

DOI 10.31718/2077-1096.21.4.164

УДК 611.7:612.08:599.323.4

Френкель Ю.Д., Черно В.С., Костенко В.О.

## ПОЛІФЕНОЛИ ЯК ЗАСОБИ КОРЕКЦІЇ ОКСИДАТИВНО-НІТРОЗАТИВНОГО СТРЕСУ В СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ

Чорноморський національний університет імені Петра Могили, м. Миколаїв,  
Полтавський державний медичний університет

Дослідження були проведені на 35-х білих щурах-самцях лінії Вістар масою 215-255 г, розподілених на 5 груп: інтактні тварини (1-ша група, контроль I); тваринам інших груп упродовж часу цілодобового освітлення (1500 лк протягом останніх 30 діб експерименту) на тлі вуглеводно-ліпідної дієти (60 діб) щоденно внутрішньошлунково через зонд вводили 1 мл 20%-го водного розчину фруктози (2-га група, «плацебо», контроль II), епігалокатехін-3-галат (3-тя група, денна доза 40 мг/кг), кверцетин (4-та група, денна доза 200 мг/кг) та ресвератрол (5-та група, денна доза 5 мг/кг). Поліфеноли вводили разом з вуглеводами – 20%-м водним розчином фруктози, що збільшувало їхню розчинність і біодоступність. Відтворення моделі метаболічного синдрому (МС) супроводжувалося розвитком ознак оксидативно-нітрозативного стресу в м'язах стегна: збільшенням у них генерування супероксидного аніон-радикала НАДФН- і НАДН-залежними електронно-транспортними системами (мікросомальними монооксигеназами та NO-синтазою, дихальним ланцюгом мітохондрій), активності NO-синтази за рахунок її індукційного ізоферменту, концентрації пероксинітритів. Введення поліфенолів (епігалокатехіну-3-галату, кверцетину та ресвератролу) при моделюванні МС ефективно обмежувало у м'язах стегна ознаки оксидативно-нітрозативного стресу, що підтверджувалося зменшенням вироблення супероксидного аніон-радикала НАДФН- і НАДН-залежними електронно-транспортними системами та конститутивною ізоформою NO-синтази, падінням активності NO-синтази за рахунок її індукційної ізоформи та зменшенням концентрації пероксинітритів. Зроблено висновок, що здатність біофлавоноїдів та ресвератролу обмежувати оксидативно-нітрозативний стрес у скелетних м'язах за умов експерименту обґрунтовує доцільність подальшого їх дослідження як безпечних засобів лікування та попередження метаболічного синдрому, пов'язаного з дією таких його чинників, як «дієта західного типу» та порушення світлового режиму.

Ключові слова: експериментальний метаболічний синдром, цілодобове освітлення, вуглеводно-ліпідна дієта, поліфеноли, епігалокатехін-3-галат, кверцетин, ресвератрол, оксидативно-нітрозативний стрес, скелетні м'язи.

Робота є фрагментом НДР Чорноморського національного університету імені Петра Могили «Роль екологічно-небезпечних чинників у механізмах розвитку хвороб цивілізації» (№ державної реєстрації 0120U002026).

Порушення циркадіанних ритмів, пов'язані зі змінами тривалості циклів «світло - темрява», розладами світлового режиму, часу сну, вживанням їжі у другій половині дня, в наш час розглядають як один з головних чинників метаболічного синдрому (МС) [1]. Примітно, що вразі поєднаної дії цілодобового освітлення (ЦО) та 60-денного знаходження щурів на висококалорійній вуглеводно-ліпідній дієті (ВЛД, 20 % розчин фруктози та відповідний раціон) інтенсивність метаболічних порушень збільшується: зростає рівень гіпомелатоніємії, гіперінсулінемії, дисліппротеїнемії, гіпо- $\alpha$ -ліпопротеїнемії, гіпертриацилгліцеролемії, підвищується маса вісцерального жиру [2]. Примітно, що ці розлади у повній мірі не компенсуються призначенням мелатоніну [3], що, вочевидь, пов'язано з саморозвитком ендогенних механізмів формування МС за принципом формування «патологічної системи», детермінантою якої може бути тривала активація редокс-чутливих транскрипційних факторів, зокрема NF- $\kappa$ B [4, 5]. Введення інгібітора активації останнього – піролідиндитіокарбамату амонію, за нашими даними, суттєво обмежувало розлади вуглеводного та ліпідного метаболізму, а також гальмувало розвиток системної запальної відповіді (прозапальну гіперцитокінемію та реакцію гострої фази) [6]. Застосування цієї речовини

значно зменшувало у тканинах інсуліночутливих органів (скелетних м'язів, печінки) вироблення маркерів оксидативно-нітрозативного стресу – активних форм кисню та азоту (АФК / АФА) [7]. Проте піролідиндитіокарбамат амонію виявляє низку побічних ефектів, зокрема, генотоксичність [8], що потребує знаходження нових потенціальних лікарських засобів серед модуляторів редокс-чутливих транскрипційних факторів, що відрізняються достатнім профілем безпеки.

Прикладом таких сполук можуть бути представники рослинних поліфенолів, зокрема, біофлавоноїди – епігалокатехін-3-галат (EGCG), активний компонент зеленого чаю (*Camellia sinensis*), та кверцетин, здатні пригнічувати активність 26S протеасоми [9, 10], внаслідок чого порушується убіквітинзалежний протеоліз інгібіторного білка I $\kappa$ B та подальша транслокація білків родини NF- $\kappa$ B у ядро [11]. Всі наведені вище поліфеноли активують сигнальну систему Nrf2 – антиоксидант респонсивний елемент (ARE), що є антагоністичною щодо NF- $\kappa$ B [12, 13]. Раніше було виявлено, що застосування EGCG та водорозчинної форми кверцетину (корвітину) при відтворенні ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді зменшувало такі NF- $\kappa$ B-залежні процеси, як гіперінсулінемія, інсулінорезистентність (IP) та оксидативно-нітрозативний

стрес [14-16].

Іншим перспективним модулятором транскрипційних факторів є стильбеніоїд ресвератрол, який впливає на реакції деацетилювання білків, опосередковані сиртуїном-1, мішенями якого є транскрипційні фактори NF-κB, FoxO 1 і 3, STAT-3, p53, HES2, PPAR-γ та транскрипційний коактиватор останнього PGC-1α [17]. Нещодавно виявлено здатність ресвератролу активувати сигнальну систему Nrf2 / ARE [18].

Це дає підстави сподіватися на позитивну дію цих поліфенолів на метаболізм інсуліночутливих органів, якими є скелетні м'язи.

Метою роботи було з'ясування впливу поліфенолів (EGCG, кверцетину та ресвератролу) на показники оксидативно-нітрозативного стресу в м'язах стегна щурів за умов експериментального МС.

### Матеріал та методи дослідження

Дослідження були проведені на 35-х білих щурах-самцях лінії Вістар масою 215-255 г, розподілених на 5 груп: інтактні тварини (1-ша група, контроль I), тваринам інших груп протягом часу ЦО на тлі ВЛД щоденно вводили внутрішньошлунково через зонд 1 мл 20%-й водний розчин фруктози (2-га група, «плацебо», контроль II), EGCG (3-тя група, денна доза 40 мг/кг), кверцетин (4-та група, денна доза 200 мг/кг) та ресвератрол (5-та група, денна доза 5 мг/кг). Країна походження сполук – США (фірма "Sigma-Aldrich, Inc."). Поліфеноли вводили разом з вуглеводами – 20%-м водним розчином фруктози (країна походження – США, торгова марка "Vitamin", виробник – Україна), що збільшувало їхню розчинність і біодоступність [10].

Для моделювання МС щурам протягом 2-х місяців призначали ВЛД, що складається з 20% водного розчину фруктози для пиття і раціону харчування згідно з описом до патенту України на корисну модель [19]. Окрім того, тварин, починаючи з 30 доби експерименту, піддавали цілодобовому освітленню інтенсивністю 1500 лк упродовж наступних 30 днів. Щурів декапітували під етерним наркозом.

Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала ( $O_2^-$ ) у гомогенаті м'язів стегна оцінювали спектрофотометрично при проведенні тесту з нітросинім тетразолиєм з індукторами у ви-

гляді відновленого нікотинамідаденіндинуклеотиду (НАДН) і нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату (НАДФН), а також ліпополісахариду *Salmonella typhi* (препарат «Пірогенал», фірма

«Медгамал», Росія). Оцінювали продукцію  $O_2^-$  НАДФН-залежними (мікосомальним і NO-синтазним) електронно-транспортними ланцюгами (ЕТЛ), НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ і НАДФН-оксидазою лейкоцитів, відповідно [20].

Активність загальної NO-синтази (NOS) [6], її конститутивної ізоформи (cNOS) [21] у гомогенаті м'язів стегна досліджували спектрофотометрично. Активність індукцибельної ізоформи цього ферменту (iNOS) визначали за формулою: активність iNOS = активність загальної NOS – активність cNOS. Для оцінки здатності cNOS у не-

спряженому стані продукувати  $O_2^-$  розраховували індекс спряження cNOS як відношення активності cNOS до швидкості вироблення  $O_2^-$  НАДФН-залежними ЕТЛ. Утворення пероксинітриту оцінювали за вмістом пероксинітритів лужних та лужноземельних металів [22].

Отримані результати статистично обробляли з використанням пакету програм Microsoft Office Excel з розширенням Real Statistics 2019 з використанням Shapiro-Wilk тесту для перевірки нормальності дисперсій. Оскільки всі вибірки мали нормальний розподіл використовували параметричний метод дисперсійного аналізу ANOVA з наступним попарним порівнянням груп за Student's t-критерієм для незалежних вибірок та аналізом за Tukey's HSD (Honestly Significant Difference) процедурою. Для уникнення феномену множинних порівнянь була використана поправка за Dunn-Šidák. Різницю вважали статистично значущою при  $p < 0.05$ .

### Результати дослідження та їх обговорення

Відтворення моделі МС (ЦО + ВЛД) супроводжувалося вірогідним збільшенням у гомогенаті м'язів стегна генерування  $O_2^-$  мікосомальними монооксигеназами та NOS – на 95.4%, дихальним ланцюгом мітохондрій – на 98.0% порівняно з контролем I (табл. 1).

Таблиця 1.

Вплив поліфенолів на вироблення супероксидного аніон-радикала різними джерелами у гомогенаті м'язів стегна за умов експериментального метаболічного синдрому (M±m)

Джерела генерації $O_2^-$ , нмоль/г·с	Інтактні тварини (контроль I)	Сполуки, які вводили за умов цілодобового освітлення тварин та вуглеводно-ліпідної дієти			
		«Плацебо» (контроль II)	EGCG	Кверцетин	Ресвератрол
Мікосомальні монооксигенази та NO-синтазою	15.48±0.24	30.25±0.85 *	17.28±0.42 **,*	17.01±0.37 **,*	16.57±0.47 **
Дихальний ланцюг мітохондрій	14.42±0.23	28.55±0.97 *	16.54±0.40 **,*	17.27±0.53 **,*	16.80±0.65 **,*

Примітка (тут і в табл. 2): \* –  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 1-ї групи (контролю I);

\*\* –  $P < 0.05$  порівняно зі значеннями 2-ї групи (контролю II).

Введення EGCG і кверцетину за умов експерименту зменшувало у гомогенаті м'язів стегна генерування  $\cdot\text{O}_2^-$  мікосомальними монооксигеназами та NOS – на 42.9 і 43.8%, дихальним ланцюгом мітохондрій – на 42.1 і 39.5% відповідно (всі при  $p < 0.001$ ) порівняно з відповідними результатами контролю II.

При застосуванні ресвератролу за цих умов вироблення  $\cdot\text{O}_2^-$  у гомогенаті м'язів НАДФН- і НАДН-залежними електронно-транспортними системами було нижчим за значення 2-ї групи – на 45.2 і 41.2% відповідно (обидва при  $p < 0.001$ ).

У наш час оксидативний стрес визнаний як ключовий механізм IP [23]. АФК, такі як  $\cdot\text{O}_2^-$ , пероксид водню та гідроксильні радикали, є агентами оксидативного стресу і виробляються у низьких фізіологічних концентраціях переважно в мітохондріях і мікосомах [24]. Мітохондріальні розлади вважаються важливою причиною накопичення «токсичних» ліпідних метаболітів і, як наслідок, резистентності скелетних м'язів до інсуліну, при цьому мітохондріальна дисфункція не є ранньою подією в розвитку IP, а розглядається скоріше як ускладнення гіперпродукування АФК, спричиненого гіперліпідемією, що сприяє змінам функціонального стану дихального ланцюга мітохондрій, накопиченню ліпідів та пригніченню дії інсуліну [25]. Дослідники виявили, що різні шляхи розвитку IP можуть діяти синергетично, оскільки вироблення АФК мітохондріями та іншими джерелами призводить до мітохондріальної дисфункції, яка, в свою чергу, ще більше збільшує генерування АФК, що утворює шкідли-

ву петлю позитивного зворотного зв'язку.

АФК здатні активувати NF- $\kappa$ B через механізм, що включає I $\kappa$ B $\alpha$ , фосфорилування тирозину, фосфорилування серину та/або треоніну з подальшим фосфорилуванням білків родини NF- $\kappa$ B, наприклад, p65 (ser529) [26]. Активація NF- $\kappa$ B супроводжується розвитком усіх компонентів MC (IP, вісцерального ожиріння, дисліпопротеїнемії, системної запальної відповіді, артеріальної гіпертензії, ендотеліальної дисфункції та ін.)

[27-29]. Тому, обмеження вироблення  $\cdot\text{O}_2^-$  у інсулінчутливих органах при застосуванні поліфенолів, здатних пригнічувати NF- $\kappa$ B-сигналізацію та індукувати антагоністичну щодо неї сигнальну систему Nrf2 / ARE, може розглядатися як дієва технологія попередження прогресування MC.

Знаходження щурів на ЦО та ВЛД вірогідно збільшувало у гомогенаті м'язів стегна загальну активність NOS – у 1.93 раза, активність її індукцйбельного ізоферменту – в 2.16 раза (обидва при  $p < 0.001$ ) порівняно з контролем I (табл. 2). Активність cNOS, навпаки, знижувалася – в 1.73 раза ( $p < 0.001$ ). При цьому індекс її спряження в 1.85 раза ( $p < 0.001$ ) поступався даними контролю I, що вказує на можливість cNOS у неспряжено-

му стані виробляти  $\cdot\text{O}_2^-$  замість оксиду азоту (NO). Це відбувається за умов нестачі необхідних для функціонування ферменту субстратів і кофакторів (L-аргініну, кисню, тетрагідробіоптерину) [30].

Вміст пероксинітритів лужних та лужноземельних металів, що утворюються за наявності у середовищі вмісту  $\cdot\text{O}_2^-$  та NO, збільшувався у гомогенаті м'язів стегна в 1.74 раза ( $p < 0.001$ ).

Таблиця 2  
Вплив поліфенолів на утворення активних форм азоту в гомогенаті м'язів стегна за умов експериментального метаболічного синдрому (M $\pm$ m)

Показники	Інтактні тварини (контроль I)	Сполуки, які вводили за умов цілодобового освітлення тварин та вуглеводно-ліпідної дієти			
		«Плацебо» (контроль II)	EGCG	Кверцетин	Ресвератрол
Загальна активність NOS, мкмоль $\text{NO}_2^-$ / г-хв.	4.23 $\pm$ 0.24	8.17 $\pm$ 0.39 *	4.39 $\pm$ 0.61 **	5.06 $\pm$ 0.39 **	4.51 $\pm$ 0.62 **
Активність cNOS, мкмоль $\text{NO}_2^-$ / г-хв.	0.52 $\pm$ 0.07	0.14 $\pm$ 0.03 *	0.43 $\pm$ 0.01 **	0.41 $\pm$ 0.02 **	0.42 $\pm$ 0.01 **
Активність iNOS, мкмоль $\text{NO}_2^-$ / г-хв.	3.71 $\pm$ 0.25	8.03 $\pm$ 0.38 *	3.96 $\pm$ 0.60 **	4.65 $\pm$ 0.39 **	4.09 $\pm$ 0.63 **
Індекс спряження cNOS	0.033 $\pm$ 0.004	0.005 $\pm$ 0.001 *	0.025 $\pm$ 0.001 **	0.024 $\pm$ 0.001 **, **	0.025 $\pm$ 0.001 **
Вміст пероксинітритів лужних та лужноземельних металів, мкмоль/г	1.05 $\pm$ 0.04	1.83 $\pm$ 0.07 *	1.25 $\pm$ 0.04 **, **	1.18 $\pm$ 0.04 **, **	1.18 $\pm$ 0.04 **, **

Зменшення під впливом поліфенолів продукції  $\cdot\text{O}_2^-$  та NO закономірно обмежує утворення інших високотоксичних АФК / АФА, зокрема, пероксинітритів. У свою чергу, зростання спряження cNOS покращує утворення NO, що виконує не

цитотоксичну, як це відбувається за умов NF- $\kappa$ B-залежної активації iNOS, а сигнальну функцію.

### Висновки

1. Відтворення моделі метаболічного синдрому шляхом поєднаної дії цілодобового освіт-

лення та 60-денного знаходження щурів на висококалорійній вуглеводно-ліпідній дієті (20 % розчин фруктози та відповідний раціон) супроводжується розвитком ознак оксидативно-нітрозативного стресу в м'язах стегна: збільшенням у них генерування супероксидного аніон-радикала НАДФН- і НАДН-залежними електронно-транспортними системами (мікросомальними монооксигеназами та NO-синтазою, дихальним ланцюгом мітохондрій), активності NO-синтази за рахунок її індукційного ізоферменту, концентрації пероксинітритів.

2. Введення поліфенолів (епігалокатехину-3-галату, кверцетину та ресвератролу) при відтворенні моделі метаболічного синдрому є ефективним засобом обмеження у м'язах стегна ознак оксидативно-нітрозативного стресу, що підтверджується зменшенням вироблення супероксидного аніон-радикала НАДФН- і НАДН-залежними електронно-транспортними системами та конститутивною ізоформою NO-синтази, падінням активності NO-синтази за рахунок її індукційної ізоформи та зменшенням концентрації пероксинітритів.

3. Здатність біофлавоноїдів та ресвератролу обмежувати оксидативно-нітрозативний стрес у скелетних м'язах за умов експерименту обґрунтовує доцільність подальшого їх дослідження як безпечних засобів лікування та попередження метаболічного синдрому, пов'язаного з дією таких його чинників, як «дієта західного типу» та порушення світлового режиму.

### Література

1. Kaydashev IP. Rol' molekulyarnykh chasov tsirkadiannykh ritmov v patogeneze metaboličeskogo sindroma [The role of the molecular clock of circadian rhythms in the pathogenesis of metabolic syndrome]. *Endokrynolohiya*. 2020;25(2):158-170. (Russian).
2. Belikova OI, Chernov VS, Frenkel' YuD, Kostenko VO. Vplyv khronichnoyi hipomelatoninemiyi na vuhlevodnyy i lipidnyy obmin za umov pryznachennya shchuram «diyety zakhidnoho typu» [Influence of chronic hypomelatoninemia on carbohydrate and lipid metabolism of rats kept on "Western pattern diet"]. *Fiziol Zhurn*. 2018;64(3):52-60. (Ukrainian).
3. Belikova OI, Chernov VS, Kostenko VO. Poyednanyy vplyv melatoninu ta metforminu hidrokhlorydu na biokhimični markery syndromu insulinorezystentnosti v umovakh eksperymental'noho hipopinealizmu [Effects produced by co-administration of melatonin and metformin hydrochloride on biochemical markers of insulin resistance syndrome in modeled hypopinealism]. *Farmakolohiya ta likars'ka toksykolohiya*. 2017;(4-5):57-65. (Ukrainian).
4. Frenkel' YuD, Chernov VS. Rol' transkripsionnogo yadernogo faktora kB v mekhanizmkh narusheniy oksylitel'nogo metabolizma v golovnom mozge krysa pri khronicheskoy gipomelatoninemii [Role of transcription nuclear factor kB in mechanisms impairing oxidative metabolism in rats brain under chronic hypomelatoninemia]. *Georgian Med News*. 2014 Jul-Aug;(232-233):99-102. (Russian).
5. Yavtushenko IV, Kostenko VO. Pryhichennyya transkryptsyinykh chynnykyv NF kappa B ta AP-1 obmezhuje rozvytok oksydnitrozatyvnoho stresu v tkanyni velykykh pivkul' holovnoho mozku shchuriv pislya vidvorennya eksperymental'noyi cherepno-mozkovoyi travmy [Inhibition of transcription factors NF kappa B and AP-1 limits the progression of oxidative-nitrosative stress in the tissue of cerebral hemispheres in rats after modelled traumatic brain injury]. *Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny*. 2020;20(1):80-85. (Ukrainian).
6. Belikova OI, Frenkel' YuD, Chernov VS, Kostenko VO. Vplyv inhibitora yadernogo chynnyka kB na biokhimični markery syndromu insulinorezystentnosti v umovakh hipopinealizmu ta pryznachennya vysokokaloriynoyi vuhlevodno-lipidnoyi diyety [Influence of nuclear factor kB inhibitor on biochemical markers of insulin resistance syndrome under hypopinealism and high-calorie carbohydrate-lipid diet]. *Svit Med Biol*. 2017;(3):80-82. (Ukrainian).

7. Frenkel YuD, Chernov VS, Kostenko VO. Vplyv pirolidynydiokarbamatu amoniynu na utvorennya aktyvnykh form kysnyu ta azotu v pechintsi shchuriv za umov yikh tsilodobovoho osvillennya ta utrymannya na vuhlevodno-lipidnyy diyety [Effect of ammonium pyrrolidine dithiocarbamate on the formation of reactive oxygen and nitrogen species in liver of rats kept on carbohydrate-lipid diet and exposed to round-the-clock lighting]. *Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny*. 2021;21(3):214-218. (Ukrainian).
8. Chabircovsky M, Prieschl-Grassauer E, Seipelt J et al. Pre-clinical safety evaluation of pyrrolidine dithiocarbamate. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2010;107(3):758-767.
9. Yang H, Landis-Piwowar K, Chan TH, Dou QP. Green tea polyphenols as proteasome inhibitors: implication in chemoprevention. *Curr Cancer Drug Targets*. 2011;11(3):296-306.
10. Moybenko AA, editor. *Bioflavonoidy kak organoprotektory (kvertsetin, korvitin, kvertin)* [Bioflavonoids as organoprotectors (quercetin, corvitin, quertin)]. Kyiv: Naukova dumka; 2012. 274 p. (Russian).
11. Kravtsova-Ivantsiv Y, Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome system and activation of NF-κB: involvement of the ubiquitin ligase KPC1 in p105 processing and tumor suppression. *Mol Cell Oncol*. 2015;2(4):e1054552.
12. Du X, Yu J, Sun X et al. Impact of epigallocatechin-3-gallate on expression of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 and γ-glutamyl cysteine synthetase genes in oxidative stress-induced mouse renal tubular epithelial cells. *Mol Med Rep*. 2018;17:7952-7958.
13. Sharma A, Parikh M, Shah H, Gandhi T. Modulation of Nrf2 by quercetin in doxorubicin-treated rats. *Heliyon*. 2020;6(4):e03803.
14. Yavtushenko IV, Nazarenko SM, Katrushov OV, Kostenko VO. Quercetin limits the progression of oxidative and nitrosative stress in the rats' tissues after experimental traumatic brain injury. *Wiad Lek*. 2020;73(10):2127-2132.
15. Yelins'ka AM, Liashenko LI, Kostenko VO. Quercetin potentiates antiradical properties of epigallocatechin-3-gallate in periodontium of rats under systemic and local administration of lipopolysaccharide of *Salmonella typhi*. *Wiad Lek*. 2019;2(8):1499-1503.
16. Yelins'ka AM, Kostenko VO. Poyednana diya kvertsetynu ta modulyatoriv redoks-chutlyvykh chynnykyv na pokaznyky systemnoyi zapal'noyi vidpovidi, vuhlevodnoho ta lipidnoho metabolizmu v krovi shchuriv za umov vnutrishn'oocherevynnoho ta vnutrishn'oyasennoho vvedennya lipopolysakharydu *Salmonella typhi* [Combined effects of quercetin and modulators of redox sensitive factors on the indicators of systemic inflammatory response, carbohydrate and lipid metabolism in rats exposed to intraperitoneal and intragingival administration of *Salmonella typhi* lipopolysaccharide]. *Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny*. 2020;20(1):13-18.
17. Kaydashev IP. Sirtuiny – universal'nyye regulatory kletochnykh funktsiy [Sirtuins – universal regulators of cell function]. *Biopolymers and Cell*. 2012;28(2):93-102. (Russian).
18. Kim EN, Lim JH, Kim MY, et al. Resveratrol, an Nrf2 activator, ameliorates aging-related progressive renal injury. *Aging (Albany NY)*. 2018;10(1):83-99.
19. Frenkel' YuD, Belikova OI, Chernov VS, Larycheva OM, Chebotar LD, inventors; Frenkel' YuD, assignee. Method of metabolic syndrome modeling. Ukraine patent UA 122249, publ. 12/26/2017, Bull. № 24.
20. Kostenko VO, Tsebrzhinskii OI. Produktsiya superoksydnogo anion-radykala ta oksydu azotu u tkanyni nyrok pislya khirurhichnoho vtruchannya [Production of superoxide anion radical and nitric oxide in renal tissues sutured with different surgical suture material]. *Fiziol Zh*. 2000; 46(5):56-62. (Ukrainian).
21. Yelins'ka AM, Akimov OYe, Kostenko VO. Role of AP-1 transcriptional factor in development of oxidative and nitrosative stress in periodontal tissues during systemic inflammatory response. *Ukr Biochim J*. 2019;91(1):80-85.
22. Akimov OYe, 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; 88(6):70-75.
23. Hurrell S, Hsu WH. The etiology of oxidative stress in insulin resistance. *Biomed J*. 2017;40(5):257-262.
24. Akimov OYe, Kostenko VO. Oksydatyvno-nitrozatyvnyy stres ta metody yoho doslidzhennya [Oxidative-nitrosative stress and methods of its research]. Lviv: Mahnoliya; 2021. 152 p.
25. Di Meo S, Iossa S, Venditti P. Skeletal muscle insulin resistance: role of mitochondria and other ROS sources. *J Endocrinol*. 2017 Apr;233(1):R15-R42.
26. Forrester SJ, Kikuchi DS, Hernandez MS, Xu Q, Griendling KK. Reactive Oxygen Species in Metabolic and Inflammatory Signaling. *Circ Res*. 2018 Mar 16;122(6):877-902.
27. Kaydashev IP. Aktyvatsiya NF-κB pry metaboličnomu syndromi [Activation of NF-κB under metabolic syndrome]. *Fiziol Zhurn*. 2012;58(1):93-101.
28. Baker RG, Hayden MS, Ghosh S. NF-κB, inflammation, and metabolic disease. *Cell Metab*. 2011;13(1):11-22.

29. Chen L, Chen R, Wang H, Liang F. Mechanisms Linking Inflammation to Insulin Resistance. *Int J Endocrinol.* 2015;2015:508409.
30. Luo S, Lei H, Qin H, Xia Y. Molecular mechanisms of endothelial NO synthase uncoupling. *Curr Pharm Des.* 2014;20(22):3548-3553.
31. Morgan MJ, Liu ZG. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- $\kappa$ B signaling. *Cell Res.* 2011;1:103-115.

### Реферат

ПОЛИФЕНОЛЫ КАК СРЕДСТВА КОРРЕКЦИИ ОКСИДАТИВНО-НИТРОЗАТИВНОГО СТРЕССА В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Френкель Ю.Д., Черно В.С., Костенко В.А.

**Ключевые слова:** экспериментальный метаболический синдром, круглосуточное освещение, углеводно-липидная диета, полифенолы, эпигаллокатехин-3-галлат, кверцетин, ресвератрол, оксидативно-нитрозативный стресс, скелетные мышцы.

Исследования были проведены на 35-х белых крысах-самцах линии Вистар массой 215-255 г, разделенных на 5 групп: интактные животные (1-я группа, контроль I); животным других групп во время круглосуточного освещения (1500 лк в течение последних 30 суток эксперимента) на фоне углеводно-липидной диеты (60 суток) ежедневно внутрижелудочно через зонд вводили 1 мл 20%-го водного раствора фруктозы (2-я группа, «плацебо», контроль II), эпигаллокатехин-3-галлат (3-я группа, дневная доза 40 мг/кг), кверцетин (4-я группа, дневная доза 200 мг/кг) и ресвератрол (5-я группа, дневная доза 5 мг/кг). Полифенолы вводили вместе с углеводами – 20%-ным водным раствором фруктозы, что увеличивает их растворимость и биодоступность. Воспроизведение модели метаболического синдрома (МС) сопровождалось развитием признаков оксидативно-нитрозативного стресса в мышцах бедра: увеличением в них генерирования супероксидного анион-радикала НАДФН- и НАДН-зависимыми электронно-транспортными системами (микросомальными монооксигеназами и NO-синтазой, дыхательной цепью митохондрий), активности NO-синтазы за счет ее индуцибельного изофермента, концентрации пероксинитритов. Введение полифенолов (эпигаллокатехина-3-галлата, кверцетина и ресвератрола) при моделировании МС эффективно ограничивало в мышцах бедра признаки оксидативно-нитрозативного стресса, что подтверждалось уменьшением выработки супероксидного анион-радикала НАДФН- и НАДН-зависимыми электронно-транспортными системами и конститутивной изоформой NO-синтазы, падением активности NO-синтазы за счет её индуцибельной изоформы и уменьшением концентрации пероксинитритов. Сделан вывод, что способность биофлавоноидов и ресвератрола ограничивать оксидативно-нитрозативный стресс в скелетных мышцах в условиях эксперимента обосновывает целесообразность дальнейшего их исследования как безопасных средств лечения и предупреждения метаболического синдрома, связанного с действием таких его факторов, как «диета западного типа» и нарушение светового режима

### Summary

POLYPHENOLS AS A MEANS TO CORRECT OXIDATIVE-NITROSATIVE STRESS IN SKELETAL MUSCLES OF RATS UNDER EXPERIMENTAL METABOLIC SYNDROME

Frenkel Yu.D., Chernov V.S., Kostenko V.O.

Key words: experimental metabolic syndrome, round-the-clock lighting, carbohydrate-lipid diet, polyphenols, epigallocatechin-3-gallate, quercetin, resveratrol, oxidative-nitrosative stress, skeletal muscles.

The studies were carried out on 35 Wistar white male rats weighing 215-255 g, divided into 5 groups: intact animals (group 1, control I); animals of other groups exposed to round-the-clock illumination (1500 lux during the last 30 days of the experiment) and kept on a carbohydrate-lipid diet (60 days) daily received 1 ml of a 20% aqueous fructose solution (group 2, "placebo", control II), epigallocatechin-3-gallate (group 3, a daily dose of 40 mg/kg), quercetin (group 4, a daily dose of 200 mg/kg), and resveratrol (group 5, a daily dose of 5 mg/kg). The substances were administered intragastrically. Polyphenols were injected together with carbohydrates, a 20% aqueous fructose solution, which increases their solubility and bioavailability. Modelled metabolic syndrome (MS) manifested the development of signs of oxidative-nitrosative stress in the muscles of the thigh: an increase in the superoxide anion radical generation by NADPH- and NADH-dependent electron transport systems (by microsomal monooxygenases and NO-synthase, by the mitochondrial respiratory chain); elevation in the activity of NO-synthase due to its inducible isoenzyme, and peroxy-nitrite concentration. The administration of polyphenols (epigallocatechin-3-gallate, quercetin, and resveratrol) over the MS modelling has been found out as an effective means to restrain the signs of oxidative-nitrosative stress in the muscles of the thigh that is confirmed by a decrease in the production of superoxide anion radicals by NADPH- and NADH-dependent electron transport systems and constitutive isoform of NO-synthase, by lowered activity of NO-synthase due to its inducible isoform and a fall in the concentration of peroxy-nitrites. Thus, the capability of bioflavonoids and resveratrol to restrict oxidative-nitrosative stress in skeletal muscles under experimental conditions gives grounds to investigate them as safe and effective means in the therapy and prevention of metabolic syndrome associated with the impact of such factors as the modern "Western diet" and the light regime impairment.