних методів запобігання та лікування чоловічої безплідності, викликані МС.

Ключові слова: про/антиоксидантна система, метаболічний синдром, ювенільний вік.

ЛІТЕРАТУРА

1. Курашова Н. А. Оценка репродуктивного потенциала мужского населения / Н. А. Курашова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2014. – № 2 (96). – С. 104–108.
2. Epicatechin mitigates high fructose-associated insulin resistance by modulating redox signaling and endoplasmic reticulum stress / A. Bettaieb, M. A. Vazquez Prieto, R. Lanzi [et al.] // Free Radical Biol-

ogy & Medicine. – 2014. – Vol. 72. – P. 247–256.

3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації / під ред. О. В. Стефанов. – К. : Авіценна, 2001. – 527 с.

4. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биологии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.

5. Sedlak J. Estimation of total, protein-bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent / J. Sedlak, R. Lindsay // Anal. Biochem. – 1968. – Vol. 25, N 1. – P. 192–205.

6. Habig W. H. Glutathione-S-Transferases / W. H. Habig, M. J. Pabst, W. H. Jakoby // J. Biol. Chem. – 1974. – Vol. 249, N 22. – P. 7130–7139.

7. Current Protocols in Toxicology / ed. by M. Maines. – N.Y. : John Wiley & Sons, Inc., 2005. – 2758 p.

8. Определение активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, Н. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лабораторное дело. – 1988. – N 1. – С. 16–19.

9. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall // Journal of biological chemistry. – 1951. – Vol. 193, N 1. – P. 265–275.

10. Findings and recommendations from the AACE conference on insulin resistance syndrome [Electronic resource] // American Association of Clinical Endocrinologists. – Access mode : <http://www.aace.cjm/pub/>

11. Особенности окислительного стресса у пациентов с метаболіческим синдромом / Е. Н. Чернышева, Т. А. Ивлева, М. П. Иванова, Е. В. Жеребченко // Теоретические и прикладные аспекты современной науки. – 2015. – № 7/6. – С. 75–80.

12. Mechanisms of Diabetes-Induced Liver Damage: The role of oxidative stress and inflammation / J. Mohamed, A. H. Nazratun Nafizah, A. H. Zariyantey, S. B. Budin // Sultan Qaboos Univ. Med. J. – 2016. – Vol. 16, N 2. – P. e132–141.

13. Endothelial dysfunction, inflammation, and oxidative stress in obese children and adolescents: markers and effect of lifestyle intervention / D. Montero, G. Walther, A. Perez-Martin [et al.] // Obes Rev. – 2012. – Vol. 13, N 5. – P. 441–455.

14. Oxidative stress and male reproductive health / R. J. Aitken, T. B. Smith, M. S. Jobling [et al.] // Asian Journal of Andrology. – 2014. – Vol. 16, N 1. – P. 31–38.



15. Каталаза биологических сред организма человека и ее клинико-биохимическое значение в оценке эндотоксикоза / Н. В. Безручко, Г. К. Рубцов, Н. Б. Ганяева [и др.] // Вестник ТГПУ. – 2012. – № 7 (122). – С. 94–98.

16. Исследование состояния клеточных мембран и антиоксидантных ферментов жизненно важных органов при сахарном диабете / А. Н. Аралбаева, М. К. Мурзахметова, В. К. Турмухамбетова, Р. С. Утегалиев // KazNU Bulletin. Biology series. – 2013. – Vol. 2. – P. 137–142.

17. Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility / R. K. Mahat, S. Kumar, M. Arora [et al.] // Int J Health Sci Res. – 2015. – Vol. 5, N 3. – P. 324–333.

REFERENCES

1. Kurashova N.A. Evaluation of the reproductive potential of the male population. *Byulleten' VSNTS SO RAMN* 2014; 2 (96): 104-108.

2. Bettaieb A., Vazquez Prieto M.A., Rodriguez Lanzi C., Miatello R.M., Haj F.G., Fraga C.G., & Oteiza P.I. Epicatechin mitigates high fructose-associated insulin resistance by modulating redox signaling and endoplasmic reticulum stress. *Free Radical Biology & Medicine*, 2014; 72: 247-256.

3. *Doklinichni doslidzhennya li-kars'kykh zasobiv* [Pre-clinical research of drugs. methodical recommendations]

ed. by O. V. Stefanov]. Kyiv, Avicenna, 2001. – 527 p.

4. Stal'naya I.D., Garishvili T.G.; Orekhovich V.N. (ed.) Method for the determination of malonic dialdehyde with thio-barbituric acid. *Sovremennyye metody v biologii* [Modern methods in biology]. Moscow, Medicine, 1977. p. 66-68.

5. Sedlak J., Lindsay R. Estimation of total, protein-bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Eilman's reagent. *Anal. Biochem.* 1968; 25(1): 192-205.

6. Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.H. Glutathione-S-Transferases. *J. Biol. Chem.* 1974; 249(22): 7130-7139.

7. Maines M. (ed.). Current Protocols in Toxicology. N. Y., John Wiley & Sons, Inc., 2005. – 2758 p.

8. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova N.G., Tokarev V.E. Determination of catalase activity. *Laboratornoye delo* 1988; 1: 16-19.

9. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., & Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry* 1951; 193(1): 265-275.

10. Findings and recommendations from the AACE conference on insulin resistance syndrome. American Association of Clinical Endocrinologists et al. Available at: <http://www.aace.cjm/pub/>

11. Chernysheva E.N., Ivleva T.A., Ivanova M.P., & Zherebnenko, E.V. Peculiarities of oxidative stress in patients with metabolic syndrome. *Teoretiche-*

skiye i prikladnyye aspekty sovremennoy nauki. 2015; 7-6: 75-80.

12. Mohamed J., Nazratun Nafizah A.H., Zariyantey A.H., Budin S.B Mechanisms of Diabetes-Induced Liver Damage: The role of oxidative stress and inflammation. *Sultan Qaboos Univ. Med. J.* 2016; 16(2): e132-141.

13. Montero D., Walther G., Perez-Martin A., Roche E., Vinet A. Endothelial dysfunction, inflammation, and oxidative stress in obese children and adolescents: markers and effect of lifestyle intervention *Obes Rev.* 2012; 13 (5): 441-455.

14. Oxidative stress and male reproductive health. *Asian Journal of Andrology.* 2014; 16(1): 31-38.

15. Bezruchko N.V., Rubtsov G.K., Ganyaeva N.B., Kozlova G.A., Sadovnikova D.G. Catalase in biological environments of the human body and its clinical and biochemical value in the evaluation of endotoxemia. *Vestnik TGPU* 2012; 7 (122): 94-98.

16. Aralbaeva A.N., Murzakmetova M.K., Turmukhambetova V.K., Utegalieva R.S. Research of cell membranes state and antioxidant enzymes of vital organs in diabetes mellitus. *KazNU Bulletin. Biology series* 2013; 2: 137-142.

17. Mahat R.K., Kumar S., Arora M., Bhale D.V., Mehta R., & Batra J. Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. *Int J Health Sci Res (IJHSR)* 2015; 5(3): 324-333.

Надійшла 17.07.2017

УДК 615.272:616.12-005.4-036.6-092

С. В. Павлов, К. В. Левченко, С. А. Біленький

АНТИОКСИДАНТНА ТА ЕНЕРГОТРОПНА ДІЯ СЕЛЕКТИВНИХ МОДУЛЯТОРІВ ЕСТРОГЕНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ В УМОВАХ МОДЕЛЮВАННЯ ГОСТРОГО ІНФАРКТУ МІОКАРДА

Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, Україна

УДК 615.272:616.12-005.4-036.6-092

С. В. Павлов, Е. В. Левченко, С. А. Біленький

АНТИОКСИДАНТНОЕ И ЭНЕРГОТРОПНОЕ ДЕЙСТВИЕ СЕЛЕКТИВНЫХ МОДУЛЯТОРОВ ЭСТРОГЕНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ОСТРОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

Запорожский государственный медицинский университет, Запорожье, Украина

Цель исследования — изучение антиоксидантной и энерготропной активности SERM в условиях моделирования острого инфаркта миокарда.

Мелкоочаговый острый инфаркт миокарда моделировали путем введения крысам в течение 3 сут. коронароспазмолитического агента — питуитрина и $\beta_{1,2,3}$ адреномиметика изопrenalина.

© С. В. Павлов, К. В. Левченко, С. А. Біленький, 2017

