

Staphylococcus aureus (29,4 %), *Neisseria* spp. (16,5 %), *Staphylococcus epidermidis* (14,1 %), *Streptococcus* spp. групи *Viridans* (12,9 %), *Candida albicans* (5,9 %), *Moraxella* spp. (1,2 %), *Streptococcus anhaemolyticus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (становили по 3,5 %), плісняви – 2,4 %, *Streptococcus haemolyticus*, *Enterobacter aerogenes* і *Enterococcus faecalis* (по 1,2 %). Виділені штами, отримані від пацієнтів приватної клініки, мали виражену антибіотикорезистентність до антимікробних препаратів груп: бета-лактами, тетрациклін, аміноглікозиди, сульфаніламіди. Це повинні враховувати лікарі при призначенні антибактеріальної терапії. Висновки. Дані свідчать про загрозово високі результати резистентності до антимікробних препаратів у ізолятих, отриманих від пацієнтів приватної клініки міста Харкова.

DOI 10.31718/2077–1096.24.1.134

УДК: 616.67:577 + 175.67:599.343.5

Стецук Є.В., Шепітько В.І., Запорожець Т.М., Проніна О.М., Борута Н.В.

ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ НА ПРОДУКЦІЮ РЕАКТИВНИХ КИСНЕВО-АЗОТНИХ ФОРМ У СТРУКТУРАХ ІНТЕРСТИЦІЙНОГО ПРОСТОРУ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ ПРИ ТРИВАЛІЙ ДІЇ ТРИПТОРЕЛІНУ

Полтавський державний медичний університет, м. Полтава, Україна

Кверцетин - це поширений флавоноїд, природний пігмент, який присутній у складі багатьох фруктів, овочів та насіння. Флавоноїди допомагають уникнути розвитку хвороб серцево-судинної системи, знижують ризик виникнення дегенеративних процесів у головному мозку та онкологічних захворювань. Як відомо, центральне блокування синтезу лютеїнізуючого гормону призводить до розвитку окисного стресу в печінці, серці, слинних залозах щурів. Метою даного дослідження було оцінити зміни інтерстиційного простору сім'яників щурів, визначити джерело продукції оксиду азоту та інтенсивність оксидативного стресу в сім'яниках щурів під час довготривалого експериментального центрального блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Досліди були проведені на 15 білих статевозрілих білих щурах – самцях. Тварини були поділені на 2 групи. Перша група (контрольна) отримувала підшкірно ін'єкцію 0,9% розчину натрію хлориду. У другій групі тварин (експериментальна) моделювалось центральне блокування синтезу лютеїнізуючого гормону, шляхом підшкірної ін'єкції триптореліну в дозі 0,3 мг/кг діючої речовини протягом 365 днів, з одночасним додаванням у раціон харчування кверцетину, який вводився перорально, за допомогою гастрономічного зонду трічі на день. Загальну продукцію оксиду азоту оцінювали за загальною активністю NO-синтази (gNOS). Про активність gNOS судили за приростом нітритів (NO₂-) після інкубації в трис-буферному розчині. Концентрацію нітритів визначали за допомогою реактиву Гриса-Ілосвая на довжині хвилі 540 нм. Також визначали активність індуцибельної (iNOS) та конститутивних (cNOS) ізоформ, використовуючи селективний інгібітор iNOS - аміногуанідин гідрохлориду. Базову продукцію супероксидного аніон-радикалу (O₂⁻) визначали за приростом диформазану, утвореного в реакції O₂⁻ з нітросинім тетразолієм після інкубації в буферному розчині, що містить гідроксид натрію. Введення кверцетину зменшує негативний вплив триптореліну, що призводить до структурно - функціональних змін у будові сполучнотканинних компонентів сім'яників щурів на 365 добу спостереження і характеризуються ознаками фіброзу з порушеннями продукції оксиду азоту конститутивними ізоформами NO-синтази.

Ключові слова: сім'яники, інтерстиційні ендокриноцити, NO-синтаза, iNOS, L-аргінін, супероксиддисмутаза, трипторелін, кверцетин, фіброз.

Дослідження є фрагментом наукового проекту «Експериментально-морфологічне вивчення дії дифереліну, етанолу та 1% метакрилової кислоти, кріоконсервованих трансплантатів плаценти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів» № державної реєстрації 0119U102925.

Вступ

Кверцетин - це поширений флавоноїд, природний пігмент, який присутній у складі багатьох фруктів, овочів та насіння [23]. Флавоноїди допомагають уникнути розвитку хвороб серцево-судинної системи, знижують ризик виникнення дегенеративних процесів у головному мозку онкологічних захворювань [16]. Також ці речовини мають антиоксидантні властивості, допомагають організму захиститися від агресії вільних радикалів, пов'язуючи та нейтралізуючи ці нестабільні молекули [18]. Проведені дослідження показують, що агресивний вплив вільних радикалів

корелюється з розвитком низки хронічних захворювань, серед яких цукровий діабет, рак та серцево-судинні патології [9,14,15]. Вчені провели серію експериментів на щурах та свинях і довели, що основний розподіл кверцетину відбувається у легенях, товстій кишці, нирках та печінці, натомість в тканинах мозку виявляються нижчі рівні метаболітів цієї речовини. При надходженні цього флавоноїда лише з продуктами харчування, то в плазмі він виявляється у наномолярному діапазоні, водночас прийом добавок у вигляді аглікону або глікозидів дозволяє підвищити концентрацію до низького мікромолярного діапазо-

ну [14]. Субстратом для синтезу NO є флавоноїд кверцетин, що має здатність зменшувати активацію та адгезію лейкоцитів і тромбоцитів до ендотелію судин, пригнічувати синтез протеїнів адгезії VCAM-1 та MCP-1, таким чином, запобігати утворенню й розвитку атеросклеротичних бляшок та мікротромбів. Кверцетин пригнічує синтез ендотеліну-1, що є потужним вазоконстриктором, стимулятором проліферації та міграції гладких міоцитів судинної стінки [12]. Він має виражені антиоксидантні, антиагрегантні, антирадикальні, мембраностабілізаційні властивості, запобігає підвищенню рівня кальцію в клітинах, виявляє ангіопротекторний вплив, інгібує протеїнкіназу, виявляє виразну цитопротекторну (ендотеліопротекторну) [4] активність. Застосування кверцетину, як ендотеліопротекторного препарату, дозволяє безпосередньо впливати на патофізіологічні процеси, притаманні ендотеліальній дисфункції, про що свідчить зниження окремих її маркерів. У свою чергу, це призводить до гармонізації судинорухових реакцій, покращення контролю основних показників АТ, корекції добового профілю АТ та покращення прогнозу для хворих [9]. Кверцетин виявляє властивості модулятора активності різних ферментів, що беруть участь у деградації фосфоліпідів (фосфоліпаз, фосфогеназ, ЦОГ), що впливають на вільнорадикальні процеси та відповідають за біосинтез у клітинах оксиду азоту, протеїназ. Інгібуюча дія кверцетину на мембранотропні ферменти і, насамперед, на 5-ліпооксигеназу позначається на гальмуванні синтезу лейкотрієнів LTC₄ та LTB₄ [18]. Поряд з цим, кверцетин дозозалежно підвищує рівень оксиду азоту в ендотеліальних клітинах, що пояснює його кардіопротекторну дію при ішемічному та реперфузійному ураженнях міокарда [9]. Кверцетин має також антиоксидантні та імуномодулюючі властивості, шляхом зниження вироблення цитотоксичного супероксид-аніону та нормалізації активації субпопуляційного складу лімфоцитів [18].

Трипторелін, синтетичний аналог нейрогормону гонадоліберину [15,19], який пригнічує експресію рецептора в гіпофізі, але не змінює функціонування гіпофізарно-тестикулярного комплексу в цілому. Центральна депривація синтезу лютеїнізуючого гормону протягом тривалого часу призводить до розвитку окисного стресу в печінці, серці, слинних залозах щурів [2]. Продукція оксиду азоту під час центральної депривації синтезу лютеїнізуючого гормону зазнає складних змін: від початкового зниження залежної від NO-синтази продукції оксиду азоту до гіперпродукції оксиду азоту з NO-синтаз [5, 6].

Мета дослідження

Метою даного дослідження було оцінити зміни інтерстиційного простору щурів, визначити джерела продукції оксиду азоту та інтенсивність оксидативного стресу в сім'яниках щурів під час довготривалого експериментального централь-

ного блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.

Матеріали та методи

Досліди були проведені на 15 білих статевозрілих білих щурах – самцях. Тварини були поділені на 2 групи. Перша група з 5 тварин (контрольна) отримувала підшкірно ін'єкцію натрію хлориду 0,9% протягом усього експериментального періоду. Друга група з 10 тварин (експериментальна), в якій моделювалось центральне блокування синтезу лютеїнізуючого гормону, одержувала підшкірно ін'єкцію триптореліну в дозі 0,3 мг/кг діючої речовини протягом 365 днів [8] з одночасним додаванням у раціон харчування кверцетину, який вводився перорально за допомогою гастрального зонду тричі на день. Усі маніпуляції з лабораторними тваринами проводилися в суворій відповідності до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986). Тварин виводили з експерименту шляхом передозування ефірного наркозу. Відпрепаровані маленькі шматочки сім'яників за загальновизнаною методикою [7] фіксували і укладали в парафінові блоки, з яких виготовляли зрізи товщиною 4 мкм і фарбували гематоксиліном та еозином.

Дослідження схвалено та підтверджено комісією з біоетики Полтавського державного медичного університету (протокол № 195 – 24.06.2021).

Комплексне вивчення гістологічних препаратів проводилося за допомогою світлового мікроскопа BIOREX – 3 # 5605. Кількісний підрахунок клітин оточення визначався в полях зору, за допомогою візуального оцінювання при використанні світлового мікроскопу з цифровим мікрофільтром та з програмним забезпеченням, пристосованим для цих досліджень. Мікрофотографування проводилось з цифровою мікрофотонасадкою DCM 900 з адаптованими для даних досліджень програмами.

Всі біохімічні дослідження проводилися в 10% гомогенаті тканин сім'яників із використанням спектрофотометра Ulab 101. Загальну продукцію оксиду азоту оцінювали за загальною активністю NO-синтаз (gNOS). Про активність gNOS судили за приростом нітритів (NO₂-) після інкубації в трис-буферному розчині (pH=7,4), який містить субстрат реакції та донор електронів (НАДФН-відновлений). Концентрацію нітритів визначали за допомогою реактиву Гриса-Ілосвая на довжині хвилі 540 нм [21]. Також визначали активність індукцибельної (iNOS) та конститутивних (cNOS) ізоформ з використанням селективного інгібітору iNOS-аміногуанідину гідрохлориду («Sigma»,) [21]. Базову продукцію супероксидного аніон-радикалу (O₂⁻) визначали за приростом диформазану, утвореного в реакції O₂⁻ з нітросинім тетразолієм після інкубації в буферному розчині (pH=7,4), що містить гідроксид натрію .

Концентрацію диформазау визначали спектрофотометрично на довжині хвилі 540 нм [21]. Статистична обробка результатів дослідження проводилася з використанням програми Excel пакета Microsoft Office і розширення до неї Real Statistics 2019.

Результати дослідження

При дослідженні нами напівтонких зрізів на 365-ту добу експерименту виявлялися зміни інтерстицію сім'яника з характерними проявами фіброзного перетворення тканини (Рис.1). Інтерстиційні простори між звивистими каналцями

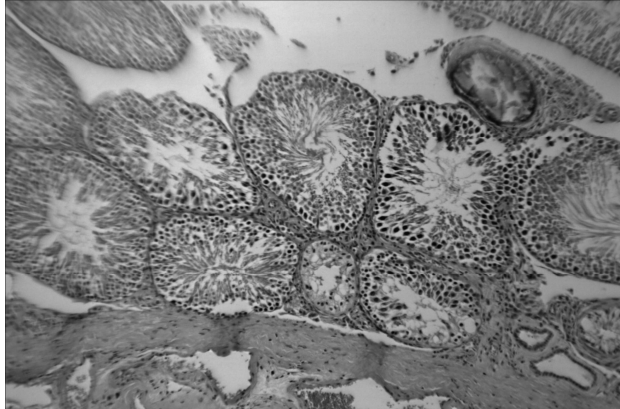


Рис. 1. Фіброз інтерстиційного простору сім'яників. Звивисті сім'яні каналці на 365 добу експерименту у тварин експериментальної групи (при центральному блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону, з додаванням кверцетину). Напівтонкий зріз. Забарвлення гематоксилін-еозин. 36.400.

збільшені, в порівнянні з попереднім термінами експерименту. Кількість кровоносних судин збільшена, стінки потовщені, набряклі. В судинах визначалися явища стазу. (Рис.2). Загальна кількість інтерстиційних ендокриноцитів зменшена, виявляються клітини зі зміненими ядрами. Ядра здебільшого еліпсоїдні, щільні. Об'єм цитоплазми візуально зменшений. Кількість секреторних гранул знижена, подекуди вони зовсім відсутні. (Рис.2.). Кількість інтерстиційних макрофагів значно підвищена, за рахунок периваскулярної фракції.

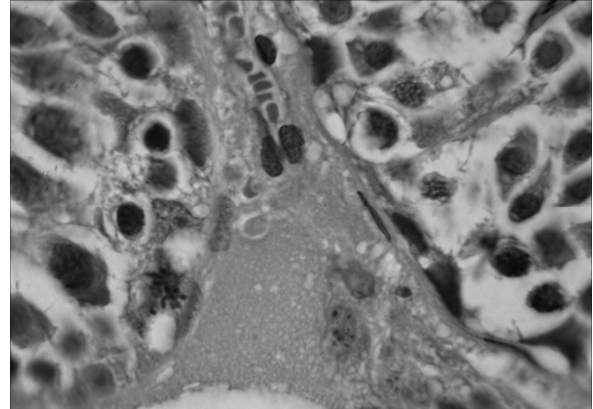


Рис. 2. Інтерстиційний простір сім'яників на 365 добу експерименту у тварин експериментальної групи (при центральному блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону з додаванням кверцетину). Напівтонкий зріз. Забарвлення гематоксилін-еозин. 36.1000.

Табл.1. Маркери окисного стресу в яєчках щурів під час 365-денного центрального блокування синтезу лютеїнізуючого гормону (M±m)

Строк	Параметри											
	Активність СОД, у.о.	Активність каталази, нкат/г	Базова продукція O ₂ ⁻ , нмоль/с	Продукція O ₂ ⁻ мітохондріальної ЕТЦ, нмоль/с на г	Продукція O ₂ ⁻ мікросомальної ЕТЦ, нмоль/с на г	Загальна активність NOS, мкмоль/мин на г білка	Активність iNOS, мкмоль/мин на г білка	Активність sNOS, мкмоль/мин на г білку	Активність аргінази, мкмоль/мин на г білку	Концентрація МДА, мкмоль/г	Концентрація нітритів, нмоль/л	
Контроль	1,87±0,11	182±17,0	0,26±0,01	7,84±0,13	9,55±0,19	0,54±0,04	0,13±0,02	0,41±0,03	2,48±0,05	6,64±1,44	3,83±0,25	
12 мес.	1,65±0,18	241±9,0 *	0,76±0,07 *	8,81±0,06 *	9,89±0,12*	0,31±0,04 *	0,24±0,03 *	0,06±0,001 *	2,01±0,08 *	7,21±0,18 *	13,44±0,35*	

Примітка: * - різниця статистично значуща при порівнянні з контролем (p<0,05)

Реакція сім'яних каналців була різноманітною. Виявлялися порушення всіх етапів сперматогенезу. Подекуди зустрічалися звивисті каналці з відсутніми клітинами сперматогенезу. Оболонка каналців потовщена, розпушена. Кількість сперматогоній знижена, всі клітини набряклі. Сперматоцити та сперматиди не мали щільного з'єднання, невпорядковано розміщені в просторі каналців. Суспендоцити збільшені в розмірах, переважно внаслідок фагоцитозу пошкоджених клітин сперматогенного ряду.

Основна продукція супероксидного аніон-радикала в дослідній групі була незначно знижена, порівняно з контрольною групою тварин (табл. 1). Продукція SAR із мітохондріальних і мікросомальних ЕТЦ була підвищена в 1,12 рази і 1,03 рази, відповідно. Активність СОД знижувалася в 1,13 рази, а каталази – у 1,34 рази збіль-

шилась. Не було статистично значущих змін концентрації вільного МДА, що становило 7,21±0,18 мкмоль/г, відповідно.

На 365 добу експерименту виявлено зниження активності gNOS на 23 % (табл. 1). Не було визначено статистично значущих змін активності iNOS в яєчках щурів після 365 днів експерименту. Активність ізоформ sNOS знизилась у 6,83 рази. Активність аргінази зменшилась на 23,3 %. Концентрація нітритів збільшилась більше ніж утричі - 13,44±0,35 нмоль/л.

Обговорення одержаних результатів

Знижена активність sNOS може сприяти ендотеліальній дисфункції, що спостерігається в мікросудинному руслі на 365-й день експериментальної моделі з триптореліном. Ендотеліальна дисфункція призводить до недостатньої крово-

постачання в яєчках та гіпоксії. Оскільки для сперматогенезу потрібні багаторазові поділи клітин, цей процес є дуже енергозалежним. На цьому етапі експерименту відсутність оксиду азоту, отриманого з cNOS, призводить до гіпоксії, яка, у свою чергу, підвищує сигналізацію фактора, індукованого гіпоксією (HIF) [11]. Сигналізація HIF підвищує реактивність утворення форм кисню, що може бути точним механізмом збільшення виробництва SAR, що спостерігається в нашому дослідженні [20]. Посилена передача сигналів HIF також може пояснити нетипову спіралеподібність прекапілярів, що спостерігається в нашому дослідженні, оскільки шлях HIF також збільшує виробництво фактора росту ендотелію судин (VEGF) [13]. Зрештою, гіпоксія яєчок призводить до фіброзу через активацію транскрипції трансформуючого фактора росту β (TGF- β) [22]. Індукований гіпоксією фіброз яєчка також був показаний у дослідженнях Abdelhameed RFA та ін. [1].

На ранніх етапах експерименту ми спостерігали гострий розвиток окисного пошкодження тканини яєчок і значуще вироблення оксиду азоту [13]. На більш пізніх термінах експерименту визначалися ознаки фіброзних змін і зниження продукції оксиду азоту [3]. Це також свідчить про те, що дефіцит тестостерону може призводити до зміни поляризації макрофагів [10] у бік поширеності M1 (прозапальний) фенотип, оскільки співвідношення iNOS/аргінази було високим [16, 17]. На 365-й день центральної депривації синтезу тестостерону співвідношення iNOS/аргінази було низьким, що свідчить про переважання M2 (протизапальної) поляризації макрофагів.

Розвиток дегенеративних змін сім'яників щурів, на нашу думку, може бути зумовлений порушенням кооперативної взаємодії клітин як інтерстиційного простору, так і паренхіми. Що, в свою чергу, призводить до зміни їх метаболічних процесів, проникності гематотестикулярного бар'єру, та до стійкого порушення якості сперматогенезу. До цієї системи належать, на нашу думку, макрофаги, суспендоцити та інтерстиційні ендокриноцити. Порушення гіпоталамічної стимуляції для синтезу тестостерону призводить до зміни поляризації макрофагів на фенотип M1, з подальшим пошкодженням тканини яєчка та його заміщення фіброзною тканиною. Необхідні наступні дослідження, щоб оцінити точні зміни у взаємодії між тестикулярними макрофагами, суспендоцитами та інтерстиційними ендокриноцитами.

Висновки

Введення кверцетину зменшує негативний вплив триптозеліну, який призводить до структурно-функціональних змін у будові сполучнотканинних компонентів сім'яників щурів на 365 добу спостереження і характеризуються ознаками фіброзу з порушеннями продукції оксиду азоту конститутивними ізоформами NO-синтази.

Особистий внесок авторів

Стецук Є.В. – літературний пошук, концепція та дизайн, надання даних, написання рукопису; Шепітько В.І. - редагування фінальної версії статті, Запорожець Т.М. – концепція, Проніна О.М. - концепція та дизайн, Борута Н.В. – літературний пошук.

Конфлікт інтересів

Відсутній.

Література

1. Abdelhameed RFA, Ali AI, Elhady SS, Abo Mansour HE, Mehanna ET, Mosaad SM, Ibrahim SA, Hareeri RH, Badr JM, Eltahawy NA, Marrubium alysson L. Ameliorated Methotrexate-Induced Testicular Damage in Mice through Regulation of Apoptosis and miRNA-29a Expression: LC-MS/MS Metabolic Profiling. *Plants* (Basel). 2022 Sep 3;11(17):2309. doi: 10.3390/plants11172309.
2. Abdelzاهر WY, Abdel-Hafez SMN, Rofaeil RR, Ali AHSA, Hegazy A, Bahaa HA. The protective effect of fenofibrate, triptorelin, and their combination against premature ovarian failure in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2021 Jan;394(1):137-149. doi: 10.1007/s00210-020-01975-2.
3. Amevor FK, Cui Z, Ning Z, Shu G, Du X, Jin N, Deng X, Xu D, Tian Y, Zhang Y, Li D, Wang Y, Du X, Zhao X. Dietary quercetin and vitamin E supplementation modulates the reproductive performance and antioxidant capacity of aged male breeder chickens. *Poult Sci*. 2022 Jun;101(6):101851. doi: 10.1016/j.psj.2022.101851.
4. Aborode AT, Pustake M, Awuah WA, Alwerdani M, Shah P, Yarlagadda R, et al. Targeting Oxidative Stress Mechanisms to Treat Alzheimer's and Parkinson's Disease: A Critical Review. *Oxid Med Cell Longev*. 2022 Jul 31;2022:7934442. doi: 10.1155/2022/7934442.
5. Akimov, O.Ye. Mykytenko, A.O. Kostenko, V.O. Nitric oxide cycle activity in rat biceps femoris muscle under conditions of bacterial lipopolysaccharide influence, experimental metabolic syndrome and vitamin E combination *Ukrainian Biochemical Journal*. 2023, 95(4), P 24–34 doi: <https://doi.org/10.15407/ubj95.04.024>
6. Akimov OY, Kostenko VO. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride. *Ukr Biochem J*. 2016 Nov-Dec;88(6):70-5. doi: 10.15407/ubj88.06.070.
7. Bahriy MM, Dibrova VA, Popadynets OH, Hryshchuk MI. *Metodyky morfologichnykh doslidzhen* [Methods of morphological research]. Vynnytsya; 2016. 328 p. (Ukrainian).
8. Botté MC, Lerrant Y, Lozach A, Bérault A, Counis R, Kottler ML. LH down-regulates gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor, but not GnRH, mRNA levels in the rat testis. *J Endocrinol*. 1999; 162(3): 409-415. doi:10.1677/joe.0.1620409
9. Chekalina, N.I. Resveratrol has a positive effect on parameters of central hemodynamics and myocardial ischemia in patients with stable coronary heart disease *Wiadomosci lekarskie* 2017. 70(2), pp. 286-291
10. Chung JY, Brown S, Chen H, Liu J, Papadopoulos V, Zirkin B. Effects of pharmacologically induced Leydig cell testosterone production on intratesticular testosterone and spermatogenesis. *Biol Reprod*. 2020 Feb 14;102(2):489-498. doi: 10.1093/biolre/ioz174.
11. Garza S, Chen L, Galano M, Cheung G, Sottas C, Li L, Li Y, Zirkin BR, Papadopoulos V. Mitochondrial dynamics, Leydig cell function, and age-related testosterone deficiency. *FASEB J*. 2022 Dec;36(12):e22637. doi: 10.1096/fj.202201026R.
12. Giordano G, Mastrantonio L, Colloca GF. Myocardial bridge in a patient with castration-resistant metastatic prostate cancer treated with enzalutamide. *J Oncol Pharm Pract*. 2023 Oct;29(7):1754-1756. doi: 10.1177/10781552231180599.
13. Hotta Y, Kataoka T, Kimura K. Testosterone Deficiency and Endothelial Dysfunction: Nitric Oxide, Asymmetric Dimethylarginine, and Endothelial Progenitor Cells. *Sex Med Rev*. 2019; 7(4): 661-668. doi: 10.1016/j.sxmr.2019.02.005
14. Kostenko, V. Akimov, O. Gutnik, O., Nazarenko, S. Taran, O. Modulation of redox-sensitive transcription factors with polyphenols as pathogenetically grounded approach in therapy of systemic inflammatory response *Heliyon*, 2023, 9(5), e15551 doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15551
15. Merseburger AS, Hupe MC. An Update on Triptorelin: Current Thinking on Androgen Deprivation Therapy for Prostate Cancer. *Adv Ther*. 2016; 33(7): 1072-93. doi: 10.1007/s12325-016-0351-4
16. Ming Wang, Yalong Yang, Dilay Cansever, Yiming Wang, Crystal Kantores, Sébastien Messiaen etc. Two populations of self-maintaining monocyte-independent macrophages exist in adult epididymis and testis. 2021 Jan 5;118(1):e2013686117. doi: 10.1073/pnas.2013686117

17. Mossadegh-Keller N, Sieweke MH. Testicular macrophages: Guardians of fertility. *Cell Immunol.* 2018; 330: 120-125. doi: 10.1016/j.cellimm.2018.03.009
18. Opryshko, V. Prokhach, A. Akimov, O. Solovyova, N. Kostenko, V. *Desmodium styracifolium*: Botanical and ethnopharmacological insights, phytochemical investigations, and prospects in pharmacology and pharmacotherapy. *Heliyon.* 2024 Jan 20;10(3):e25058. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e25058.
19. Scovell JM, Khera M. Testosterone Replacement Therapy Versus Clomiphene Citrate in the Young Hypogonadal Male. *Eur Urol Focus.* 2018; 4(3): 321-323. doi: 10.1016/j.euf.2018.07.033
20. Tarasenko LM, Neporada KS, Klusha V. Stress-protective effect of glutapyrone belonging to a new type of amino acid-containing 1,4-dihydropyridines on periodontal tissues and stomach in rats with different resistance to stress. *Bull Exp Biol Med.* 2002 Apr;133(4):369-71. doi: 10.1023/a:1016250121896.
21. Yelins'ka AM, Akimov OY, Kostenko VO. Role of AP-1 transcriptional factor in development of oxidative and nitrosative stress in periodontal tissues during systemic inflammatory response. *Ukr.Biochem.J.* 2019; 9(1): Jan-Feb, 80-5. doi: 10.15407/ubj91.01.080
22. Zhao Y, Liu X, Qu Y, Wang L, Geng D, Chen W, Li L, Tian Y, Chang S, Zhao C, Zhao X, Lv P. The roles of p38 MAPK → COX2 and NF-κB → COX2 signal pathways in age-related testosterone reduction. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 10556. doi: 10.1038/s41598-019-46794-5
23. Zhang Y, Zhang C, Li Z, Zeng C, Xue Z, Li E, Li G, Li J, Shen G, Xu C, Wang Y, Ma B, Zhang H, Guo B. New 8-prenylated quercetin glycosides from the flowers of *Epimedium acuminatum* and their testosterone production-promoting activities. *Front Chem.* 2022 Oct 10;10:1014110. doi: 10.3389/fchem.2022.1014110.

Summary

THE INFLUENCE OF QUERCETIN ON THE PRODUCTION OF REACTIVE OXYGEN-NITROGEN FORMS IN THE STRUCTURE OF THE INTERSTITIAL SPACE OF RAT TESTICLES WITH LONG-TERM EFFECT OF TRIPTORELIN

Stetsuk Ye., Shepitko V. I., Zaporozhets T.M., Pronina O.M., Boruta N. V.

Key words: testes, interstitial endocrinocytes, NO-synthase, iNOS, L-arginine, superoxide dismutase, triptorelin, quercetin, fibrosis.

Quercetin is a flavonoid commonly found in fruits, vegetables, and seeds. Flavonoids can help prevent cardiovascular diseases, reduce the risk of degenerative brain processes and cancer. Studies have shown that blocking the synthesis of luteinising hormone can lead to oxidative stress in the liver, heart, and salivary glands of rats. The purpose of this study was to assess alterations in the interstitial space of rat testes, identify sources of nitric oxide production, and measure the intensity of oxidative stress in the testes during long-term experimental central blocking of luteinising hormone synthesis by triptorelin. The study was conducted on 15 sexually mature male white rats. The animals were divided into two groups. The first group (control) received a subcutaneous injection of 0.9% sodium chloride solution. The second group (experimental) received a subcutaneous injection of triptorelin at a dose of 0.3 mg/kg of active ingredient for 365 days, with simultaneous addition of quercetin to the diet, which was administered orally through a gastric tube three times a day. Total nitric oxide production was assessed by measuring the activity of total NO synthase (gNOS). The activity of gNOS was determined by the increase in nitrite (NO₂⁻) after incubation in Tris-buffered saline. The nitrite concentration was determined using the Gris-Ilosvay reagent at a wavelength of 540 nm. The activity of the inducible (iNOS) and constitutive (cNOS) isoforms was also determined using a selective iNOS inhibitor, aminoguanidine hydrochloride. The production of superoxide anion radical (O₂⁻) was measured by the increase in the formation of diformazan resulting from the reaction of O₂⁻ with nitroblue tetrazolium after incubation in a buffered solution containing sodium hydroxide. The administration of quercetin mitigates the adverse effects of triptorelin on the structural and functional components of the connective tissue in the rat testes. This effect is observed on day 365 and is characterised by fibrosis and impaired nitric oxide production by constitutive isoforms of NO synthase.