

cells is being revealed, allowing the identification of numerous points for pharmacological intervention. Macrophages are the main immune cells of the testis, but their origin, heterogeneity, and development have not been sufficiently studied.

Object and methods. The study was conducted on 20 adult male rats. Animals were randomly divided into 2 groups: control (10 animals) and intact (10 animals). Animals of the control group were injected with physiological solution in a dose of 0.3 ml. Preparation of material for electron microscopic examination of the structures of the interstitial space of the testis was carried out according to the generally accepted method.

Results and discussion. We identified two populations of macrophages located in the interstitial space of the testes, considering their location and functional capacity. The results of our research showed that under the influence of central blocking of LH synthesis, the morphogenesis of antigen-presenting cells of the interstitial space of the testis, namely macrophages, occurs. These modifications indicate an inversion of their polarization, which, in turn, leads to a microscopic reorganization of cells, in particular their activation (M1) to perform certain functional activities in the organ.

Conclusions. In the early stages of central blocking of LH synthesis, metabolic and functional disorders were detected in the parenchyma and stroma of the organ, which led to signs of ultrastructural and functional stress, which manifested itself in a quantitative shift of the macrophage population in the direction of an increase in peritubular macrophages.

DOI 10.31718/2077-1096.23.2.2.55

УДК 612.82:599.323.4:577.115:612.08

Френкель Ю.Д., Зюзін В.О., Черно В.С.

ВПЛИВ КУРКУМІНУ НА ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЦІЛОДОБОВОГО ОСВІТЛЕННЯ ТА ВИСОКОКАЛОРИЙНОЇ ВУГЛЕВОДНО-ЛІПІДНОЇ ДІЄТИ

Чорноморський національний університет імені Петра Могили, м. Миколаїв

Метою дослідження була оцінка впливу поліфенолу куркуміну на перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) у гомогенаті великих півкуль головного мозку щурів за їх цілодобового освітлення (ЦО) та утримання на висококалорійній вуглеводно-ліпідній дієті (ВКВЛД). Експерименти були виконані на 21 білих щурах-самцях лінії Вістар (n=21) масою 210-250 г, розподілених на 3 групи по 7 тварин. Щурів 1-ї групи (контроль I) утримували на стандартному раціоні віварію та рівному чергуванні періодів світла та темряви. Тваринам 2-ї та 3-ї груп протягом часу ЦО на тлі ВКВЛД щоденно вводили внутрішньошлунково через зонд 1 мл 20 %-й водного розчину фруктози («плацебо», контроль II) та куркумін у дозі 200 мг/кг відповідно. Рівень ПОЛ у гомогенаті великих півкуль головного мозку оцінювали за утворенням у реакції тіобарбітурової кислоти (ТБК) забарвленого триметінового комплексу. Знаходження щурів на ЦО та ВКВЛД супроводжувалося вірогідним зростанням концентрації ТБК-реактантів до та після інкубації в прооксидантному буферному розчині на 59.0 та 68.8% відповідно. Введення куркуміну за умов експерименту значно зменшувало концентрацію ТБК-активних продуктів: до його інкубації в прооксидантному буферному розчині – на 24.4%, після інкубації – на 31.0% порівняно з відповідними значеннями 2-ї групи. Зроблено висновок, що введення поліфенолу куркуміну за умов ЦО щурів та утримання їх на ВКВЛД істотно обмежує розвиток ПОЛ у гомогенаті великих півкуль головного мозку.

Ключові слова: поліфеноли, куркумін, перекисне окиснення ліпідів, оксидативно-нітрозативний стрес, метаболічний синдром, цілодобове освітлення, висококалорійна вуглеводно-ліпідна дієта, головний мозок, щури.

Вступ

Нещодавно було показано, що і порушення світлового режиму, і висококалорійна вуглеводно-ліпідна дієта (ВКВЛД) викликають притаманні метаболічному синдрому розлади обміну речовин, ендотеліальну дисфункцію, системну запальну відповідь та оксидативно-нітрозативний стрес [1]. Все це ініціює інтенсивний спалах перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у організмі ссавців, у тому числі у великих півкулях головного мозку [2].

Згідно з нашими попередніми спостереженнями, введення щурам за умов моделювання метаболічного синдрому, індукованого цілодобовим освітленням (ЦО) та ВКВЛД, біофлавоно-

їдів – епігалокатехіну-3-галату (EGCG) та кверцетину – суттєво обмежує ознаки оксидативно-нітрозативного стресу в головному мозку [2] та печінці [3]. Така дія цих сполук останнім часом розглядається через їх здатність модулювати редокс-чутливі транскрипційні фактори NF-κB і з Nrf2 [4-6].

За сучасними уявленнями, поліфенол куркумін ((1E,6E)-1,7-біс(4-гідрокси-3-метоксифеніл)-1,6-гептадієн-3,5-діон) також здатний впливати на активність низки транскрипційних чинників: NF-κB, Nrf2, AP-1, PPAR-γ та ін. [7, 8]. Зокрема куркумін порушує фосфорилування IκB через пригнічення IκB-кіназного комплексу [9]. Доведено його здатність індукувати сигнальний шлях Nrf2 / антиоксидант-респонсивний елемент

(ARE) [8].

Введення куркуміну шурам за умов ЦО та ВКВЛД істотно впливає на показники системи оксиду азоту в тканинах печінки і скелетних м'язів щурів, а саме відновлює в них дисбаланс конститутивних та індукційної ізоформ NO-синтази (сNOS / iNOS), покращує спряженість сNOS, що супроводжується зменшенням концентрації високотоксичних активних форм нітрогену – пероксинітритів [10, 11].

Окрім того, куркумін має такі важливі фармакологічні властивості, як антиоксидантні, проти-запальні, антимікробні, антипроліферативні, протипухлинні та антивікові [12-14]. Нині поліфенол широко досліджується як засіб попередження та лікування нейродегенеративних захворювань (хвороби Альцгеймера та Паркінсона, розсіяного склерозу), що характеризуються прогресуючою втратою структури та функцій головного мозку внаслідок загибелі нейронів [12]. Нейропротективна дія куркуміну була доведена численними дослідженнями *in vivo* та *in vitro* [15-17]. Показано позитивний вплив куркуміну на експериментальну модель автоімунного енцефаломієліту при розсіяному склерозі, зокрема виявлено його здатність індукувати механізми відновлення мієліну [18].

Проте дія куркуміну на ПОЛ у головному мозку за умов порушення світлового режиму та ВКВЛД залишається нез'ясованою.

Мета дослідження – оцінити вплив поліфенолу куркуміну на ПОЛ у гомогенаті великих півкуль головному мозку щурів за їх ЦО та утримання на ВКВЛД.

Матеріал та методи

Експерименти були виконані на білих щурах-самцях лінії Вістар (n=21) масою 210-250 г, розподілених на 3 групи по 7 тварин. Щурів 1-ї групи (контроль I) утримували на стандартному раціоні віварію та рівному чергуванні періодів світла та темряви. Тваринам 2-ї та 3-ї груп протягом часу ЦО на тлі ВКВЛД щоденно вводили внутрішньо-шлунково через зонд 1 мл 20 %-й водного розчину фруктози («плацебо», контроль II) та куркумін ("Sigma-Aldrich, Inc.", США) у дозі 200 мг/кг відповідно. Куркумін вводили разом з вуглеводами (20 %-м водним розчином фруктози), що

збільшує його біодоступність.

Тварин утримували на ВКВЛД протягом 2 місяців: щури отримували 20% водний розчин фруктози для пиття та раціон харчування калорійністю 4477 ккал/кг такого складу: рафінована пшенична мука – 45%, сухе знежирене коров'яче молоко – 20%, крохмаль – 10%, столовий маргарин із вмістом жирів 72-82% – 20%, переокиснена соняшникова олія – 4%, натрію хлорид – 1% [19]. Починаючи з 30-го дня експерименту, щурів піддавали впливу ЦО інтенсивністю 1500 лк протягом наступних 30 днів [20].

Тварин декапітували під етерним наркозом, дотримуючись положень «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986). Згідно з висновком комісії з біоетики Чорноморського національного університету імені Петра Могили, всі процедури, пов'язані з гуманним поводженням з тваринами та їх використанням в експериментах, було дотримано.

Рівень ПОЛ у гомогенаті великих півкуль головного мозку оцінювали за утворенням у реакції тіобарбітурової кислоти (ТБК) з вторинними продуктами ПОЛ (малоновим діальдегідом) забарвленого триметінового комплексу [21]. Стан антиоксидантного захисту оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних продуктів за час 1,5-годинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині [21].

Отримані результати статистично обробляли з використанням пакету програм Microsoft Office Excel з розширенням Real Statistics. Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Шапіро-Уїлка. Оскільки варіаційні ряди відповідали нормальному розподілу, то для їх порівняння використовували критерій t Стьюдента для незалежних вибірок.

Результати та обговорення

Знаходження щурів на ЦО та ВКВЛД супроводжувалося вірогідним збільшенням вмісту вторинних продуктів ПОЛ у гомогенаті великих півкуль головного мозку. На це вказує зростання концентрації ТБК-реактивів до та після інкубації в прооксидантному буферному розчині на 59.0 та 68.8% відповідно (p<0.001) (табл. 1).

Таблиця

Вплив куркуміну на вміст вторинних продуктів ПОЛ у гомогенаті великих півкуль головного мозку щурів за умов цілодобового освітлення та висококалорійної вуглеводно-ліпідної дієти (M+m, n=21)

Концентрація ТБК-активних продуктів	Інтактна група (контроль I)	Цілодобове освітлення на тлі призначення висококалорійної вуглеводно-ліпідної дієти	
		Контроль II	+ куркумін
До інкубації, мкмоль/кг	24.04±0.49	38.22±0.61 *	28.91±0.81 *,**
Після інкубації, мкмоль/кг	31.46±0.75	53.09±3.13 *	36.61±1.03 *,**
Приріст за час інкубації, мкмоль/кг	7.42±0.48	14.87±3.28 *	7.69±1.19

Примітка: * – p<0.05 порівняно зі значеннями 1-ї групи; ** – p<0.05 порівняно зі значеннями 2-ї групи.

Введення куркуміну за умов ЦО та ВКВЛД значно зменшувало у гомогенаті великих півкуль головного мозку концентрацію ТБК-реактивів: до його інкубації в прооксидантному буферному розчині на 24.4% (p<0.001), після інкубації – на

31.0% (p<0.001) порівняно з відповідними значеннями 2-ї групи.

Приріст концентрації ТБК-реактивів упродовж часу інкубації в прооксидантному буферному розчині за умов перебування тварин на ЦО

та ВКВЛД удвічі збільшувався ($p < 0.001$) порівняно з інтактним контролем. Введення куркуміну за ЦО та ВКВЛД значно зменшувало у гомогенаті великих півкуль головного мозку концентрацію ТБК-реактантів: до його інкубації в прооксидантному буферному розчині на 24.4% ($p < 0.001$), після інкубації – на 31.0% ($p < 0.001$) порівняно з відповідними значеннями 2-ї групи.

Такі зміни відображають істотне зменшення антиоксидантного потенціалу тканини великих півкуль головного мозку за умов експерименту та відповідають результатам наших попередніх досліджень, що встановили розвиток оксидативно-нітрозативного стресу [2]. Було виявлено зростання активних форм кисню та нітрогену, що ініціюють ПОЛ, таких як супероксидний аніон-радикал і пероксинітрид, збільшувалася загальна активність NO-синтази за рахунок активності iNOS.

Раніше було продемонстровано, що одночасне введення куркуміну та піперину, що збільшує biodostupnist' kurkuminu [22], значно обмежує ПОЛ-індукований карбонільний стрес, зменшує утворення продуктів окисної модифікації білків та рівень NO у гомогенаті головного мозку щурів, з чим автори пов'язують нейропротекторну дію куркуміну та його здатність пригнічувати пошкодження, спричинені прооксидантним впливом D-галактози [23].

Властивість куркуміну значно обмежувати оксидативно-нітрозативний стрес, очевидно, пов'язане зі здатністю цього поліфенолу гальмувати активацію NF- κ B [24] та індукувати шлях Nrf2 / антиоксидант респонсивний елемент (ARE) [25]. Така дія модуляторів цих сигнальних систем зазвичай пригнічує експресію прозапальних і прооксидантних NF- κ B-залежних генів та активує транскрипцію цитопротективних генів, пов'язаних з ARE [26, 27].

Проте вірогідного зростання антиоксидантного потенціалу в тканинах великих півкуль головного мозку при застосуванні куркуміну за умов експерименту ми не виявили, хоча в випадках іншої патології, що супроводжується ініціацією ПОЛ (наприклад, за умов солідної пухлини Ерліха у мишей), введення куркуміну у дозі 50 мг/кг/добу підвищувало активність антиоксидантного ферменту супероксиддисмутази у тканині мозку [28].

Одержані результати вказують на потужну антиоксидантну дію куркуміну в тканині великих півкуль головного мозку за умов експерименту, що дозволяє його розглядати у числі інших поліфенолів, здатних модулювати редокс-чутливі фактори транскрипції (флавоноїдів кверцетину та епігалокатехину-3-галату) [2], як перспективний нейропротективний засіб.

Таким чином, введення поліфенолу куркуміну за умов цілодобового освітлення щурів та утри-

мання їх на висококалорійній вуглеводно-ліпідній дієті істотно обмежує розвиток перекисного окиснення ліпідів у гомогенаті великих півкуль головному мозку.

References

1. Belikova OI, Chernov VS, Frenkel' YuD, Kostenko VO. Vplyv khronichnoyi hipomelatoninemiyi na vuhlevodnyy i lipidnyy obmin za umov pryznachennya shchuram «diyety zakhidnoho typu» [Influence of chronic hypomelatoninemia on carbohydrate and lipid metabolism of rats kept on "western pattern diet"]. *Fiziol Zhurn.* 2018;64(3):52-60. (Ukrainian).
2. Frenkel' YuD, Chernov VS, Kostenko VO. Vplyv bioflavonoyidiv na rozvytok oksydatyvno-nitrozatyvnoho stresu v holovnomu mozku shchuriv za umov yikh tsilodobovoho osviltennya ta utrymannya na vuhlevodno-lipidnyy diyeti [Effect of bioflavonoids on the development of oxidative-nitrosative stress in the brain of rats exposed to round-the-clock light and kept on carbohydrate-lipid diet]. *Farmakolohiya ta likars'ka toksykolohiya.* 2021;15(6):406-413. (Ukrainian).
3. Frenkel' YuD, Zyuzin VO, Chernov VS, Kostenko VO. Vplyv epihalokatekhin-3-halatu ta kvartsetynu na utvorennya aktyvnykh form kysnyu ta azotu v pechintsi shchuriv za umov yikh tsilodobovoho osviltennya ta utrymannya na vuhlevodno-lipidnyy diyeti [Effect of bioflavonoids on the production of reactive oxygen and nitrogen species in liver of rats exposed to round-the-clock light and kept on carbohydrate-lipid diet]. *Fiziol Zh.* 2022; 68(1):20-27. (Ukrainian).
4. Yavtushenko IV, Nazarenko SM, Katrushov OV, Kostenko VO. Quercetin limits the progression of oxidative and nitrosative stress in the rats' tissues after experimental traumatic brain injury. *Wiadomości Lekarskie.* 2020; LXXIII (10):2127-2132.
5. Yavtushenko IV, Kostenko VO. Vplyv induktoriv transkryptsynoho chynnyka NRF2 na rozvytok oksyno-nitrozatyvnoho stresu v tkanyni velykykh pivkul' holovnoho mozku shchuriv pislya modelyuvannya cherepno-mozkovoyi travmy [Influence of Nrf2 transcription factor inducers on the development of oxidative-nitrosative stress in the tissue of cerebral hemispheres in rats after modeled traumatic brain injury]. *Ukrayins'ky zhurnal medytsyny, biolohiyi ta sportu.* 2020; 5(4):117-123. (Ukrainian).
6. Kostenko V, Akimov O, Gutnik O et al. Modulation of redox-sensitive transcription factors with polyphenols as pathogenetically grounded approach in therapy of systemic inflammatory response. *Heliyon.* 2023 Apr;9(4):e15551.
7. Shishodia S, Sethi G, Aggarwal BB. Curcumin: getting back to the roots. *Ann N Y Acad Sci.* 2005 Nov;1056:206-217.
8. Balogun E, Hoque M, Gong P et al. Curcumin Activates the Haem Oxygenase-1 Gene via Regulation of Nrf2 and the Antioxidant-Responsive Element. *Biochem J.* 2003 May 1;371(Pt 3):887-895.
9. Plummer SM, Holloway KA, Manson MM et al. Inhibition of cyclooxygenase 2 expression in colon cells by the chemopreventive agent curcumin involves inhibition of NF- κ B activation via the NIK/IKK signalling complex. *Oncogene.* 1999 Oct 28;18(44):6013-6020.
10. Frenkel' YuD, Chernov VS, Kostenko VO. Vplyv kurkuminu na rozvytok oksydatyvno-nitrozatyvnoho stresu v tkanyakh pechinky shchuriv pry modelyuvanni metabolichnoho syndromu za umov tsilodobovoho osviltennya [The protective effect of curcumin on the development of oxidative-nitrosative stress in the liver tissues of rats under modelling metabolic syndrome by exposure to round-the-clock lighting] *Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny.* 2022;22(2):81-85. (Ukrainian).
11. Frenkel' YuD, Chernov VS, Kostenko VO. Vplyv kurkuminu na systemu oksydu azotu v skeletnykh m'yazakh shchuriv za umov eksperymental'noho metabolichnoho syndromu za umov tsilodobovoho osviltennya [Effect of curcumin on nitric oxide system in skeletal muscles of rats exposed to experimental metabolic syndrome under round-the-clock lighting]. *Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny.* 2022;22(3-4):173-176. (Ukrainian).
12. Benameur T, Giacomucci G, Panaro MA, Ruggiero M, Trotta T, Monda V, Pizzolorusso I, Lofrumento DD, Porro C, Messina G. New Promising Therapeutic Avenues of Curcumin in Brain Diseases. *Molecules.* 2021 Dec 31;27(1):236.
13. Panahi Y, Khalili N, Sahebi E, et al. Antioxidant effects of curcuminoids in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *Inflammopharmacology.* 2017;25(1):25-31.
14. Ghandadi M, Sahebkar A. Curcumin: An Effective Inhibitor of Interleukin-6. *Curr Pharm Des.* 2017;23(6):921-931.
15. Bhat A, Mahalakshmi AM, Ray B, et al. Benefits of curcumin in brain disorders. *Biofactors.* 2019;45(5):666-689.
16. Adami R, Bottai D. Curcumin and neurological diseases. *Nutr Neurosci.* 2022;25(3):441-461.

17. Wang Y, Zu G, Yu Y, et al. Curcumin's mechanism of action against ischemic stroke: A network pharmacology and molecular dynamics study. *PLoS One*. 2023;18(1):e0280112.
18. Mohajeri M, Sadeghizadeh M, Najafi F, Javan M. Polymerized nano-curcumin attenuates neurological symptoms in EAE model of multiple sclerosis through down regulation of inflammatory and oxidative processes and enhancing neuroprotection and myelin repair. *Neuropharmacology*. 2015;99:156-167.
19. Frenkel Y, Chernov V, Kostenko H et al. Dietary Supplementation with Resveratrol Attenuates Serum Melatonin Level, Pro-Inflammatory Response and Metabolic Disorder in Rats Fed High-Fructose High-Lipid Diet under Round-the-Clock Lighting. *Pathophysiology*. 2023 Feb; 30(1):37-47.
20. Frenkel' YuD, Belikova OI, Chernov VS, Larycheva OM, Chebotar LD, inventors; Frenkel' YuD, assignee. Method of metabolic syndrome modeling. Ukraine patent UA 122249, publ. 12/26/2017, Bull. № 24.
21. Akimov OYe, Kostenko VO. Oksydatyvno-nitrozatyvnyy stres ta metody yoho doslidzhennya [Oxidative-nitrosative stress and methods of its research]. Lviv: Magnolia; 2021. (Ukrainian).
22. Prasad S, Tyagi AK, Aggarwal BB. Recent developments in delivery, bioavailability, absorption and metabolism of curcumin: the golden pigment from golden spice. *Cancer Res Treat*. 2014 Jan;46(1):2-18.
23. Banji D, Banji OJ, Dasaroju S, Kranthi KC. Curcumin and piperine abrogate lipid and protein oxidation induced by D-galactose in rat brain. *Brain Res*. 2013;1515:1-11.
24. Plummer SM, Holloway KA, Manson MM, et al. Inhibition of cyclooxygenase 2 expression in colon cells by the chemopreventive agent curcumin involves inhibition of NF-kappaB activation via the NIK/IKK signalling complex. *Oncogene*. 1999 Oct 28;18(44):6013-6020.
25. Balogun E, Hoque M, Gong P, et al. Curcumin Activates the Haem Oxygenase-1 Gene via Regulation of Nrf2 and the Antioxidant-Responsive Element. *Biochem J*. 2003 May 1;371(Pt 3):887-895.
26. Chen L, Deng H, Cui H, et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*. 2017 Dec 14;9(6):7204-7218.
27. Saha S, Buttari B, Panieri E, et al. An Overview of Nrf2 Signaling Pathway and Its Role in Inflammation. *Molecules*. 2020 Nov 23;25(22):5474.
28. Nisari M, Yılmaz S, Ertekin T, et al. Effects of Curcumin on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes in Kidney, Liver, Brain and Testis of Mice Bearing Ehrlich Solid Tumor. *Proceedings*. 2017; 1(10):994.

Summary

EFFECT OF CURCUMIN ON LIPID PEROXIDATION IN THE RAT BRAIN UNDER CONDITIONS OF ROUND-THE-CLOCK ILLUMINATION AND HIGH-CALORIE CARBOHYDRATE-LIPID DIET

Frankel Y.D., Zyuzin V.O., Chernov V.S.

Key words: polyphenols, curcumin, lipid peroxidation, oxidative-nitrosative stress, metabolic syndrome, round-the-clock lighting, high-calorie carbohydrate-lipid diet, brain, rats.

The aim of this study is to assess the effect of the polyphenol curcumin on lipid peroxidation (LPO) in the homogenate of the cerebral hemispheres from rats exposed to the round-the-clock lighting (RCL) and kept on high-calorie carbohydrate-lipid diet (HCCLD). The experiments were performed on 21 white male Wistar rats weighing 210-250 g, divided into 3 groups of 7 animals each. Animals of group 1 (control I) were kept on a standard vivarium diet and equal alternation of light and darkness periods. Rats of groups 2 and 3 during the period of RCL in the setting of HCCLD were daily injected 1 ml of 20% aqueous fructose solution intragastrically through a probe ("placebo", control II) and curcumin in a dose of 200 mg/kg, respectively. The level of lipid peroxidation in the cerebral homogenate was assessed by the formation of a colored trimethine complex in the reaction with thiobarbituric acid (TBA). Keeping rats on the RCL and HCCLD was accompanied by a significant increase in the concentration of TBA reactants before and after the incubation in pro-oxidant buffer solution, by 59.0 and 68.8%, respectively. The administration of curcumin under the experimental conditions significantly reduced the concentration of TBA-active products: before its incubation in the pro-oxidant buffer solution – by 24.4%, after the incubation – by 31.0% compared to the corresponding values in the 2nd group. This enables us to conclude that the administration of the polyphenol curcumin under exposing rats to RCL and keeping them on HCCLD significantly limits the LPO development in the cerebral homogenate of the cerebral hemispheres.