

Вплив епігалокатехін-3-галату та кверцетину на утворення активних форм кисню та азоту в печінці щурів за умов їх цілодобового освітлення та утримання на вуглеводно-ліпідній дієті

Ю.Д. Френкель¹, В.О. Зюзін¹, В.С. Черно¹, В.О. Костенко²

¹ Чорноморський національний університет імені Петра Могили, Миколаїв;
e-mail: cherno1965@gmail.com

² Полтавський державний медичний університет; e-mail: patofiziolog@umsa.edu.ua

Досліджували вплив біофлавоноїдів – епігалокатехін-3-галату (EGCG) та кверцетину – на продукцію активних форм кисню та азоту в печінці щурів за умов їх цілодобового освітлення інтенсивністю 1500 лк упродовж 30 діб на тлі 60-денного утримання тварин на вуглеводно-ліпідній дієті (20%-й розчин фруктози та відповідний раціон). Виявлено, що за цих умов у тканинах печінки вірогідно зростала швидкість вироблення супероксидного аніон-радикала НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами (мікросомальними монооксигеназами та конститутивними NO-синтазами у неспряженому стані) – у 1,93 раза, дихальним ланцюгом мітохондрій – у 1,89 раза, а також лейкоцитарною НАДФН-оксидазою – вдвічі, зростала загальна активність NO-синтази – у 2,35 раза, активність її індукбельної ізоформи – у 2,57 раза, концентрація пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів – у 1,68 раза. Введення за умов експерименту біофлавоноїдів – EGCG та кверцетину – суттєво обмежувало у тканинах печінки швидкість продукції супероксидного аніон-радикала мікросомальними монооксигеназами та NO-синтазою – на 39,1 та 40,1%, дихальним ланцюгом мітохондрій – на 37,2 та 34,4%, НАДФН-оксидазою лейкоцитів – на 35,0 та 32,1%, пригнічувало загальну активність NO-синтази – на 46,7 та 36,2%, активність її індукбельної ізоформи – на 49,6 і 39,0 %, збільшувало активність конститутивного ізоферменту NO-синтази – у 2,9 раза та його спряженість – у 4,5 та 4,7 раза, зменшувало концентрацію пероксинітритів лужних та лужноземельних металів – на 30,5 і 34,3% порівняно з відповідними значеннями групи, що зазнавала цілодобове освітлення на тлі вуглеводно-ліпідної дієти. Зроблено висновок щодо ефективності застосування EGCG та кверцетину за умов експерименту як засобів обмеження утворення активних форм кисню та азоту у тканинах печінки.

Ключові слова: цілодобове освітлення; вуглеводно-ліпідна дієта; метаболічний синдром; активні форми кисню та азоту; біофлавоноїди; епігалокатехін-3-галат; кверцетин.

ВСТУП

Нині накопичилися нові відомості щодо ролі розладів ритму «світло–темрява» у патогенезі порушень обміну речовин із супутнім хронічним дифузним запаленням слабкої інтенсивності, що є головними проявами метаболічного синдрому [1, 2]. Останній є важливим попередником розвитку цукрового діабету 2-го типу, серцево-судинних та інших хронічних захворювань [3]. Механізми роз-

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

ладів вуглеводного та ліпідного метаболізму, системної запальної відповіді, артеріальної гіпертензії, ендотеліальної дисфункції та оксидативно-нітрозативного стресу значною мірою пов'язані з розвитком гіпомелатоніємії внаслідок дисрегуляції супрахіазматичного ядра гіпоталамуса та зменшення пінеальної продукції мелатоніну при порушенні світлового режиму [4, 5].

Раніше нами було показано, що концентрація мелатоніну у сироватці крові може

суттєво зменшуватися у разі поєднаної дії цілодобового освітлення (ЦО) щурів та призначення їм упродовж 60 діб 20%-го розчину фруктози та збагаченого вуглеводами та жирами раціону [6]. Введення за цих умов мелатоніну частково зменшувало прояви гіперглікемії, гіперпре- β -ліпопротеїнемії, гіпертриацилгліцеролемії та ознаки оксидативно-нітрозативного стресу в інсуліночутливих органах (скелетних м'язах, печінці), проте індекс інсулінорезистентності НОМА-IR (від англ. Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) за цих умов істотно не змінювався [7]. Вочевидь відновлення вмісту мелатоніну не є достатнім для корекції за цих умов метаболічних порушень, оскільки патологічні процеси при дії названих етіологічних чинників мають здатність до саморозвитку. Наслідком ЦО є зміна експресії індукцибельних генів центрального та периферичних циркадіанних осциляторів, що впливає на активність певних транскрипційних факторів, зокрема транскрипційного фактора NF- κ B [1, 8]. Наприклад, білок CLOCK здатний безпосередньо взаємодіяти з p65, що належить до родини NF- κ B. BMAL1 при дії на CLOCK викликає ритмічну репресію генів запальної відповіді; відсутність BMAL1 супроводжується їх дерепресією внаслідок взаємодії CLOCK з NF- κ B-регульованими промоторами [9]. З активацією NF- κ B пов'язаний також вплив висококалорійного вуглеводно-ліпідного раціону. Так, введення щурам, які зазнавали ЦО та отримували вуглеводно-ліпідну дієту (ВЛД), інгібітора NF- κ B піролідиндітіокарбамату амонію суттєво обмежувало гіперінсулінемію та інсулінорезистентність, зменшувало прояви дисліпопротеїнемії, гіпо- α -ліпопротеїнемії та гіпертриацилгліцеролемії, гальмувало розвиток системної запальної відповіді [10]. За цих умов піролідиндітіокарбамат амонію значно зменшував у тканинах печінки вироблення активних форм кисню та азоту (АФК/АФА), а саме продукцію супероксидного аніон-радикала ($\cdot\text{O}_2^-$), активність індукцибельної ізоформи NO-синтази (iNOS),

концентрацію пероксинітритів [11]. Однак такий специфічний інгібітор NF- κ B виявляє певну генотоксичність [12]. Цього ефекту позбавлені рослинні поліфеноли – епігалокатехін-3-галат (EGCG), активний компонент зеленого чаю (*Camellia sinensis*) та кверцетин [13]. Обидві речовини є потужними інгібіторами активності 26S протеасоми як *in vitro*, так і *in vivo* [14, 15]. Внаслідок цього порушується транслокація димерів NF- κ B у ядро через розлад убіквітинзалежного протеасомного протеолізу інгібіторного білка I κ B [16]. Окрім того, EGCG та кверцетин здатні активувати антагоністичний щодо NF- κ B сигнальний шлях, пов'язаний з індукцією системи Nrf2 – антиоксидант респонсивний елемент (ARE) [17, 18].

Застосування EGCG та водорозчинної форми кверцетину (корвітину) при відтворенні системної запальної відповіді зменшувало у тканинах концентрацію вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів і полегшувало порушення вуглеводного обміну (гіперінсулінемію, інсулінорезистентність) [19–21]. Це дає підстави сподіватися на позитивну дію EGCG та кверцетину на окисний метаболізм у внутрішніх органах, особливо інсуліночутливих, при відтворенні моделі метаболічного синдрому (за умов ЦО та ВЛД). Але закономірності впливу цих біофлавоноїдів на продукцію АФК/АФА в тканинах печінки за таких експериментальних умов залишається нез'ясованими.

Метою нашої роботи було вивчення впливу біофлавоноїдів – EGCG та кверцетину – на продукцію АФК/АФА в печінці щурів за умов їх цілодобового освітлення та утримання на вуглеводно-ліпідній дієті.

МЕТОДИКА

Дослідження були проведені на 32 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 215–255 г, розподілених на 4 групи: 1-ша – інтактні тварини (контроль I), тваринам інших груп протягом часу ЦО на тлі ВЛД щоденно вво-

дили внутрішньошлунково через зонд 1 мл 20%-й водний розчин фруктози («плацебо», контроль II), EGCG та кверцетин («Sigma-Aldrich, Inc.», США) у дозі 40 та 200 мг/кг відповідно. Біофлавоноїди вводили разом з вуглеводами (20%-м водним розчином фруктози), що збільшує їхню розчинність і біодоступність [15].

ВЛД застосовували для годування щурів упродовж 2 міс: тваринам призначали 20%-й водний розчин фруктози для пиття та раціон харчування, який містив такі компоненти: рафіноване пшеничне борошно – 45%, сухе знежирене коров'яче молоко – 20%, крохмаль – 10%, столовий маргарин (зі складом жирів 72–82%) – 20%, переокиснена соняшникова олія – 4%, хлорид натрію – 1%. Додатково до цього, починаючи з 30-ї доби експерименту щурів піддавали ЦО інтенсивністю 1500 лк протягом наступних 30 днів [22]. Тварин декапітували під ефірним наркозом, дотримуючись положення «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986).

Швидкість генерації $\cdot O_2^-$ у гомогенаті печінки оцінювали при проведенні тесту з нітросинім тетразолієм з використанням спектрофотометра Ulab 101 (Китай) з індукторами у вигляді нікотинамідаденіндинуклеотиду відновленого (НАДН, «Sigma-Aldrich Inc.», США) для оцінки продукції $\cdot O_2^-$ дихальним ланцюгом мітохондрій, нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату відновленого (НАДФН, «Sigma-Aldrich, Inc.», США) – мікосомальними монооксигеназами та NO-синтазою (NOS), ліпополісахариду *Salmonella typhi* (препарат «Пірогенал», фірма «Медгамал», РФ) – НАДФН-оксидазою лейкоцитів [23].

Загальну активність NO-синтаз (NOS) оцінювали за збільшенням концентрації нітрит-іонів після інкубації гомогенізованих зразків тканин печінки впродовж 30 хв в інкубаційному розчині (2,5 мл 0,1 М Тріс-буфера, 0,3 мл 320 ммоль/л водного розчину L-арнініну та 0,1 мл 1 ммоль/л розчину НАДФН

[24]. Одразу після змішування 10%-го гомогенату з інкубаційним розчином оцінювали початкову концентрацію нітритів у реакції з сульфаніловою кислотою та α -нафтиламіном, у результаті якої утворюються похідні червоного кольору (азобарвники), інтенсивність забарвлення який пропорційна вмісту нітрит-іонів. Для цього до 0,2 мл розчину, відібраного для первинної оцінки нітритів, додавали 1,8 мл дистильованої води, а далі 0,2 мл 1%-ї сульфанілової кислоти і через 10 хв – 0,2 мл 0,1%-го α -нафтиламіну. Вміст нітрит-іонів вимірювали за допомогою спектрофотометра Ulab 101 (Китай) при довжині хвилі 540 нм. Після 30 хв інкубації реакцію зупиняли додаванням 0,02 мл 0,02%-го азиду натрію та оцінювали кінцеву концентрацію нітритів. Для визначення активності конститутивних NO-синтаз (сNOS) до розчину, відібраного для первинної оцінки нітритів, додавали селективний інгібітор iNOS у вигляді 0,1 мл 1%-го розчину гідрохлориду аміногуанідину (98%, «Sigma-Aldrich, Inc.», США) [25]. Активність iNOS оцінювали відніманням величини активності сNOS від значення загальної активності NOS. Для визначення здатності сNOS у неспряженому стані продукувати $\cdot O_2^-$ розраховували індекс спряження цього ізоферменту як відношення його активності до швидкості вироблення $\cdot O_2^-$ НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами. Утворення пероксинітрити оцінювали за вмістом у гомогенаті печінки пероксинітритів лужних та лужноземельних металів, використовуючи їхню реакцію з йодидом калію при рН 7,0 в 0,2 М фосфатному буфері з таким самим рН [24].

Отримані результати статистично обробляли з використанням пакета програм Microsoft Office Excel з розширенням Real Statistics. Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Шапіро-Уїлка. Оскільки варіаційні ряди відповідали нормальному розподілу, то для їх порівняння використовували критерій t Стюдента для незалежних вибірок.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При ЦО шурів за умов їх утримання на ВЛД вірогідно збільшувалася продукція $\cdot\text{O}_2^-$ у тканинах печінки НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами (мікросомальними монооксигеназами та NOS) – у 1,93 раза, дихальним ланцюгом мітохондрій – у 1,89 раза, а також лейкоцитарною НАДФН-оксидазою – вдвічі порівняно з контролем I (табл. 1).

У патогенезі оксидативного стресу значне місце займає активація транскрипційного фактора NF-κB [11]. Це, з одного боку, пов'язано з особливостями ВЛД, компоненти якої – неестерифіковані жирні кислоти – здатні викликати індукцію цього сигнального шляху через послідовну активацію Toll-подібних рецепторів 2-го і 4-го типів та ІκB-кіназного комплексу [26]. Цьому сприяє ліпогенна природа фруктози, яка може підвищувати експресію генів синтази жирних кислот, ацил-коензим А карбоксилази, стероїл-коензим А десатурази-1, а також зменшувати активність коактиватора-1α/β рецептора, що активується проліфераторами пероксисом-γ (PGC-1α/β) [27]. З іншого боку, активація NF-κB стає можливою внаслідок індукованої ЦО зміни експресії генів циркадіанного осцилятора [1, 8]. Це викликає експресію низки генів, що кодують синтез прооксидантних протеїнів (мікросомальних монооксигеназ Cyp2b,

Cyp2E1, Cyp2C11, ксантиноксидоредуктази, НАДФН-оксидази 2, iNOS, циклооксигенази 2, 5-ліпоксигенази тощо) [28]. NF-κB-залежна продукція прозапальних цитокінів також сприяє розвитку оксидативного стресу [28].

Застосування біофлавоноїдів, здатних пригнічувати NF-κB, виявила їхню здатність істотно обмежувати генерацію $\cdot\text{O}_2^-$ у тканинах печінки. Так, введення EGCG і кверцетину за умов експерименту вірогідно зменшувало у тканинах печінки продукцію $\cdot\text{O}_2^-$ мікросомальними монооксигеназами та NOS – на 39,1 та 40,1%, дихальним ланцюгом мітохондрій – на 37,2 та 34,4%, НАДФН-оксидазою лейкоцитів – на 35,0 та 32,1% порівняно з відповідними результатами контролю II.

Як наведено вище, синтез мікросомальних монооксигеназ та НАДФН-оксидази лейкоцитів залежить від активації NF-κB, пригнічення якої біофлавоноїдами закономірно обмежує вироблення АФК. Водночас EGCG і кверцетин зменшують у тканинах печінки продукцію $\cdot\text{O}_2^-$ дихальним ланцюгом мітохондрій. Наявність у флавоноїдів хіноної структури надає їм окиснювально-відновлювальні властивості та здатність переносити електрони від дегідрогеназ та піридиннуклеотидів через убіхінон [29]. Завдяки цьому усувається перевідновленість клітин, що покращує електронно-транспортну функцію мітохондріального ферментного

Таблиця 1. Вплив біофлавоноїдів на продукцію супероксидного аніон-радикала різними джерелами в тканинах печінки за умов цілодобового освітлення та призначення шурам вуглеводно-ліпідної дієти ($M \pm m$)

Джерела генерації $\cdot\text{O}_2^-$, нмоль/г·с	Інтактні тварини (контроль I)	Сполуки, які вводили за умов цілодобового освітлення тварин та вуглеводно-ліпідної дієти		
		Плацебо (контроль II)	Епігалокатехін-3- галат	Кверцетин
Мікросомальні монооксигенази та NO-синтазою	22,05 ± 0,66	42,57 ± 0,81 *	25,92 ± 0,62 **	25,51 ± 0,55 *,**
Дихальний ланцюг мітохондрій	26,98 ± 0,74	50,95 ± 0,92 *	32,00 ± 0,77 *,**	33,41 ± 1,04 *,**
НАДФН-оксидаза лейкоцитів	1,37 ± 0,07	2,74 ± 0,06 *	1,78 ± 0,04 *,**	1,86 ± 0,06 *,**

Примітка (тут і в табл. 2): *P < 0,05 порівняно зі значеннями контролю I; **P < 0,05 порівняно зі значеннями контролю II

комплексу I та зменшує ризик вироблення мітохондріями АФК [30].

ЦО щурів за умов їх утримання на ВЛД вірогідно збільшувало у тканинах печінки загальну активність NOS – у 2,35 раза, а активність її індукційного ізоферменту – у 2,57 раза порівняно з контролем I (табл. 2). Активність сNOS, навпаки, знижувалася – в 1,7 раза.

Відомо, що експресія гена іNOS регулюється NF-κB [28], причому цей процес знаходиться під гальмівним контролем мелатоніну [31]. Тому за умов індукованої ЦО гіпомелатоніемії рівень іNOS та її активність закономірно збільшуються.

Вірогідне зменшення за умов експерименту індексу спряження сNOS (у 1,83 раза) підтверджує роль НАДФН-залежних електронно-транспортних ланцюгів, які також належать NOS, у генерації додаткової кількості $\cdot\text{O}_2^-$. У неспряженому стані сNOS виробляє $\cdot\text{O}_2^-$ замість оксиду азоту (NO), що зазвичай виникає при нестачі потрібних для функціонування ферменту субстратів (L-аргініну, O_2) і кофактора тетрагідробіоптерину [32]. Одночасне надмірне утворення $\cdot\text{O}_2^-$ та NO

супроводжується збільшенням концентрації агресивної АФА – пероксинітриту, на що вказує достовірне збільшення концентрації у тканинах печінки пероксинітритів лужних та лужноземельних металів – у 1,68 раза.

Введення EGCG і кверцетину за умов ЦО тварин та утримання на ВЛД вірогідно зменшувало у тканинах печінки загальну активність NOS на 46,7 і 36,2%, активність іNOS – на 49,6 і 39,0% порівняно з відповідними значеннями контролю II. Активність сNOS за цих умов зростала в обох випадках у 2,9 раза.

Застосування біофлавоноїдів значно покращувало спряженість сNOS, оскільки індекс спряження цього ізоферменту зростає при введенні EGCG і кверцетину в 4,5 та 4,7 раза порівняно з відповідними результатами контролю II.

Наслідком обмеження вироблення $\cdot\text{O}_2^-$ та NO було зниження концентрації пероксинітритів, яка при застосуванні EGCG і кверцетину за умов експерименту вірогідно зменшувалася на 30,5 і 34,3% порівняно з відповідними значеннями контролю II. Це створює умови для більш ефективного функціонування NO

Таблиця 2. Вплив біофлавоноїдів на утворення активних форм азоту в тканинах печінки за умов цілодобового освітлення та призначення щурам вуглеводно-ліпідної дієти ($M \pm m$)

Показники	Інтактні тварини (контроль I)	Сполуки, які вводили за умов цілодобового освітлення тварин та вуглеводно-ліпідної дієти		
		Плацебо (контроль II)	Епігалокатехін-3-галат	Кверцетин
Загальна активність NO-синтази, мкмоль $\text{NO}_2^-/\text{г}\cdot\text{хв}$	8,42 ± 0,88	19,84 ± 1,28*	10,58 ± 1,68**	12,66 ± 1,14*,**
Активність конститутивних ізоформ NO-синтази, мкмоль $\text{NO}_2^-/\text{г}\cdot\text{хв}$	0,81 ± 0,03	0,24 ± 0,02*	0,70 ± ,02*,**	0,70 ± 0,03*,**
Активність індукційної ізоформи NO-синтази, мкмоль $\text{NO}_2^-/\text{г}\cdot\text{хв}$	7,61 ± 0,87	19,6 ± 1,28*	9,88 ± 1,68**	11,96 ± 1,15*,**
Індекс спряження конститутивних ізоформ NO-синтази	0,037 ± 0,002	0,006 ± 0,001*	0,027 ± 0,001*,**	0,028 ± 0,001*,**
Вміст пероксинітритів лужних та лужноземельних металів, мкмоль/г	1,42 ± 0,05	2,39 ± 0,08*	1,66 ± 0,05*,**	1,57 ± 0,05**

як сигнальної молекули, що реалізується через гуанілатциклазний механізм [14],

Окрім зазначених ефектів біофлавоноїди можуть обмежувати вміст АФК/АФА у тканинах як безпосередні скевенджери $\cdot\text{O}_2^-$, пероксинітриту та гідроксильного радикала. Є дані, що вони секвеструють іони металів, що беруть участь у окисації [29]. Відомі антиоксидантні властивості EGCG і кверцетину пов'язані також з наявністю в їх структурі слабких фенольних гідроксильних груп, які легко віддають свій атом водню при взаємодії з вільними радикалами [13, 29], та з індукцією антагоністичної щодо NF- κ B сигнальної системи Nrf2 – ARE [17, 18]. До того ж, більшість флавоноїдів, у т.ч. кверцетин та EGCG, є інгібіторами циклооксигенази та ліпоксигенази, які активують окиснення арахідонової кислоти з утворенням простагландинів і лейкотрієнів [13, 15, 29].

Здатність біофлавоноїдів обмежувати оксидативно-нітрозативний стрес у тканинах печінки за умов експерименту обґрунтовує доцільність подальшого їх дослідження як потенційних безпечних засобів лікування та попередження патології печінки при дії патогенних чинників «західного» способу життя (відповідної дієти, порушення циркадіанних ритмів).

ВИСНОВКИ

1. Цілодобове освітлення шурів упродовж 30 діб на тлі 60-денного утримання тварин на дієті, збагаченій вуглеводами та жирами, супроводжується зростанням у тканинах печінки продукції активних форм кисню та азоту, на що вказує зростання швидкості вироблення супероксидного аніон-радикала НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами (мікросомальними монооксигеназами та конститутивними NO-синтазами у неспряженому стані), дихальним ланцюгом мітохондрій та НАДФН-оксидазою лейкоцитів, загальної активності NO-синтази та активності її індукційної ізоформи,

концентрації пероксинітритів.

2. Введення за умов експерименту біофлавоноїдів – епігалокатехін-3-галату та кверцетину – ефективно обмежує у тканинах печінки утворення активних форм кисню та азоту, а саме швидкість продукції супероксидного аніон-радикала різними джерелами (НАДФН-залежними мікросомальними монооксигеназами та конститутивними NO-синтазами у неспряженому стані, дихальним ланцюгом мітохондрій та НАДФН-оксидазою лейкоцитів), пригнічує активність NO-синтази за рахунок її індукційної ізоформи, зменшує концентрацію пероксинітритів.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

Yu.D. Frenkel¹, V.O. Zyuzin¹, V.S. Chern¹, V.O. Kostenko²

EFFECT OF EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE AND QUERCETIN ON THE PRODUCTION OF REACTIVE OXYGEN AND NITROGEN SPECIES IN LIVER OF RATS EXPOSED TO ROUND-THE-CLOCK LIGHT AND KEPT ON CARBOHYDRATE-LIPID DIET

¹ Petro Mohyla Black Sea National University, Mykolajiv; e-mail: cherno1965@gmail.com

² Poltava State Medical University, Ukraine; e-mail: patofiziolog@umsa.edu.ua

The purpose of this study is to investigate the effects of bioflavonoids, epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and quercetin, on the production of reactive oxygen and nitrogen species in the liver of rats under round-the-clock light exposure with an intensity of 1500 lux for 30 days while being kept on carbohydrate-lipid diet (20% fructose solution and appropriate food) for 60 days. In the liver tissues, the rate of the superoxide anion production by NADPH-dependent electron transport chains (microsomal monoxygenases and constitutive uncoupled NO synthases) increased by 1.93 times, by the mitochondrial respiratory chain by 1.89 times, and it was doubled by leukocyte NADPH-oxidase. The total activity of NO synthase was increased by 2.35

times, the activity of its inducible isoform increased by 2.57 times, and the concentration of alkali and alkaline earth metals peroxynitrites elevated by 1.68 times. Administration of bioflavonoids-epigallocatechin-3-gallate and quercetin significantly restrained the rate of superoxide anion production in the liver tissues by microsomal monoxygenases and NO synthase by 39.1 and 40.1%, by the mitochondrial respiratory chain by 37.2 and 34.4%, by leukocyte NADPH-oxidase by 35.0 and 32.1%, respectively. Epigallocatechin-3-gallate and quercetin inhibited the total activity of NO-synthase by 46.7 and 36.2%, the activity of its inducible isoform by 49.6 and 39.0%, increased the activity of the constitutive isoenzyme NO-synthase by 2.9 times and its coupling index by 4.5 and 4.7 times. Additionally, administration of these bioflavonoids lowered the concentration of peroxynitrites of alkali and alkaline earth metals by 30.5 and 34.3% compared to the respective values obtained in the group of rats, which did not receive the bioflavonoids, but were exposed to light and carbohydrate-lipid-rich diet. We suggest that epigallocatechin-3-gallate and quercetin in the above experimental conditions are effective means to restrain the formation of reactive oxygen and nitrogen species in the liver tissue.

Key words: round-the-clock light; carbohydrate-lipid diet; metabolic syndrome; reactive oxygen and nitrogen species; bioflavonoids; epigallocatechin-3-gallate; quercetin.

REFERENCES

- Kaidashev IP. The role of the molecular clock of circadian rhythms in the pathogenesis of metabolic syndrome. *Endokrynologia*. 2020;25(2):158-70. [Russian].
- Ríos PAZ, Zavala MOQ. Circadian dyssynchrony and its effect on metabolic syndrome parameters in workers. *Enfermería Global*. 2021;20(2): 603-13.
- Rochlani Y, Pothineni NV, Kovelamudi S, Mehta JL. Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. *Ther Adv Cardiovascul Dis*. 2017;11(8):215-25.
- Mishchenko TV, Gladkih AI, Poltorak VV, Bondarenko LO. Hypopinealism as a factor of metabolic syndrome development. *Endokrynologia*. 2015; 20(2):494-500. [Ukrainian].
- Cardinali DP, Vigo DE. Melatonin, mitochondria, and the metabolic syndrome. *Cell Mol Life Sci*. 2017 Nov;74(21):3941-54.
- Belikova OI, Chernov VS, Frenkel, YuD, Kostenko VO. Influence of chronic hypomelatoninemia on carbohydrate and lipid metabolism of rats kept on "Western pattern diet". *Fiziol Zh*. 2018;64(3):52-60. [Ukrainian].
- Belikova EI, Frenkel YuD, Chernov VS. Influence of exogenous melatonin on free radical processes in rats exposed to light around the clock under modeling of insulin resistance syndrome. *Modern Probl Hygiene, Radiat Environment Med (Grodno, Belarus)*. 2017;(7):35-51. [Russian].
- Xu H, Huang L, Zhao J, Chen S, Liu J, Li G. The circadian clock and inflammation: A new insight. *Clin Chim Acta*. 2021 Jan;512:12-7.
- Spengler ML, Kuropatwinski KK, Comas M, Gasparian AV, Fedtsova N, Gleiberman AS, Gitlin II, Artemicheva NM, Deluca KA, Gudkov AV, Antoch MP. Core circadian protein CLOCK is a positive regulator of NF- κ B-mediated transcription. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012 Sep 11;109(37):E2457-65.
- Belikova OI, Frenkel, YuD, Chernov VS, Kostenko VO. Influence of nuclear factor κ B inhibitor on biochemical markers of insulin resistance syndrome under hypopinealism and high-calorie carbohydrate-lipid diet. *Svit Med Biol*. 2017;(3):80-2. [Ukrainian].
- Frenkel YuD, Chernov VS, Kostenko VO. 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 Probl Suchasn Med*. 2021;21(3):214-8. [Ukrainian].
- Chabicovsky M, Prieschl-Grassauer E, Seipelt J, Muster T, Szolar OH, Hebar A, Doblhoff-Dier O. Pre-clinical safety evaluation of pyrrolidine dithiocarbamate. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2010 Sep;107(3):758-67.
- Bathaie SZ, Tamanoi F (Eds). *Natural products and cancer signaling: isoprenoids, polyphenols and flavonoids*. Acad Press/Elsevier; 2014.
- Yang H, Landis-Piwowar K, Chan TH, Dou QP. Green tea polyphenols as proteasome inhibitors: implication in chemoprevention. *Current Cancer Drug Targets*. 2011;11(3):296-306.
- Moybenko AA, editor. *Bioflavonoids as organoprotectors (quercetin, corvutin, quertin)*. Kyiv: Naukova dumka; 2012. [Russian].
- Kravtsova-Ivantsiv Y, Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome system and activation of NF- κ B: involvement of the ubiquitin ligase KPC1 in p105 processing and tumor suppression. *Mol Cell Oncol*. 2015;2(4):e1054552.
- Du X, Yu J, Sun X, Qu S, Zhang H, Hu M, Yang S, Zhou P. 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;17:7952-8.
- Sharma A, Parikh M, Shah H, Gandhi T. Modulation of Nrf2 by quercetin in doxorubicin-treated rats. *Heliyon*. 2020;6(4):e03803.
- 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):2127-32.
- 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 lipopolisaccharide of *Salmonella typhi*. *Wiad Lek*. 2019 Aug 31;72(8):1499-503.
- Yelins'ka AM, Kostenko VO. 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 Probl Suchas Med.* 2020;20(1):13-8.
22. 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. No. 24.
 23. Kostenko VO, Tsebrzhins'kii OI. 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].
 24. Akimov O Ye, 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):70-5.
 25. 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):80-5.
 26. Hwang DH, Kim JA, Lee JY. Mechanisms for the activation of Toll-like receptor 2/4 by saturated fatty acids and inhibition by docosahexaenoic acid. *Eur J Pharmacol.* 2016 Aug 15;785:24-35.
 27. Dekker MJ, Su Q, Baker C, Rutledge AC, Adeli K. Fructose: a highly lipogenic nutrient implicated in insulin resistance, hepatic steatosis, and the metabolic syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010 Nov;299(5):E685-94.
 28. Morgan MJ, Liu ZG. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling. *Cell Res.* 2011 Jan;21(1):103-15.
 29. Lukyanova LD. Signaling mechanisms of hypoxia. Moscow: Rus Acad Sci; 2019. [Russian].
 30. Zhao RZ, Jiang S, Zhang L, Yu ZB. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling. *Int J Mol Med.* 2019 Jul;44(1):3-15.
 31. Oktem G, Uslu S, Vatanserver SH, Aktug H, Yurtseven ME, Uysal A. Evaluation of the relationship between inducible nitric oxide synthase (iNOS) activity and effects of melatonin in experimental osteoporosis in the rat. *Surg Radiol Anat.* 2006 May;28(2):157-62.
 32. Luo S, Lei H, Qin H, Xia Y. Molecular mechanisms of endothelial NO synthase uncoupling. *Current Pharm Des.* 2014;20(22):3548-53.
 33. Ignarro LJ, Freeman B (Eds). *Nitric Oxide: Biology and Pathobiology*; 3rd ed. Acad Press; 2017.

Матеріал надійшов до редакції 04.11.2021