

О. В. Денефіль, Є. В. Мозгова, Н. М. Ланова, А. О. Покришко
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МОЗ УКРАЇНИ

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ЩУРІВ ІЗ СТЕАТОГЕПАТОЗОМ ТА КОРЕКЦІЯ ЙОГО МІО-ІНОЗИТОЛОМ

Вступ. Проблема стеатогепатозу, або неалкогольної жирової хвороби печінки, є наразі однією з основних проблем сьогодення, що не тільки обтяжує функцію печінки, але й викликає серцево-судинні, неврологічні та ниркові ускладнення. Для корекції можна використовувати інозитолі.

Мета дослідження – оцінити активність процесів пероксидного окиснення ліпідів у крові щурів із стеатогепатозом і провести корекцію міо-інозитолом.

Методи дослідження. Досліди виконано на 40 білих щурах-самцях лінії Вістар. Тварин поділили на чотири групи: 1-ша – контроль (інтактні); 2-га – стеатогепатоз; 3-тя – міо-інозитол; 4-та – стеатогепатоз + корекція міо-інозитолом. Стеатогепатоз викликали шляхом давання щурам упродовж 60 днів 5 % розчину глюкози замість пиття. Порошок міо-інозиту домішували тваринам до корму (каші) протягом 60 днів у перерахунок на інозитол 400 мг/кг маси щура після закінчення моделювання стеатогепатозу. В сироватці крові визначали супероксиддисмутазу (СОД) і каталазну активність, вміст дієнових та трієнових кон'югатів (ДК, ТК), основ Шиффа (ОШ) і ТБК-активних продуктів (ТБК-ап).

Результати й обговорення. У щурів із стеатогепатозом, порівняно з 1-ю групою, вміст ДК збільшився на 43,3 % ($p < 0,001$), ТК – на 43,0 % ($p < 0,001$), ТБК-ап – на 77,2 % ($p < 0,001$), СОД активність знизилася на 14,4 % ($p < 0,001$), каталазна – на 14,1 % ($p < 0,001$), а вміст ОШ не відрізнявся від контрольного показника. Міо-інозитол у дозі 400 мг/кг спричинив накопичення вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів і значну активацію антиоксидантів у крові щурів, зокрема супероксиддисмутази – на 17,9 % ($p < 0,001$), каталази – на 18,0 % ($p < 0,001$). Застосування міо-інозиту для лікування сформованого стеатогепатозу викликало зменшення вмісту ДК на 14,1 % ($p < 0,001$), ТК – на 25,6 % ($p < 0,001$), ТБК-ап – на 36,1 % ($p < 0,001$), підвищення рівня ОШ на 33,6 % ($p < 0,001$), СОД активності – на 37,8 % ($p < 0,001$), каталазної – на 37,3 % ($p < 0,001$). При цьому вміст ДК був більшим, порівняно зі щурами контрольної групи, на 23,1 % ($p < 0,001$), рівні ТК, ТБК-ап, ОШ, СОД і каталазна активність не відрізнялися від показників інтактних тварин.

Висновки. Стеатогепатоз у щурів викликає збільшення вмісту ДК, ТК, ТБК-ап, зниження СОД і каталазної активності. Міо-інозитол у дозі 400 мг/кг спричиняє накопичення вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів і значну активацію антиоксидантів у крові тварин. При лікуванні стеатогепатозу міо-інозитол у дозі 400 мг/кг за умов нормалізації харчових звичок викликає значно менше накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пероксидне окиснення ліпідів; антиоксидантна активність; інозитол; стеатогепатоз; щури.

ВСТУП. Проблема стеатогепатозу, або неалкогольної жирової хвороби печінки, є наразі однією з основних проблем сьогодення, що не тільки обтяжує функцію печінки, але й викликає серцево-судинні, неврологічні та ниркові ускладнення [1, 2]. Пацієнти з неалкогольною жировою хворобою печінки мають підвищений ризик розвитку неалкогольного стеатогепатиту, фіброзу печінки, цирозу печінки, гепатоцелюлярної карциноми, підвищений ризик серцево-судинних подій, ушкодження клапанів, міокарда і провідної

системи серця [3, 4]. Шляхами ушкодження клітин при будь-якій патології є розвиток оксидативного стресу з накопиченням продуктів пероксидного окиснення ліпідів, окисномодифікованих протеїнів. Протидіють цьому антиоксиданти. Серед останніх, що виконують таку функцію, є вітаміни.

Інозитолі, або вітаміни В8, є повсюдними поліолами, які беруть участь у багатьох фізіологічних функціях, відіграють певну роль у метаболічних захворюваннях, пов'язаних із резистентністю до інсуліну. Серед них важлива фізіологічна і клінічна роль належить двом з дев'яти

стереоізомерів: міо-інозиту та D-хіро-інозиту. Міо-інозитол і D-хіро-інозитол зазвичай накопичуються в нирках, мозку та печінці й необхідні для виконання таких функцій, як передача сигналів, метаболічний потік, передача сигналів інсуліну, регуляція проникності іонних каналів, реакція на стрес і розвиток ембріона [2, 5]. Вони спричиняють зростання антиоксидантної активності та зменшують накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів і протеїнів [6, 7].

Мета дослідження – оцінити активність процесів пероксидного окиснення ліпідів у крові щурів із стеатогепатозом і провести корекцію міо-інозитолом.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на 40 білих щурах-самцях лінії Вістар. Тварин поділили на чотири групи: 1-ша – контроль (інтактні); 2-га – стеатогепатоз; 3-тя – міо-інозитол; 4-та – стеатогепатоз + корекція міо-інозитолом. Стеатогепатоз викликали шляхом давання щурам упродовж 60 днів 5 % розчину глюкози замість пиття [8]. Порошок міо-інозиту домішували тваринам до корму (каші) протягом 60 днів у перерахунку на інозитол 400 мг/кг маси щура [9] після закінчення моделювання стеатогепатозу. В 2-й групі дослідження проводили через 60 днів після припинення моделювання стеатогепатозу: щури впродовж 60 днів пили звичайну водопровідну воду. В сироватці крові визначали супероксиддисмутазу (СОД) і каталазу активність [10], вміст дієнових та трієнових кон'югатів (ДК, ТК), основ Шиффа (ОШ) і ТБК-активних продуктів (ТБК-ап) [10, 11].

Евтаназію щурів здійснювали шляхом тотального кровопускання із серця після попереднього використання тіопентал-натрієвого наркозу (60 мг·кг⁻¹ маси тіла тварини внутрішньочеревно).

Усі експерименти проводили в першій половині дня при температурі 18–22 °С, відносній вологості 40–60 % і освітленості 250 лк. Досліди виконано з дотриманням норм Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001) і наказу МОЗ України від 23.09.2009 р. № 690.

Вірогідність отриманих відмінностей між результатами (мінімальний рівень значущості $p < 0,05$) оцінювали за допомогою критеріїв Крускала – Уолліса та Ньюмена – Кейлса (програма BioStat, AnalystSoft Inc.).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Щури зі стеатогепатозом у перші дні після відміни глюкози відмовлялися пити водопровідну воду, а тварини, яким давали в їжу міо-інозитол, швидко адаптувалися до відміни. При аналізі результатів дослідження відмічено таке. У щурів із стеатогепатозом, порівняно з контролем, вміст ДК збільшився на 43,3 % ($p < 0,001$), а ТК – на 43,0 % ($p < 0,001$) (табл. 1). У тварин, яким згодували міо-інозитол, порівняно з контролем, він зріс на 14,9 % ($p > 0,05$), але був меншим, ніж у щурів 2-ї групи, на 19,8 % ($p < 0,001$), і не відрізнявся від показників тварин 1-ї групи. Концентрація ТК у щурів цієї групи виявилася вищою, порівняно з контролем, на 17,6 % ($p < 0,001$) і була нижчою, ніж у тварин 2-ї групи, на 17,7 % ($p < 0,001$). У щурів 4-ї групи рівень ДК був більшим, порівняно з тваринами 1-ї групи, на 23,1 % ($p < 0,001$), але меншим, ніж у щурів 2-ї групи, на 14,1 % ($p < 0,001$), і не відрізнявся від показників тварин 3-ї групи. Значення ТК було нижчим, порівняно зі щурами 2-ї групи, на 25,6 % ($p < 0,001$), але не відрізнялося від показників тварин 1-ї і 3-ї груп.

У щурів, яким згодували міо-інозитол, порівняно з контролем, вміст ОШ зріс на 18,3 % ($p < 0,001$) і був більшим, ніж у тварин 2-ї групи, на 35,1 % ($p < 0,001$) (табл. 2). У щурів 4-ї групи значення ОШ було вищим, порівняно з тваринами 2-ї групи, на 33,6 % ($p < 0,001$), але не відрізнялося від показників щурів 1-ї і 3-ї груп.

У щурів із стеатогепатозом, порівняно з контролем, вміст ТБК-ап збільшився на 77,2 % ($p < 0,001$) (див. табл. 2). У тварин, яким згодували міо-інозитол, порівняно з контролем, він зріс на 22,7 % ($p < 0,001$), але був меншим, ніж у щурів 2-ї групи, на 30,7 % ($p < 0,001$). У тварин 4-ї групи значення ТБК-ап було вищим, порівняно зі щурами 1-ї групи, на 13,2 % ($p < 0,001$), але нижчим, ніж у тварин 2-ї групи, на 36,1 % ($p < 0,001$), і не відрізнялося від показників щурів 3-ї групи.

Таблиця 1 – Зміни показників пероксидного окиснення ліпідів у сироватці крові щурів ($M \pm \sigma$, $n=10$)

Група тварин	Показник	
	ДК, ум. од./мл	ТК, ум. од./мл
1-ша – контроль (інтактні)	1,34±0,18	1,42±0,13
2-га – стеатогепатоз	1,92±0,14*	2,03±0,18*
3-тя – міо-інозитол	1,54±0,12**	1,67±0,12***
4-та – стеатогепатоз + міо-інозитол	1,65±0,11***	1,51±0,11**

Примітка. Тут і в таблиці 2: * – вірогідні відмінності з контролем; ** – вірогідні відмінності з тваринами 2-ї групи.

Таблиця 2 – Зміни вторинних показників пероксидного окиснення ліпідів у сироватці крові щурів (M±σ, n=10)

Група тварин	Показник	
	ОШ, ум. од./мл	ТБК-ап, мкмоль/л
1-ша – контроль (інтактні)	1,53±0,14	1,67±0,15
2-га – стеатогепатоз	1,34±0,15	2,96±0,17*
3-тя – міо-інозитол	1,81±0,12***	2,05±0,18***
4-та – стеатогепатоз + міо-інозитол	1,79±0,13**	1,89±0,17***

У щурів із стеатогепатозом, порівняно з контролем, СОД активність знизилася на 14,4 % (p<0,001), а каталазна – на 14,1 % (p<0,001) (табл. 3). У тварин, яким згодували міо-інозитол, порівняно з контролем, СОД активність зросла на 17,9 % (p<0,001) і була більшою, ніж у щурів 2-ї групи, на 37,8 % (p<0,001). Каталазна активність у щурів цієї групи виявилася вищою, порівняно з контролем, на 18,0 % (p<0,001), а порівняно з тваринами зі стеатогепатозом – на 37,3 % (p<0,001). У щурів 4-ї групи СОД активність була нижчою, ніж у тварин 3-ї групи, на 18,1 % (p<0,001). Каталазна активність теж була меншою, порівняно зі щурами 3-ї групи, на 24,5 % (p<0,001).

Отже, стеатогепатоз викликає активацію пероксидного окиснення ліпідів, що, можливо, пов'язано зі зниженням антиоксидантної активності. Міо-інозитол спричиняє накопичення вторинних продуктів пероксидного окиснення

ліпідів, але їх значно менше, ніж у щурів із стеатогепатозом. Що стосується кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів, то їх рівень зростає, навіть більше, ніж у групі тварин із стеатогепатозом, що можна оцінити як швидке знешкодження первинних та вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів антиоксидантами, оскільки міо-інозитол володіє такими властивостями, відмічено підвищення супероксиддисмутазної і каталазної активності. При корекції стеатогепатозу міо-інозитолом відмічено збільшення первинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів порівняно з контролем, але і їх, і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів було значно менше, ніж у групі нелікованих щурів. Такий ефект можна пояснити більше впливом міо-інозитолу, оскільки активність антиоксидантів у крові піддослідних тварин не відрізнялася від контрольних показників.

Таблиця 3 – Зміни активності антиоксидантів у сироватці крові щурів (M±σ, n=10)

Група тварин	Показник	
	супероксиддисмутазна активність, пит. од./мл	каталазна активність, мкат/л
1-ша – контроль (інтактні)	2,01±0,15	0,128±0,010
2-га – стеатогепатоз	1,72±0,13*	0,110±0,008*
3-тя – міо-інозитол	2,37±0,14***	0,151±0,012***
4-та – стеатогепатоз + міо-інозитол	1,94±0,11#	0,114±0,009#

Примітки:

- * – вірогідні відмінності з контролем; ** – вірогідні відмінності з тваринами 2-ї групи.
- # – вірогідні відмінності з тваринами 3-ї групи.

ВИСНОВКИ. Стеатогепатоз у щурів викликає збільшення вмісту дієнових та трієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів, зниження супероксиддисмутазної і каталазної активності. Міо-інозитол у дозі 400 мг/кг спричиняє накопичення вторинних продуктів пероксидного окис-

нення ліпідів і значну активацію антиоксидантів у крові тварин. При лікуванні стеатогепатозу міо-інозитол у дозі 400 мг/кг за умов нормалізації харчових звичок викликає значно менше накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Global burden of NAFLD and NASH: Trends, predictions, risk factors and prevention / Z. Younossi, Q. M. Anstee, M. Marietti [et al.] // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. – 2018. – 15. – P. 11–20. DOI: 10.1038/nrgastro.2017.109

2. Pani A. Inositol and non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review on deficiencies and supplementation / A. Pani, R. Giossi, D. Menichelli [et al.] // Nutrients. – 2020. – 12, No. 11. – P. 3379. DOI: 10.3390/nu12113379.

3. Baratta F. Nonalcoholic fatty liver disease and fibrosis associated with increased risk of cardiovascular events in a prospective study / F. Baratta, D. Pastori, F. Angelico [et al.] // *Clin. Gastroenterol. Hepatol. Off. Clin. Pract. J. Am. Gastroenterol. Assoc.* – 2020. – **18**, No. 10. – P. 2324–2331. e4. DOI: 10.1016/j.cgh.2019.12.026

4. Risk of cardiomyopathy and cardiac arrhythmias in patients with nonalcoholic fatty liver disease / Q. M. Anstee, A. Mantovani, H. Tilg, G. Targher // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* – 2018. – **15**. – P. 425–439. DOI: 10.1038/s41575-018-0010-0.

5. Kiani A. K. From Myo-inositol to D-chiro-inositol molecular pathways / A. K. Kiani, S. Paolacci, A. E. Calogero [et al.] // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2021. – **25**, No. 5. – P. 2390-2402. DOI: 10.26355/eurrev_202103_25279.

6. Юзько О. Репродуктивне здоров'я батьків: огляд літератури / О. Юзько // *Репродуктивна ендокринологія*. – 2021. – № 4 (60). – С. 72–76.

7. Кулик І. І. Вплив склеротерапії та прегравідарної підготовки інозитолом і вітаміном D3 на розмір та

кількість кист у жінок з безпліддям на фоні ендометріозу / І. І. Кулик, С. В. Хміль // *Вісн. Вінниц. нац мед. ун-ту*. – 2020. – **24**, № 3. – С. 444–448.

8. Костюк О. А. Зміни біохімічних показників у крові високо- та низькоемоційних щурів при етаноловому гепатозі / О. А. Костюк, О. В. Денефіль, Т. К. Головата // *Мед. та клініч. хімія*. – 2018. – **20**, № 3 (76). – С. 125-132. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2018.v0.i3.9578

9. Bevilacqua A. Myo-inositol and D-chiro-inositol (40:1) reverse histological and functional features of polycystic ovary syndrome in a mouse model / A. Bevilacqua, J. Dragotto, A. Giuliani, M. Bizzarri // *J. Cell Physiol.* – 2019. – **234**. – P. 9387–9398. DOI: 10.1002/jcp.27623

10. Влізло В. В. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / за ред. В. В. Влізла. – Львів : СПОЛОМ, 2012. – 764 с.

11. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 527 с.

REFERENCES

1. Younossi, Z., Anstee, Q.M., Marietti, M., Hardy, T., Henry, L., Eslam, M., et al. (2018). Global burden of NAFLD and NASH: Trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 15, 11-20. DOI: 10.3390/nu12113379.
2. Pani, A., Giossi, R., Menichelli, D., Fittipaldo, V.A., Agnelli, F., Inglese, E., et al. F. (2020). Inositol and non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review on deficiencies and supplementation. *Nutrients*, 12 (11), 3379. DOI: 10.3390/nu12113379.
3. Baratta, F., Pastori, D., Angelico, F., Balla, A., Paganini, A.M., Cocomello, N., et al. (2020). Nonalcoholic fatty liver disease and fibrosis associated with increased risk of cardiovascular events in a prospective study. *Clin. Gastroenterol. Hepatol. Off. Clin. Pract. J. Am. Gastroenterol. Assoc.*, 18, 2324-2331. DOI: 10.1016/j.cgh.2019.12.026
4. Anstee, Q.M., Mantovani, A., Tilg, H., & Targher, G. (2018). Risk of cardiomyopathy and cardiac arrhythmias in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 15, 425–439. DOI: 10.1038/s41575-018-0010-0.
5. Kiani, A.K., Paolacci, S., Calogero, A.E., Cannarella, R., Di Renzo, G.C., Gerli, S., et al. (2021). From Myo-inositol to D-chiro-inositol molecular pathways. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 25 (5), 2390-2402. DOI: 10.26355/eurrev_202103_25279.
6. Yuzko, O.M. (2021). Reproductive health of parents: Review of the literature. *Reproductive Endocrinology*, (60), 72-76. DOI: 10.18370/2309-4117.2021.60.72-76 [in Ukrainian].
7. Kulik, I.I., & Khmil, S.V. (2020). The effect of sclerotherapy and pre-pregnancy training with inositol and vitamin D3 on the size and number of cysts in women with infertility on the background of endometriosis. *Reports of Vinnytsia National Medical University*, 24 (3), 444-448. DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2020-24(3)-12 [in Ukrainian].
8. Kostyuk, O.A., Denefil, O.V., & Holovata, T.K. (2018). Changes in biochemical parameters in the blood of high- and low-emotional rats with ethanol hepatitis. *Medical and Clinical Chemistry*. 20 (3), 125-132. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2018.v0.i3.9578 [in Ukrainian].
9. Bevilacqua, A., Dragotto, J., Giuliani, A., Bizzarri, M. (2019). Myo-inositol and D-chiro-inositol (40:1) reverse histological and functional features of polycystic ovary syndrome in a mouse model. *J. Cell Physiol.*, 234. DOI: 10.1002/jcp.27623
10. Vlizlo, V.V. (2012). *Laboratory methods of research in biology, animal husbandry and veterinary medicine: reference book*. edited by V.V. Vlizlo. Lviv: SPOLOM [in Ukrainian].
11. Stefanova, O.V. (Ed.). (2001). *Preclinical studies of medicinal products: methodical recommendations*. Kyiv: Avitsenna [in Ukrainian].

CHANGES IN THE ACTIVITY OF LIPID PEROXIDATION PROCESSES IN RATS WITH STEATOGEPATOSIS AND ITS CORRECTION WITH MYO-INOSITOL

Summary

Introduction. The problem of steatohepatosis or non-alcoholic fatty liver disease is currently one of the main problems of today, which burdens not only liver function, but also causes cardiovascular, neurological and renal complications. The way of correction can be the use of inositols.

The aim of the study – to evaluate the activity of the processes of lipid peroxidation in the blood of rats with steatohepatosis and to carry out correction with myo-inositol.

Research Methods. Experiments were performed on 40 white male Wistar rats. The animals were divided into 4 groups: 1 – control, 2 – steatohepatosis, 3 – myo-inositol, 4 – steatohepatosis + correction with myo-inositol. Steatohepatosis was induced by giving 5% glucose solution instead of drinking for 2 months. Myo-inositol powder was added to animals' feed (porridge) for 60 days at the rate of 400 mg/kg of animal weight as inositol after simulating steatohepatosis. Superoxide dismutase and catalase activity (SOD, Cat), the content of diene and triene conjugates (DC, TC), Schiff's bases (SB) and TBA-active products were determined in blood serum.

Results and Discussion. In rats with steatohepatosis, compared to group 1, DC increased by 43.3 % ($p < 0.001$), TC – by 43.0 % ($p < 0.001$), TBA-active products – by 77.2 % ($p < 0.001$), decreased SOD by 14.4 % ($p < 0.001$) and Cat – by 14.1 % ($p < 0.001$), and SB did not differ from control indicators. Myo-inositol at a dose of 400 mg/kg causes the accumulation of secondary products of lipid peroxidation and significant activation of antioxidants in the blood of rats, in particular, SOD – by 17.9 % ($p < 0.001$), Cat – by 18.0 % ($p < 0.001$). The use of myo-inositol for the treatment of formed steatohepatosis caused a decrease in DC by 14.1 % ($p < 0.001$), TC – by 25.6 % ($p < 0.001$), TBA-active products – by 36.1 % ($p < 0.001$), increase of SB by 33.6 % ($p < 0.001$), SOD – by 37.8 % ($p < 0.001$), Cat – by 37.3 % ($p < 0.001$). At the same time, DC were higher, compared to the control group of animals, by 23.1 % ($p < 0.001$), TC, TBA-active products, SB, SOD and Cat did not differ from the indicators of the group of intact rats.

Conclusion. Steatohepatosis in rats causes an increase in DC, TC, TBA-active products, a decrease in SOD and Cat. Myo-inositol at a dose of 400 mg/kg causes the accumulation of secondary products of lipid peroxidation and significant activation of antioxidants in the blood of rats. In the treatment of steatohepatosis, myo-inositol at a dose of 400 mg/kg, with the normalization of eating habits, causes significantly less accumulation of lipid peroxidation products.

KEY WORDS: lipid peroxidation; antioxidant activity; inositol; steatohepatosis; rats.

Отримано 03.05.23

Адреса для листування: О. В. Денефіль, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: denefil@tdmu.edu.ua.