

УДК 616-056.52:616.36:577.121.7
DOI <https://doi.org/10.32782/health-2023.3.6>

АНАЛІЗ ПОТЕНЦІАЛУ ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОЖИРІННЯ ТА ЗАСТОСУВАННЯ КАРАГІНАНУ

Мялюк Оксана Петрівна,
кандидат біологічних наук,
завідувач кафедри фундаментальних дисциплін
КЗВО «Рівненська медична академія»
ORCID: 0000-0002-5090-6607

Марушак Марія Іванівна,
доктор медичних наук, професор,
завідувач кафедри функціональної і лабораторної діагностики
Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я України
ORCID: 0000-0001-6754-0026

Палапа Василь Васильович,
кандидат медичних наук,
завідувач кафедри медико-профілактичних дисциплін та лабораторної діагностики
КЗВО «Рівненська медична академія»
ORCID: 0000-0003-3076-9817

Оксюта Валерій Миколайович,
кандидат медичних наук,
доцент кафедри медико-профілактичних дисциплін та лабораторної діагностики
КЗВО «Рівненська медична академія»
ORCID: 0000-0002-7831-6860

Захарко Наталя Володимирівна,
кандидат фармацевтичних наук,
доцент кафедри хіміко-фармацевтичних дисциплін
КЗВО «Рівненська медична академія»
ORCID: 0000-0003-1925-8485

Мета нашого дослідження – проаналізувати потенціал глутатіонової системи антиоксидантного захисту у печінці щурів в умовах експериментального ожиріння та застосування різних концентрацій карагінану. Дослідження проводили на 40 білих безпородних самцях-щурах масою 175–185 г. Тварин було поділено на чотири групи (10 щурів у кожній групі): 1-ша група – контроль (інтактні тварини), 2-га – тварини з ожирінням, 3-тя – тварини з ожирінням, яким у раціон додавали 0,5 % розчин карагінану, 4-та – тварини з ожирінням, що вживали 1,0 % розчин карагінану. Оцінку глутатіонової системи захисту проводили шляхом визначення активності глутатіонпероксидази (ГП), глутатіон-S-трансферази (ГТ) та концентрації відновленого глутатіону (ВГ). У печінці щурів, що вживали 0,5 % розчин карагінану з питною водою, виявлено статистично значимо вищий рівень ГП (на 14,7 %, $p < 0,05$), ГТ (на 20,0 %, $p < 0,05$), ВГ (на 20,9 %, $p < 0,05$) стосовно контрольних значень. Аналогічно зростали показники й у дослідній групі, що вживала 1,0 % розчин карагінану стосовно інтактної групи тварин, проте вони були нижчими порівняно з 3-тньою дослідною групою: ГП – на 8,8 % ($p < 0,05$), ГТ – на 6,7 % ($p < 0,05$), ВГ – на 7,5 % ($p < 0,05$). Отже, споживання щурами з питною водою 0,5 % карагінану супроводжується більш активною діяльністю антиоксидантної системи захисту у тканині печінки, ніж у разі використання 1,0 % карагінану.

Ключові слова: печінка, аліментарне ожиріння, глутатіонова система антиоксидантного захисту, карагінан.

Mialiuk Oksana, Marushchak Mariya, Palapa Vasyl, Oksyuta Valeriy, Zakharko Nataliia. Analysis of the glutathione system of antioxidant protection in the liver of rats with experimental obesity and the use of carrageenan

The aim of our study was to analyze the potential of the glutathione system of antioxidant protection in the liver of rats with experimental obesity and the use of different concentrations of carrageenan. The study was conducted on 40 purebred white male rats weighing 175–185 g. The animals were divided into four groups (10 rats in each group): 1st group – control (intact animals), 2nd – obese animals, 3- 1st – obese animals that received 0.5% carrageenan solution in their diet, 4th – obese animals that consumed 1.0% carrageenan solution. The assessment of the glutathione defense system was carried out by determining the activity of glutathione peroxidase (GP), glutathione-S-transferase (GT), and the concentration of reduced glutathione (GSH). In the liver of rats that consumed a 0.5% carrageenan solution with drinking water, a statistically significantly higher level of GP (by 14.7%, $p<0.05$), GT (by 20.0%, $p<0.05$) was found, GSH (by 20.9%, $p<0.05$), compared to the control values. Indicators also increased in the experimental group that consumed 1.0% carrageenan solution in relation to the intact group of animals, but they were lower in comparison with the 3rd experimental group: GP – by 8.8% ($p<0.05$), GT – by 6.7% ($p<0.05$), GSH – by 7.5% ($p<0.05$). Therefore, the consumption of 0.5% carrageenan in drinking water by rats is accompanied by a more active activity of the antioxidant defense system in the liver tissue than when using 1.0% carrageenan.

Key words: liver, dietary obesity, glutathione system of antioxidant protection, carrageenan.

Вступ. Ожиріння – «чума» XXI століття, а з погляду біохімічних процесів – стан, коли про- оксидантно-антиоксидантна рівновага порушу- ється надмірною продукцією активних форм кисню (АФК) та азоту (АФА), вільних радика- лів, а антиоксидантна система не в змозі пога- сити окислювально-респіраторний «вибух», і як результат – оксидативний стрес [1]. Для боротьби з оксидативним стресом в організмі функціонує злагоджена ауторегульована багатокомпонентна антиоксидантна система, де провідну роль віді- грає система глутатіону, що включає сам глута- тіон і глутатіон-залежні ферменти. У літературі є відомості про те, що глутатіон також відіграє клю- чову роль у контролі активності транскрипційних факторів (NF- κ B, AP-1, Nrf2) [2]. Аналіз науко- вої літератури показав, що у разі оксидативного стресу, який тривалий час не ліквідується, продук- ція численних активних кисневих метаболітів – супероксидного аніон-радикалу, гідроксильного радикала, синглетного кисню, перекису водню і т. д. – веде до значних метаболічних та структурних порушень клітин, які зумовлюють функціональну неспроможність органів та систем, зрив адаптив- них механізмів. Якщо відбувається інтенсивна та тривала активізація перекисного окислення ліпі- дів (ПОЛ) та вільнорадикальних процесів у разі ожиріння, настає виснаження ендогенних запасів антиоксидантів, у тому числі і ключового вну- трішньоклітинного антиоксиданту глутатіону, а поповнення рівня цих біоантиокислювачів утруд- нене через низьку біодоступність ззовні, пору- шення мікроциркуляції та проникності клітин- них мембран органів. Печінка страждає однією з перших, як орган-мішень у разі цієї патології [3]. Наразі накопичено значний експериментальний та клінічний матеріал, що детально описує вплив

глутатіонової системи на печінку у разі ожиріння, проте цікавим і невивченим залишається вплив біологічно активних речовин, а саме карагану і його концентрацій, на цю ланку антиоксидант- ного захисту в тканинах печінки, коли є ожиріння.

Мета дослідження. Проаналізувати потенціал глутатіонової системи антиоксидантного захисту у печінці щурів в умовах експериментального ожиріння та застосування різних концентрацій карагану.

Матеріали та методи. Дослідження про- водили на 40 білих беспородних самцях-щурах масою 175–185 г., які утримувалися у віварію ДВНЗ «Тернопільський державний медичний уні- верситет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» на стандартному раціоні відповідно до санітарно- гігієнічних норм та вимог GLP. Експериментальна частина виконана з дотриманням норм Конвенції Ради Європи про захист хребетних тварин, що використовуються для досліджень та інших нау- кових цілей (Страсбург, 1986), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001) і наказу МОЗ України від 23.09.2009 р. № 690. Тварини були поділені на чотири групи (10 щурів у кожній групі): 1-ша група – контроль (інтактні тварини), 2-га – тварини з ожирінням, 3-тя – тва- рини з ожирінням, яким у раціон додавали 0,5 % розчин карагану, 4-та – тварини з ожирінням, що вживали 1,0 % розчин карагану.

Ожиріння моделювали шляхом застосування індуктора харчового потягу – натрієвої солі глу- тамінової кислоти у співвідношенні 0,6:100,0 та висококалорійної дієти, яка складається зі стандартної їжі (47%), солодкого концентрова- ного молока (44%), кукурудзяної олії (8%) і рос- линного крохмалю (1%). Контроль відтворення аліментарного ожиріння здійснювали шляхом

зважування тварин, вимірювання назально-анальної довжини та розрахунку ІМТ (ділення маси тіла в кілограмах на довжину в метрах у квадраті) [4]. Тваринам 3-ї і 4-ї груп був забезпечений вільний доступ до відповідно 0,5 % і 1,0 % розчину карагінану у питній воді відповідно протягом 1 місяця [5]. Добову спожиту кількість карагінану ми розраховували за кількістю випитої рідини. Щурі в експерименті за добу споживали в середньому $49,4 \pm 1,1$ мл рідини. Евтаназію тварин проводили шляхом пункції серця під глибокою, анестезією [6]. Оцінку глутатіонової системи захисту проводили шляхом визначення активності глутатіонпероксидази (ГП), глутатіон-S-трансферази (ГТ) та концентрації відновленого глутатіону (ВГ).

Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою U-критерію Мана-Уїтні [7]. Якщо р-значення знаходилося у межах до 0,05, існував твердий доказ того, що альтернативна гіпотеза правильна, результат вважався статистично значущим.

Результати. Глутатіонова система захисту – це активна складова частина антиоксидантної системи організму, адже SH-групи протеїнів і відновлений глутатіон слугують акцепторами гідроксильного радикала і синглетного кисню і в результаті знижують деструктивну і цитотоксичну дію АФК за умови патологічного процесу [8]. Результати аналізу отриманих даних у 2-ій дослідній групі свідчать, що відбулося статистично достовірне зниження всіх показників

системи глутатіону, що дало можливість нам переконатися в активному розвитку оксидативного стресу у тканині печінки у разі ожиріння. (Таблиця 1.)

У печінці щурів, що вживали 0,5 % розчин карагінану з питною водою, виявлено статистично значимо вищий рівень ГП (на 14,7 %, $p < 0,05$), ГТ (на 20,0 %, $p < 0,05$), ВГ (на 20,9 %, $p < 0,05$) стосовно контрольних значень. Аналогічно зростали показники й у дослідній групі, що вживала 1,0 % розчин карагінану стосовно інтактної групи тварин, проте вони були нижчими порівняно з 3-ою дослідною групою: ГП – на 8,8 % ($p < 0,05$), ГТ – на 6,7 % ($p < 0,05$), ВГ – на 7,5 % ($p < 0,05$). Згідно з нашими даними, застосування 0,5 % р-ну карагінану у питній воді у печінці щурів зумовило активацію глутатіонової системи більш інтенсивного характеру, ніж застосування 1,0 % р-ну карагінану. Зважаючи на вищезазначене, можна припустити, що внаслідок надходження 1,0 % р-ну карагінану до організму щурів змінюється функціонування системи кон'югації, адже знижується вміст ВГ, імовірно, за рахунок окиснення SH-груп пептиду та активність ГТ і ГП.

Висновки. Отже, споживання щурами з питною водою 0,5 % карагінану супроводжується більш активною діяльністю антиоксидантної системи захисту у тканині печінки, ніж у разі використання 1,0 % карагінану, що спонукає до подальших досліджень органів і систем щодо впливу різних концентрацій карагінану на процеси прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у разі ожиріння.

Таблиця 1

Показники глутатіонової системи в тканинах печінки щурів за умови дії карагінану при експериментальному ожирінні

Показник	Контрольна група 1 (n=10)	Дослідна група 2 (n=10)	Дослідна група 3 (n=10)	Дослідна група 4 (n=10)
ГП, мкмоль/хв × 1 мг протеїну	0,34 [0,29;0,37]	0,25 [0,22;0,29]*	0,39 [0,33;0,41] (**)	0,37 [0,33;0,39]*
ГТ, ммоль/хв × 1 мг протеїну	0,45 [0,39;0,48]	0,39 [0,34;0,41]*	0,54 [0,49;0,57]*	0,48 [0,44;0,51] (**)
Відновлений глутатіон, мкмоль/г	0,67 [0,63;0,72]	0,57 [0,52;0,61]*	0,81 [0,77;0,87] (**)	0,72 [0,69;0,77] (**)

Примітки: * – відмінність достовірна стосовно контролю ($p < 0,05$); ** – відмінність достовірна між 2-ю і 3-ю та 3-ю і 4-ю дослідними групами ($p < 0,05$)

ЛІТЕРАТУРА

1. Nita M., Grzybowski A. The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the AgeRelated Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults. *Oxid Med Cell Longev.* 2016. P. 3164734. DOI: 10.1155/2016/3164734.

2. G. Glutathione: Biosynthesis and Mechanism of Action. In: Labrou N, Flemetakis E, editors. *Glutathione: Biosynthesis, Mechanism of Action and biotechnological implications* / Pavarino E. C, Russo A., Galbiatti A. L. S., Almeida W. P., Bertollo E. M. New York: Nova Science, 2013. Ch.1. P. 1–34.
3. Oxidative stress and reactive oxygen species: a review of their role in ocular disease / Ung L., Pattamatta U., Carnt N., Wilkinson-Berka J. L., Liew G., White A. J. R. *Clin Sci (Lond)*. 2017. № 131 (24). P. 2865–2883. doi: 10.1042/CS20171246.
4. М'ялюк О. П. Особливості перебігу вільнорадикального й енергозабезпечувального окиснення при експериментальному аліментарному ожирінні : дис. ... канд. біолог. наук : 03.00.04 ; Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського. Тернопіль, 2016. 142 с.
5. Moyana T. N., Lalonde J. M. Carrageenan-induced intestinal injury in the rat – a model for inflammatory bowel disease. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 1990. Vol. 20. № 6. P. 420–426.
6. Резніков О. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. *Ендокринологія*. 2003. № 8 (1). С. 142–145.
7. Зінкевич Т., Лісовська В., Стасюк В. Застосування величини р-значення р-value при перевірці статистичних гіпотез. *Ринок цінних паперів України*. 2012. № 1–2. С. 89–94.
8. Buchko P., Krynytska I., Marushchak M. Combined effects of κ -carrageenan and monosodium glutamate food additives: effect on free radical oxidation. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases*. 2021. Vol. 28. № 2. P. 185–195.

REFERENCES

1. Nita, M., & Grzybowski, A. (2016). The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 3164734. <https://doi.org/10.1155/2016/3164734>
2. Pavarino, E. C., Russo, A., Galbiatti, A. L. S., Almeida, W. P., Bertollo, E. M. G. (2013). Glutathione: Biosynthesis and Mechanism of Action. In: Labrou N, Flemetakis E, editors. *Glutathione: Biosynthesis, Mechanism of Action and biotechnological implications*. New York, 1–34.
3. Ung, L., Pattamatta, U., Carnt, N., Wilkinson-Berka, J. L., Liew, G., & White, A. J. R. (2017). Oxidative stress and reactive oxygen species: a review of their role in ocular disease. *Clinical science (London, England : 1979)*, 131(24), 2865–2883. <https://doi.org/10.1042/CS20171246>
4. Mialiuk, O. (2016). *Peculiarities of the course of free radical and energy-providing oxidation in experimental alimentary obesity* [<https://repository.tdmu.edu.ua/handle/123456789/17127>]. I. Horbachevsky Ternopil National Medical University.
5. Moyana, T. N., & Lalonde, J. M. (1990). Carrageenan-induced intestinal injury in the rat a model for inflammatory bowel disease. *Annals of clinical and laboratory science*, 20(6), 420–426.
6. Reznikov, O. (2003). Zahalni etychni pryntsyipy eksperymentiv na tvarynakh [General ethical principles of animal experiments]. *Endokrynolohiia*, 8(1), 142–145. [In Ukrainian]
7. Zinkevych, T., Lisovska, V., Stasiuk, V. (2012). Zastosuvannia velychyny r-znachennia p-value pry perevirtsi statystychnykh hipotez [Application of the p-value in testing statistical hypotheses]. *Rynok tsinnykh paperiv Ukrainy*, 1-2, 89–94. [In Ukrainian]
8. Buchko, P., Krynytska, I., Marushchak, M. (2021). Combined effects of κ carrageenan and monosodium glutamate food additives: effect on free radical oxidation. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases*, 28(2), 185–195.