

## ЕНЗИМНА АКТИВНІТЬ ДЕГІДРОГЕНАЗНОЇ ТА ОКСИДАЗНОЇ ФОРМ КСАНТИНОКСИДАЗИ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА ДІЇ $\omega$ -3 ПОЛІНЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ І РЕТИНОЇДІВ

О. В. КЕЦА, М. М. МАРЧЕНКО

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича  
вул. Коцюбинського, 2, Чернівці, 58012  
e-mail: o.ketsa@chnu.edu.ua

У роботі проведено дослідження впливу різних доз ретиноїдів у комплексі з  $\omega$ -3 поліненасиченими жирними кислотами (ПНЖК) на ензимну активність дегідрогеназної (D-форми – ксантин:NAD<sup>+</sup>-оксидоредуктаза, КФ 1.17.1.4) й оксидазної (O-форми – ксантин:кисеньоксидоредуктаза, КФ 1.17.3.2) ізоформ ксантиноксидази та генерацію супероксидного радикала (O<sub>2</sub><sup>•</sup>) у цитозольній фракції печінки щурів. Тварин поділили на такі групи: I – інтактні тварини (контроль); II – щурі, яким вводили  $\omega$ -3 ПНЖК у дозі 120 мг/кг маси тварин; III, IV, V – тварини, яким вводили ретинол ацетат у дозі 60 МО/кг, 600 МО/кг, 1800 МО/кг відповідно; VI, VII, VIII – щурі, яким вводили комплекс препаратів  $\omega$ -3 ПНЖК та ретинол ацетату в дозах 60 МО/кг, 600 МО/кг, 1800 МО/кг відповідно. Евтаназію тварин здійснювали під легким ефірним наркозом на 14-у добу після початку введення препаратів. Встановлено, що введення терапевтичної дози 600 МО/кг ретинол ацетату та максимальної дозової дози 1800 МО/кг призводило до підвищення загальної ксантиноксидазної активності у 2,5 та 2,7 рази відповідно порівняно з показниками групи інтактних тварин. Комплексне застосування  $\omega$ -3 ПНЖК та ретинол ацетату в дозах 600 МО/кг і 1800 МО/кг призводило до зниження загальної ксантиноксидазної активності у порівнянні зі значеннями тварин, яким вводили окремо препарат ретинол ацетату у відповідних дозах. Показано, що підвищення загальної ензимної активності ксантиноксидази відбувається за рахунок підвищення рівня активності її O-форми з одночасним зниженням активності D-форми. Підвищення активності O-форми ксантиноксидази в цитозольній фракції печінки відбувається паралельно з підвищенням швидкості утворення O<sub>2</sub><sup>•</sup>, що вказує на участь цієї ізоформи в індукції окисно-відновного дисбалансу в цитозолі клітин печінки за дії високих доз ретинол ацетату. Застосування  $\omega$ -3 ПНЖК поряд з ретинол ацетатом сприяє наближенню досліджуваних показників до значень інтактних тварин.

**Ключові слова:** ксантиноксидаза, супероксидний радикал, цитозольна фракція печінки, ретинол ацетат,  $\omega$ -3 поліненасичені жирні кислоти.

**Вступ.** Розвиток в організмі патологічних процесів може бути причиною змін ензимної активності дегідрогеназної (D-форми – ксантин:NAD<sup>+</sup>-оксидоредуктаза, КФ 1.17.1.4) й оксидазної (O-форми – ксантин:кисеньоксидоредуктаза, КФ 1.17.3.2) ізоформ ксантиноксидази, яка залучена до ключових процесів деградації біомолекул, зокрема кінцевої ланки метаболізму пуринів (Vickneson et al., 2021). У клітинах ксантиноксидаза транскрибується та транлюється як ксантиндегідрогеназа, що являє собою гомодимер з чотирма окисно-відновними центрами в кожній субодиниці: один кофактор молібдену (Mo-co), один сайт флавінаденіндинуклеотиду (FAD) і два сайти Fe<sub>2</sub>S<sub>2</sub> (Kaur et al., 2022). Ксантиндегідрогеназа каталізує окислення гіпоксантину до ксантину та ксантину до сечової кислоти в місці Mo-co, а електрони транспортуються через два кластери Fe<sub>2</sub>S<sub>2</sub> до FAD, де NAD<sup>+</sup> відновлюється до NADH (Furuhashi, 2020). Ксантиноксидаза в клітині знаходиться переважно в дегідрогеназній формі; однак, потрапляючи в позаклітинний простір або за

різних патологічних процесів домінуючою ізоформою є ксантиноксидазна (Cicero et al., 2021).

Відмінність між оксидазною і дегідрогеназною формами ксантиноксидази полягає в їх спорідненості з окисним субстратом, де O-форма демонструє знижену спорідненість до NAD<sup>+</sup> і більше ніж в 11 разів підвищену спорідненість до O<sub>2</sub> порівняно з D-формою. Таким чином, електрони, отримані від гіпоксантину та окислення ксантину, швидко приймаються O<sub>2</sub> у результаті чого в клітині генерується супероксидний радикал (O<sub>2</sub><sup>•</sup>) та пероксид водню (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Schmidt et al., 2019).

Припускають, що через здатність O-форми генерувати цитотоксичні кисневі метаболіти можуть відбуватися процеси окисного ураження клітин печінки з розвитком патологічних процесів (Cicero et al., 2021). D-форма, навпаки каталізує реакції синтезу сечової кислоти, яка проявляє властивості низькомолекулярного антиоксиданта, що захищає клітини від кисневих радикалів (Dissanayake et al., 2022). Слід зауважити, що специфічність ксантиноксидази не обмежується метаболізмом пуринових субстратів, оскільки цей

ензим бере участь у процесах біотрансформації як ендогенних токсикантів, так і ксенобіотиків (Tsiokou et al., 2020). Багато субстратів і продуктів ксантиноксидазної реакції володіють біологічною активністю і здатні регулювати фізіологічні процеси в організмі (Vickneson et al., 2021). Вище зазначене вказує на те, що зміни співвідношення активностей D- і O-форми ксантиноксидази визначають напрямок окислювальних процесів у цитозолі клітин печінки.

Генерацію активних форм кисню (АФК) можуть пригнічувати природні ліпофільні нутрієнти, серед яких чільне місце займають  $\omega$ -3 поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК) (Yin et al., 2017) та ретиноїди (Pang et al., 2017). Стратегія комбінованого застосування есенціальних ліпофільних нутрієнтів все частіше спостерігається за умов різних патологічних станів. Проте, відкритими залишаються питання механізмів дії їхнього поєднаного застосування, особливо за різних доз введення ретиноїдів. Розуміння цих механізмів відкриє нові перспективи для їх застосування з метою корекції різних патологічних станів, які супроводжуються вільнорадикальним окисленням з мінімальними побічними ефектами на організм.

Мета дослідження – встановити особливості змін ксантиноксидазної активності та генерації супероксидного радикала в цитозольній фракції печінки щурів за дії  $\omega$ -3 ПНЖК і ретиноїдів.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 90-110 г ( $n=48$ ), які знаходилися на стаціонарному раціоні віварію з вільним доступом до води. Для дослідження впливу ліпофільних нутрієнтів на організм, тварини були поділені на такі групи: I – інтактні тварини (контроль); II – щури, яким щоденно вводили  $\omega$ -3 ПНЖК у дозі 120 мг/кг маси; III – щури, яким вводили препарат ретинол ацетату в дозі 60 МО/кг маси (добова потреба); IV – щури, яким вводили препарат ретинол ацетату в дозі 600 МО/кг (терапевтична доза); V – тварини, яким вводили щоденно дозу ретинол ацетату 1800 МО/кг з прогнозованим патогенним впливом препарату на організм щурів; VI – досліджуваним тваринам вводили комплекс препаратів  $\omega$ -3 ПНЖК і ретинол ацетату в дозі 60 МО/кг; VII – щурам вводили комплекс препаратів  $\omega$ -3 ПНЖК та ретинол ацетату в дозі 600 МО/кг; VIII – щурам вводили комплекс препаратів  $\omega$ -3 ПНЖК та ретинол ацетату в дозі 1800 МО/кг.

Всі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до Міжнародних правил проведення експериментів із тваринами та виконанням вимог Директиви 86/609/ЄЕС щодо питання захисту тварин. Евтаназію тварин здійснювали під легким

ефірним наркозом на 14-у добу після початку введення препаратів.

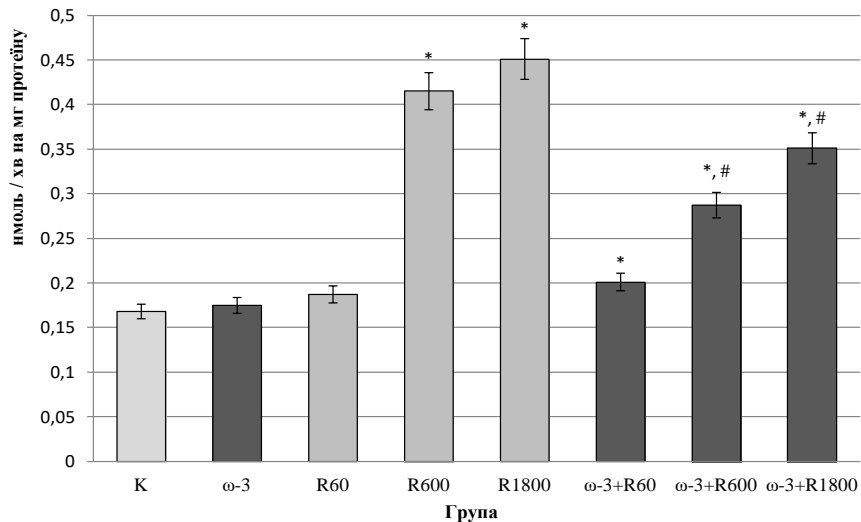
Цитозольну фракцію виділяли з гомогенату печінки методом диференційного центрифугування шляхом осадження внутрішньоклітинних органел. У цитозольній фракції визначали ксантиноксидазну активність та генерацію  $O_2^{\cdot-}$ .

Визначення загальної ксантиноксидазної активності проводили за кількістю сечової кислоти, що утворилася з гіпоксантину в ксантиноксидазній реакції (Сумбаев та ін., 1997). Значення ксантиноксидазної активності виражали в нмоль утвореної сечової кислоти за хв на 1 мг протеїну. Рівень ксантиндегідрогеназної (D-форми ензиму) і ксантиноксидазної (O-форми ензиму) визначали за методом, описаним у статті (Шмараков та ін., 2008). Для визначення активності D-форми обчислювали різницю в поглинанні за умов присутності та за відсутності в середовищі  $NAD^+$ . Активність O-форми визначали як різницю між загальною активністю ксантиноксидази та активністю її D-форми. Швидкість генерації супероксидного радикала визначали за швидкістю відновлення нітросинього тетразолію (НСТ) до гідрозин тетразолію. Утворений продукт реакції дає максимум поглинання при довжині хвилі 540 нм. Швидкість утворення  $O_2^{\cdot-}$  виражали в нмоль/хв на мг протеїну (Марченко та ін., 2012).

Отримані експериментальні дані обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Ст'юдента.

**Результати та їх обговорення.** Зміни співвідношення ензимних активностей дегідрогеназної та оксидазної форм ксантиноксидази можуть бути причиною розвитку в організмі патологічних процесів, оскільки ці ізоформи по-різному задіяні в окисно-відновних процесах у організмі (Cicero et al., 2021). На ці ж процеси можуть впливати і біологічно-активні есенціальні нутрієнти, які надходять в організм –  $\omega$ -3 ПНЖК і ретиноїди (Lin et al., 2017).

Результати проведених досліджень показали, що під час окремого введення  $\omega$ -3 ПНЖК у дозі 120 мг/кг або ретинол ацетату в дозі 60 МО/кг маси тварин не виявлено змін рівня загальної ензимної активності ксантиноксидази в цитозольній фракції печінки щурів порівняно і показником, характерним для інтактних тварин. Подібна картина спостерігалася і при комплексному застосуванні  $\omega$ -3 ПНЖК і ретинол ацетату в дозі 60 МО/кг, що є добовою потребою для організму (рис.1). Отже, отримані результати показують, що застосування фізіологічних доз  $\omega$ -3 ПНЖК і ретиноїдів не впливає на зміни ксантиноксидазної активності в цитозольній фракції печінки щурів.



**Рис.1.** Загальна ензимна активність ксантинооксидази в цитозольній фракції печінки щурів за дії ω-3 поліненасичених жирних кислот і ретиноїдів.

**Fig.1.** Total enzyme activity of xanthine oxidase in the cytosolic fraction of rat liver under the conditions of ω-3 polyunsaturated fatty acids and retinoids.

Примітка (тут і надалі): К (контроль) – інтактні тварини; ω-3 – щурі, яким вводили ω-3 ПНЖК; R<sub>60</sub>, R<sub>600</sub>, R<sub>1800</sub> – тварини, яким вводили ретинол ацетат у дозі 60 МО, 600 МО, 1800 МО відповідно; ω-3+R<sub>60</sub>, ω-3+R<sub>600</sub>, ω-3+R<sub>1800</sub> – щурі, яким вводили комплекс препаратів ω-3 ПНЖК та ретинол ацетату у дозах 60 МО, 600 МО, 1800 МО відповідно; \* – статистично достовірна різниця порівняно з показниками інтактних тварин ( $p \leq 0,05$ ); # – статистично достовірна різниця порівняно з показниками щурів, яким вводили ретинол ацетат у відповідній дозі без введення ω-3 ПНЖК ( $p \leq 0,05$ ); # – статистично достовірна різниця порівняно щурами-пухлиноносцями ( $p \leq 0,05$ ).

Note (hereinafter): K (control) – intact animals; ω-3 – rats injected with ω-3 PUFA; R<sub>60</sub>, R<sub>600</sub>, R<sub>1800</sub> – animals injected with retinol acetate at a dose of 60 IU, 600 IU, 1800 IU, respectively; ω-3+R<sub>60</sub>, ω-3+R<sub>600</sub>, ω-3+R<sub>1800</sub> – rats injected with a complex of ω-3 PUFAs and retinol acetate in doses of 60 IU, 600 IU, and 1800 IU, respectively; \* – statistically significant difference compared to the parameters of intact animals ( $p \leq 0,05$ ); # – statistically significant difference compared to the indicators of rats administered retinol acetate in the appropriate dose without administration of ω-3 PUFA ( $p \leq 0,05$ ).

Введення терапевтичної дози 600 МО/кг ретинол ацетату та максимальної добової дози 1800 МО/кг призводило до підвищення загальної ксантинооксидазної активності у 2,5 та 2,7 рази порівняно з показниками групи інтактних тварин (рис.1). Виявлені нами зміни підвищення ензимної активності досліджуваного ензиму можуть бути пов'язані з конформаційними перебудовами у протеїновому компоненті за дії високих доз ретиноїдів. Ключову роль у цьому процесі відіграє накопичення основних субстратів ксантинооксидази – гіпоксантину та ксантину через посилену деградацію пуринів у гепатоцитах під час патогенного впливу великих доз ретинол ацетату (Wan et al., 2021).

Комплексне застосування ω-3 ПНЖК та ретинол ацетату в дозах 600 МО/кг і 1800 МО/кг приз-

водило до зниження загальної ксантинооксидазної активності у порівнянні зі значеннями тварин, яким вводили окремо препарат ретинол ацетату у відповідних дозах, однак досліджуваний показник не був рівним з показниками інтактних тварин (рис.1). Імовірно, введення ω-3 ПНЖК знижує відомий цитотоксичний ефект високих доз ретиноїдів, які часто застосовують для лікування різних патологічних станів (Oliveira et al., 2015).

Поєднана коригувальна дія ω-3 ПНЖК та ретинол ацетату може бути зумовлена на рівні їхніх рецепторів. Так як природні компоненти ω-3 ПНЖК та їх метаболіти є одними з лігандів або агоністів ядерних рецепторів-активаторів проліферації пероксисом (PPAR) (Prince et al., 2014), то вони стимулюють утворення гетеродимерного комплексу PPAR із рецептором ретиноїду X

(RXR), що знижує цитотоксичність високих доз ретиноїдів (Strosznajder et al., 2021).

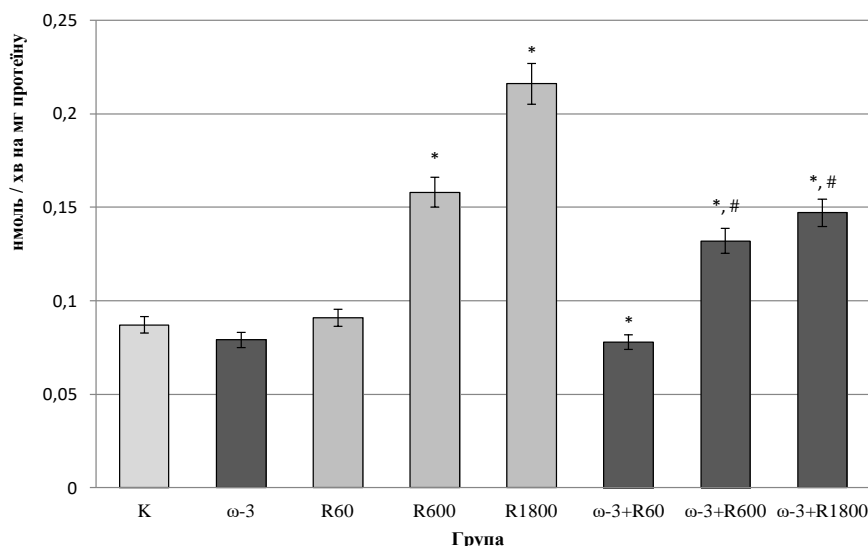
Підвищення загальної ферментативної активності може відбуватися за рахунок O- або D-форми. Результати досліджень активностей різних ізоформ ксантинооксидази показали, що за дії високих доз ретинол ацетату підвищується саме O-форма. Так, застосування ретинол ацетату в дозі 1800 МО/кг призводило до підвищення у 2,4 рази показника ензимної активності O-форми ксантинооксидази порівняно з показниками контрольної групи. Подібні результати спостерігалися при введенні ретинол ацетату в дозі 600 МО/кг, коли O-форма ксантинооксидази підвищувалася у 1,8 рази порівняно з показниками контролю (рис.2).

Підвищення O-форми ксантинооксидази ґрунтується на частковому аутоокисленні її сульфгідрильних груп, через що на протеїновій частині молекули відкривається ділянка для зв'язування елект-

ронів з молекулярним киснем. За таких конформаційних змін O-форма починає активніше продукувати АФК, що призводить до збільшення даного показника (Schmidt et al., 2019).

Оскільки O-форма ксантинооксидази здатна генерувати вільні кисневі радикали, то це може вказувати на ініціацію процесів окисного ураження клітин, які стимулюються високими дозами ретинол ацетату. Підвищення рівня оксидазної активності може призвести до багатьох патологічних станів включаючи запалення, ендотеліальні дисфункції, цитотоксичне ураження тканин, а також індукцію проліферації (Schmidt et al., 2019).

Комплексне застосування  $\omega$ -3 ПНЖК та ретинол ацетату в дозах 600 МО/кг та 1800 МО/кг призводило до зниження досліджуваного показника у 1,2 рази та 1,5 рази порівняно з показниками групи щурів, яким не вводили  $\omega$ -3 ПНЖК (рис.2).



**Рис.2.** Ензимна активність O-форми ксантинооксидази в цитозольній фракції печінки щурів за дії  $\omega$ -3 поліненасичених жирних кислот та ретиноїдів.

**Fig.2.** Enzymatic activity of xanthine oxidase O-form in the cytosolic fraction of rat liver under the conditions of  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids and retinoids.

Отже, введення  $\omega$ -3 ПНЖК знижує цитотоксичну дію високих доз ретиноїдів.

Підвищення ензимної активності O-форми ксантинооксидази в цитозольній фракції печінки щурів відбувається на фоні зниження активності її D-форми.

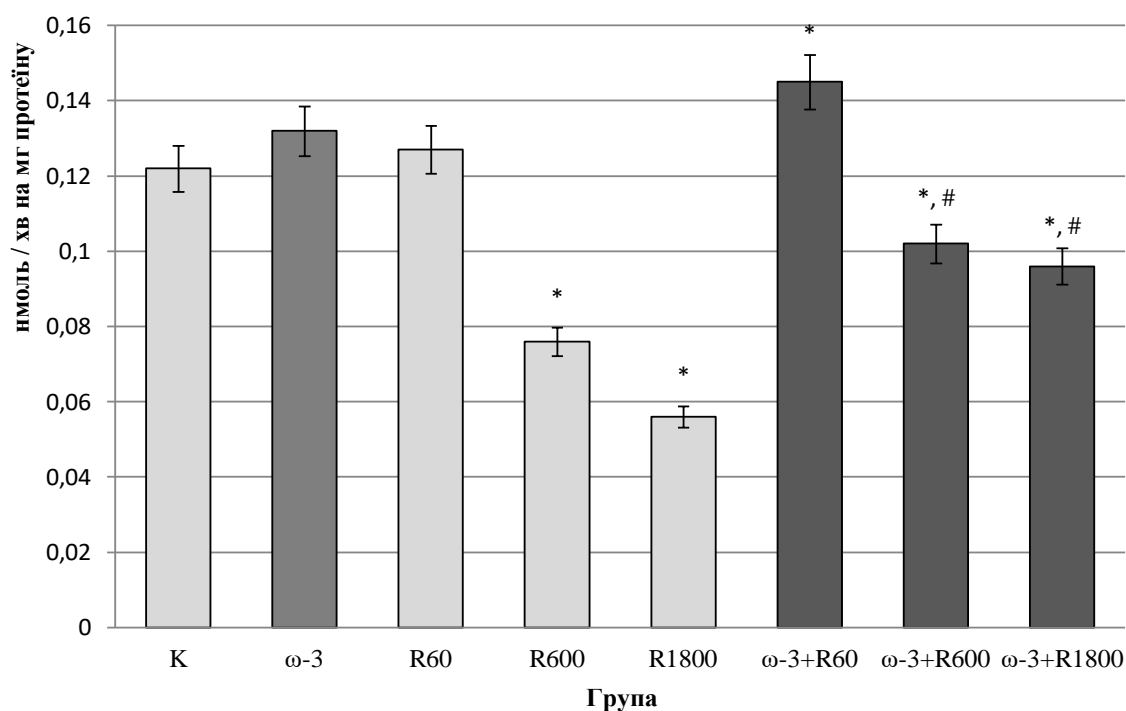
Аналіз результатів показав, що введення ретинол ацетату в дозах 600 МО/кг та 1800 МО/кг призводило до зниження досліджуваного показ-

ника у 1,6 рази та 2,2 рази у порівнянні із показниками групи інтактних щурів (рис.3). Ймовірно, значне зниження дегідрогеназної форми ксантинооксидази здійснюється за рахунок окислення SH-груп, при цьому D-форма перетворюється на O-форму та генерує АФК (Schmidt et al., 2019).

Введення  $\omega$ -3 ПНЖК поряд із високими дозами ретинол ацетату призводить до підвищення ензимної активності D-форми ксантинооксидази у

цитозольній фракції печінки щурів у 1,3 рази – при введенні  $\omega$ -3 ПНЖК і ретинол ацетату в дозі 600 МО/кг та у 1,7 рази – при введенні  $\omega$ -3 ПНЖК і ретинол ацетату в дозі 600 МО/кг (рис.3). Встановлений факт може бути пов'язаний із антиоксидантними властивостями  $\omega$ -3 ПНЖК. Так,  $\omega$ -3 ПНЖК можуть відновлювати індукований О-формою ксантиноксидази окисно-відновний дисбаланс у цитозолі клітин печінки. Це свідчить про

те, що  $\omega$ -3 ПНЖК сприяють перетворенню супероксид-аніону в  $H_2O_2$  за допомогою супероксид-дисмутази (СОД), захищаючи таким чином клітини печінки від атаки АФК. Окрім того, це вказує на те, що  $\omega$ -3 ПНЖК стимулюють каталазу з результатом розкладання  $H_2O_2$  на  $O_2$  і  $H_2O$  шляхом відділення пероксид-аніону (Lin et al., 2017).



**Рис.3.** Ензимна активність D-форми ксантиноксидази в цитозольній фракції печінки щурів за дії  $\omega$ -3 поліненасичених жирних кислот та ретиноїдів.

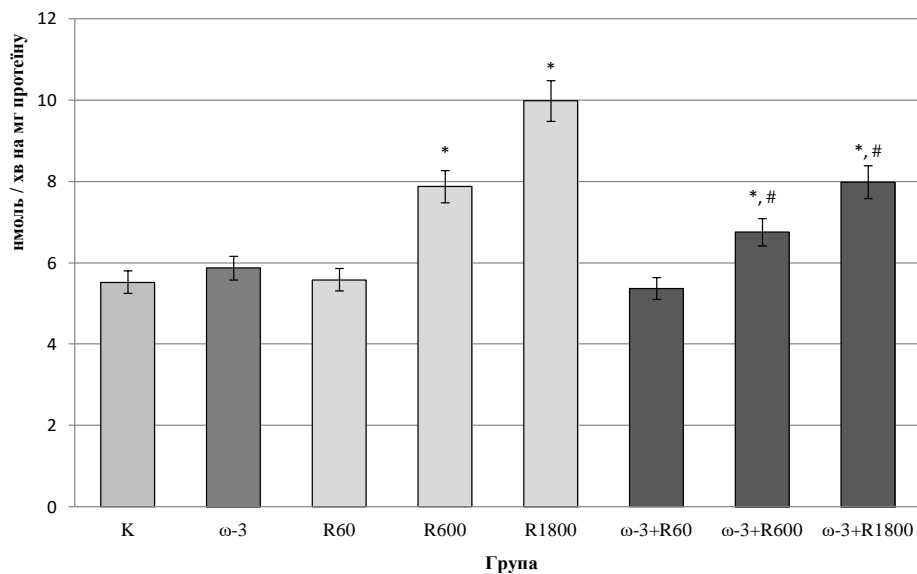
**Fig.3.** activity of xanthine oxidase D-form in the cytosolic fraction of rat liver under the conditions of  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids and retinoids.

Оскільки О-форма ксантиноксидази може генерувати  $O_2^{\cdot-}$ , то за підвищення цієї ізоформи у клітинах печінки можуть ініціюватися вільнорадикальні процеси. Щоб перевірити це припущення нами визначено швидкість утворення  $O_2^{\cdot-}$  у цитозольній фракції печінки щурів за дії різних доз ретиноїдів.

Результати проведених досліджень показали, що введення ретинол ацетату у дозі 60 МО/кг (добова потреба) не призводило до змін швидкості утворення  $O_2^{\cdot-}$  у цитозольній фракції клітин печінки порівняно з показниками контролю. Водночас, введення ретинол ацетату в дозі 600 МО/кг і в дозі 1800 МО/кг сприяло підвищенню швидкості утворення  $O_2^{\cdot-}$  у 1,4 рази і в 1,8 рази порівняно з показниками інтактних тварин відповідно (рис.4). Підвищення швидкості утворення  $O_2^{\cdot-}$  в цитозольній фракції печінки (рис.4) відбувається паралельно з підвищенням активності О-форми

ксантиноксидази (рис.2), що вказує на участь цієї ізоформи в індукції окисно-відновного дисбалансу в цитозолі клітин печінки за дії високих доз ретинол ацетату. Так, важливою особливістю ксантиноксидази є її здатність каталізувати окисно-відновні реакції та окислювати пуриновий субстрат, генеруючи при цьому супероксидний аніон-радикал (Masuoka et al., 2018).

Введення  $\omega$ -3 ПНЖК разом із ретинол ацетатом у дозі 600 МО/кг і 1800 МО/кг сприяло зниженню швидкості утворення  $O_2^{\cdot-}$  у цитозольній фракції печінки щурів порівняно із щурами, яким вводили лише ретинол ацетату у відповідних дозах (рис.4), що вказує на  $\omega$ -3-індукований окисно-відновний баланс. Зниження показника швидкості утворення  $O_2^{\cdot-}$ , ймовірно, опосередковується пригніченням шляху О-форма ксантиноксидази/  $O_2^{\cdot-}$ .



**Рис.4.** Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала в цитозольній фракції печінки щурів за дії ω-3 поліненасичених жирних кислот і ретиноїдів.

**Fig.4.** The rate of superoxide anion radical generation in the cytosolic fraction of rat liver under the conditions of ω-3 polyunsaturated fatty acids and retinoids.

**Висновок.** Введення високих доз ретинол ацетату – 600 МО/кг і 1800 МО/кг, призводить до підвищення загальної ензимної активності ксантиноксидази за рахунок підвищення рівня активності її О-форми з одночасним зниженням активності D-форми. Виявлені зміни супроводжуються генерацією супероксидного аніон-радикалу О-формою у цитозольній фракції печінки щурів. Застосування ω-3 ПНЖК поряд з ретинол ацетатом сприяє наближенню досліджуваних показників до значень інтактних тварин.

#### Список літератури:

1. Марченко М.М., Кеца О.В. Генерація супероксидного радикала компонентами монооксигеназної системи печінки попередньо опромінених щурів-пухлиноносіїв. *Укр. біохім. журн.* 2012; 84(6):95-102.
2. Сумбаев В. В., Розанов А. Я. Исследование in vitro регуляции активности ксантиноксидазы печени крыс восстановителями-антиоксидантами. *Укр. біохім. журн.* 1997; 69 (5):198-201.
3. Шмарак І.О., Марченко М.М. Ксантиноксидазна активність у тканинах печінки щурів у процесі онкогенезу. *Укр. біохім. журн.* 2008; 80(6):86-91.
4. Cicero A.F.G., Fogacci F., Cincione R.I., Tocci G., Borghi C. Clinical effects of xanthine oxidase inhibitors in hyperuricemic patients. *Med Princ Pract.* 2021;30(2):122-130. doi: 10.1159/000512178.
5. Dissanayake L.V., Zietara A., Levchenko V., Spires D.R., Burgos Angulo M., El-Meanawy A., Geurts A.M., Dwinell M.R., Palygin O., Staruschenko A. Lack of xanthine dehydrogenase leads to a remarkable renal decline in a novel hypouricemic rat model. *iScience.* 2022;25(9):104887. doi: 10.1016/j.isci.2022.104887.
6. Furuhashi M. New insights into purine metabolism in metabolic diseases: role of xanthine oxidoreductase activity. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2020;319(5):E827-E834. doi: 10.1152/ajpendo.00378.2020.
7. Kaur G., Singh A., Arora G., Monga A., Jassal A.K., Uppal J., Bedi P.M.S., Bora K.S. Synthetic heterocyclic derivatives as promising xanthine oxidase inhibitors: An overview. *Chem Biol Drug Des.* 2022;100(3):443-468. doi: 10.1111/cbdd.14109.
8. Lin G., Zhu S., Wu Y., Song C., Wang W., Zhang Y., Chen Y.L., He Z. ω-3 free fatty acids and all-trans retinoic acid synergistically induce growth inhibition of three subtypes of breast cancer cell lines. *Sci Rep.* 2017;7(1):2929. doi: 10.1038/s41598-017-03231-9.
9. Masuoka N., Kubo I. Characterization of the xanthine oxidase inhibitory activity of alk(en)yl phenols and related compounds. *Phytochemistry.* 2018;155:100-106. doi: 10.1016/j.phytochem.2018.07.006.
10. Oliveira M.R. The neurotoxic effects of vitamin A and retinoids. *An Acad Bras Cienc.* 2015;87(2 Suppl):1361-73. doi: 10.1590/0001-3765201520140677.

11. Pang X.Y., Wang S., Jurczak M.J., Shulman G.I., Moise A.R. Retinol saturase modulates lipid metabolism and the production of reactive oxygen species. *Arch Biochem Biophys.* 2017;633:93-102. doi: 10.1016/j.abb.2017.09.009.
12. Prince E., Lazare F.B., Treem W.R., Xu J., Iqbal J., Pan X., Josekutty J., Walsh M., Anderson V., Hussain M.M., Schwarz S.M.  $\omega$ -3 fatty acids prevent hepatic steatosis, independent of PPAR- $\alpha$  activity, in a murine model of parenteral nutrition-associated liver disease. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2014;38(5):608-16. doi: 10.1177/0148607113491436.
13. Schmidt H.M., Kelley E.E., Straub A.C. The impact of xanthine oxidase (XO) on hemolytic diseases. *Redox Biol.* 2019;21:101072. doi: 10.1016/j.redox.2018.101072.
14. Strosznajder A.K., Wójtowicz S., Jeżyna M.J., Sun G.Y., Strosznajder J.B. Recent insights on the role of PPAR- $\beta/\delta$  in neuroinflammation and neurodegeneration, and its potential target for therapy. *Neuromolecular Med.* 2021;23(1):86-98. doi: 10.1007/s12017-020-08629-9.
15. Tsiokou V., Kilindris T., Begas E., Kouvaras E., Kouretas D., Asproдини E.K. Altered activity of xenobiotic detoxifying enzymes at menopause - A cross-sectional study. *Environ Res.* 2020;182:109074. doi: 10.1016/j.envres.2019.109074.
16. Vickneson K, George J. Xanthine oxidoreductase inhibitors. *Handb Exp Pharmacol.* 2021;264:205-228. doi: 10.1007/164\_2020\_383.
17. Wan Y., Qian J., Li Y., Shen Y., Chen Y., Fu G., Xie M. Inhibitory mechanism of xanthine oxidase activity by caffeoylquinic acids in vitro. *Int J Biol Macromol.* 2021;184:843-856. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.06.075.
18. Yin Y., Sui C., Meng F., Ma P., Jiang Y. The omega-3 polyunsaturated fatty acid docosahexaenoic acid inhibits proliferation and progression of non-small cell lung cancer cells through the reactive oxygen species-mediated inactivation of the PI3K /Akt pathway. *Lipids Health Dis.* 2017;16(1):87. doi: 10.1186/s12944-017-0474-x.
- inhibitors in hyperuricemic patients. *Med Princ Pract.* 2021;30(2):122-130. doi: 10.1159/000512178.
5. Dissanayake L.V., Zietara A., Levchenko V., Spires D.R., Burgos Angulo M., El-Meanawy A., Geurts A.M., Dwinell M.R., Palygin O., Staruschenko A. Lack of xanthine dehydrogenase leads to a remarkable renal decline in a novel hypouricemic rat model. *Science.* 2022;25(9):104887. doi: 10.1016/j.isci.2022.104887.
6. Furuhashi M. New insights into purine metabolism in metabolic diseases: role of xanthine oxidoreductase activity. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2020;319(5):E827-E834. doi: 10.1152/ajpendo.00378.2020.
7. Kaur G., Singh A., Arora G., Monga A., Jassal A.K., Uppal J., Bedi P.M.S., Bora K.S. Synthetic heterocyclic derivatives as promising xanthine oxidase inhibitors: An overview. *Chem Biol Drug Des.* 2022;100(3):443-468. doi: 10.1111/cbdd.14109.
8. Lin G., Zhu S., Wu Y., Song C., Wang W., Zhang Y., Chen Y.L., He Z.  $\omega$ -3 free fatty acids and all-trans retinoic acid synergistically induce growth inhibition of three subtypes of breast cancer cell lines. *Sci Rep.* 2017;7(1):2929. doi: 10.1038/s41598-017-03231-9.
9. Masuoka N., Kubo I. Characterization of the xanthine oxidase inhibitory activity of alk(en)yl phenols and related compounds. *Phytochemistry.* 2018;155:100-106. doi: 10.1016/j.phytochem.2018.07.006.
10. Oliveira M.R. The neurotoxic effects of vitamin A and retinoids. *An Acad Bras Cienc.* 2015;87(2 Suppl):1361-73. doi: 10.1590/0001-3765201520140677.
11. Pang X.Y., Wang S., Jurczak M.J., Shulman G.I., Moise A.R. Retinol saturase modulates lipid metabolism and the production of reactive oxygen species. *Arch Biochem Biophys.* 2017;633:93-102. doi: 10.1016/j.abb.2017.09.009.
12. Prince E., Lazare F.B., Treem W.R., Xu J., Iqbal J., Pan X., Josekutty J., Walsh M., Anderson V., Hussain M.M., Schwarz S.M.  $\omega$ -3 fatty acids prevent hepatic steatosis, independent of PPAR- $\alpha$  activity, in a murine model of parenteral nutrition-associated liver disease. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2014;38(5):608-16. doi: 10.1177/0148607113491436.
13. Schmidt H.M., Kelley E.E., Straub A.C. The impact of xanthine oxidase (XO) on hemolytic diseases. *Redox Biol.* 2019;21:101072. doi: 10.1016/j.redox.2018.101072.
14. Strosznajder A.K., Wójtowicz S., Jeżyna M.J., Sun G.Y., Strosznajder J.B. Recent insights on the role of PPAR- $\beta/\delta$  in neuroinflammation and neurodegeneration, and its potential target for therapy. *Neuromolecular Med.* 2021;23(1):86-98. doi: 10.1007/s12017-020-08629-9.
15. Tsiokou V., Kilindris T., Begas E., Kouvaras E., Kouretas D., Asproдини E.K. Altered activity of xenobiotic detoxifying enzymes at menopause - A cross-sectional study. *Environ Res.* 2020;182:109074. doi: 10.1016/j.envres.2019.109074.
16. Vickneson K, George J. Xanthine oxidoreductase inhibitors. *Handb Exp Pharmacol.* 2021;264:205-228. doi: 10.1007/164\_2020\_383.

## References:

1. Marchenko MM, Ketsa OV. The generation of superoxide anion-radical in liver monoxygenase system of preliminary radiation-exposed tumor-bearing rats. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2012; 84(6): 95–102. (In Ukrainian).
2. Sumbaev V. V., Rozanov A. Ya. Yssledovanye in vitro rehuliyatsyy aktyvnosty ksantynoksydazy pecheny krys vosstanovyteliamy-antyoksydantamy. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 1997; 69 (5):198-201. (InUkrainian).
3. Shmarakov IO, Marchenko MM. Xanthine oxydase activity in the rat liver tissue in the process oncogenesis. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2008; 80(6): 86–91. (InUkrainian).
4. Cicero A.F.G., Fogacci F., Cincione R.I., Tocci G., Borghi C. Clinical effects of xanthine oxidase

17. Wan Y., Qian J., Li Y., Shen Y., Chen Y., Fu G., Xie M. Inhibitory mechanism of xanthine oxidase activity by caffeoylquinic acids in vitro. *Int J Biol Macromol.* 2021;184:843-856. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.06.075.
18. Yin Y., Sui C., Meng F., Ma P., Jiang Y. The omega-3 polyunsaturated fatty acid docosahexaenoic acid inhibits proliferation and progression of non-small cell lung cancer cells through the reactive oxygen species-mediated inactivation of the PI3K /Akt pathway. *Lipids Health Dis.* 2017;16(1):87. doi: 10.1186/s12944-017-0474-x.

## **ENZYMATIC ACTIVITY OF THE DEHYDROGENASE AND OXIDASE FORMS OF XANTHINOXIDASE IN THE LIVER OF RATS UNDER THE CONDITIONS OF $\omega$ -3 POLYUNSATURATED FATTY ACIDS AND RETINOIDS**

**O. V. Ketsa, M. M. Marchenko**

*The effect of retinoid different doses in a complex with  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) on the enzyme activity of dehydrogenase (D-form – xanthine:NAD<sup>+</sup>-oxidoreductase, EC 1.17.1.4) and oxidase (O-form – xanthine: oxygen oxidoreductase, EC 1.17.3.2) isoforms of xanthine oxidase and the generation of superoxide radical (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) in the liver cytosolic fraction of rat are studied. Animals were divided into four groups: I – intact animals (control); II – rats injected with  $\omega$ -3 PUFA at a dose of 120 mg/kg of animal weight; III, IV, V – animals administered retinol acetate at a dose of 60 IU/kg, 600 IU/kg, 1800 IU/kg, respectively; VI, VII, VIII – rats that were injected with a complex of  $\omega$ -3 PUFAs and retinol acetate in doses of 60 IU/kg, 600 IU/kg, and 1800 IU/kg, respectively. Euthanasia of animals was performed under light ether anesthesia on the 14th day after the start of drug administration. It was established increase in total xanthine oxidase activity by 2.5 and 2.7 times compared to the values of the group of intact animals under the administering of a therapeutic dose of 600 IU/kg of retinol acetate and a maximum daily dose of 1800 IU/kg, respectively. The combined use of  $\omega$ -3 PUFA and retinol acetate in doses of 600 IU/kg and 1800 IU/kg led to a decrease in the total xanthine oxidase activity in comparison with the values of animals that were administered the retinol acetate preparation separately in the corresponding doses. It is shown that the increase in the total activity of xanthine oxidase occurs due to the increase in the activity level of its O-form with a simultaneous decrease in the activity of the D-form. An increase of O-form xanthine oxidase activity in the liver cytosolic fraction the occurs in parallel with an increase in the rate of O<sub>2</sub><sup>•-</sup> formation. This indicates the participation of this isoform in the induction of redox imbalance in the cytosol of liver cells under the influence of high doses of retinol acetate. The use of  $\omega$ -3 PUFA along with retinol acetate contributes to the studied indicators normalization.*

*Keywords: xanthine oxidase, superoxide radical, liver cytosolic fraction, retinol acetate,  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids.*

*Отримано редколегією 05.03.2022 р.*