ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА ТА БІОЛОГІЯ

DOI 10.31718/2077–1096.21.3.185
УДК 616.91:599.232.4-071

Акімов О.Є., Карпік З.І., Олейник К.І., Міщенко А.В., Костенко Г.В.

РОЛЬ ТРАНСКРИПЦІЙНИХ ФАКТОРІВ кВ І АР-1 У ЗМІНАХ ПРОДУКЦІЇ ТА УТИЛІЗАЦІЇ ОКСИДУ АЗОТУ У СЕРЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ ФТОРИДНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Полтавський державний медичний університет, м. Полтава

Фториди, будучи небезпечними забруднювачами ґрунтів і питної води, можуть в надмірній кількості потрапляти в організм людини і тварин. Це особливо актуально для регіонів, у яких вміст фтору в ґрунтах дуже високий. Прикладами таких регіонів можуть служити Полтавська, Дніпропетровська та Кіровоградська області в Україні. Надмірне надходження фторидів до організму може змінювати інтенсивність продукції оксиду азоту. Вплив фторидів на зміни продукції і метаболізму оксиду азоту в серці і роль редокс-чутливих транскрипційних факторів у цих змінах є недостатньо вивченою. Метою даної роботи було встановити вплив активації транскрипційних факторів кВ і активаторного протеїну 1 на активність індуцибельної NO-синтази, конститутивних ізоформ NO-синтази, нітрит- і нітратредуктаз, аргіназ, концентрацію нітритів, пероксинітриту та нітрозотіолів у сердці щурів при хронічній фторидній інтоксикації. Матеріали та методи. Дослідження проведено на 24 статевозрілих щурах-самцях лінії «Вістар» масою 220-260 г. Тварини були випадковим чином розділені на 4 групи по 6 тварин (контрольна, група хронічної фторидної інтоксикації, група блокади кВ та група блокади активаторного протеїну 1). Експеримент тривав 30 днів. Ми визначали активність індуцибельної NO-синтази, конститутивних ізоформ NO-синтази, концентрацію пероксинітриту лужних і лужноземельних металів, концетрацію нітритів і нітрозотіолів, активності нітритредуктаз, нітратредуктаз і аргінази. Результати. Хронічна фторидна інтоксикація збільшує активність індуцибельної NO-синтази в 1,74 рази, не впливає на активність конститутивних ізоформ і зменшує активність аргінази на 35,68% при порівнянні з контрольною групою тварин. Концентрація нітритів в серці щурів зростає в 1,73 рази, пероксинітриту в 1,43 рази, а концентрація нітрозотіолів підвищується в 2,0 рази. Застосування блокаторів транскрипційних факторів кВ і активаторного протеїну 1 знижує продукцію оксиду азоту від NO-синтаз та зменшує концентрації всіх метаболітів оксиду азоту в серці щурів за умов хронічної фторидної інтоксикації. Висновки. Активація транскрипційних факторів кВ і активаторного протеїну 1 при хронічному надмірному надходженні в організм фторидів призводить до гіперпродукції оксиду азоту в серці щурів за рахунок збільшеної активності індуцибельної NO-синтази і нітритредуктаз. Надлишкова продукція оксиду азоту в умовах хронічної фторидної інтоксикації призводить до накопичення нітритів, пероксинітриту і нітрозотіолів в серці щурів.

Ключові слова: оксид азоту, серце, щури, фторидна інтоксикація, нітрозотіоли, пероксинітрит

Робота є фрагментом ініціативної НДР кафедри патофізіології ПДМУ «Роль транскрипційних факторів, системи циркадіадного осцилятора та метаболічний розладів в утворенні та функціонуванні патологічних систем» (№0119U103898).

Вступ

Оксид азоту (NO) є важливим медіатором клітинного і тканинного гомеостазу. Порушення в продукції NO можуть призводити до пошкодження тканин серця, особливо якщо джерелом підвищеної продукції NO є індуцібельная ізоформа NO-синтази (iNOS) [1]. У той же час, збільшення продукції NO від ендотеліальної ізоформи NO-синтази (eNOS) має кардіопротекторний ефект в умовах розвитку ішемічно-реперфузійного пошкодження міокарда [2].

Продукти метаболізму NO також мають неоднозначний вплив на організм. Так, надмірне надходження нітриту натрію призводить до розвитку ушкодження легенів і слинних залоз шляхом ініціації розвитку оксидативного стресу і запалення з подальшим розвитком фіброзних змін в цих органах [3]. Також нітрит натрію призводить до утворення метгемоглобіну і здатний активувати процеси перекисного окислення ліпідів в мембрані еритроцитів [4]. Однак, в серці нітрити проявляють протективний ефект при моделюванні ішемічно-реперфузійних пошкоджень міокарда [5]. Також нітрит натрію нормалізує кальцієвий обмін в кардіоміоцитах в умовах ішемії, що призводить до відстроченого антиаритмічного ефекту [6].

Фториди, будучи небезпечними забруднювачами ґрунтів і питної води, можуть в надмір-

ній кількості потрапляти в організм людини і тварин. Це особливо актуально для регіонів, у яких вміст фтору в ґрунтах дуже високий. Прикладами таких регіонів можуть служити Полтавська, Дніпропетровська та Кіровоградська області в Україні [7]. Однак проблема з підвищеним вмістом фтору у воді і ґрунтах актуальна не тільки для України. В Індії близько 11,7 мільйона чоловік зазнають впливу надлишкового надходження фторидів в їх організм [8].

Надмірне надходження фторидів до організму здатне приводити до гіперпродукції NO в слизовій оболонці шлунка шляхом посилення активностей NO-синтази і нітритредуктаз [9]. До розвитку гіперпродукції NO в слизовій шлунка при надмірному надходженні фториду натрію призводить активація транскрипційного фактора NF-κB [10]. Вплив фторидів на зміни продукції і метаболізму оксиду азоту в серці і роль редокс-чутливих транскрипційних факторів у цих змінах є недостатньо вивченою.

Мета роботи

Встановити вплив активації транскрипційних факторів κB і активаторного протеїну 1 (AP-1) на активність iNOS, конститутивних ізоформ NO-синтази, нітрит- и нітратредуктаз, аргіназ, концентрацію нітритів, пероксинітриту та нітрозотіолів у сердці щурів при хронічній фторидній інтоксикації.

Матеріали та методи

Дослідження проведено на 24 статевозрілих щурах-самцях лінії «Вістар» масою 220-260 г. Тварини були випадковим чином розділені на 4 групи по 6 тварин. Експеримент тривав 30 днів. Всі маніпуляції з лабораторними тваринами були схвалені комісією з біоетики Полтавського державного медичного університету.

Перша група - контрольна, складалася з тварин, яким кожен день вводили внутрішньошлунково розчин натрію хлориду 0,9% (маса / об'єм) в дозі 1 мл і робили ін'єкцію 0,1 мл розчину натрію хлориду 0,9% (маса / об'єм) внутрішньоочеревинно два рази в тиждень.

Друга група - група хронічної фторидної інтоксикації. Тварини з цієї групи отримували щодня внутрішньошлунково розчин натрію фториду в дозі 10 мг/кг і їм робили ін'єкцію 0,1 мл розчину натрію хлориду 0,9% (маса / об'єм) внутрішньоочеревинно два рази на тиждень.

Третя група - група блокади транскрипційного фактора κB. Тварини на тлі моделювання фторидної інтоксикації як в групі 2 отримували ін'єкцію 0,1 мл розчину блокатора активації транскрипційного фактора κB (амонію піролідиндітіокарбомату) з розрахунку 76 мг / кг два рази на тиждень.

Четверта група - група блокади транскрипційного фактора AP-1. Тварини на тлі моделювання фторидної інтоксикації як в групі 2 отримували ін'єкцію 0,1 мл розчину блокатора активації транскрипційного фактора AP-1 (SR 11302) з розрахунку 15 мг / кг два рази на тиждень.

Виведення тварин з експерименту здійснювали під тіопенталовим наркозом шляхом забору крові з правого шлуночка серця. Серце видалялось і гомогенізовувалось з трис-буферним розчином (pH = 7,4) для отримання 10% гомогенату. Всі біохімічні дослідження проводилися в 10% гомогенаті з використанням спектрофотометра Ulab 101.

Ми визначали активність індуцібельної NO-синтази (iNOS) і конститутивних ізоформ NO-синтази (cNOS), концентрацію пероксинітриту лужних і лужноземельних металів ($ONOO^-$), концентрацію нітритів (NO_2^-) і нітрозотіолів (S-NO), активності нітритредуктаз (NitriR), нітратредуктаз (NitraR) і аргінази.

Активність iNOS і cNOS оцінювали за приростом нітритів після інкубації в середовищі з надлишком L-аргініну, НАДФН+Н і аміногуанідину гідрохлориду [11]. Активність аргінази визначали за приростом L-орнітину після інкубації 0,2 мл 10% гомогенату тканин серця з 0,3 мл 24 мМ розчину L-аргініну і 1 мл 0,2 М фосфатного буферного розчину (pH = 7,0) [8]. Про активність нітрат- і нітритредуктаз судили по зменшенню концентрації нітратів і нітритів відповідно, після інкубації в середовищі, що містить надлишок НАДН+Н в якості донора електронів [9].

Концентрацію пероксинітриту лужних і лужно-земельних металів визначали за приростом атомарного йоду, який утворюється в реакції пероксинітриту з йодидом калію в фосфатному буферному розчині (pH = 7,0) [9]. Концентрацію нітрозотіолів визначали за приростом концентрації нітритів після окислення нітрозотіолів тканин хлоридом ртуті [12]. Концентрацію нітритів визначали за концентрацією діазопродуктів, утворених в реакції нітритів з сульфаніловою кислотою і нафтилетилендіаміном [13].

Отримані дані піддавалися статистичній обробці з використанням U-критерію Манна-Уітні. Різницю між групами вважали статистично значущою при $p<0,05$.

Результати та їх обговорення

Хронічна фторидна інтоксикація збільшує активність iNOS в 1,74 рази, не впливає на активність cNOS і зменшує активність аргінази на 35,68% при порівнянні з контрольною групою тварин (Таб. 1). Блокада активації транскрипційного фактора κB знижує активність iNOS в 2,65 рази, підвищує активність cNOS і аргінази в 1,78 рази і 1,72 рази відповідно. Блокада активації транскрипційного фактора AP-1 знижує активності iNOS і cNOS в 6,19 і 1,5 рази відповідно, збільшуючи при цьому активність аргінази в 2,07 рази.

Слід зазначити, що блокада активації транскрипційного фактора κB знижує актив-

ність iNOS нижче рівня контрольної групи, але не змінює активності cNOS і аргінази при порівнянні з контрольною групою. Блокада активації транскрипційного фактора АР-1 знижує активність iNOS і cNOS нижче рівня як контрольної групи тварин, так і нижче рівня групи блокади активації транскрипційного фактора кВ. Активність аргінази при цьому підвищується вище рівня як контрольної групи тварин, так і нижче рівня групи блокади транскрипційного фактора кВ.

Таблиця 1.

Активність різних ізоформ NO-синтази та активність аргінази в серці щурів при хронічній фторидної інтоксикації і застосуванні блокаторів транскрипційних факторів кВ і АР-1 (M±m).

Групи	Біохімічні параменти		
	Активність iNOS, мкмоль/хв на г білка	Активність cNOS, мкмоль/хв на г білка	Активність аргіназ, мкмоль/хв на г білка
Контрольна група, n=6	0,96±0,09	0,12±0,01	2,13±0,08
Група хронічної фторидної інтоксикації, n=6	1,67±0,11*	0,09±0,01	1,37±0,10*
Група блокади транскрипційного фактора кВ, n=6	0,63±0,10*/#	0,16±0,01#	2,35±0,16#
Група блокади транскрипційного фактора АР-1, n=6	0,27±0,03*/#/†	0,06±0,001*/#/†	2,83±0,05*/#/†

*Примітка: * - різниця є статистично значущою при порівнянні с контрольной группой животных (p<0,05)*
 # - різниця є статистично значущою при порівнянні з групою хронічної фторидної інтоксикації (p<0,05)
† - різниця є статистично значущою при порівнянні з групою блокади транскрипційного фактора кВ (p<0,05)

Таблиця 2.

Активність нітритредуктаз і нитратредуктаз в серці щурів при хронічній фторидній інтоксикації і застосуванні блокаторів транскрипційних факторів кВ і АР-1 (M±m).

Групи	Біохімічні параметри	
	Активність нітритредуктаз, мкмоль/хв на г білка	Активність нітратредуктаз, мкмоль/хв на г білка
Контрольна група, n=6	3,54±0,40	3,57±0,82
Група хронічної фторидної інтоксикації, n=6	6,44±0,62*	3,74±0,32
Група блокади транскрипційного фактора кВ, n=6	3,04±0,20#	2,74±0,30#
Група блокади транскрипційного фактора АР-1, n=6	4,99±0,17*/#/†	3,99±0,20

*Примітка: * - різниця є статистично значущою при порівнянні с контрольной группой животных (p<0,05)*
 # - різниця є статистично значущою при порівнянні з групою хронічної фторидної інтоксикації (p<0,05)
† - різниця є статистично значущою при порівнянні з групою блокади транскрипційного фактора кВ (p<0,05)

Хронічна фторидна інтоксикація підвищує активність NitriR в 1,82 рази, але не змінює активність NitraR при порівнянні з контрольною групою тварин (Таб. 2). Блокада активації транскрипційного фактора кВ знижує активності NitriR і NitraR в 2,12 і 1,3 рази відповідно. Блокада активації транскрипційного фактора АР-1 знижує активність NitriR в 1,29 рази, але не змінює активність NitraR при порівнянні з групою хронічної фторидної інтоксикації.

Слід зазначити, що зниження активностей NitriR і NitraR в групі блокади транскрипційного фактора кВ при порівнянні з контрольною групою не виявлено. Блокада активації транскрипційного фактора АР-1 підвищує активність NitriR при порівнянні з контрольною групою тварин.

Хронічна фторидна інтоксикація підвищує концентрацію нітритів в серці щурів в 1,73 рази при порівнянні з контрольною групою тварин, концентрація пероксинітриту зростає в 1,43 рази, а концентрація нітрозотіолів підвищується в 2,0 рази (Таб. 3).

Застосування блокатора активації транскрипційного фактора кВ знижує концентрацію нітритів, пероксинітриту і нітрозотіолів в серці щурів в умовах хронічної фторидної інтоксикації в 1,70, 2,91 і 1,57 рази відповідно.

Блокада активації транскрипційного фактора АР-1 знижує концентрацію нітритів, пероксинітриту і нітрозотіолів в серці щурів в умовах хронічної фторидної інтоксикації в 3,03, 1,95 і 4,71 рази відповідно.

Таблиця 3.

Концентрація метаболітів оксиду азоту в серці щурів при хронічній фторидній інтоксикації і застосуванні блокаторів транскрипційних факторів кВ і АР-1 (M±m).

Біохімічні параметри	Групи			
	Контрольна група, n=6	Група хронічної фторидної інтоксикації, n=6	Група блокади транскрипційного фактора кВ, n=6	Група блокади транскрипційного фактора АР-1, n=6
Концентрація NO_2^-, мкмоль/г тканини	0,0056±0,0004	0,0097±0,0004*	0,0057±0,0004 #	0,0032±0,0001 */#/†
Концентрація $ONOO^-$, мкмоль/г тканини	3,06±0,17	4,39±0,22*	1,51±0,07 */#	2,25±0,07 */#/†
Концентрація S-NO, мкмоль/г ткани	0,33±0,02	0,66±0,06*	0,42±0,04 #	0,14±0,006 */#/†

*Примітка: * - різниця є статистично значущою при порівнянні с контрольной группой животных (p<0,05)*
 # - різниця є статистично значущою при порівнянні з групою хронічної фторидної інтоксикації (p<0,05)
† - різниця є статистично значущою при порівнянні з групою блокади транскрипційного фактора кВ (p<0,05)

Блокада активації транскрипційного фактора АР-1 більш ефективно знижує концентрацію нітритів і нітрозотіолів при порівнянні з групою блокади активації транскрипційного фактора кВ, проте менш ефективно знижує концентрацію пероксинітриту лужних і лужно-земельних металів.

Зниження активності індуцібельної NO-синтази при застосуванні блокатора активації транскрипційного фактора кВ можна пояснити прямою залежністю транскрипції генів iNOS від активності транскрипційного фактора кВ [14]. Зниження активності iNOS закономірно призводить до значного зниження концентрації пероксинітриту.

У той же час гени iNOS не перебувають у прямій залежності від транскрипційного фактора АР-1, проте за результатами наших досліджень активність iNOS при блокаді транскрипційного фактора АР-1 знижується ще більше, ніж при блокаді транскрипційного фактора кВ [15]. Зниження активності iNOS може бути пов'язано з тим, що блокада транскрипційного фактора АР-1 може перешкоджати розвитку оксидативного стресу, який спостерігається в умовах хронічної фторидної інтоксикації, і, як наслідок, знижувати активацію транскрипційного фактора кВ [10, 11, 16].

Більш високу активність нітритредуктаз в групі блокади транскрипційного фактора АР-1 при порівнянні з контрольною групою і групою блокади транскрипційного фактора кВ можна розглядати як компенсаторну реакцію на більш потужне (нижче рівня контрольної групи) зниження сумарної продукції оксиду азоту від NO-синтаз.

Висновки

Активація транскрипційних факторів кВ і АР-1 при хронічному надмірному надходженні в організм фторидів призводить до гіперпродукції оксиду азоту в серці щурів за рахунок збільшеної активності індуцибельної NO-синтази і нітритредуктаз.

Надлишкова продукція оксиду азоту в умовах хронічної фторидної інтоксикації призводить до накопичення нітритів, пероксинітриту і нітрозотіолів в серці щурів.

Література

1. Yang Y, Yang G, Yu L, et al. An Interplay Between MRTF-A and the Histone Acetyltransferase TIP60 Mediates Hypoxia-Reoxygenation Induced iNOS Transcription in Macrophages. Front Cell Dev Biol. 2020 Jun 18; 8: 484. doi: 10.3389/fcell.2020.00484.
2. Yang Y, Li Y, Wang J, et al. Cholinergic receptors play a role in the cardioprotective effects of anesthetic preconditioning: Roles of nitric oxide and the CaMKKβ/AMPK pathway. Exp Ther Med. 2021 Feb; 21(2): 137.
3. Elsherbini AM, Maysarah NM, El-Sherbiny M, et al. Glycyrrhizic acid ameliorates sodium nitrite-induced lung and salivary gland toxicity: Impact on oxidative stress, inflammation and fibrosis. Hum Exp Toxicol. 2021 Apr; 40(4): 707-721.
4. Cheng D, Wang G, Wang X, et al. Chlorogenic acid improves lipid membrane peroxidation and morphological changes in nitrite-induced erythrocyte model of methemoglobinemia. J Food Biochem. 2020 May; 44(5): e13172.
5. Jiang S, Dandu C, Geng X. Clinical application of nitric oxide in ischemia and reperfusion injury: A literature review. Brain Circ. 2020 Dec 29; 6(4): 248-253.
6. Demeter-Haludka V, Kovács M, Prorok J, et al. Examination of the Changes in Calcium Homeostasis in the Delayed Antiarrhythmic Effect of Sodium Nitrite. Int J Mol Sci. 2019 Nov 13; 20(22): 5687.
7. Kostenko VO, Akimov OY, Kovaleva IO, et al. Molekulyarni mekhanizmy vplyvu ftorydiv na orhanizm ssavtsiv [Molecular mechanisms of influence of fluorides on mammals]. Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny: Visnyk Ukrayins'koyi medychnoyi stomatolohichnoyi akademiyi. 2018; 18(1): 303-308.
8. Lou DB. Fluorosis: an ongoing challenge for India. The Lancet Planetary Health. 2020; 4(3): e94-e95.
9. 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): 70-75.
10. Akimov OY, Kostenko VO. Role of NF-κB transcriptional factor activation during chronic fluoride intoxication in development of oxidative-nitrosative stress in rat's gastric mucosa. J Trace Elem Med Biol. 2020 Apr 19; 61: 126535.
11. 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.Biochem.J. 2019; 91(1): 80-85.
12. Gaston B, Reilly J, Drazen JM, et al. Endogenous nitrogen oxides and bronchodilator S-nitrosothiols in human airways. Proc Natl Acad Sci U S A. 1993 Dec 1; 90(23): 10957-61.
13. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, et al. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. Anal Biochem. 1982 Oct; 126(1): 131-8.
14. Tsai CY, Li FC, Wu CH, et al. Simulation of IkB attenuates NF-kB-induced nitrosative stress at rostral ventrolateral medulla and cardiovascular depression in experimental brain death. J Biomed Sci. 2016 Sep 22; 23(1): 65.
15. Jang B, Ishigami A, Kim YS, Choi EK. The Peptidylarginine Deiminase Inhibitor Cl-Amidine Suppresses Inducible Nitric Oxide Synthase Expression in Dendritic Cells. Int J Mol Sci. 2017 Oct 27; 18(11): 2258.
16. Cui J, Ding H, Yao Y, Liu W. Inhibition Mir-92a Alleviates Oxidative Stress and Apoptosis of Alveolar Epithelial Cells Induced by Lipopolysaccharide Exposure through TLR2/AP-1 Pathway. Biomed Res Int. 2020 Sep 16; 2020: 9673284.

Реферат

РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ КВ И АР-1 В ИЗМЕНЕНИЯХ ПРОДУКЦИИ И УТИЛИЗАЦИИ ОКСИДА АЗОТА В СЕРДЦЕ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ФТОРИДНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Акимов О.Е., Карпик З.И., Олейник К.И., Мищенко А.В., Костенко Г.В.

Ключевые слова: оксид азота, сердце, крысы, фторидная интоксикация, нитрозотиолы, пероксинитрит

Фториды, являясь опасными загрязнителями почв и питьевой воды, могут в избыточном количестве попадать в организм человека и животных. Это особенно актуально для регионов, в которых содержание фтора в почвах очень высоко. Примерами таких регионов могут служить Полтавская, Днепропетровская и Кировоградская области в Украине. Избыточное поступление фторидов в организм может изменять интенсивность продукции оксида азота. Влияние фторидов на изменения продукции и метаболизма оксида азота в сердце и роль редокс-чувствительных транскрипционных факторов в этих изменениях является недостаточно изученной. Целью данной работы было установить влияние активации транскрипционных факторов кВ и активаторного протеина 1 на активность индуцибельной NO-синтазы, конститутивных изоформ NO-синтазы, нитрит- и нитратредуктаз, аргиназы, концентрацию нитритов, пероксинитрита и нитрозотиолов в сердце крыс при хронической фторидной интоксикации. Материалы и методы. Исследование проведено на 24 половозрелых крысах-самцах линии

«Вистар» весом 220-260 грамм. Животные были случайным образом разделены на 4 группы по 6 животных (контрольная, группа хронической фторидной интоксикации, группа блокады κB и группа блокады активаторного протеина 1). Эксперимент длился 30 дней. Мы определяли активность индуцибельной NO-синтазы, конститутивных изоформ NO-синтазы, концентрацию пероксинитрита щелочных и щелочно-земельных металлов, концентрацию нитритов и нитрозотиолов, активности нитритредуктаз, нитратредуктаз и аргиназы. Результаты. Хроническая фторидная интоксикация увеличивает активность индуцибельной NO-синтазы в 1,74 раза, не влияет на активность конститутивных изоформ и уменьшает активность аргиназы на 35,68% при сравнении с контрольной группой животных. Концентрация нитритов в сердце крыс возрастает в 1,73 раза, пероксинитрита в 1,43 раза, а концентрация нитрозотиолов повышается в 2,0 раза. Применение блокаторов транскрипционных факторов κB и активаторного протеина 1 снижает продукцию оксида азота от NO-синтаз и уменьшает концентрации всех метаболитов оксида азота в сердце крыс в условиях хронической фторидной интоксикации. Выводы. Активация транскрипционных факторов κB и активаторного протеина 1 при хроническом избыточном поступлении в организм фторидов приводит к гиперпродукции оксида азота в сердце крыс за счет возросшей активности индуцибельной NO-синтазы и нитритредуктаз. Избыточная продукция оксида азота в условиях хронической фторидной интоксикации приводит к накоплению нитратов, пероксинитрита и нитрозотиолов в сердце крыс.

Summary

ROLE OF KB AND AP-1 TRANSCRIPTION FACTORS IN CHANGES IN NITRIC OXIDE PRODUCTION AND UTILIZATION IN THE HEART OF RATS UNDER CHRONIC FLUORIDE INTOXICATION

Akimov O.Y., Karpik Z.I., Oleynyk K.I., Mishchenko A.V., Kostenko H.V.

Key words: nitric oxide, heart, rats, fluoride intoxication, nitrosothiols, peroxynitrite

Fluorides, being hazardous contaminants of soil and drinking water, can get in excessive amounts into human and animal bodies. This is especially true for regions where the fluoride content in soils is very high, for example, Poltava, Dnipropetrovsk, and Kirovohrad regions in Ukraine. Excessive fluoride intake can change the rate of nitric oxide production. The impact of fluorides on changes in nitric oxide production and metabolism in the heart and the role of redox-sensitive transcription factors in these changes are poorly understood. The aim of this study was to determine the effect of activation of κB transcription factors and activator protein 1 on the activity of inducible NO-synthase, constitutive isoforms of NO-synthase, nitrite and nitrate reductase, arginase, concentration of nitrites, peroxynitrite and nitrosothiols in the heart of rats during chronic fluoride intoxication. Materials and methods. The study was performed on 24 adult male Wistar rats weighing 220-260 grams. Animals were randomly divided into 4 groups of 6 animals in each (control, chronic fluoride intoxication group, κB blockade group and activator protein 1 blockade group). The experiment lasted 30 days. We determined the activity of inducible NO-synthase, constitutive isoforms of NO-synthase, the concentration of peroxynitrite alkali and alkaline earth metals, the concentration of nitrites and nitrosothiols, the activity of nitrite reductase, nitrate reductase and arginase. Results. Chronic fluoride intoxication increases the activity of inducible NO-synthase by 1.74 times, does not affect the activity of constitutive isoforms and reduces the activity of arginase by 35.68% compared with the control group of animals. The concentration of nitrites in the heart of rats increases 1.73 times, peroxynitrite 1.43 times, and the concentration of nitrosothiols doubled. The use of κB transcription factor blockers and activator protein 1 reduces nitric oxide production from NO synthases and reduces the concentrations of all nitric oxide metabolites in the heart of rats under conditions of chronic fluoride intoxication. Conclusions. Activation of κB transcription factors and activator protein 1 during chronic excessive intake of fluoride leads to hyperproduction of nitric oxide in the heart of rats due to increased activity of inducible NO-synthase and nitrite reductases. Excess production of nitric oxide under chronic fluoride intoxication leads to the accumulation of nitrites, peroxynitrite and nitrosothiols in the heart of rats.