УДК 636.92:[577.115:591.111.1]
DOI: 10.31073/vet_biotech43-08

КОШЕВОЙ В.І., д-р філос. з вет. мед., e-mail: koshevoyvsevolod@gmail.com,
ВІКУЛІНА Г.В., канд. вет. наук, доц., e-mail: vgv.14.vet@gmail.com,
НАУМЕНКО С.В., д-р вет. наук, проф., e-mail: frolka001@gmail.com
Державний біотехнологічний університет

ВПЛИВ ЗАСТОСУВАННЯ N-АЦЕТИЛЦИСТЕЇНУ ЗА КОРЕКЦІЇ АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСУ У КРОЛІВ НА ПОКАЗНИКИ ЛІПІДНОГО ПРОФІЛЮ ПЛАЗМИ КРОВІ

У статті висвітлено результати експериментальних досліджень щодо впливу N-ацетилцистеїну на ліпідний профіль плазми крові за корекції антиоксидантного статусу організму кролів. Встановлено, що загальна антиоксидантна активність у тварин дослідної групи зросла на 17,8% (p≤0,05). Позитивних змін зазнавав обмін ліпідів – так, рівень загального холестеролу був достовірно меншим за контрольні величини на 9,3% (p≤0,05), а кількість триацилгліцеролів нижчою на 13,9% (p≤0,01). При цьому, змінювалися рівні ліпопротеїнів, зокрема, високої щільності зменшувався на 19,6% (p≤0,001), а низької щільності – на 38,6% (p≤0,001) порівняно з контролем.

Ключові слова: *антиоксиданти, відтворення, кролі, ліпіди, метаболізм.*

Вступ. Ліпідний профіль плазми крові є важливим параметром, який необхідно визначати під час диспансеризації/обстеження. Аномальні рівні ліпідів у плазмі відображають появу або загострення проблем, пов’язаних з метаболічними захворюваннями, такими як ожиріння, ліпідоз печінки, цукровий діабет і атеросклероз [1, 2]. Типовий ліпідний профіль включає наступні показники: загальний холестерол (ЗХ), триацилгліцероли (ТАГ), холестерол ліпопротеїнів високої щільності (ХС-ЛПВЩ) та низької щільності (ХС-ЛПНЩ) [2, 3]. Цей комплекс показників має велику клінічну значимість. Наприклад, метаболічний синдром зазвичай діагностується шляхом дослідження ліпідного профілю разом із рівнем глюкози [4–6], також зростання рівня ліпідів є тісно пов’язаним з розвитком атеросклеротичних змін у тварин і людини [7]. Описані процеси супроводжуються розвитком оксидативного стресу – у тварин спостерігають надмірну пероксидацію ліпідів, протеїнів на тлі зниженого антиоксидантного потенціалу [8, 9]. Корегувати ці процеси можливо за використання сполук-антиоксидантів, наприклад, N-ацетилцистеїн – амінокислоту з вираженими редокс-властивостями як антиоксидантний протектор за кадмієвого навантаження, отруєння арсеном та іншими токсикантами, що позитивно впливає на відтворну здатність [10–12].

Метою роботи було встановити показники ліпідного профілю у плазмі крові інтактних кролів та за корекції їх антиоксидантного статусу N-ацетилцистеїном.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження виконані на статевозрілих самцях кролів породи *Hyla* (n=14). У роботі були використані самці кролів, для уникнення впливу естрогенів на показники ліпідного метаболізму за рекомендацією Wang et al. (2019) [13]. Групи були сформовані за принципом аналогів, по 7 тварин у кожній. Дослідній групі перорально вводили N-ацетилцистеїн у дозі 50 мг/кг упродовж 21 доби одноразово. Самцям контрольної групи вводили 0,9% розчин натрію хлориду за аналогічним регламентом.

У кожного кролика відбирали кров з вушної артерії через 21 добу після початку експерименту. Всі зразки збирали в центрифужні пробірки, що містили антикоагулянт, і центрифугували за 3000 об. протягом 15 хвилин при 4°С для збору плазми. Рівні загального холестеролу (ЗХ), триацилгліцеролів (ТАГ), ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) та ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) визначали колориметрично, а загальну антиоксидантну активність (ЗАА) спектрофотометрично.

Методика визначення *загального холестеролу* заснована на принципі гідролізу ефірів холестеролу, який потім окислюється холестеролоксидазою в кетонну форму із виділенням пероксиду гідрогену, що у присутності пероксидази утворює барвник хінонімін червоного кольору (за довжини хвилі $\lambda = 500$ нм). Інтенсивність утвореного кольорового комплексу є прямо пропорційною до концентрації загального холестеролу зразка.

Визначення кількості *триацилгліцеролів* здійснювали за методикою, що базується на здатності ліпази гідролізувати тригліцеридний ефірний зв'язок, утворюючи гліцерол. За наявності АТФ і гліцеролкінази, гліцерол перетворюється на гліцерол-3-фосфат, який потім окислюється гліцеролфосфатоксидазою з утворенням пероксиду гідрогену.

Принцип визначення ЛПВЩ полягає в тому, що в присутності магнію хлориду, ліпопротеїни і хіломікрони в плазмі можуть осаджуватися фосфорно-вольфрамовою кислотою, при цьому в крові залишається лише ЛПВЩ, рівень яких визначається за допомогою реагенту, який функціонує подібно до аналізу. Натомість, ЛПНЩ можуть бути осаджені полівінілсульфокислотою, внаслідок того, що після центрифугування ЛПНЩ залишаються у супернатанті. Концентрацію ЛПНЩ можна визначити за різницею між загальним холестеролом і супернатантом.

Загальну антиоксидантну активність плазми оцінювали за допомогою FRAP-аналізу, принцип якого заснований на визначенні антиоксидантної сили

феруму. Для створення стандартної кривої використовували розчин сульфату феруму, і результати виражали в ммоль Fe^{2+}, що утворюється на літр плазми. Визначення загальної антиоксидантної активності плазми проводили спектрофотометрично.

Статистичну обробку результатів експерименту для визначення біометричних показників (середні значення та їх похибки, порівняння середніх значень за критерієм Стьюдента) проводили за допомогою програми *Microsoft Excel*.

Результати досліджень та їх обговорення. Серед великої кількості органічних і нанотехнологічних засобів для підвищення редокс-потенціалу організму тварин часто використовуються сполуки, що беруть участь у біосинтезі потужних антиоксидантів, наприклад, N-ацетилцистеїн, що відіграє важливу роль в тіол-дисульфідній ланці антиоксидантного захисту (АОЗ) [14, 15]. Ефективність застосування N-ацетилцистеїну для корекції антиоксидантного статусу у кролів оцінювали за комплексним показником – ЗАА плазми крові, результати змін якого наведено на рис. 1.

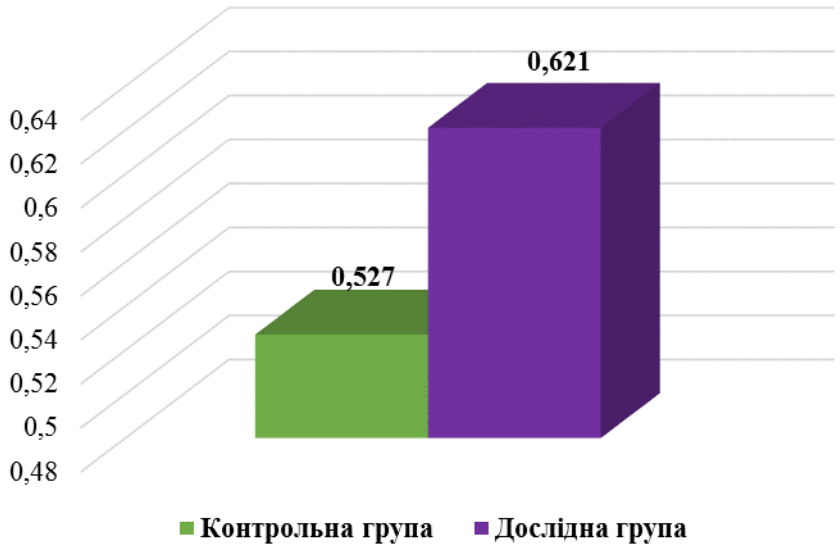

Рис. 1. Загальна антиоксидантна активність плазми крові кролів.

У тварин дослідної групи встановлено достовірне зростання ЗАА плазми на 17,8% ($p \leq 0,05$). Таким чином, їх антиоксидантний статус зростав, що повинно було позитивно вплинути на ліпідний обмін. Подібні зміни відбуваються за застосування інших редокс-активних сполук – екстракту з кореню імбирю або чебрецю, солей цинку у макро- й наноформі, наночастинок рідкісноземельних металів [16–18].

Показники ліпідного профілю плазми крові можуть використовуватися для оцінки ризику ішемічної хвороби серця, виявлення початкових стадій та

динаміки прогресування патологій обміну речовин і серцево-судинних захворювань [19, 20]. Зміни рівня загального холестеролу і триацилгліцеролів у плазмі крові кролів за введення N-ацетилцистеїну наведено на рис. 2.

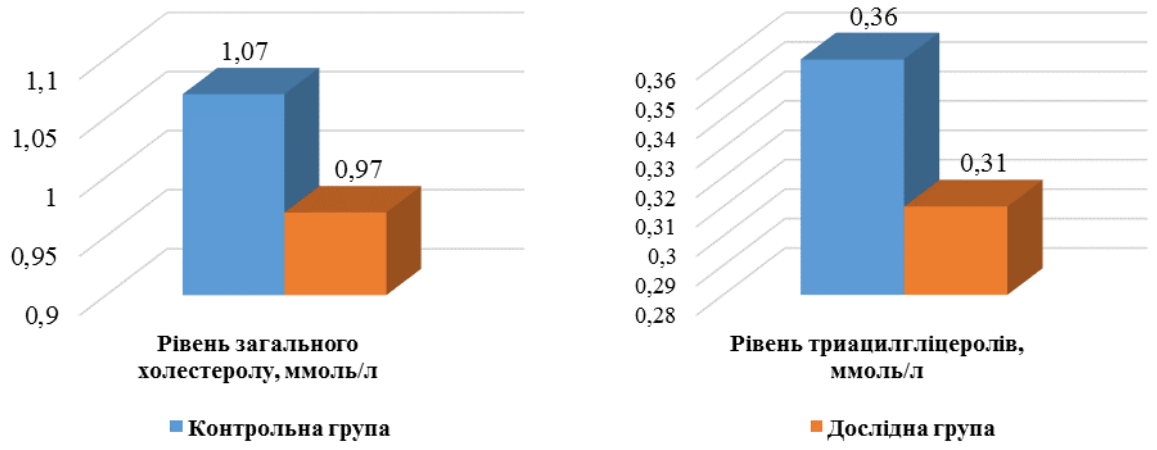

Рис. 2. Рівні загального холестеролу і триацилгліцеролів у плазмі крові кролів за корекції їх антиоксидантного статусу.

На рис. 2 показано, що за введення N-ацетилцистеїну рівень ЗХ у кролів дослідної групи знижувався на 9,3% (p≤0,05), тоді як кількість ТАГ у плазмі – на 13,9% (p≤0,01) порівняно з контрольними величинами. Покращення цих показників здійснило вплив на рівні ЛПНЩ (табл. 1).

Таблиця 1

Рівні ліпопротеїнів високої і низької щільності у плазмі крові кролів

Показник	Групи кролів, M±m, n=7		Зміни показників	
	контрольна	дослідна	+/–	p≤
Рівень ЛПВЩ, ммоль/л	0,56±0,009	0,45±0,004	–0,11	0,001
Рівень ЛПНЩ, ммоль/л	0,44±0,009	0,27±0,007	–0,17	0,001

З даних таблиці 1 видно, що рівні холестеролу ліпопротеїнів зазнавали достовірних змін за корекції антиоксидантного статусу у кролів. Так, рівень ЛПВЩ був достовірно меншим показників групи контролю на 19,6% (p≤0,001), а ЛПНЩ – на 38,6% (p≤0,001).

Висновки та перспективи подальших досліджень. Застосування N-ацетилцистеїну за корекції антиоксидантного статусу в організмі самців кролів позитивно впливає на ліпідний профіль плазми крові:

1. Рівень загального холестеролу у кролів дослідної групи знижувався на 9,3% (p≤0,05) порівняно з контрольними величинами, при цьому кількість триацилгліцеролів у плазмі була достовірно меншою на 13,9% (p≤0,01).

2. Значних змін зазнали рівні ліпопротеїнів – так, кількість ліпопротеїнів низької щільності була нижчою на 38,6% (p≤0,001) за групу контролю, тоді як

рівень ліпопротеїнів високої щільності у кролів дослідної групи був зниженим на 19,6% ($p \leq 0,001$).

3. Ефективність антиоксидантної дії N-ацетилцистеїну доведена позитивними змінами динаміки загальної антиоксидантної активності плазми крові кролів – після завершення експерименту у дослідних кролів цей показник був на 17,8% ($p \leq 0,05$) вищим значень групи контролю.

Перспективою подальших досліджень є оцінка впливу антиоксидантної корекції N-ацетилцистеїном на якість і здатність запліднення сперми кролів, її редокс-потенціал.

INFLUENCE OF USE N-ACETYLCYSTEIN FOR THE CORRECTION OF ANTIOXIDANT STATUS IN RABBITS' ON INDICATORS OF BLOOD PLASMA LIPID PROFILE / Koshevoy V.I., Vikulina G.V., Naumenko S.V.

Introduction. *The lipid profile of the blood plasma is an important parameter that must be determined during medical examination. Abnormal plasma lipid levels reflect the onset or worsening of problems associated with metabolic diseases such as obesity, liver lipidosis, diabetes mellitus, and atherosclerosis. Described processes are accompanied by the development of oxidative stress, which can be corrected with the use of antioxidant compounds, for example, N-acetylcysteine, an amino acid with pronounced redox properties as an antioxidant protector against cadmium load, arsenic poisoning and other toxicants, which has a positive effect on reproductive capacity.*

The goal of the work *was to establish the peculiarities of the lipid profile in the blood plasma of intact rabbits and to correct their antioxidant status with N-acetylcysteine.*

Materials and methods. *The studies were performed on sexually mature male rabbits of the Hyla breed (n=14). The groups were formed according to the principle of analogues, 7 animals each. The experimental group was orally administered N-acetylcysteine at a dose of 50 mg/kg for 21 days once. Males of the control group were injected 0.9% sodium chloride solution according to the same protocol.*

Blood was taken from the ear artery of each rabbit 21 days after the start of the experiment. All samples were collected in centrifuge tubes containing anticoagulant and centrifuged at 3000 g for 15 minutes at 4°C to collect plasma. The levels of total cholesterol, triacylglyceroles, high-density and low-density lipoproteins were determined colorimetrically, and total antioxidant activity was determined spectrophotometrically.

Research results and their discussion. *The effectiveness of the use of N-acetylcysteine for the correction of antioxidant status in rabbits was evaluated by a complex indicator – the total antioxidant activity of the blood plasma, which in the experimental group was significantly higher than the control data. Thus, their antioxidant status increased, which should have a positive effect on lipid metabolism. Introduction of N-acetylcysteine showed decrease in the level of total cholesterol in the rabbits of the experimental group, as did the amount of triacylglyceroles in the plasma compared to the control values. The improvement of these indicators had an impact on the level of lipoproteins of different densities.*

Conclusions and prospects for further research. *The use of N-acetylcysteine to correct the antioxidant status in the body of male rabbits has a positive effect on the lipid profile of the blood plasma.*

The level of total cholesterol in the rabbits of the experimental group decreased by 9.3% (p≤0.05) compared to the control values, while the amount of triacylglyceroles in the plasma was significantly lower by 13.9% (p≤0.01). The levels of lipoproteins underwent significant changes – amount of low-density lipoproteins was lower by 38.6% (p≤0.001) of the data of the control group, while the level of high-density lipoproteins in the rabbits of the experimental group was reduced by 19.6% (p≤ 0.001).

The effectiveness of the antioxidant effect of N-acetylcysteine is proven by positive changes in the dynamics of the total antioxidant activity of the blood plasma of rabbits – after the end of the experiment, this indicator was 17.8% (p≤0.05) higher than the values of the control group. The perspective of further research is the assessment of the impact of antioxidant correction with N-acetylcysteine on the quality and fertilizing ability of rabbit sperm, its redox potential.

Keywords: *antioxidants, reproduction, rabbits, lipids, metabolism.*

REFERENCES

1. Martínez-Beamonte, R., Sánchez-Marco, J., Felices, M.J., Barranquero, C., Gascón, S., Arnal, C., Burillo, J.C., Lasheras, R., Busto, R., Lasunción, M.A., Rodríguez-Yoldi, M.J., & Osada, J. (2021). Dietary squalene modifies plasma lipoproteins and hepatic cholesterol metabolism in rabbits. *Food & function,* 12(17), 8141-8153. https://doi.org/10.1039/d0fo01836h.

2. Nikolic, D., Katsiki, N., Montalto, G., Isenovic, E.R., Mikhailidis, D.P., & Rizzo, M. (2013). Lipoprotein subfractions in metabolic syndrome and obesity: clinical significance and therapeutic approaches. *Nutrients,* 5(3), 928-948. https://doi.org/10.3390/nu5030928.

3. Hegele, R.A. (2009). Plasma lipoproteins: genetic influences and clinical implications. *Nature reviews. Genetics, 10*(2), 109-121. https://doi.org/10.1038/nrg2481.

4. Lozano, W.M., Arias-Mutis, O.J., Calvo, C.J., Chorro, F.J., & Zarzoso, M. (2019). Diet-Induced Rabbit Models for the Study of Metabolic Syndrome. *Animals: an open access journal from MDPI,* 9(7), article number 463. https://doi.org/10.3390/ani9070463.

5. Li, L., Wan, Q., Long, Q., Nie, T., Zhao, S., Mao, L., Cheng, C., Zou, C., Loomes, K., Xu, A., Lai, L., Liu, X., Duan, Z., Hui, X., & Wu, D. (2022). Comparative transcriptomic analysis of rabbit interscapular brown adipose tissue whitening under physiological conditions. *Adipocyte,* 11(1), 529-549. https://doi.org/10.1080/21623945.2022.2111053.

6. Welty F.K. (2020). Dietary treatment to lower cholesterol and triglyceride and reduce cardiovascular risk. *Current opinion in lipidology,* 31(4), 206-231. https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000689.

7. Chen, J., Zhang, H., Li, L., Zhang, X., Zhao, D., Wang, L., Wang, J., Yang, P., Sun, H., Liu, K., Chen, W., Li, L., Lin, F., Li, Z., Chen, Y. E., Zhang, J., Pang, D., Ouyang, H., He, Y., Fan, J., … Tang, X. (2023). Lp-PLA2 (Lipoprotein-Associated Phospholipase A2) Deficiency Lowers Cholesterol Levels and Protects Against Atherosclerosis in Rabbits. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology,* 43(1), 11-28. https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.122.317898.

8. Koshevoy V., & Naumenko S. (2022). Dynamics of peroxidation processes in male rabbits under experimental LPS-induced oxidative stress. *Veterynarna biotekhnolohiia – Veterinary Biotechnology*, 41, 100-107. https://doi.org/10.31073/vet_biotech41-10.

9. Mattioli, S., Dimauro, C., Cesarani, A., Dal Bosco, A., Bartolini, D., Galli, F., Migni, A., Sebastiani, B., Signorini, C., Oger, C., Collodel, G., & Castellini, C. (2022). A Dynamic Model for

Estimating the Interaction of ROS-PUFA-Antioxidants in Rabbit. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11(3), article number 531. https://doi.org/10.3390/antiox11030531.

10. Kumar, P., Liu, C., Hsu, J.W., Chacko, S., Minard, C., Jahoor, F., & Sekhar, R.V. (2021). Glycine and N-acetylcysteine (GlyNAC) supplementation in older adults improves glutathione deficiency, oxidative stress, mitochondrial dysfunction, inflammation, insulin resistance, endothelial dysfunction, genotoxicity, muscle strength, and cognition: Results of a pilot clinical trial. *Clinical and translational medicine,* 11(3), article number 372. https://doi.org/10.1002/ctm2.372.

11. Pedre, B., Barayeu, U., Ezeriņa, D., & Dick, T.P. (2021). The mechanism of action of N-acetylcysteine (NAC): The emerging role of H2S and sulfane sulfur species. *Pharmacology & therapeutics,* 228, article number 107916. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.107916.

12. Zhukova, I.O., & Naumenko, S.V. (2022). Otsinka vplyvu N-atsetyltsysteinu in vivo na yakist spermy i hormonalnyi balans u knuriv [Assessment of the effect of N-acetylcysteine in vivo on sperm quality and hormonal balance in boars]. *Naukovyi visnyk LNU veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii imeni S. Z. Gzhytskoho – Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies,* 24(108), 107-111. https://doi.org/10.32718/nvlvet10816.

13. Wang, R., Liu, R., Li, L., Liu, B., Bai, L., Wang, W., Zhao, S., & Liu, E. (2020). Fasting is not required for measuring plasma lipid levels in rabbits. *Laboratory animals,* 54(3), 272-280. https://doi.org/10.1177/0023677219855102.

14. Aldini, G., Altomare, A., Baron, G., Vistoli, G., Carini, M., Borsani, L., & Sergio, F. (2018). N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why. *Free radical research,* 52(7), 751-762. https://doi.org/10.1080/10715762.2018.1468564.

15. Kumar, P., Osahon, O.W., & Sekhar, R.V. (2022). GlyNAC (Glycine and N-Acetylcysteine) Supplementation in Mice Increases Length of Life by Correcting Glutathione Deficiency, Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction, Abnormalities in Mitophagy and Nutrient Sensing, and Genomic Damage. *Nutrients,* 14(5), article number 1114. https://doi.org/10.3390/nu14051114.

16. Amber, K., Badawy, N.A., El-Sayd, A.E.A., Morsy, W.A., Hassan, A.M., & Dawood, M.A.O. (2021). Ginger root powder enhanced the growth productivity, digestibility, and antioxidative capacity to cope with the impacts of heat stress in rabbits. *Journal of thermal biology,* 100, 103075. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2021.103075.

17. Kucková, K., Grešáková, L., Takácsová, M., Kandričáková, A., Chrastinová, L., Polačiková, M., Cieslak, A., Ślusarczyk, S., & Čobanová, K. (2021). Changes in the Antioxidant and Mineral Status of Rabbits After Administration of Dietary Zinc and/or Thyme Extract. *Frontiers in veterinary science,* 8, 740658. https://doi.org/10.3389/fvets.2021.740658.

18. Koshevoy V., Naumenko S., Skliarov P., Syniahovska K., Vikulina G., Klochkov V., & Yefimova S. (2022). Effect of gadolinium orthovanadate nanoparticles on male rabbits' reproductive performance under oxidative stress. *World's Veterinary Journal,* 12(3), 296-303. https://doi.org/10.54203/scil.2022.wvj37.

19. Nordestgaard, B.G., & Langsted, A. (2016). Lipoprotein (a) as a cause of cardiovascular disease: insights from epidemiology, genetics, and biology. *Journal of lipid research,* 57(11), 1953-1975. https://doi.org/10.1194/jlr.R071233.

20. Atalla, A. (2021). In vivo, Lipid Profile Efficacy of Ethanol Extracts of Stevia rebaudiana Bertoni in Rabbits. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS,* 24(2), 292-296. https://doi.org/10.3923/pjbs.2021.292.296.