

Вплив кверцетину на показники оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах нирок щурів за умов гострого десинхронозу та ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді

О.М. Гутнік, С.М. Назаренко, В.О. Костенко

Полтавський державний медичний університет; e-mail: v.kostenko@pdmu.edu.ua

Актуальність дослідження зумовлена зростаючим інтересом до впливу гострого десинхронозу (ГД) на оксидативні розлади та недостатньо вивченим впливом флавоноїдів на ці процеси в тканинах нирок. Вивчали вплив кверцетину на показники оксидативно-нітрозативного стресу в гомогенаті нирок щурів за умов ГД і ліпополісахарид (ЛПС)-індукованої системної запальної відповіді (СЗВ). Тварин випадково розподіляли на 5 груп: 1-ша – контроль; 2-га – моделювання ЛПС-індукованої СЗВ (впродовж 8 тиж); 3-тя – відтворення ГД (зміщення циклу «світло-темрява» на 6 год раніше протягом 7 діб); 4-та – моделювання ГД упродовж останнього тижня відтворення ЛПС-індукованої СЗВ. Щурам 5-ї групи протягом часу відтворення моделі ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ внутрішньошлунково щоденно вводили водорозчинну форму кверцетину (корвітин) у дозі 200 мг/кг (20 мг/кг у перерахунку на кверцетин). Виявлено, що моделювання ЛПС-індукованої СЗВ та ГД істотно збільшувало у гомогенаті нирок швидкість продукції супероксидного аніон-радикала мікросомальними монооксигеназами та NO-синтазою (NOS), дихальним ланцюгом мітохондрій, НАДФН-оксидазою лейкоцитів, підвищувало активність індукбельної NOS і водночас зменшувало активність конститутивної ізоформи цього ферменту та індекс її спряження. При відтворенні ГД швидкість вироблення супероксидного аніон-радикала НАДФН-оксидазою лейкоцитів, загальна та індукбельна активність NOS були вірогідно меншими порівняно з умовами ЛПС-індукованої СЗВ. При моделюванні ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ продукція супероксидного аніон-радикала мікросомами, мітохондріями та НАДФН-оксидазою лейкоцитів перевищувала на 15,9, 16,0 і 38,5% відповідні результати 2-ї групи та на 24,4, 17,5 і 74,6% – 3-ї групи. Індукбельна активність NOS була більшою на 22,9% порівняно з відповідними значеннями 2-ї групи та на 93,4% – 3-ї групи, концентрація пероксинітритів алкалійних та алкалоземельних металів перевищувала на 35,5% значення 2-ї групи та на 57,9% – 3-ї групи. Введення кверцетину під час моделювання ГД на тлі СЗВ, індукованої ЛПС, вірогідно зменшувало швидкість генерації супероксидного аніон-радикала мікросомальними монооксигеназами на 17,1%, дихальним ланцюгом мітохондрій на 31,2%, НАДФН-оксидазою лейкоцитів на 19,4%, загальну та індукбельну активність NOS на 50,4 і 55,5% відповідно, концентрацію пероксинітритів алкалійних та алкалоземельних металів на 41,4% порівняно зі значенням 4-ї групи. Зроблено висновок, що введення кверцетину вірогідно зменшує ознаки оксидативно-нітрозативного стресу в гомогенаті нирок щурів.

Ключові слова: гострий десинхроноз; ліпополісахарид; системна запальна відповідь; активні форми кисню та азоту; оксидативно-нітрозативний стрес; кверцетин; нирки.

ВСТУП

Оксидативно-нітрозативний стрес і системна запальна відповідь (СЗВ) є взаємопов'язаними процесами, які можуть впливати та посилювати один одного, призводячи до розвитку

та прогресуванню різних захворювань, у тому числі хвороб нирок [1]. Активні форми кисню та азоту (АФК, АФА відповідно) активують імунні клітини, такі як моноцити/макрофаги та нейтрофіли. Ці клітини, в свою чергу,

© Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, 2024

© Видавець ВД "Академперіодика" НАН України, 2024

також генерують АФК/АФА через активацію прозапальних редоксчутливих факторів транскрипції та сигнальних шляхів, таких як NF- κ B (англ. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), STAT3 (англ. signal transducer and activator of transcription 3), AP-1 (англ. activating protein-1) та каскад мітогенактивованих протеїнкіназ (MAPKs) [2]. Таким чином, між запаленням і оксидативно-нітрозативним стресом виникає позитивний зворотний зв'язок. У тканинах нирок ця петля підтримує хронічне запалення і призводить до пошкодження нефроцитів, активації сигнальних шляхів, що сприяють прогресуванню запалення та інтерстиціального фіброзу, зниженню швидкості гломерулярної фільтрації, розвитку гострої та хронічної хвороби нирок [3, 4]. Цьому сприяє здатність АФК/АФА ініціювати різні види програмованої клітинної смерті (апоптоз, фероптоз, піроптоз, нетоз, партанатоз й автофагію) [5, 6].

Останнім часом зростає зацікавленість у вивченні зв'язку між дискоординацією біологічних ритмів організму (десинхронозом) та оксидативними розладами [7]. Порушення ритму «день-ніч», що є головним синхронізатором циркадіанної системи, супроводжується надмірним утворенням вільних радикалів, наслідком чого є окисне пошкодження клітинних компонентів [8]. Невідповідність між циркадіанними ритмами внутрішніх годинників і зовнішнім середовищем призводить до порушення функціонального стану нирок [9] і може супроводжуватися розвитком хронічної хвороби нирок [10].

Дослідження підтверджують значний вплив світлового режиму та, меншою мірою, характеру харчування (вживання їжі пізно ввечері або вночі, споживання глутамату, кофеїну й алкоголю) на функціонування центрального та периферичних циркадіанних осциляторів та пов'язану з ними продукцію мелатоніну [11, 12]. Доведено суттєвий вплив поліфенолів на експресію годинникових генів [13] і пінеальну секрецію [14].

Виявлено здатність кверцетину збільшувати у молодих клітинах фібробластів експресію генів, що регулюються циркадіанним осцилятором (Sirt1 і NR1D1) [15]. Окрім того, ця сполука безпосередньо діє на годинникові гени *Bmal1*, *Clock* і *Cry1*, стримує десинхронізацію циркадіанних ритмів у печінці мишей [16]. Проте до цього часу недостатньо досліджено вплив флавоноїдів на продукцію АФК / АФА в тканинах нирок щурів за умов гострого десинхронозу (ГД) та СЗВ.

Метою нашої роботи було вивчення впливу кверцетину на показники оксидативно-нітрозативного стресу в гомогенаті нирок щурів за умов ГД і ЛПС-індукованої СЗВ.

МЕТОДИКА

Дослідження було проведено на 35 білих самцях щурів лінії Вістар масою 210–220 г, яких утримували за стандартних умов віварію (температура $22 \pm 2^\circ\text{C}$, вологість повітря 30–60%) з вільним доступом до води та їжі. Досліди були схвалені комісією з етичних питань та біоетики Полтавського державного медичного університету (протокол № 199 від 25 листопада 2021 р.) та проводилися відповідно до вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

Щурів рандомно розподіляли на 5 груп по 7 тварин: 1-ша – контроль; 2-га – моделювання ЛПС-індукованої СЗВ; 3-тя – відтворення ГД; 4-та – моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ. Щурам 5-ї групи протягом часу відтворення моделі ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ внутрішньошлунково (через зонд) щоденно перед ранковим годуванням вводили водорозчинну форму кверцетину (препарат «корвітин», виробник ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна) у дозі 200 мг/кг (20 мг/кг у перерахунку на кверцетин).

Для моделювання СЗВ використовували ЛПС *Salmonella typhi* (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США), який внутрішньоочередивно вводили

у дозі 0,4 мкг/кг маси тіла тричі протягом 1-го тижня та одноразово щотижня впродовж наступних 7 тиж [17]. Під час відтворення СЗВ тварин, так само як і контрольних, тримали в 12/12-годинному циклі світло-темрява. Для освітлення використовували світлодіодні лампи, що забезпечували загальний світловий потік 820 лм та освітленість 205 лк. Перед відтворенням ГД щурів протягом 3 тиж адаптували до стандартного фоторежиму (12 год світла, 12 год темряви). Далі впродовж 7 діб цикл світло-темрява зміщували на 6 год раніше. При моделюванні ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ, зсув цього циклу відтворювали протягом останнього тижня моделювання СЗВ.

Після завершення експерименту тварин виводили з експерименту під внутрішньоочеревинним тіопенталовим наркозом у дозі 50 мг/кг маси тварини (ПАТ «Київмедпрепарат», Україна). Швидкість продукції супероксидного аніон-радикала у 10%-му гомогенаті нирок вимірювали у тесті з нітросинім тетразолієм. Для оцінки вироблення цієї сполуки різними джерелами – мікосомальними монооксигеназами та NO-синтазою (NOS), дихальним ланцюгом мітохондрій і НАДФН-оксидазою лейкоцитів – гомогенат преінкубували з додаванням таких сполук: нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату відновленого (НАДФН), нікотинамідаденіндинуклеотиду відновленого (НАДН) і ЛПС *Salmonella typhi* відповідно (“Sigma-Aldrich Inc.”, США) [18]. Фотометрування виконували на довжині хвилі 540 нм з використанням спектрофотометра Ulab 101 (Китай).

Загальну активність NOS оцінювали за приростом концентрації нітрит-іонів (NO_2^-) після інкубації 10%-го гомогенату впродовж 30 хв у інкубаційному розчині, що містив 2,5 мл 0,1 М тріс-буфера, 0,3 мл 320 мМ водного розчину L-аргініну та 0,1 мл 1 мМ розчину НАДФН відновленого. Після змішування гомогенату з інкубаційним розчином відразу оцінювали утворення похідних червоного кольору в реакції з сульфаніловою кислотою та

α -нафтиламіном, інтенсивність забарвлення яких була пропорційна вмісту NO_2^- , вимірюваному на довжині хвилі 540 нм. Після інкубації реакцію зупиняли додаванням 0,02 мл 0,02%-го азиду натрію та визначали кінцеву концентрацію NO_2^- . Для оцінки активності конститутивних NOS (cNOS) до розчину, відібраного для початкового вимірювання NO_2^- , додавали селективний інгібітор iNOS – 0,1 мл 1%-го розчину гідрохлориду аміногуанідину (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) [18]. Активність iNOS визначали обчисленням різниці між активністю cNOS та загальною активністю NOS. Здатність cNOS у неспряженому стані генерувати АФК оцінювали за індексом спряження цього ізоферменту, який розраховували як співвідношення між його активністю та швидкістю утворення супероксидного аніон-радикала НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами. Утворення пероксинітриту судили за концентрацією пероксинітритів алкаліїчних та алкалоземельних металів у 10%-му гомогенаті нирок у реакції з йодидом калію в 0,2 М фосфатному буфері з рН 7,0 [18]. Оптичну густину вимірювання на довжині хвилі 355 нм.

Результати дослідження піддавали статистичному аналізу за допомогою програмного забезпечення Microsoft Office Excel та додатку Real Statistics 2019. Перевірку відповідності варіаційних рядів Гаусовій дисперсії (нормальному розподілу) проводили згідно з міжнародним стандартом ISO 5479:1997, використовуючи тест Шапіро-Уїлка. За умов нормального розподілу варіант у всіх групах дослідів виконували параметричний аналіз дисперсії (ANOVA), наступну перевірку (post-hoc analysis) статистичної значущості відмінностей між окремими групами проводили із використанням тесту Тьюкі. Для уникнення феномену багатократних порівнянь значення Р коригували за допомогою поправки Дана-Шидака. Різницю між показниками окремих груп вважали статистично значущою при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Моделювання ЛПС-індукованої СЗВ вірогідно збільшувало швидкість вироблення супероксидного аніон-радикала у гомогенаті нирок НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами (мікосомальними монооксигеназами та NOS) на 38,4%, дихальним ланцюгом мітохондрій на 30,1%, а також лейкоцитарною НАДФН-оксидазою на 55,7% порівняно з контролем (табл. 1).

Відтворення ГД також супроводжувалося зростанням генерації цієї АФК у гомогенаті нирок: мікосомальними монооксигеназами та NOS на 28,9% і дихальним ланцюгом мітохондрій на 28,5% порівняно з контролем. Продукція супероксидного радикала лейкоцитарною НАДФН-оксидазою була вищою на 23,5% щодо контролю та меншою на 20,7% за значення 2-ї групи.

Водночас моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ виявило підвищення швидкості вироблення супероксидного аніон-радикала у гомогенаті нирок. Генерація цієї сполуки мікосомальними монооксигеназами та NOS достовірно перевищувала результат контролю на 60,4%, 2-ї групи – на 15,9%, 3-ї

групи – на 24,4%. Продукція супероксидного аніон-радикала мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом була вищою порівняно з наведеними групами на 51,0, 16,0 і 17,5%, а НАДФН-оксидазою лейкоцитів – на 115,7, 38,5 і 74,6% відповідно.

Введення кверцетину під час моделювання ГД на тлі СЗВ, індукованої ЛПС, вірогідно зменшувало швидкість генерації супероксидного аніон-радикала мікосомальними монооксигеназами на 17,1%, дихальним ланцюгом мітохондрій – на 31,2%, НАДФН-оксидазою лейкоцитів – на 19,4% порівняно з відповідними результатами 4-ї групи. Проте за цих умов вироблення супероксидного аніон-радикала НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами мікосом і лейкоцитів все таки перевищувала значення інтактної групи ($P < 0,05$).

Відтворення ЛПС-індукованої СЗВ значно збільшувало загальну та індуцибельну активність NOS у гомогенаті нирок на 78,4 і 115,0% відповідно порівняно з результатами 1-ї групи (табл. 2). Активність cNOS, навпаки, зменшувалася на 44,4% щодо контролю. При моделюванні ГД активність iNOS зростала на 37,1% порівняно зі значеннями 1-ї

Таблиця 1. Вплив кверцетину на швидкість генерації супероксидного аніон-радикала різними джерелами (нмоль/г·с) у гомогенаті нирок за умов гострого десинхронозу та ліпополісахаридіндукованої системної запальної відповіді ($M \pm m$)

Схема дослідження, група тварин	Мікосомальні монооксигенази та NO-синтаза	Дихальний ланцюг мітохондрій	НАДФН-оксидаза лейкоцитів
Контроль (1-ша група)	17,81±0,61	23,19±0,77	1,15±0,04
Системна запальна відповідь (2-га група)	24,65±0,61 *	30,18±1,08 *	1,79±0,13 *
Гострий десинхроноз (3-тя група)	22,96±0,59 *	29,79±1,26 *	1,42±0,08 **, **
Гострий десинхроноз на тлі системної запальної відповіді (4-та група)	28,56±0,51*, **, ***	35,01±0,34*, **, ***	2,48±0,01*, **, ***
Введення кверцетину протягом моделювання гострого десинхронозу на тлі системної запальної відповіді (5-та група)	23,67±0,67*, ****	24,10±0,67**, **, ****	2,00±0,06*, **, ****

Примітка: тут і в табл. 2: * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями контролю; ** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями 2-ї групи; *** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями 3-ї групи; **** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями 4-ї групи.

Таблиця 2. Вплив кверцетину на активність NO-синтази в гомогенаті нирок за умов гострого десинхронозу та ліпополісахаридіндукованої системної запальної відповіді (M ± m)

Схема досліджу, група тварин	Активність NO-синтази, мкмоль NO ₂ ⁻ /Г·хв		
	загальна	конститутивна	індуцибельна
Контроль (1-ша група)	1,16±0,06	0,27±0,01	0,89±0,06
Системна запальна відповідь (2-га група)	2,07±0,05 *	0,15±0,02 *	1,92±0,06 *
Гострий десинхроноз (3-тя група)	1,39±0,08 *,**	0,17±0,01 *	1,22±0,08 *,**
Гострий десинхроноз на тлі системної запальної відповіді (4-та група)	2,52±0,12*,**,***	0,17±0,04 *	2,36±0,09*,**,***
Введення кверцетину протягом моделювання гострого десинхронозу на тлі системної запальної відповіді (5-та група)	1,25±0,04**,****	0,20±0,02 *	1,05±0,04*,**,****

групи, але була на 36,5% меншою за відповідні результати 2-ї групи; активність cNOS знижувалася на 37,0% щодо контролю.

Моделювання ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ супроводжувалося зростанням активності iNOS у гомогенаті нирок, що перевищувала значення 1-ї групи на 165,2%, 2-ї групи – на 22,9%, 3-ї групи – на 93,4%. Проте активність cNOS, що була на 37,0% нижчою за контроль, вірогідно не відрізнялася від значень 2-ї та 3-ї груп.

Введення кверцетину під час відтворення ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ вірогідно зменшувало загальну NOS та iNOS у гомогенаті нирок на 50,4 і 55,5% порівняно з відповідними значеннями 4-ї групи. Водночас активність cNOS вірогідно не відрізнялася від результатів 2-ї, 3-ї та 4-ї груп.

У разі окремого моделювання ЛПС-індукованої СЗВ і ГД істотно зростала неспряженість cNOS, коли замість оксиду азоту виробляється супероксидний аніон-радикал. Підтвердженням цього було зменшення індексу спряження cNOS на 60,0 і 53,3% відповідно порівняно з контролем (рис. 1). При відтворенні ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ та введенні за цих умов кверцетину цей показник вірогідно не відрізнявся від значень 2-ї, 3-ї та 4-ї груп. У неспряжений стан cNOS зазвичай переходить при недостатньому постачанні необхідних для функціонування

цього ферменту субстратів або кофакторів, таких як L-аргінін, кисень та тетрагідробіоптерин [19].

Надмірне утворення супероксидного аніон-радикала та оксиду азоту закономірно підвищує концентрацію пероксинітриду. Вміст пероксинітридів алкалійних і алкалоземельних металів у гомогенаті нирок

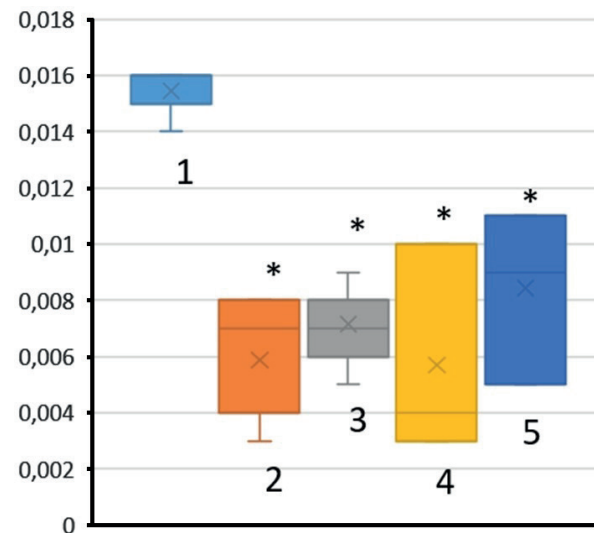


Рис. 1. Індекс спряження конститутивних ізоформ NO-синтази в гомогенаті контрольних тварин (1), після моделювання ліпополісахаридіндукованої системної запальної відповіді (2), гострого десинхронозу (3), гострого десинхронозу на тлі ліпополісахаридіндукованої системної запальної відповіді (4) та введення за цих умов кверцетину (5). *P < 0,05 порівняно зі значенням контролю

вірогідно зростав на 38,4% при моделювання ЛПС-індукованої СЗВ порівняно з результатом контрольної групи (рис. 2), але суттєво не відрізнявся від нього у разі відтворення ГД. Водночас при відтворенні ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ значення цього показника перевищувало на 87,5% результат 1-ї групи, на 35,5% – 2-ї групи та на 57,9% – 3-ї групи. Токсичні ефекти пероксинітриту зазвичай пов'язані з його здатністю модифікувати білки нітруванням або окисненням амінокислот (зокрема, цистеїну, тирозину та метіоніну), ініціювати реакції пероксидного окиснення ліпідів і хімічного розщеплення ДНК, індукувати загибель клітин через апоптоз або некроз [20].

Застосування кверцетину під час відтворення ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ вірогідно зменшувало концентрацію перок-

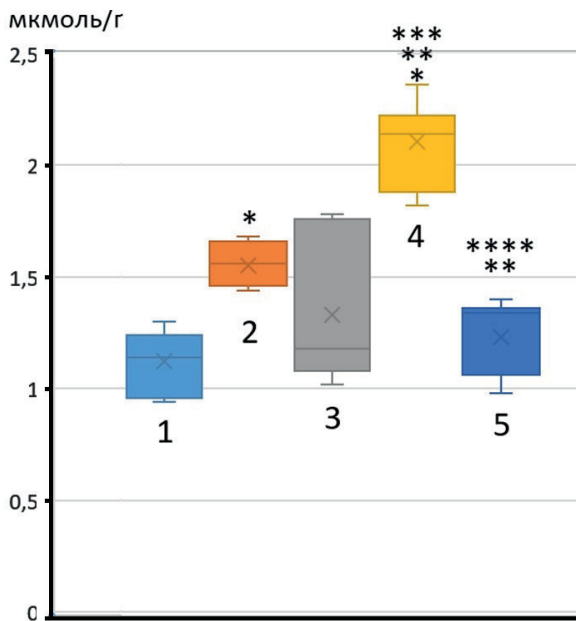


Рис. 2. Вміст пероксинітритів алкалійних та алкалоземельних металів у гомогенаті контрольних тварин (1), після моделювання ліпополісахаридіндукованої системної запальної відповіді (2), гострого десинхронозу (3), гострого десинхронозу на тлі ліпополісахаридіндукованої системної запальної відповіді (4) та введення за цих умов кверцетину (5). * $P < 0,05$ порівняно зі значенням контролю; ** $P < 0,05$ порівняно зі значенням 2-ї групи; *** $P < 0,05$ порівняно зі значенням 3-ї групи; **** $P < 0,05$ порівняно зі значенням 4-ї групи

синітритів алкалійних та алкалоземельних металів у гомогенаті нирок на 41,4 % порівняно зі значенням 4-ї групи. Цей показник був на 20,6% меншим за результат 2-ї групи, але достовірно не відрізнялася від значення 3-ї групи.

Одержані в цьому дослідженні результати узгоджуються з даними літератури щодо збільшення швидкості вироблення АФК/АФА при введенні ЛПС *S. typhi* у різних органах (крові, слизових і слинних залозах, пародонті) [17,21]. Раніше було виявлено, що ЛПС, як представник патогенасоційованих молекулярних патернів (англ. pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), у разі взаємодії з Toll-подібними рецепторами 4-го типу здатні спричинити генерацію АФК/АФА та індукувати прозапальні цитокіни, що опосередковується через активацію редоксчутливих факторів транскрипції, наприклад, NF- κ B і AP-1. Надмірна продукція супероксидного аніон-радикала викликає зміни окисно-відновного стану клітин, що призводить до активації цих та інших редоксчутливих сигнальних шляхів, у тому числі асоційованих зі STAT3, системами Wnt/ β -катенін, MAPKs тощо [2]. Це ще більше сприяє розвитку оксидативно-нітрозативного стресу за механізмом «замкнутого кола».

За умов дискоординації біологічних ритмів організму активація прозапальних редоксчутливих факторів транскрипції через зміни в білках ROR α (англ. RAR-related orphan receptor α), REV-ERB α , кіназах, фосфатазах та убіквітинових лігазах, спричиненими порушеннями експресії генів *Bmal1*, *Clock*, *Cry* та *Per*, пов'язаними з розладами фоторежиму [22]. При цьому білки циркадіанного годинника діють як транскрипційні фактори, що контролюють гени імунної системи, а також беруть участь у прямій фізичній взаємодії з медіаторами запалення.

Раніше було показано, що розвиток оксидативно-нітрозативного стресу в скелетних м'язах щурів у разі їх цілодобового освітлення на тлі вуглеводно-ліпідної дієти

залежить від зростання швидкості генерації супероксидного аніон-радикала мітохондріями та саркоплазматичним ретикулулом, збільшення активності іNOS та концентрації пероксинітриту, що коригувалося інгібітором активації NF-κB піролідиндитіокарбаматом амонію та індуктором сигнальної системи Nrf2 (англ. nuclear factor erythroid 2-related factor 2) – антиоксидант респонсивний елемент (ARE) диметилфумаратом [23].

Отримані нами результати узгоджуються з висновками інших досліджень щодо здатності кверцетину обмежувати вироблення АФК/АФА у різних тканинах (сльозових і слинних залозах, пародонті) за умов відтворення ЛПС-індукованої СЗВ [17, 21] та у печінці в разі цілодобового освітлення щурів на тлі вуглеводно-ліпідної дієти [18]. Останнім часом доведено, що кверцетин насамперед діє як інгібітор прозапальних сигнальних шляхів (NF-κB і MAPK) та індуктор системи Nrf2 – ARE і дещо меншою мірою його дія спрямована на інші молекулярні мішені (пригнічення 5-ліпоксигенази, циклооксигенази-2 та ксантинооксидази тощо) [24, 25].

Здатність кверцетину модулювати сигнальні шляхи, асоційовані з редоксчутливими транскрипційними факторами та системою циркадіанного осцилятора, разом з його прямою антиоксидантною дією відкриває нові стратегії щодо використання цього флавоноїду як нефропротективного засобу за умов СЗВ та розладів циркадіанних ритмів, що дасть змогу значно обмежити пошкодження клітин нирок, пов'язане з розвитком у них оксидативно-нітрозативного стресу.

ВИСНОВКИ

1. Моделювання ЛПС-індукованої СЗВ та ГД істотно збільшує показники оксидативно-нітрозативного стресу в гомогенаті нирок щурів (швидкість продукції супероксидного аніон-радикала мікросомальними монооксигеназами та NOS, дихальним ланцюгом мітохондрій і НАДФН-оксидазою лейкоцитів, ак-

тивність іNOS, зменшує активність сNOS та її спряження). При відтворенні ГД швидкість вироблення супероксидного аніон-радикала НАДФН-оксидазою лейкоцитів, активність іNOS була вірогідно меншою порівняно з індукованою СЗВ.

2. При моделюванні ГД на тлі ЛПС-індукованої СЗВ концентрації маркерів оксидативно-нітрозативного стресу в гомогенаті нирок щурів (швидкість продукції супероксидного аніон-радикала, активність іNOS, концентрація пероксинітритів алкалійних та алкалоземельних металів) істотно перевищує їх значення за умов окремої дії патогенних чинників.

3. Введення кверцетину під час моделювання ГД на тлі СЗВ, індукованої ЛПС, вірогідно зменшує ознаки оксидативно-нітрозативного стресу в гомогенаті нирок щурів (швидкість генерації супероксидного аніон-радикала мікросомальними монооксигеназами, дихальним ланцюгом мітохондрій і НАДФН-оксидазою, активність іNOS, концентрацію пероксинітритів алкалійних та алкалоземельних металів).

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.

О.М. Gutnik, S.M. Nazarenko, V.O. Kostenko

EFFECT OF QUERCETIN ON OXIDATIVE AND NITROSATIVE STRESS IN KIDNEY TISSUES OF RATS DURING ACUTE DESYNCHRONOSIS AND LIPOPOLYSACCHARIDE-INDUCED INFLAMMATION

*Poltava State Medical University;
e-mail: v.kostenko@pdmu.edu.ua*

The relevance of this study stems from the growing interest in the impact of acute desynchronosis (AD) on oxidative disorders and the insufficiently studied effect of flavonoids on these processes in kidney tissue. This study investigates

the effect of quercetin on oxidative and nitrosative stress in rat kidney homogenate under AD and 3 lipopolysaccharide (LPS)-induced systemic inflammatory response (SIR). The animals were randomly divided into five groups: group 1 served as the control, group 2 underwent LPS-induced SIR modeling for 8 weeks, group 3 experienced AD reproduction by shifting the light-dark cycle 6 hours earlier for 7 days, group 4 underwent AD modeling during the last week of LPS-induced SIR, and rats in group 5 were administered a water-soluble form of quercetin (corvitin) intragastrically was administered at a dose of 200 mg/kg (20 mg/kg in terms of quercetin) daily during the AD modeling against LPS-induced SIR. It was found that the modeling of LPS-induced oxidative stress and AD significantly increased the rate of superoxide anion radical production in kidney homogenate by microsomal monooxygenases and NO synthase (NOS), mitochondrial respiratory chain, leukocyte NADPH oxidase, inducible NOS activity, and decreased the activity of the constitutive NOS isoform and its coupling index. Under AD modeling, the rate of superoxide anion radical production by leukocyte NADPH oxidase, total and inducible NOS activity was significantly lower compared with LPS-induced SIR. When modeling AD against the background of LPS-induced SIR, the production of superoxide anion radical by microsomes, mitochondria and leukocyte NADPH oxidase exceeded the respective results of group 2 by 15.9%, 16.0% and 38.5%, and group 3 by 24.4%, 17.5% and 74.6%. The inducible NOS activity was 22.9% higher compared to the value of group 2 and 93.4% higher in group 3, the concentration of peroxynitrites of alkali and alkaline earth metals was 35.5% higher than the respective parameters of group 2 and 57.9% higher than in group 3. Administration of quercetin during AD modeling and LPS-induced oxidative stress significantly reduced the rate of superoxide anion radical production by microsomal monooxygenases by 17.1%, mitochondrial respiratory chain by 31.2%, leukocyte NADPH oxidase by 19.4%, total and inducible NOS activity by 50.4% and 55.5%, respectively; the concentration of peroxynitrites of alkali and alkaline earth metals diminished by 41.4% compared to the value of group 4. It has been concluded that the administration of quercetin significantly reduces the signs of oxidative-nitrosative stress in the kidney homogenate of rats.

Key words: acute desynchronization; lipopolysaccharide; systemic inflammatory response; reactive oxygen and nitrogen species; oxidative-nitrosative stress; quercetin; kidneys.

REFERENCES

- Chanda D, Ha H, Lee IK. The role of oxidative stress and systemic inflammation in diabetes and chronic kidney disease. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023 Aug 21;14:1272525.
- Kostenko V, Akimov O, Gutnik O, Kostenko H, Kostenko V, Romantseva T, Morhun Y, Nazarenko S, Taran O. Modulation of redox-sensitive transcription factors with polyphenols as pathogenetically grounded approach in therapy of systemic inflammatory response. *Heliyon*. 2023 Apr 16;9(5):e15551.
- Denova L, Ivanov D. Influence of oxidative, carbonyl, and nitrosative stresses on the course of chronic kidney disease. *Kidneys*. 2022;11(1):53-61.
- Piko N, Bevc S, Hojs R, Ekart R. The Role of Oxidative Stress in Kidney Injury. *Antioxidants (Basel)*. 2023 Sep 16;12(9):1772.
- Wang J, Liu Y, Wang Y, Sun L. The cross-link between ferroptosis and kidney diseases. *Oxid Med Cell Long*. 2021 May 3;2021:6654887.
- Wang F, Yuan Q, Chen F, Pang J, Pan C, Xu F, Chen Y. Fundamental mechanisms of the cell death caused by nitrosative stress. *Front Cell Dev Biol*. 2021 Sep 20;9:742483.
- Makris KC, Heibati B, Narui SZ. Chrono-modulated effects of external stressors on oxidative stress and damage in humans: A scoping review on night shift work. *Environ Int*. 2023;178:108048.
- Budkowska M, Cecerska-Heryć E, Marcinowska Z, Siennicka A, Dołęgowska B. The influence of circadian rhythm on the activity of oxidative stress enzymes. *Int J Mol Sci*. 2022;23(22):14275.
- Izmailova O, Kabaliev A, Shynkevych V, Shlykova O, Kaidashev I. PPARG agonist pioglitazone influences diurnal kidney medulla mRNA expression of core clock, inflammation-, and metabolism-related genes disrupted by reverse feeding in mice. *Physiol Rep*. 2022 Dec;10(23):e15535.
- Ran J, Tao C, Zhang S, Chen Q, Yang P, Hu Y, Liao X. Circadian syndrome is associated with the development of chronic kidney disease and rapid decline in kidney function in middle-aged and elder adults: a China nationwide cohort study. *J Nutr Health Aging*. 2024 Jan;28(1):100011.
- Peuhkuri K, Sihvola N, Korpela R. Dietary factors and fluctuating levels of melatonin. *Food Nutr Res*. 2012;56:10.3402/fnr.v56i0.17252.
- He S, Zhang X, Qu S. Glutamate, glutamate transporters, and circadian rhythm sleep disorders in neurodegenerative diseases. *ACS Chem Neurosci*. 2019;10(1):175-81.
- Huang JQ, Lu M, Ho CT. Health benefits of dietary chronobiotics: beyond resynchronizing internal clocks. *Food Funct*. 2021 Jul 21;12(14):6136-56.
- Frenkel Y, Chernov V, Kostenko H, Chopra H, Gautam RK, Kostenko V. Dietary supplementation with resveratrol attenuates serum melatonin level, pro-inflammatory response and metabolic disorder in rats fed high-fructose high-lipid diet under round-the-clock lighting. *Pathophysiology*. 2023 Feb;30(1):37-47.
- Okada Y, Okada M. Quercetin, caffeic acid and resveratrol regulate circadian clock genes and aging-related genes in young and old human lung fibroblast cells. *Mol Biol Rep*. 2020 Feb;47(2):1021-32.
- Li R, Wang G, Liu R, Luo L, Zhang Y, Wan Z. Quercetin improved hepatic circadian rhythm dysfunction in middle-aged mice fed with vitamin D-deficient diet. *J*

- Physiol Biochem. 2024 Feb;80(1):137-47.
17. Kozaeva R, Klymenko MO, Katrushov OV, Kostenko VO. Bioflavonoids as agents for correcting nitro-oxidative stress and salivary gland functions in rats exposed to alcohol during modeled lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response. *Wiad Lek.* 2022;75(3):685-90.
 18. Frenkel' YD, Zyuzin VO, Cherno VS, Kostenko VO. 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. *Fiziol Zh.* 2022;68(1):20-7. [Ukrainian].
 19. Luo S, Lei H, Qin H, Xia Y. Molecular mechanisms of endothelial NO synthase uncoupling. *Curr Pharm Des.* 2014;20(22):3548-53.
 20. Jomova K, Ratova R, Alomar SY, Alwaseel SH, Nepovimova E, Kuca K, Valko M. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Arch Toxicol.* 2023 Oct;97(10):2499-574.
 21. Mykytenko AO, Matsytska YK, Akimov OY. Influence of lipopolysaccharide and the general adaptation syndrome on the development of oxidative-nitrosative stress in the lacrimal glands of rats. *Fiziol Zh.* 2023;69(2):71-7.
 22. Hergenhan S, Holtkamp S, Scheiermann C. Molecular interactions between components of the circadian clock and the immune system. *J Mol Biol.* 2020 May 29;432(12):3700-13.
 23. Frenkel' YD, Cherno VS, Kostenko VO. Effect of NF- κ B and Nrf2 transcription factor modulators on indicators of oxidative-nitrosative stress in skeletal muscles of rats under chronic hypomelatoninemia and carbohydrate-lipid diet. *Fiziol Zh.* 2023;69(2):11-8. [Ukrainian].
 24. Si TL, Liu Q, Ren YF, Li H, Xu XY, Li EH, Pan SY, Zhang JL, Wang KX. Enhanced anti-inflammatory effects of DHA and quercetin in lipopolysaccharide-induced RAW264.7 macrophages by inhibiting NF- κ B and MAPK activation. *Mol Med Rep.* 2016 Jul;14(1):499-508.
 25. Zamanian MY, Soltani A, Khodarahmi Z, Alameri AA, Alwan AMR, Ramírez-Coronel AA, Obaid RF, Abosaooda M, Heidari M, Golmohammadi M, Anoush M. Targeting Nrf2 signaling pathway by quercetin in the prevention and treatment of neurological disorders: An overview and update on new developments. *Fundam Clin Pharmacol.* 2023 Dec;37(6):1050-64.

*Матеріал надійшов
до редакції 26.02.2024*