

Waldst. & Kit., *Ficaria verna* Huds., *Hepatica nobilis* Mill., *Isopyrum thalictroides* L., *Lathraea squamaria* L., *Lathyrus vernus* (L.) Bernh., *Mercurialis perennis* L., *Primula veris* L., *Pulmonaria obscura* Dumort., *Ranunculus cassubicus* L. The monitoring research was set for populations of *Allium ursinum* (Ukrainian Red Data Book) and regional rare species in Volyn Region: *Corydalis cava*, *Dentaria glandulosa*, *Hepatica nobilis*, *Isopyrum thalictroides*, *Hepatica nobilis* (spring ephemerals), *Vinca minor* (spring-flowering species) and *Hedera helix* (winter-green species). The studied ephemeroïd plants amount 2.52 % of the total number of vascular plants of Tsumanska Pushcha and 1.14 % of the flora of Volyn Polissya. According to the results of monitoring studies for *Allium ursinum*, the coenopopulation of the species generally has a left-handed spectrum, remains homeostatic, and the number of individuals is maintained by seed and vegetative propagation. Creation of the ecological trail "Spring-flowering plants of Kivertsy NPP "Tsumanska Pushcha" is proposed.

Keywords: spring ephemeroïds, Lutsk forestry, Partyzanske forestry, protection.

УДК 616.72-002: 577.1

DOI 10.17721/1728_2748.2021.85.32-37

К. Дворченко, д-р біол. наук,
О. Короткий, д-р біол. наук,
Д. Гребіник, канд. біол. наук,
Є. Торгалло, канд. біол. наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ГЛУТАТІОНОВА СИСТЕМА В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ КАРРАГІНАН-ІНДУКОВАНОГО ЗАПАЛЕННЯ СУГЛОБА ТА ПРОФІЛАКТИЧНОГО ВВЕДЕННЯ ХОНДРОЇТИН СУЛЬФАТУ

Дослідження проведені на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 180–240 г із дотриманням загальних етичних принципів експериментів на тваринах. Усіх тварин розподілено на чотири експериментальні групи. Перша група – контроль: тваринам субплантарно вводили у задню праву кінцівку 0,1 мл 0,9-відсоткового розчину NaCl. Друга група – щурам щоденно протягом 28 днів внутрішньом'язево вводили терапевтичну дозу 3 мг·кг⁻¹ хондроїтин сульфату. Третя група – тваринам щоденно протягом 28 днів внутрішньом'язево в задню праву кінцівку вводили 0,1 мл 0,9-відсоткового розчину NaCl та на 29-й день моделювали гостре запалення суглоба (тваринам субплантарно в задню праву кінцівку вводили 0,1 мл 1-відсоткового розчину каррагінану). Четверта група – щурам щоденно, протягом 28 днів внутрішньом'язево вводили терапевтичну дозу 3 мг·кг⁻¹ хондроїтин сульфату, після чого на 29-й день моделювали гостре запалення суглоба. Загальна кількість тварин, залучених до експериментальних досліджень, становила 40 особин. Глутатіонпероксидазну активність оцінено за зменшенням вмісту GSH у реакції з реактивом Елмана. Глутатіонредуктазну активність виміряно за зменшенням оптичної густини проб внаслідок окиснення НАДФН. Глутатіонтрансферазну активність визначено за швидкістю утворення кон'югату GSH з 1-хлор-2,4-динітробензолом. Уміст відновленого глутатіону виміряно спектрофлуориметрично з використанням ортофталевого альдегіду.

Встановлено, що за каррагінан-індукованого запалення суглоба в сироватці крові знижувалася глутатіонпероксидазна, глутатіонредуктазна активності й уміст відновленого глутатіону, водночас зростала глутатіонтрансферазна активність порівняно з контролем. Показано, що за профілактичного введення препарату на основі хондроїтин сульфату тваринам із гострим запаленням суглоба вищезазначені показники частково відновлювалися.

Ключові слова: гостре запалення суглобу, хондроїтин сульфат, глутатіонова система, сироватка крові.

Вступ. Нині хвороби опорно-рухової системи займають провідне місце в загальній структурі захворюваності. Серед них значну частину посідають патології суглобів, розвиток яких призводить до деформації суглобів та часткової чи повної втрати їхньої рухливості. Близько 12–15 % населення планети страждає на остеоартрити (ОА). З віком частота розвитку ОА зростає і досягає понад 90 % у людей похилого віку [1–3]. Захворювання суглобів мають також важливе соціальне значення, оскільки можуть спричинити розвиток інвалідності у людей працездатного віку.

Більшість захворювань суглобів характеризуються хронічним і прогресуючим перебігом. У зв'язку із цим є важливим застосування заходів для зупинення розвитку патологічних процесів за рахунок своєчасної профілактики. Зважаючи на це, пошук можливих шляхів відновлення суглобів є актуальним і необхідним. Одним із можливих варіантів профілактичних заходів може бути використання сполук, що є природними компонентами структури суглоба. Серед них важливе місце посідає хондроїтин сульфат (ХС), що входить до складу хрящової тканини [4].

Значна частина патологій суглобів виникає внаслідок розвитку запальних процесів, які виявляються як місцево, у самому суглобі, так і на рівні всього організму. Відомо, що важливу роль у розвитку запалення відіграє порушення окисно-антиоксидантної рівноваги в бік активації вільнорадикальних процесів [5]. Система глутатіону є однією із ключових ланок антиоксидантної системи захисту, що здатна захищати організм від окисню-

вального пошкодження, що відбувається за різних патологічних станів, зокрема і за запальних захворювань опорно-рухового апарату.

З огляду на це **мета роботи** – дослідити дію профілактичного введення хондроїтин сульфату на стан глутатіонової системи в сироватці крові щурів за експериментального гострого запалення суглоба.

Об'єкт і методи досліджень. Дослідження проведені на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 180–240 г із дотриманням загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 р.), інших міжнародних угод і національного законодавства в цій галузі. За добу до проведення експерименту тварин піддавали харчовій депривації з вільним доступом до води. Усіх тварин розподілили на чотири експериментальні групи. Перша група (Контроль) – тваринам субплантарно (під підшовний або плантарний апоневроз) у задню праву кінцівку вводили 0,1 мл 0,9-відсоткового розчину NaCl. Друга група (ХС) – тваринам щоденно протягом 28 днів внутрішньом'язево вводили терапевтичну дозу 3 мг·кг⁻¹ хондроїтин сульфату (препарат "Драстоп", (Drastop), власником реєстраційного посвідчення якого є фармацевтична компанія WORLD MEDICINE, Limited (Велика Британія) та виробником – S.C. ROMPHARM Company, S.R.L. (Румунія). 1 мл препарату "Драстоп" містить суміш динатрієвих солей хондроїтин-4-сульфату (I) та хондроїтин-6-сульфату (II). У препараті "Драстоп" уміст активної речовини, хондроїтин

сульфат натрію, становить 100 мг/мл)). Третя група (Карагінан) – тварини, у яких моделювали гостре запалення суглоба: шурам щоденно протягом 28 днів внутрішньом'язево у задню праву кінцівку вводили 0,1 мл 0,9-відсоткового розчину NaCl та на 29-й день субплантарно вводили у задню праву кінцівку 0,1 мл 1-відсоткового розчину каррагінану [6]. Четверта група (Карагінан + ХС) – тваринам щоденно протягом 28 днів внутрішньом'язево вводили терапевтичну дозу 3 мг·кг⁻¹ хондроїтин сульфату, після чого шурам субплантарно в задню праву кінцівку вводили 0,1 мл 1-відсоткового розчину каррагінану. Тварин декапітували через 3 год після ін'єкції розчину каррагінану згідно з протоколом етичного комітету, після чого швидко здійснювали забір крові для подальших досліджень. Загальна кількість тварин, залучених до експериментальних досліджень, становила 40 особин. Глутатіонпероксидазну (ГЛП) активність оцінено за зменшенням вмісту GSH в реакції з реактивом Елмана [7]. Глутатіонредуктазну (ГЛР) активність виміряно за зменшенням оптичної густини проб внаслідок окиснення НАДФН [7]. Глутатіонтрансферазну (ГЛТ) активність визначено за швидкістю утворення кон'югату GSH з 1-хлор-2,4-динітробензолом [7]. Уміст відновленого глутатіону (GSH) визначено спектрофлуориметрично з використанням ортофталевого альдегіду [8]. Визначення концентрації білка проведено за методом Лоурі [9]. Статистичну обробку результатів дослідження виконували загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

Результати дослідження та їх обговорення. Важливе місце у формуванні антиоксидантного захисту організму посідає тиол-дисульфідна глутатіонова редокс-система та її ферменти, що здійснює антиоксидантні функції, бере участь у біотрансформації екзогенних й ендогенних сполук, підтримує редокс-гомеостаз. До складу глутатіонової системи входять глутатіонзалежні ферменти (глутатіонпероксидаза, глутатіонтрансфераза, глутатіонредуктаза) та відновлений глутатіон, який є природним метаболітом гомоцистеїну та найважливішим компонентом антиоксидантних реакцій [10, 11].

У запропонованій роботі досліджено стан глутатіонової системи в сироватці крові шурів за активністю глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази, глутатіонредуктази та вмістом відновленого глутатіону. У ході проведених експериментів встановлено, що глутатіонпероксидазна активність у сироватці крові шурів контрольної групи становила $34,71 \pm 3,19$ нмоль GSH \times хв⁻¹ \times мг⁻¹ білка, а за каррагінан-індукованого запалення суглоба – знижувалася в 1,6 раза порівняно з контролем (рис. 1). У тварин, у яких моделювали карагінан-індуковане запалення та яким здійснювали профілактичне введення хондроїтин сульфату, глутатіонпероксидазна активність у сироватці крові була в 1,3 раза вищою, порівняно із тваринами з експериментальним запаленням суглоба, що не отримували ХС. Показано, що тривале профілактичне введення хондроїтин сульфату не впливало на активність глутатіонпероксидази в сироватці крові тварин контрольної групи (рис. 1).

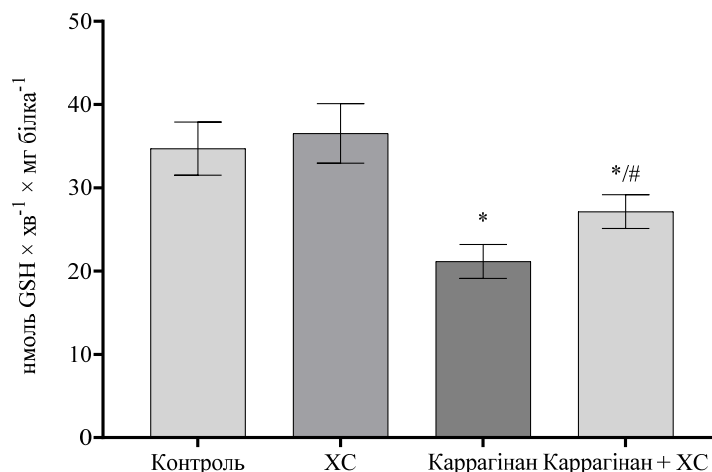


Рис. 1. Глутатіонпероксидазна активність у сироватці крові шурів за каррагінан-індукованого запалення суглоба та профілактичного введення хондроїтин сульфату (ХС – хондроїтин сульфат), ($M \pm m$, $n = 10$)

* – $p < 0,05$ щодо контролю; # – $p < 0,05$ відносно групи тварин, яким вводили каррагінан.

Встановлено, що у хворих на системні захворювання сполучної тканини у ситуації ураження суглобів спостерігаємо знижений антиоксидантний статус із низькою активністю глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази еритроцитів за низького рівня відновленої форми глутатіону на тлі підвищеного рівня оксиду азоту у плазмі крові [12].

Вагому роль у клітинних редокс-залежних процесах відіграють глутатіонтрансферази (ГЛТ) (КФ 2.5.1.18), що каталізують кон'югацію глутатіону з рядом неполярних сполук ендо- й екзогенного походження, та мають у своєму складі електрофільні атоми вуглецю, сірки, азоту й фосфору, що є важливим у захисті клітин від токсичної дії цих сполук/зоферменти ГЛТ нині виявлені в більшості живих організмів [13].

Глутатіонтрансфераза є важливим ферментом в антиоксидантній системі захисту через свою здатність від-

новлювати органічні гідроперекиси до спиртів, використовуючи GSH як косубстрат: за рахунок Se-незалежної глутатіонпероксидазної активності ГЛТ відновлює гідроперекиси поліненасичених вищих жирних кислот, фосфоліпідів та холестерину. Серед продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) субстратами ферменту є акролеїн та 4-гідрокси-ноненаль, кон'югація яких із глутатіоном захищає молекули білків і ДНК від ковалентної модифікації. Внаслідок окисного стресу можуть окиснюватися нуклеотиди з утворенням гідропероксидів, що також є субстратами для глутатіонтрансферази.

Глутатіонтрансферазна активність у сироватці крові контрольної групи тварин становила $6,12 \pm 0,52$ нмоль \times хв⁻¹ \times мг⁻¹ білка і зростала в 1,7 раза за каррагінан-індукованого запалення суглоба порівняно з контрольною групою (рис. 2). У тварин із каррагінан-

індукованим запаленням суглоба, які отримували профілактичне введення хондроїтин сульфату, глутатіонтрансферазна активність у сироватці крові знижувалася в 1,3 раза порівняно із тваринами з експериментальним

гострим запаленням суглоба, які не отримували ХС. Показано, що тривале профілактичне введення хондроїтин сульфату не впливало на активність глутатіонтрансферази у сироватці крові тварин контрольної групи (рис. 2).

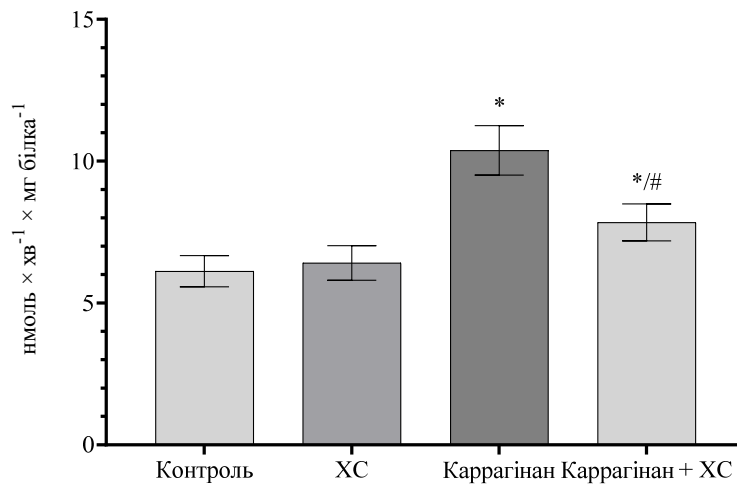


Рис. 2. Глутатіонтрансферазна активність у сироватці крові щурів за каррагінан-індукованого запалення суглоба та профілактичного введення хондроїтин сульфату (ХС – хондроїтин сульфат), ($M \pm m, n = 10$)

* – $p < 0,05$ щодо контролю; # – $p < 0,05$ відносно групи тварин, яким вводили каррагінан.

Глутатіонтрансфераза модулює активацію сигнального шляху NF- κ B та прозапальну відповідь організму [13], тому є об'єктом досліджень, пов'язаних із широким спектром захворювань, серед яких хвороби опорно-рухової системи, аміотропічний латеральний склероз, астма, хвороби Альцгеймера та Паркінсона, тощо [14, 15].

Глутатіонредуктаза (ГЛР) (КФ 1.20.4.1) є важливим ферментом у процесах відновлення дисульфідів та де-глутатіонування. Ізоформи ГЛР – термостійкі низькомолекулярні білки, що функціонують як GSH-залежні оксидоредуктази та відіграють важливу роль у клітинних редокс-залежних процесах. Глутатіонредуктаза (глутатіондисульфідна редуктаза) каталізує відновлення глутатіондисульфіду (GSSG) до сульфгідрильної форми глутатіону (GSH), яка є критичною за окиснювального стресу та в підтриманні відновлення клітин. Глутатіонредуктаза функціонує як димерно-дисульфідна оксидоредуктаза і використовує протеазну групу FAD та NADPH⁺

для зменшення одного молярного еквівалента GSSG до двох молярних еквівалентів GSH [16].

У ході проведених експериментальних досліджень встановлено, що в сироватці крові тварин контрольної групи глутатіонредуктазна активність становила $0,34 \pm 0,03$ нмоль НАДФН \times хв⁻¹ \times мг⁻¹ білка (рис. 3). За каррагінан-індукованого запалення суглоба глутатіонредуктазна активність у сироватці крові знижувалась в 1,8 раза порівняно з контролем. У тварин із гострим запаленням суглоба, що отримували профілактичне введення хондроїтин сульфату, ферментативна активність у сироватці крові зростала в 1,3 раза порівняно із тваринами групи експериментального запалення, що не отримували ХС. Показано, що тривале профілактичне введення хондроїтин сульфату не впливало на глутатіонредуктазну активність у сироватці крові тварин контрольної групи (рис. 3).

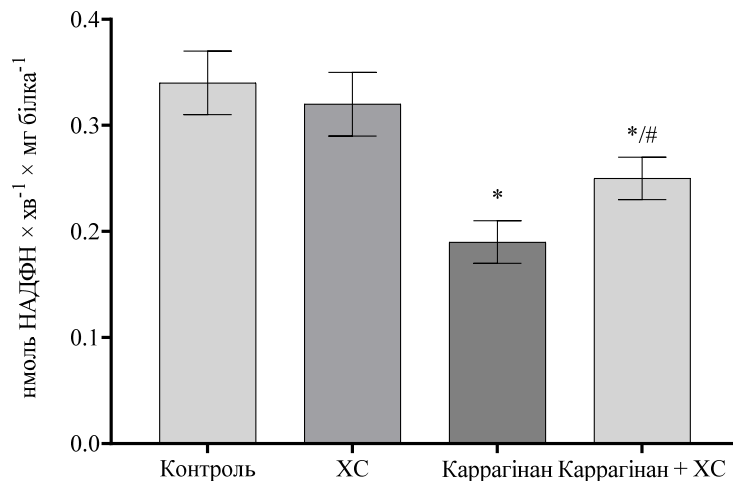


Рис. 3. Глутатіонредуктазна активність у сироватці крові щурів при каррагінан-індукованому запаленні суглоба та профілактичного введення хондроїтин сульфату (ХС – хондроїтин сульфат), ($M \pm m, n = 10$)

* – $p < 0,05$ щодо контролю; # – $p < 0,05$ відносно групи тварин, яким вводили каррагінан.

Фермент глутатіонредуктаза запобігає надмірному утворенню гідроксильних радикалів, синглетного кисню та різних електрофілів. Співвідношення GSSG/GSH у клітині є ключовим фактором підтримання внутрішньоклітинного окисно-відновного балансу та є важливим, щоб клітина утримувала високий рівень відновленого глутатіону та, зі свого боку, низький окисненого. Саме цей баланс підтримується глутатіонредуктазою, що каталізує відновлення GSSG до GSH [17].

За умов розвитку запалення глутатіонредуктаза нейтрофілів відіграє важливу роль, як за виникнення респіраторного "вибуху", так і за регуляції клітинного сигналіngu через ERK-сигнальний шлях [18]. Крім того, глутатіонредуктаза має безпосередній вплив на систему тіоредоксину в регуляції окисного стресу [19].

Отже, зміна активності ферментів, що пов'язані із глутатіонзалежною антиоксидантною захисною системою, впливає на розвиток запальних процесів як безпосередньо – через регуляцію рівня окисненого та відновленого глутатіону в організмі, так й опосередковано, через вплив на внутрішньоклітинні сигнальні шляхи.

Відновлений глутатіон (GSH) – низькомолекулярний тіол, пряма функція якого – руйнування вільних радикалів. За своєю будовою GSH є трипептидом (L-гамма-глутаміл-L-цистеїнілгліцин), біосинтез і катаболізм якого

описує глутамільний цикл. Глутатіон у відновленій формі може бути антиоксидантом через взаємодію із синглетним киснем, супероксид-аніоном і радикалами гідроксилу, або руйнувати вільні радикали, що утворюються через пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ). Відновлений глутатіон є коферментом, ферментативна активність якого обумовлена зміною редокс-потенціалу глутатіону, та є необхідним для підтримання реакції аскорбат-глутатіонового циклу, що пов'язаний із нейтралізацією H_2O_2 , де він повторно конформує аскорбінову кислоту від окисненої до відновленої форми [20].

Внаслідок проведених експериментальних досліджень встановлено, що вміст відновленого глутатіону в сироватці крові щурів контрольної групи становив $18,01 \pm 1,67$ нмоль \times мг $^{-1}$ білка, а за карагінан-індукованого запалення суглоба – знижувався в 1,6 раза порівняно з контрольною групою (рис. 4). У тварин із карагінан-індукованим запаленням суглоба, яким профілактично вводили хондроїтин сульфат, вміст глутатіону у сироватці крові був в 1,3 раза вищим, ніж у щурів групи з експериментальним запаленням, що не отримували ХС. Показано, що тривале профілактичне введення хондроїтин сульфату не впливало на вміст відновленого глутатіону в сироватці крові тварин контрольної групи (рис. 4).

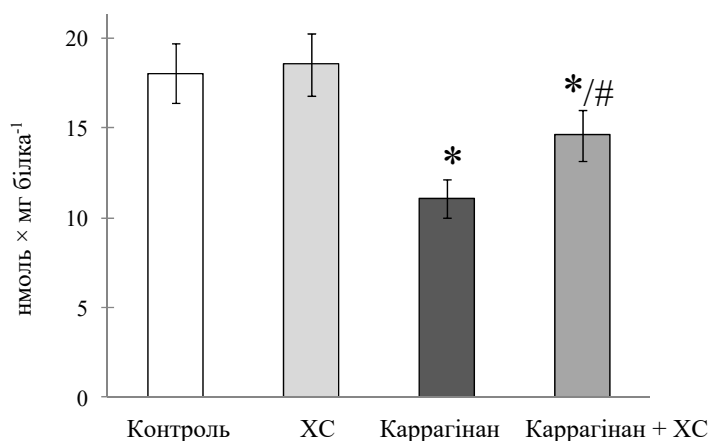


Рис. 4. Вміст відновленого глутатіону в сироватці крові щурів за карагінан-індукованого запалення суглоба та профілактичного введення хондроїтин сульфату (ХС – хондроїтин сульфат)

* – $p < 0,05$ відносно контролю; # – $p < 0,05$ відносно групи тварин, яким вводили карагінан

Отже, у ході досліджень нами показано, що за гострого запалення суглоба, викликаного введенням карагінану, у крові щурів порушувалася робота глутатіонової ланки системи антиоксидантного захисту: знижувалася активність глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази й вміст відновленого глутатіону, водночас зростала активність глутатіотрансферази. Профілактичне введення хондроїтин сульфату щурам із гострим запаленням суглоба сприяло частковому відновленню роботи глутатіонової системи, що могло свідчити про зниження розвитку окисного стресу в організмі за карагінан-індукованого запалення.

Встановлене відновлення глутатіонової ланки антиоксидантної системи у крові щурів з експериментальним запаленням суглоба може бути пов'язано з антиоксидантною активністю молекули хондроїтин сульфату. За рахунок наявності у складі функціональних груп ХС здатен хелатувати іони перехідних металів (залізо, мідь тощо), які беруть безпосередню участь в ініціюванні реакцій Фентона та Хабер – Вейса, що приводить до змен-

шення утворення вільних радикалів. Хелатування відбувається за рахунок зв'язування металів із карбоксильною групою залишку глюкуронової кислоти та сульфатогрупою в положенні 4- або 6-амінокислотного залишку протилежно до карбонової групи молекули хондроїтин сульфату [21]. Отже, хондроїтин сульфат зменшує інтенсивність вільнорадикальних процесів за рахунок власної антиоксидантної активності, що знижує навантаження на антиоксидантну систему організму.

Висновки. Згідно з отриманими результатами експериментальних досліджень показано, що за карагінан-індукованого запалення суглоба у сироватці крові щурів спостерігаємо порушення роботи глутатіонової ланки антиоксидантного захисту, що може свідчити про зсув окисно-антиоксидантної рівноваги у прооксидантний бік і розвиток окисного стресу. Профілактичне введення хондроїтин сульфату щурам з експериментальною моделлю гострого запалення суглоба частково відновлювало показники глутатіонової системи в сироватці крові.

Список використаних джерел

1. Перцев, І. (2017). Захворювання опорно-рухової системи. Остеохондроз: профілактика, діагностика, лікування, *Аптека*, с. 1-7.
2. Nazarinasab M. Investigating mental health in patients with osteoarthritis and its relationship with some clinical and demographic factors. / Nazarinasab, M., Motamedfar, A., Moqadam, A. // *Reumatologia*, 55(4), 2017 pp.183-188.
3. Aury-Landas J. Genetic determinism of primary early-onset osteoarthritis. / Aury-Landas, J., Marcelli, C., Leclercq, S., Boumediene, K., Baugé C. // *Trends in molecular medicine*, 22(1), 2016. pp. 38-52.
4. Bishnoi M. Chondroitin sulphate: a focus on osteoarthritis. / Bishnoi, M., Jain, A., Hurkat, P., Jain, S. // *Glycoconj. J.* 33(5), 2016. pp. 693-705.
5. Drevet S. Reactive oxygen species and NADPH oxidase 4 involvement in osteoarthritis. / Drevet, S., Gavazzi, G., Grange, L., Dupuy, C., Lardy, B. // *Exp. Gerontol*, 111, 2018. pp. 107-117.
6. Morris C. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. / Morris, C. // *Methods Mol. Biol.*, 225, pp. 115–121.
7. Власова С.Н. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей. / Власова С.Н., Шабунина Е.И., Переслегина И.А. // *Лаб. Дело*. 1990;8: 19-22.
8. Hissin P.J. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. / Hissin P.J. and Hilf R. // *Analytical biochemistry*. 1976;74(1):214-226.
9. Lowry, O. Randal, R. Protein measurement with Folin phenol reagent. / Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A. (1951). Randal, R. // *J. Biol. Chem.*, 19, 3, 1, 1951. pp. 265–275.
10. Лавришин Ю.Ю. Біологічне значення системи антиоксидантного захисту організму тварин. Лавришин Ю.Ю., Вархоляк ІС, Мартишук ТВ, Гута ЗА, Іванків ЛБ, Паладійчук ОР, Мурська СД, Гутій БВ, Гуфрій ДФ. // *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького*. 2016;2(66):100-111.
11. Shouan Zhu. Glutathione as a Mediator of Cartilage Oxidative Stress Resistance and Resilience During Aging and Osteoarthritis/ Shouan Zhu, Dawid Makosa, Benjamin F. Miller, Timothy M. Griffin // *Connect Tissue Res.* 2020 Jan; 61(1): 34–47
12. Александрова Л.А. Оценка проявлений окислительного стресса при системных заболеваниях соединительной ткани. / Александрова Л.А., Филиппова Н.А., Субботина Т.Ф., Алексеевская Е.С., Жлоба А.А., Трофимов В.И. // *Ученые записки СПбГМУ им. акад. ИП Павлова*. 2016;23(1):26-28.
13. Jones J.T. Glutathione S-transferase pi modulates NF-κB activation and pro-inflammatory responses in lung epithelial cells. / Jones JT, Xi Qian, Jos L J van der Velden, Shi Biao Chia et al. // *Redox Biol.* 2016 Aug;8:375-82.
14. Cha SJ, Han YJ, Hyun-Jun Choi, Hyung-Jun Kim, Kiyoung Kim Glutathione S-transferase Rescues Motor Neuronal Toxicity in Fly Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Antioxidants (Basel)* 2020 Jul; 9(7): 615.
15. Su X. Association of glutathione S-transferase M1 and T1 genotypes with asthma: A meta-analysis. / Su X, Ren Y, Li M, Kong L, Kang J // *Medicine (Baltimore)* 2020 Aug 21; 99(34): e21732.
16. Couto N. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. / Couto N, Wood J, Barber J. // *Free Radic Biol Med.* 2016 Jun;95:27-42.
17. Couto N. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. / Couto N, Wood J, Barber J. // *Free Radic Biol Med.* 2016 Jun;95:27-42.
18. Yan J. Glutathione Reductase Is Essential for Host Defense against Bacterial Infection. / J, Melissa M. Ralston, Xiaomei Meng, Kathleen D. Bongiovanni et al. // *Free Radic Biol Med.* 2013 Aug; 0: 320–332.
19. Prast-Nielsen S, Hsin-Hung Huang, David L Williams Thioredoxin glutathione reductase: its role in redox biology and potential as a target for drugs against neglected diseases. *Biochim Biophys Acta.* 2011 Dec;1810(12):1262-71.
20. Franco R. The central role of glutathione in the pathophysiology of human disease. / Franco R, Pappa A, Panayiotidis M.I. // *Archives of Physiology and Biochemistry.* 2007; 113(4-5):234-58.
21. Ajsaka K. Effect of the chelation of metal cation on the antioxidant activity of chondroitin sulfates. / Ajsaka K, Oyanagi Y, Miyazaki T, Suzuki Y. // *Biosci Biotechnol Biochem.* 2016;80(6):1179-1185. doi: 10.1080/09168451.2016.1141036.
3. Aury-Landas, J., Marcelli, C., Leclercq, S., Boumediene, K., Baugé C. (2016). Genetic determinism of primary early-onset osteoarthritis. *Trends in molecular medicine*, 22(1), pp. 38-52.
4. Bishnoi, M., Jain, A., Hurkat, P., Jain, S. (2016). Chondroitin sulphate: a focus on osteoarthritis. *Glycoconj. J.* 33(5), pp. 693-705.
5. Drevet, S., Gavazzi, G., Grange, L., Dupuy, C., Lardy, B. (2018). Reactive oxygen species and NADPH oxidase 4 involvement in osteoarthritis. *Exp. Gerontol*, 111, pp. 107-117.
6. Morris, C. (2003). Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. *Methods Mol. Biol.*, 225, pp. 115–121.
7. Vlasova SN, Shabunina EI, Pereslegina IA. Aktivnost glutationzavisimiyh fermentov eritrotsitov pri hronicheskikh zabolevaniyah pecheni u detey. *Lab. Delo*. 1990;8: 19-22
8. Hissin P.J. and Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Analytical biochemistry*. 1976;74(1):214-226.
9. Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A. (1951). Randal, R. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 19, 3, 1, pp. 265–275.
10. Lavrishin YuYu, Varholyak IS, Martishuk TV, Guta ZA, Ivankiv LB, Paladychuk OR, Murska SD, Gutiy BV, Gufriy DF. Biologichne znachennya sistemi antioksidantnoho zahistu organizmu tvarin naukoviy visnik LNUVMBT imeni S.Z. Ghitskogo. 2016;2(66):100-111.
11. Shouan Zhu, Dawid Makosa, Benjamin F. Miller, Timothy M. Griffin Glutathione as a Mediator of Cartilage Oxidative Stress Resistance and Resilience During Aging and Osteoarthritis *Connect Tissue Res.* 2020 Jan; 61(1): 34–47
12. Aleksandrova LA, Filippova NA, Subbotina TF, Alekseevskaya ES, Zhloba AA, Trofimov VI. Otsenka proyavleniy oksidativnoy stressa pri sistemnykh zabolevaniyah soedinitelnoy tkani. *Uchenyie zapiski SPbGMU im. akad. IP Pavlova*. 2016;23(1):26-28.
13. Jones JT, Xi Qian, Jos L J van der Velden, Shi Biao Chia, David H McMillan, Stevenson Flemer, Sidra M Hoffman, Karolyn G Lahue, Robert W Schneider, James D Nolin, Vikas Anathy, Albert van der Vliet, Danyelle M Townsend, Kenneth D Tew, Yvonne M W Janssen-Heininger Glutathione S-transferase pi modulates NF-κB activation and pro-inflammatory responses in lung epithelial cells. *Redox Biol.* 2016 Aug;8:375-82.
14. Cha SJ, Han YJ, Hyun-Jun Choi, Hyung-Jun Kim, Kiyoung Kim Glutathione S-transferase Rescues Motor Neuronal Toxicity in Fly Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Antioxidants (Basel)* 2020 Jul; 9(7): 615.
15. Su X, Ren Y, Li M, Kong L, Kang J Association of glutathione S-transferase M1 and T1 genotypes with asthma: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2020 Aug 21; 99(34): e21732.
16. Couto N, Wood J, Barber J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radic Biol Med.* 2016 Jun;95:27-42.
17. Couto N, Wood J, Barber J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radic Biol Med.* 2016 Jun;95:27-42.
18. Yan J, Melissa M. Ralston, Xiaomei Meng, Kathleen D. Bongiovanni, Amanda L. Jones, Rainer Benndorf, Leif D. Nelin, W. Joshua Frazier, Lynette K. Rogers, Charles V. Smith, Yusen Liu Glutathione Reductase Is Essential for Host Defense against Bacterial Infection. *Free Radic Biol Med.* 2013 Aug; 0: 320–332.
19. Prast-Nielsen S, Hsin-Hung Huang, David L Williams Thioredoxin glutathione reductase: its role in redox biology and potential as a target for drugs against neglected diseases. *Biochim Biophys Acta.* 2011 Dec;1810(12):1262-71.
20. Franco R, Pappa A, Panayiotidis M.I. The central role of glutathione in the pathophysiology of human disease. *Archives of Physiology and Biochemistry.* 2007; 113(4-5):234-58.
21. Ajsaka K, Oyanagi Y, Miyazaki T, Suzuki Y. Effect of the chelation of metal cation on the antioxidant activity of chondroitin sulfates. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2016;80(6):1179-1185. doi: 10.1080/09168451.2016.1141036.

Reference (Scopus)

1. Pertsev, I. (2017). Zakhvoriuvannia oporno-rukhoivoi systemy. Osteokhondroz: profilaktyka, diahnozyka, likuvannia, Apteka, s. 1-7.
2. Nazarinasab, M., Motamedfar, A., Moqadam, A. (2017). Investigating mental health in patients with osteoarthritis and its relationship with some clinical and demographic factors. *Reumatologia*, 55(4), pp.183-188.

Е. Дворщенко, д-р биол. наук,
А. Короткий, д-р биол. наук,
Д. Гребиньк канд. биол. наук,
Е. Торгалло, канд. биол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ГЛУТАТИОНОВАЯ СИСТЕМА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ КАРРАГИНАН-ИНДУЦИРОВАННОГО ВОСПАЛЕНИЯ СУСТАВА И ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ ХОНДРОИТИН СУЛЬФАТА

Целью работы было исследовать действие профилактического введения хондроитин сульфата на состояние глутатионовой системы в сыворотке крови крыс при остром воспалении сустава.

Исследования проведены на белых нелинейных половозрелых крысах-самцах массой 180–240 г с соблюдением общих этических принципов экспериментов на животных. Всех животных разделяли на четыре экспериментальные группы. Первая группа – контроль: животным субплантарно в заднюю правую конечность вводили 0,1 мл 0,9-процентного раствора NaCl. Вторая группа – крысам ежедневно в течение 28 суток внутримышечно вводили терапевтическую дозу 3 мг × кг⁻¹ хондроитин сульфата. Третья группа – животным

Надійшла до редколегії 5.05.2021
Отримано виправлений варіант 5.06.2021
Підписано до друку 5.06.2021

Received in the editorial 5.05.2021
Received a revised version on 5.06.2021
Signed in the press on 5.06.2021

ежедневно в течение 28 суток внутримышечно в заднюю правую конечность вводили 0,1 мл 0,9-процентного раствора NaCl и на 29-й день моделировали острое воспаление сустава (животным субплантарно в заднюю правую конечность вводили 0,1 мл 1% раствор каррагинана). Четвертая группа – крысам ежедневно в течение 28 дней внутримышечно вводили терапевтическую дозу 3 мг × кг⁻¹ хондроитин сульфата, после чего на 29-й день моделировали острое воспаление сустава. Общее количество животных, вовлеченных в экспериментальные исследования, составила 40 особей. Глутатионпероксидазную активность оценивали по уменьшению содержания GSH в реакции с реактивом Элмана. Глутатионредуктазную активность измеряли по убыванию оптической плотности проб в результате окисления НАДФН. Глутатионтрансферазную активность определяли по скорости образования конъюгата GSH с 1-хлор-2,4-динитробензолом. Содержание восстановленного глутатиона было определено спектрофлуориметрично с использованием ортофталевого альдегида.

Установлено, что при каррагинан-индуцированном воспалении сустава в сыворотке крови снижалась глутатионпероксидазная, глутатионредуктазная активности и содержание восстановленного глутатиона, при этом возрастала глутатионтрансферазная активность по сравнению с контролем. Показано, что при профилактическом введении препарата на основе хондроитин сульфата животным с острым воспалением сустава вышеуказанные показатели частично восстанавливались.

Ключевые слова: острое воспаление сустава, хондроитин сульфат, глутатионовая система, сыворотка крови.

K. Dvorshchenko, Dr Hab.,
O. Korotkiy, Dr Hab.,
D. Grebinyk, PhD,
Ye. Torgalo, PhD
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

GLUTATHIONE SYSTEM IN RAT BLOOD SERUM UNDER THE CONDITIONS OF CARRAGEENAN-INDUCED JOINT INFLAMMATION AND CHONDROITIN SULFATE PROPHYLACTIC INJECTION

The goal of this work was the research of chondroitin sulfate prophylactic action on the glutathione system state in rat blood serum during acute inflammation.

The research was performed on white non-linear pubertal rat males weighting 160-240 grams in compliance to all general ethical principles of animal research. All animals were divided to four experimental groups. The first group – the control: the animals were injected with 0,1 ml of 0,9 % NaCl solution in a right hind leg. The second group – rats were subjected to daily intramuscular injections of 3 mg/kg of chondroitin sulfate in the therapeutic dose during 28 days. The third group – the animals were subjected to daily doses of 0,1 ml of 0,9 % NaCl solution injected in right hind extremities and starting from 29th day the acute joint inflammation was modelled (the animals were subjected to 0,1 ml of 1% of carrageenan intramuscular injection in right hind extremities. The fourth group – rats were receiving intramuscular injections of therapeutic dose of 3 mg/kg of chondroitin sulfate for 28 days, and after that the acute joint inflammation was modelled starting from 29th day. 40 animals in all were taking part in the experimental research. The glutathione peroxidase activity was assessed judging from the decrease in GSH amount in the reaction with Ellman reagent. The glutathione peroxidase activity was estimated by the decrease in probe optical density owing to NADPH oxidation. Glutathione transferase activity was estimated by the speed of the conjugate formation between GSH and 1-chloro-2,4-dinitrobenzene. The amount of reduced glutathione was estimated spectrophotometrically using orthophthalic aldehyde.

It was established that during the carrageenan-induced inflammation the glutathione peroxidase, glutathione reductase and glutathione reductase activity were reduced, as well as the amount of reduced glutathione, whereas the glutathione transferase activity was increased in comparison to the control. It was shown that under the prophylactic injection of the chondroitin sulfate based preparate to animals with acute joint inflammation the aforementioned parameters were partially stabilized.

Keywords: acute joint inflammation, chondroitin sulfate, glutathione system, blood serum.

УДК 582. 282
DOI 10.17721/1728_2748.2021.85.37-41

А. Плужник, студ.,
В. Джаган, канд. біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ВЕСНЯНІ СУМЧАСТІ ГРИБИ (ASCOMYCOTA) УРОЧИЩА "ХОЛОДНИЙ ЯР"

Наведено інформацію про весняні види сумчастих грибів на території урочища "Холодний Яр". Внаслідок дослідження виявлено 33 види, серед яких 19 – власне весняні, а 14 – знайдені весною. 15 видів зареєстровано для урочища "Холодний Яр" вперше. У систематичній структурі найбільшою чисельністю видів представлена родина *Morchellaceae* (5 видів), а також родини *Pezizaceae* (4 види) та *Sclerotiniaceae* (4 види). В еколого-трофічній структурі переважають види із сапротрофною стратегією живлення, які належать до ксилотрофів, гумусових сапротрофів та гербофілів. Переважаючою групою сапротрофних грибів за чисельністю видів виявилась група ксилотрофів, яка налічує 10 видів. Гумусові сапротрофи нараховували 9 видів з порядку *Pezizales*. Окрім того, досить поширеними були представники групи гербофілів (6 видів), які використовують минулорічні рештки трав'янистих рослин як субстрат. Серед біотрофних видів найпоширенішим виявився вид *Dumontinia tuberosa*, що паразитує на кореневищах рослин роду *Anemone* та формує плодове тіло водночас із періодом цвітіння рослини-хазяїна. Симбіотрофи були представлені трьома видами, які також здатні до сапротрофної стратегії живлення, властивої для гумусових сапротрофів. Зареєстровано нові локалітети для рідкісних видів *Gyromitra slonevskii*, *Morchella crassipes* та *M. steppicola*, що були занесені до третього видання Червоної книги України. Також були виявлені види, занесені до місцевих червоних списків, а саме *Gyromitra gigas* та *Verpa bohemica* (Київська обл.), *Helvella acetabulum* (Херсонська обл.). Знахідка *Phylloscypha phyllogena* є другою в Україні та першою на території Правобережного Лісостепу.

Ключові слова: сумчасті гриби, *Ascomycota*, весняні види, урочище "Холодний Яр".

Вступ. Урочище "Холодний Яр" (далі – Холодний Яр) представляє собою унікальний реліктовий лісовий масив площею близько 7000 га на теренах Придніпровської височини, у південно-східній частині Черкаської області. Холодний Яр має надзвичайно потужний природний потенціал – 95,7 % його території вкрито лісовою рослинністю. До основних лісоутворюючих порід урочища належать *Quercus robur* L., *Robinia pseudoacacia* L., *Carpinus betulus* L., *Fraxinus excelsior* L., *Pinus silvestris* L., *Acer plantanoides* L., *Betula pendula* Roth., *Tilia cordata* Mill. тощо [12].

Холодний Яр являє собою еталонну екосистему, яка передбачає високу видову різноманітність грибів. Завдяки наявності на території урочища значних площ листяних та соснових лісів, заболочених та надмірно зволжених територій, а також степових ділянок та луків, тут створюються сприятливі умови для розвитку всіх груп грибів, зокрема і сумчастих (*Ascomycota*) [8]. Всебічне вивчення різних систематичних та еколого-трофічних груп грибів на території Холодного Яру, який має відоме історичне та природоохоронне значення,