

© Постовітенко К.П.

УДК: 616.153.478.6:577.164.1:599.323.4:591.436

**Постовітенко К.П.**

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, кафедра медичної реабілітації та медико-соціальної експертизи

(вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018, admission@vnmu.edu.ua)

**Вплив різних доз комплексу вітамінів В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub> на біохімічні показники оксидативного стресу в печінці щурів з гіповітамінозно-метіоніною гіпергомоцистеїнемією**

**Резюме.** В статті наведені результати експериментальних досліджень, проведених на 59 нелінійних білих щурах-самцях, на яких створена модель гіповітамінозно-метіонінової гіпергомоцистеїнемії (ГМ ГГЦ) шляхом утримання на дієті, що позбавлена вітамінів В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub>, але збагачена L-метионіном. У тварин виявлено значну гомоцистеїнемію та активацію процесів оксидативного стресу в печінці - підвищення активності НАДФН-оксидази та вмісту малонового діальдегіду, кетогруп білків та гідропероксидів ліпідів. Щурів лікували повноцінною дієтою та вітамінними комплексами I та II, що містили 5-ти кратні (у порівнянні з фізіологічними) або 15-ти кратні дози вітамінів В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub>. Виявлено, що лише вітамінний комплекс II повністю нормалізував рівень ГЦ в плазмі крові та всі показники оксидативного стресу в печінці, спровоковані ГМ ГГЦ.

**Ключові слова:** гіпергомоцистеїнемія, оксидативний стрес, комплекс вітамінів.

## **Вступ**

З літературних джерел відомо, що основною рушійною силою пошкодження печінки гепатотоксинами та рядом інших факторів є оксидативний стрес [Хабзей та ін., 2014; Губський, 2015]. З іншого боку відомо, що основними чинниками патогенетичної дії гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ) є гіпометилування, оксидативний стрес та гомистеїнування білків [Пентюк та ін.

2003; Луцюк та ін., 2013; Jakubowski, 2011; Baggott, Tamura, 2015]. Виявлено, що ГГЦ є розповсюдженим в Україні явищем [Андрушко, 2008], з нею асоційовані велика кількість хвороб та станів, перш за все – серцево-судинна патологія [Заїчко та ін., 2012; van Wijngaarden et al., 2013; Ramin Ansari et al., 2014; Chakrabarti et al., 2015; Lai, Kan, 2015]. Є поодинокі дослідження, результати яких свідчать про можливий зв'язок ГГЦ з захворюваннями печінки [Пентюк та ін., 2010; Власенко, 2013; Leach et al., 2014]. Тому актуальною проблемою є розробка гіпогомоцистеїнемічних заходів (оптимізація способу життя тощо) та інших методів корекції ГГЦ [Пентюк та ін., 2007; Заїчко та ін., 2012]. До гіпогомоцистеїнемічних засобів відносяться холін, бетаїн, S-аденозилметіонін та інші речовини, а також вітаміни B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>12</sub> - останні беруть безпосередню участь у елімінації гомоцистеїну (ГЦ) і часто використовуються для зниження рівня ГЦ в експерименті та в клінічних умовах [Пентюк та ін., 2007]. Так, піридоксальфосфатзалежними є ферменти транссульфування ГЦ – цистатіонін-β-синтаза (КФ 4.2.1.22), цистатіонін-γ-ліаза (КФ 4.4.1.1) та (разом з фолатом) процес взаємного перетворення серину та гліцину з утворенням одновуглецевого фрагменту. Фолат та кобаламін необхідні для перетворення ГЦ в метіонін (фермент метіонінсинтетаза, КФ 2.1.1.13). Але в обміні ГЦ приймає участь також вітамін B<sub>2</sub>, на що звертають меншу увагу. Роль вітаміну B<sub>2</sub> полягає в перетворенні за участі ферменту метилентетрагідрофолатредуктази (КФ 1.7.99.5) метилентетрагідрофолату в метилтетрагідрофолат – речовину, необхідну для перетворення ГЦ в метіонін [Пентюк та ін., 2003]. Тому до складу лікувального комплексу вітамінів крім піридоксину, фолату та кобаламіну доцільно включити також рибофлавін.

В експериментальній практиці використовують ряд моделей ГГЦ, з яких найбільш природньою та наближеною до умов життя є гіповітамінозно-метіонінова ГГЦ (ГМ ГГЦ). Остання створюється комбінованою дією високого вмісту в дієті метіоніну на фоні гіповітамінозу вітамінів B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>12</sub> [Чехун та ін., 2004]. При аналізі даних літератури не було знайдено робіт, спеціально

присвячених вивченню впливу ГМ ГГЦ на оксидативний стрес в печінці та розробку способу корекції цього впливу.

*Мета роботи* - вивчити вплив різних доз комплексу вітамінів В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub> на рівень ГЦ в плазмі крові та показники оксидативного стресу в печінці щурів за ГМ ГГЦ.

## **Матеріали та методи**

Дослідження проведено згідно загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001), «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), інших міжнародних угод та національного законодавства в цій галузі.

Досліди проведені на 59 білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою біля 200 г. Тварин знеживлювали методом декапітації під загальним наркозом. В процесі експерименту визначали загальний стан тварин, кількість вжитого (залишкового) корму та води, масу тіла тварин оцінювали через кожні 5 діб. Протягом дослідів у всіх тварин візуально реєструвався звичайний вигляд та поведінка, фізіологічні показники приросту маси тіла та маси печінки.

Тварини отримували стандартну повноцінну по всім незамінним харчовим факторам крохмально-казеїнову дієту (основна дієта, ОД), що включає відмиті від вітамінів крохмаль і казеїн, в також жир (суміш рівних кількостей рафінованої олії та лядру), суміш мінеральних солей та вітаміни згідно рекомендацій [Островский, 1979; Западнюк и др., 1983]. Контрольні тварини отримували ОД. Частина піддослідних тварин отримувала ОД, збагачену метіоніном (ОД+мет; метіонін - єдине джерело ГЦ в організмі), або ОД, збагачену метіоніном та позбавлену трьох вітамінів – В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub> (ОД+мет-віт). Склад використаних дієт наведено в таблиці 1.

Модель ГМ ГГЦ викликали згідно методики [Чехун та ін., 2004] шляхом утримання щурів на дієті (ОД+мет-віт) протягом 15 днів, що забезпечує

підвищення рівня ГЦ в плазмі крові у 10-13 разів. В цьому експерименті до складу дієти включали 1% фталазолу (“Фталазол-КМП”, ВАТ “Київмедпрепарат”) за рахунок зниження на 1% кількості крохмалю –для гальмування синтезу кишковою мікрофлорою вітамінів В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub> та В<sub>12</sub>. В попередніх дослідженнях нами було показано, що фталазол (речовина, що не всмоктується) не впливає на рівні ГЦ та вітамінний статус організму [Постовітенко, 2007] і тому група тварин з контролем фталазолу нами в цьому дослідженні не використовувалась.

Вітамінний склад дієт наведено в таблиці 2.

Піддослідні тварини були розподілені на 6 груп, їх характеристика та схема організації експерименту наведені в таблиці 3.

Як видно з таблиці 3, особливістю проведеного експерименту є те, що щури 4, 5 та 6 груп з 16 дня і до кінця експерименту отримували повноцінну по всім вітамінам дієту, але збагачену метіоніном. Тобто протягом 16-25 днів продовжував діяти один з двох гіпергомоцистеїнемічних факторів – підвищений рівень метіоніну в дієті.

Проведено тестування забезпечення організму вітамінами В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub>, яке показало розвиток на 15 день експерименту помірного гіповітамінозу всіх трьох вітамінів, як описано раніше [Постовітенко, 2006].

Печінку перфузували 1,15% (холодним) розчином калію хлориду, після чого гомогенізували при 3000 об/хв (тефлон-скло) в середовищі калію хлориду (1,15%) у співвідношенні 1:3. Гомогенати центрифугували протягом 30 хв при 600 g. Аліквоти постядерного супернатанту відбирали в мікропробірки і до проведення досліджень зберігали при -20°C. Загальний білок в гомогенатах печінки визначали уніфікованим біуретовим методом [Меньшиков, 1987], Вміст ГЦ в плазмі крові визначався за допомогою імуноферментативного методу з використанням набору фірми „Axis-Shield (UK)” на імуноферментному аналізаторі „Santinaile”. Активність НАДФН-оксидази (КФ 1.6.3.1) визначали за поглинанням NADPH при 340 нм [Fukui et al., 1997]. Малоновий діальдегід (МДА) визначали за допомогою тіобарбітурової кислоти

[Орехович, 1977], гідроперекиси (ГП) за методикою Гаврилова та Мишкорудной [1983], карбонільні групи білків (КГБ) реакцією з фенілгідазином [Refsgaard, 2000].

Водні розчини вітамінних комплексів I та II готували таким чином, щоб у 1 мл дистильованій води містилися кількості вітамінів B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>12</sub>, що у 5 та 15 разів перевищують фізіологічні (див. таблицю 2). Кристалічні форми всіх вітамінів були надані нам Державною установою інститут фармакології та токсикології НАМН України (ДУ ІФТ НАМН України) згідно договору про науково-технічну співпрацю між Вінницьким національним медичним університетом ім. Пирогова та ДУ ІФТ НАМН України. Вказані комплекси вводили внутрішньошлунково через рот щурам груп 5 та 6 за допомогою зонду по 1мл на 200 г маси тіла, вранці до годування тварин, один раз на день з 16 по 25 день досліду (таблиця 3). Контрольні тварини отримували в указаний спосіб дистильовану воду.

Цифрові дані обробляли методами варіаційної статистики [Гублер, 1978] з вирахуванням  $M$ ,  $\pm m$  та  $P$ . Різниця показників між групами вважалась достовірною за  $P < 0,05$ .

## **Результати. Обговорення**

Результати досліджень представлені в таблиці 4.

Дані наведені в таблиці 4 свідчать, що годування тварин (група 2) метіоніновою (ОД+мет) дієтою протягом 25 діб призвело до двохразового підвищення рівня загального ГЦ в плазмі крові. Особливо різко, в 9.1 рази, підвищився рівень ГЦ у тварин (група 3) з ГМ ГГЦ, що отримували протягом 15 діб дієту (ОД+мет-віт). Цей показник був дещо нижчим, ніж отриманий за оригінальною [Чехун та ін., 2004] методикою (збільшення в 10-13 разів). Харчування тварин групи 4 з 16 по 25 дні експерименту повноцінною по всім вітамінам дієтою, але збагаченою метіоніном, привело до значного (приблизно в 3 рази) зниження рівня ГЦ в крові (у порівнянні з тваринами з ГМ ГГЦ), але вміст ГЦ виявився значно вищим, ніж у тварин групи 2 (контроль метіоніну).

Лікування тварин з ГМ ГГЦ (група 5 та 6) шляхом введення вітамінних комплексів I та II протягом 16-25 діб привело до суттєвого, статистично достовірного зниження (але не нормалізації) концентрації ГЦ комплексом I та до повної нормалізації – комплексом II. Таким чином, обидва комплекси вітамінів B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>12</sub> володіють значною гіпогомоцистеїнемічною дією, але ця дія є дозозалежною і проявляється сильніше при збільшенні дози вказаних вітамінів.

Результати визначення показників оксидативного стресу в печінці щурів показали їх практично повну залежність від рівня ГЦ в плазмі крові: на фоні як метіонінової ГГЦ, так і ГМ ГГЦ всі досліджувані показники оксидативного стресу продемонстрували зростання, особливо за ГМ ГГЦ. Перехід тварин групи 4 на дієту з нормальним вмістом всіх вітамінів, але збагаченої метіоніном, хоч суттєво зменшив рівень ГЦ в плазмі крові, але не нормалізував жоден з 4 показників оксидативного стресу. Так, активність НАДФН-оксидази та рівень МДА в печінці виявилися у цих тварин вищими більш як удвічі у порівнянні з інтактним контролем. Ці дані свідчать про те, що у тварин групи 4 ГМ ГГЦ залишає в організмі зміни, що не нормалізуються протягом 10 діб дієтою з вмістом фізіологічних доз вітамінів B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub> та B<sub>12</sub>. Лікування тварин з ГМ ГГЦ з 16 по 25 день дослідження вітамінним комплексом I знизило до нормального рівня активність НАДФН-оксидази та вміст гідропероксидів, але не нормалізувало інші показники – концентрацію малонового діальдегіду та кетогруп білків. Застосування в ці ж терміни вітамінного комплексу II, що містив збільшені в 15 разів дози вітамінів B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>12</sub>, нормалізувало всі показники оксидативного стресу (таблиця 4).

В цілому отримані нами результати експериментальних досліджень відповідають опублікованим в закордонній та вітчизняній літературі і частково наведеним вище даним щодо гіпогомоцистеїнемічної здатності високих доз вітамінів, що беруть у частку в метаболізмі ГЦ. Так, в роботах співробітників ВНМУ імені М.І.Пирогова, показана висока гіпогомоцистеїнемічна, антиоксидантна активність пропарату ВМК - вітамінно-мікроелементного

комплексу, що складається з високих доз вітамінів В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub> та мікроелементів цинку, хрому та ванадію [Артемчук, 2008] та його здатність нормалізувати порушений за ГГЦ гемостаз [Заїчко, 2010]. В клінічних дослідженнях високі дози фолієвої кислоти – 6 мг/добу протягом 8 тижнів - забезпечує зниження рівня загального ГЦ в плазмі крові та активності оксидативного стресу, що супроводжується покращенням функції ендотелію плечової артерії у діалітичних хворих [Постовітенко, 2006].

Вважаємо, що результати наших досліджень свідчать про доцільність застосування описаних вище комплексів вітамінів В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub> за ГГЦ, особливо викликаній надходженням в організм високих доз харчового метіоніну.

### **Висновки та перспективи подальших розробок**

1. На моделі гіповітамінозно-метіонінової гіпергомоцистеїнемії (ГМ ГГЦ) отримано значну гомоцистеїнемію та активацію процесів оксидативного стресу в печінці піддослідних щурів: підвищення активності НАДФН-оксидази та вмісту малонового діальдегіду, кетогруп білків та гідропероксидів ліпідів.

2. Дієта, що містить фізіологічні дози всіх вітамінів, не здатна протягом 10 діб її застосування нормалізувати рівень ГЦ в плазмі крові та біохімічні показники оксидативного стресу в печінці піддослідних щурів, ініційованих ГМ ГГЦ.

3. Введення тваринам через рот вітамінного комплексу I, що містить 5-ти кратні (у порівнянні з фізіологічними) дози вітамінів В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub>, лише частково, а введення вітамінного комплексу II, (містить 15-ти кратні дози вказаних вітамінів) повністю нормалізувало протягом 10 діб як рівень ГЦ в плазмі крові так і всі показники оксидативного стресу, викликаних ГМ ГГЦ в печінці щурів.

Перспективи подальших розробок полягають в доцільності подальшого вивчення впливу запропонованих вітамінних комплексів I та II на інші види

гіпергомоцистеїнемії та визначенні вкладу кожного з вітамінів, що входять до складу цих комплексів в гіпогомоцистеїнемічну та антиоксидантну дію.

## Список літератури

Андрушко І. І. Рівні гомоцистеїну, цистеїну та аргініну у практично здорових осіб: вікові та статеві особливості / І. І. Андрушко // Український кардіологічний журнал. – 2008. - №5. – С. 89-95.

Артемчук М. А. Гіпогомоцистеїнемічна дія нового вітамінно-мікроелементного комплексу (експериментальне дослідження): автореф. дис. на здобуття наук. ступ. канд. мед. наук : спец. 14.03.05 «Фармакологія» / М. А. Артемчук. - Київ, 2008. - 20 с.

Витаминные растительные ресурсы и их использование.- М.: Изд-во МГУ, 1977.- 366 с.

Власенко А. В. Влияние гипергомоцистеинемии на развитие неалкогольной жировой болезни печени при сахарном диабете / А. В. Власенко. // Новости медицины и фармации. – 2013. – №1.

Гаврилов В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперикисей липидов в плазме крови / В.Б Гаврилов, М.И. Мишкорудная // Лаб. дело.- 1983. - №3.- С. 33-35.

Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов / Е.В. Гублер. - Л.: Медицина, 1978.– 296 с.

Губский Ю.И. Смерть клетки, свободные радикалы, некроз, апоптоз / Ю.И. Губський. - Киев-Винница, 2015.- 360 с.

Заїчко Н. В. Вплив вітамінно-мікроелементного комплексу та бетаїну на стан системи гемостазу в щурів з гіповітамінозно-метіоніновою гіпергомоцистеїнемією / Н. В. Заїчко, М.А. Артемчук // Медична хімія. - 2010. - Т.12, №4. - С. 72-78.

Заїчко Н.В. Гіпергомоцистеїнемія: медико-соціальні та фармацевтичні аспекти / Н.В. Заїчко, М.Б. Луцюк, Г.С. Григор'єва, Н.Ф. Конахович [ та ін. ] // Фармацевтичний кур'єр. - 2012.-№9. - С. 30-35.



Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / М. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария [ и др.]. - К.: Вища школа, 1983. - 246 с.

Луцюк М.Б. Синдром гіпергомоцистеїнемії: причини виникнення, способи профілактики та лікування / М.Б. Луцюк, Н.В. Заїчко, Г.С. Григор'єва, Н.Ф. Конахович [ та ін. ] // Рациональная фармакотерапия.-2013.-№4 (29).- С. 55-60.

Меньшиков В.В. Справочник. Лабораторные методы исследования / В.В. Меньшиков.- М.: Медицина, 1987.- 365 с.

Орехович В.Н. Современные методы в биохимии / Орехович В.Н. -М.: Медицина, 1977.- С. 66-68.

Пентюк О.О. Метаболізм гомоцистеїну та його роль в патології / О.О. Пентюк, М.Б. Луцюк, І.І. Андрушко, К.П. Постовітенко // Укр. біохім. журн.- 2003. - Т. 75, №1.- С. 5-17.

Пентюк О.О. Доклінічні дослідження гіпогомоцистеїнемічної дії потенційних лікарських засобів / О.О. Пентюк, М.Б. Луцюк, М.А.Артемчук [ та ін. ]. –К.: ДФЦ МОЗ України, 2007. - 30 с.

Пентюк Н. О. Активація печінкового фіброгенезу за умов високожирової дієти у щурів. Роль гіпергомоцистеїнемії та вазоактивних медіаторів / Н. О. Пентюк. // Вісник проблем біології та медицини. – 2010. – №1. – С. 164–169.

Постовітенко К.П. Гіпергомоцистеїнемія у хворих з хронічною нирковою недостатністю: зв'язок з ураженням серцево-судинної системи, вітамінним статусом та дисліпідемією (клініко-експериментальне дослідження): автореф. дис. на здобуття наук. ступ. канд. мед. наук : спец. 14.01.02 «Внутрішні хвороби» / К. П. Постовітенко. - Київ, 2006. - 19 с.

Хабзей М.К. «Неалкогольний стеатогепатит» Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги / М.К. Хабзей, О.М. Ліщишина, Н.В. Харченко [ та ін. ]. Затверджено наказом МОЗ України від 06 листопада 2014 р. № 826.

Чехун В.Ф. Експериментальна модель гіпергомоцистеїнемії / В.Ф. Чехун, М.Б. Луцюк, О.О. Пентюк, Т.В. Призимирська [ та ін. ]. Деклараційний патент на винахід. Україна. 2004. UA 66134 А.

Экспериментальная витаминология: Справочное руководство / Под ред. Ю.М.Островского. - Минск: Наука и техника, 1979.- 552 с.

Baggott J.E. Homocysteine, iron and cardiovascular disease: a hypothesis / Baggott J.E., Tamura T. // *Nutrients*. – 2015. - Vol. 7, №2. - P. 108-118.

Chakrabarti S. Metabolic risk factors of sporadic Alzheimer's disease: implications in the pathology, pathogenesis and treatment / Chakrabarti S., Khemka V.K., Banerjee A., Chatterjee G. [ et al. ] // *Aging. Dis.* – 2015. – Vol.6, № 4. – P. 282-299.

Jakubowski H. Quality control in tRNA charging - editing of homocysteine / Jakubowski H. // *Acta Biochim. Pol.* - 2011. – Vol. 58, №2. - P. 149-163.

Lai W.K. Homocysteine-induced endothelial dysfunction / Lai W.K., Kan M.Y. // *Ann. Nutr. Metab.* – 2015. – Vol. 67, № 1. – P. 1-12.

Leach N.V. Serum homocysteine levels, oxidative stress and cardiovascular risk in non-alcoholic steatohepatitis / Leach N.V., Dronca E., Vesa S.C., Sampelean D.P. [ et al. ] // *Eur. J. Intern. Med.* – 2014. - Vol. 25, №8. – P. 762-767.

Ramin Ansari. Hyperhomocysteinemia and neurologic disorders: a review / Ramin Ansari, Ali Mahta, Eric Mallack, Jin Jun Luo // *J. Clin. Neurol.* – 2014. – Vol. 10, № 4. – P. 281–288.

Refsgaard H.H.F. Modification of proteins by polyunsaturated fatty acid peroxidation products / Refsgaard H.H.F., Tsai L., Stadtman E.R. // *Biochemistry*.- 2000.- Vol. 97, №2. - P. 611-616.

van Wijngaarden J.P. Vitamin B12, folate, homocysteine, and bone health in adults and elderly people: a systematic review with meta-analyses / van Wijngaarden J.P., Doets E.L., Szczecińska A., Souverein O.W. [ et al. ] // *J. Nutr. Metab.* – 2013. – Vol. 10, №3. - P. 832-841.

**Постовитенко Е.П.**

**Влияние различных доз комплекса витаминов В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub> на биохимические показатели оксидативного стресса в печени крыс с гиповитаминозно-метиониновой гипергомоцистеинемией**

Винницкий национальный медицинский университет имени Н.И. Пирогова, кафедра медицинской реабилитации и медико-социальной экспертизы (ул. Пирогова, 56, г. Винница, Украина, 21018, admission@vnmnu.edu.ua)

**Резюме.** В статье приведены результаты экспериментальных исследований, проведенных на 59 нелинейных белых крысах-самцах, на которых создана модель гиповитаминозно-метиониновой гипергомоцистеинемии (ГМ ГЦ) путем содержания на диете, лишенной витаминов В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub>, но обогащенной L-метионином. У животных обнаружена значительная гомотеинемия и активация процессов оксидативного стресса в печени - повышение активности НАДФН-оксидазы и содержания малонового диальдегида, кетогрупп белков и гидропероксидов липидов. Крыс лечили полноценной диетой и витаминными комплексами I и II, содержащими 5-ти (по сравнению с физиологическими) или 15-ти кратные дозы витаминов В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub>. Выявлено, что только витаминный комплекс II полностью нормализовал уровень ГЦ в плазме крови и все показатели оксидативного стресса в печени, спровоцированные ГМ ГЦ.

**Ключевые слова:** гипергомоцистеинемия, оксидативный стресс, комплекс витаминов.

**Postovitenko K.P.**

**Effect of various doses of complex of vitamins В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub> on biochemical values of oxidative stress in the liver of rats with hypovitaminosis - methionine hyperhomocysteinemia**

Vinnitsia National Medical University named after M.I. Pirogov, Department of rehabilitation and medical-social examination

(Pyrogorova Street 56, city of Vinnitsia, Ukraine, 21018, admission@vnmnu.edu.ua)

**Summary.** The article presents results of experimental studies conducted in 59 nonlinear white male rats, which are a model with hypovitaminosis - methionine hyperhomocysteinemia (HM HHC), by keeping a diet without vitamins B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>12</sub>, but enriched with L-methionine. Animals have significantl homocysteinemia and activation of oxidative stress in the liver - increased activity of NADPH-oxidase and level of malondialdehyde, keto group of proteins and lipid hydroperoxides. Rats were treated with a complete diet and vitamin complexes I and II, containing 5 (compared with physiological) or 15 multiple doses of vitamins B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>12</sub>. It was found out that only vitamin complex II completely normalized HC level in blood plasma and all indicators of oxidative stress in the liver, provoked by HM HHC.

**Key words:** hyperhomocysteinemia, oxidative stress, vitamin complex.

### Таблиця 1

Склад використаних дієт в г% - ОД (основна дієта), ОД+мет (ОД, збагачена метіоніном), ОД+мет-віт (ОД, збагачена метіоніном та позбавлена вітамінів B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub> та B<sub>12</sub>)

№№	Інгредієнти	Види дієт		
		ОД	ОД+мет	ОД+мет-віт
1	Крохмаль картопляний	до 100	до 100	до 100
2	Казеїн кислотний	18,0	17,0	17,0
3	Жир, збагачений жиророзчинними вітамінами	10,0	10,0	10,0
4	Целюлоза	2,0	2,0	2,0
5	Суміш мінеральних солей	3,5	3,5	3,5
6	Суміш водорозчинних вітамінів з глюкозою	0,5	0,5	-
7	L-Метіонін	0	1,0	1,0
8	Суміш водорозчинних вітамінів з глюкозою без вітамінів B <sub>6</sub> , B <sub>9</sub> , B <sub>12</sub>	-	-	0,5

9	Фталазол	-	-	1,0
---	----------	---	---	-----

## Таблиця 2

Склад вітамінної суміші (в мг на 1 кг сухого корму), добове забезпечення вітамінами одного щура вагою 200 г\* та склад лікувальних вітамінних комплексів I та II \*\*

№№ пп	Назва вітамінів	Вміст в 1 кг сухого корму	Добова доза вітамінів на одного щура вагою 200 г*	Комплекс вітамінів I (x5)	Комплекс вітамінів II (x15)
1	піридоксин (B <sub>6</sub> )	1000 мкг	20 мкг	100 мкг	300 мкг
2	фолієва кислота (B <sub>9</sub> )	200 мкг	4 мкг	20 мкг	60 мкг
3	кобаламін (B <sub>12</sub> )	30 мкг	0,6 мкг	3 мкг	9 мкг
4	рибофлавін (B <sub>2</sub> )	5000 мкг	100 мкг	500 мкг	1500 мкг
5	тіамін (B <sub>1</sub> )	4000 мкг	20 мкг	-	-
6	пантотенат	15 мг	300 мкг	-	-
7	нікотинат	15 мг	300 мкг	-	-
8	біотин (B <sub>8</sub> )	200 мкг	4 мкг	-	-
9	холін	50 мг	1 мг	-	-
10	токоферол	150 мг	3 мг	-	-
11	вітамін К (філохінон)	2000 мкг	40 мкг	-	-
12	ретинол	1000 мкг	20 мкг	-	-
13	кальціферол	30 мкг	0.6 мкг	-	-

Примітка; \* - за вживання твариною ~20 г сухого корму на добу; \*\* - комплекс I містить п'ятиразові фізіологічні дози вітамінів B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>12</sub> (x5), комплекс II – п'ятнадцятиразові (x15).

### Таблиця 3

Схема організації експерименту – дні застосування дієт та дні лікування ГГЦ  
комплексами вітамінів B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>12</sub>

№№ груп	Кількість тварин	Види дієт, дні їх застосування	Дні введення комплексу вітамінів I та II	День закінчення експерименту (З), кількість тварин	
				16	26
1	10 (5+5)	ОД (інтактний контроль) (1-15)		3 (5)	3 (5)
2	10	ОД+мет (контроль метіоніну) (1-25)			3 (10)
3	10	ОД+мет-віт (контроль ГГЦ) 1-15		3 (10)	
4	10	ОД+мет-віт (1-15). ОД+мет (16-25)			3 (10)
5	9	ОД+мет-віт (1-15) ОД+мет (16-25)	x5 (16-25)		3 (9)
6	10	ОД+мет-віт (1-15) ОД+мет (16-25)	x15 (16-25)		3 (10)

Примітка: в цій та наступній таблиці позначки «x5» або «x15» – означають щоденне введення через рот суміші вітамінів B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>12</sub> в дозах, що перевищують фізіологічну потребу в 5 або 15 разів.

### Таблиця 4

Вплив різних доз комплексу вітамінів B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>12</sub> на рівень гомоцистеїну в плазмі крові та показники оксидативного стресу в гомогенатах печінки щурів з гіповітамінозно-метіоніновою гіпергомоцистеїнемією (ГМ ГГЦ) (M±m, P)

№№ груп	Характеристика груп	Показники				
		Рівень ГЦ мкМ /л	Актив ність НАДФН- оксидази нмоль/хв на 1 г білка	МДА, мкМ/л	КГ, мкГ/100 мг білка	ГП, мкМ/л
1	інтактний контроль*	7,60 ±0,88	1,15 ±0,14	0,81± 0,07	5,32± 0,56	9,31± 0,85
2	контроль метіоніну	15,4 ±1,32 P <sub>1</sub> < 0,05	2,20 ±0,31 P <sub>1</sub> < 0,05	1,19 ±0,08 P <sub>1</sub> < 0,05	7,85 ±0,62 P <sub>1</sub> < 0,05	14,4 ±1,67 P <sub>1</sub> < 0,05
3	контроль ГГЦ	68,5 ±7,12 P <sub>1</sub> < 0,05	3,43 ±0,37 P <sub>1</sub> < 0,05	2,28 ± 0,28 P <sub>1</sub> < 0,05	9,83 ±0,85 P <sub>1</sub> < 0,05	15,1 ± 1,09 P <sub>1</sub> < 0,05
4	Лікування ГГЦ дієтою (ОД+мет)	22,3 ±2,17 P <sub>1</sub> < 0,05	2,87 ±0,22 P <sub>1</sub> < 0,05	1,87 ±0,16 P <sub>1</sub> < 0,05	8,87 ±0,72 P <sub>1</sub> < 0,05	13,8 ±1,02 P <sub>1</sub> < 0,05
5	лікування ГГЦ вітамінним комплексом І (х5) на фоні дієтми (ОД+мет)	11,4 ±1,0 P <sub>1</sub> < 0,05	1,79 ±0,19 P <sub>1</sub> > 0,05	1,21 ±0,18 P <sub>1</sub> < 0,05	7,34 ±0,71 P <sub>1</sub> < 0,05	11,7 ±1,68 P <sub>1</sub> >0,05
6	лікування ГГЦ вітамінним комплексом ІІ (х15) на фоні	7,0 ±0,78 P <sub>1</sub> > 0,05 P <sub>5</sub> <0,05	1,13 ±0,16 P <sub>1</sub> > 0,05 P <sub>5</sub> <0,05	0,88 ±0,078 P <sub>1</sub> > 0,05 P <sub>5</sub> <0,05	5,60 ±0,73 P <sub>1</sub> > 0,05 P <sub>5</sub> <0,05	9,78 ±0,98 P <sub>1</sub> > 0,05 P <sub>5</sub> <0,05

	дієти (ОД+мет)					
--	----------------	--	--	--	--	--

Примітка: \* - оскільки біохімічні показники 5 інтактних тварин на 16 день та 5 інтактних тварин на 26 день експерименту були близькими між собою, в цій таблиці наведені об'єднані дані 10 інтактних тварин.

Автор:

Постовітенко Катерина Павлівна – к.мед.н., доцент кафедри медичної реабілітації та медико-соціальної експертизи Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; +38 066 651 09 52