

DOI: 10.26693/jmbs02.04.007

УДК 616–008.9:577.1–092.9

Бєлікова О. І.¹, Данильченко С. І.²

ВПЛИВ ПОЄДНАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ІНГІБІТОРА NF-κB ТА МЕЛАТОНІНУ НА ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ В УМОВАХ ЦІЛОДОБОВОГО ОСВІТЛЕННЯ ТА ВУГЛЕВОДНО-ЛІПІДНОЇ ДІЄТИ

¹Миколаївський національний університет імені В.О. Сухомлинського

²Чорноморський національний університет імені Петра Могили, Миколаїв

laboratoriyanokb@ukr.net

У експерименті на 35 білих щурах досліджено поєднану дію екзогенного мелатоніну та інгібітора ядерного чинника κB (NF-κB) амонію піролідіндітіокарбамату (PDTC) на вільнорадикальні процеси в організмі щурів (крові, печінці, скелетних м'язах) при відтворенні вуглеводно-ліпідної моделі синдрому інсулінорезистентності в умовах гіпопінеалізму, індукованого цілодобовим освітленням. Поєднане застосування мелатоніну та PDTC в умовах експерименту значно зменшує у крові концентрацію вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів – ТБК-активних сполук, ніж це відбувається при ізольованому призначенні названих агентів. При цьому у більшій мірі зменшується утворення активних форм нітрогену та пероксидне окиснення ліпідів в тканинах печінки при збільшенні антиоксидантного потенціалу, обмежується продукція супероксидного аніон-радикала (у печінці та м'язах стегна), ніж це відбувається при ізольованому призначенні мелатоніну та PDTC.

Ключові слова: синдром інсулінорезистентності, гіпопінеалізм, ядерний чинник κB, вільнорадикальне окиснення, активні форми кисню та нітрогену, кров, інсулін-чутливі органи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота є фрагментом НДР «Вплив біологічно активних речовин епіфізу на морфофункціональний стан вісцеральних систем організму тварин», № державної реєстрації 0112U002854.

Вступ. Механізми синдрому інсулінорезистентності (IP), або метаболічного синдрому, реалізуються через комплексні порушення великого числа біохімічних і фізіологічних процесів в організмі: дисліпопротеїнемію, гіперстимуляція β-клітин підшлункової залози і гіперінсулінемію, заміщення вуглеводного обміну на жировий, розростання жирової тканини, надмірну концентрацію низки сигнальних молекул жирової тканини, системну запальну відповідь тощо [5]. Дослідження останніх років доводять, що більшість з цих реакцій пов'язано з активацією ядерного чинника κB (NF-κB) [1,6].

Мелатонін, як ендогенний, так і екзогенний, протидіє розвитку IP, коригує обмін речовин, забезпечує баланс секреції інсуліну, не допускаючи гіперфункції підшлункової залози і фосфорилуючи інсулінові рецептори, дезактивує активні форми кисню та нітрогену, в тому числі отримані в результаті метаболізму атерогенних фракцій ліпопротеїнів [5,9]. Останнім часом з'являються дані щодо позитивної дії мелатоніну при вживанні цього гормону хворими з синдромом IP [5].

Нещодавно встановлено, що пригнічення ядерної транслокації NF-κB в умовах експериментального метаболічного синдрому супроводжується підвищенням антиоксидантної дії деяких біологічно активних сполук (наприклад, L-аргініну) [3].

Примітно, що під час світлової фази у клітинах епіфізу постійно збільшується кількість NF-κB, у темряві відмічається зворотна реакція [10]. На цій підставі можна припустити зв'язок гіпопінеалізму та надмірної активації NF-κB.

Проте ефективність поєданого застосування мелатоніну та інгібітора NF-κB раніше не досліджувалася.

Метою роботи стала оцінка поєднаної дії екзогенного мелатоніну та інгібітора NF-κB на вільнорадикальні процеси в організмі щурів (крові, печінці, скелетних м'язах) при відтворенні вуглеводно-ліпідного моделі синдрому IP в умовах гіпопінеалізму, індукованого цілодобовим освітленням.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження були проведені на 35 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 215-255 г у 5-ти серіях дослідів: у першій необхідні показники вивчали у інтактних тварин (контрольна серія), у другій – після моделювання синдрому IP, у третій і четвертій – протягом відтворення останнього вводили, відповідно, екзогенний мелатонін та амонію піролідиндітіокарбамат (PDTC – ammonium pyrrolidinedithiocarbamate), у п'ятій – наведені сполуки призначалися разом.

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

Для моделювання синдрому IP щурам протягом двох місяців призначали вуглеводно-ліпідну дієту (ВЛД), що складається з 20% водного розчину фруктози для пиття і раціону харчування, який містить наступні складові: рафінована пшенична мука – 45%, сухе знежирене коров'яче молоко – 20 %, крохмаль – 10%, столовий маргарин (зі складом жирів 72-82%) – 20%, переокиснена соняшникова олія – 4%, натрію хлорид – 1% [6]. Крім того, тварин, починаючи з 30 доби експерименту, піддавали цілодобовому освітленню інтенсивністю 1500 лк протягом наступних 30 днів.

Мелатонін (виробництво "Sigma-Aldrich, Inc.", США) вводили у вигляді водного розчину інтрагастралью за допомогою спеціального зонду в дозі 0,3 мг/кг маси тіла на добу щодня протягом останніх 30 діб експерименту. PDTC (виробництво "Sigma-Aldrich, Inc.", США) призначали у дозі 76 мг/кг 3 рази на тиждень [13], починаючи з 30 доби експерименту.

Концентрацію мелатоніну в сироватці крові визначали імуноферментним методом (Rat Melatonin ELISA Kit, Wuhan EIAab Sci CO., Китай). Рівень перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в крові і печінки оцінювали за утворенням у реакції тіобарбітурової кислоти (ТБК) з ТБК-активними продуктами забарвленого триметінового комплексу до і

після 1,5-годинної інкубації. Активність антиоксидантної (АО) системи оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних сполук за час 1,5-годинної інкубації в залізоаскорбатному буферному розчині, а також за активністю АО ферментів – супероксиддисмутази (СОД) і каталази [4].

Утворення супероксидного аніон-радикала (САР) оцінювали спектрофотометрично при проведенні тесту з нітросинім тетразолиєм у гомогенаті тканин з індукторами у вигляді НАДН, НАДФН та ліпополісахариду *Salmonella typhi* (препарат «Пірогенал», фірма «Медгамал», Росія): оцінювали генерацію САР відповідно НАДФН-залежними (мікросомальним і NO-синтазним) електронно-транспортними ланцюгами (ЕТЛ), НАДФН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ і НАДФН-оксидазою лейкоцитів [2]. У гомогенаті печінки спектрофотометрично оцінювали активність сумарних NO-синтаз (NOS) та концентрацію пероксинітриту [8].

Отримані дані обробляли варіаційно-статистичним методом з використанням критерію Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення.

За нашими даними, концентрація мелатоніну у сироватці крові інтактних щурів становить 31.8 ± 2.5 пг/мл. Цілодобове освітлення щурів інтенсивністю 1500 лк протягом часу призначення їм вуглеводно-ліпідного раціону зменшує вміст мелатоніну у сироватці крові – до 7.1 ± 0.7 пг/мл, що на 77.7% ($p < 0.001$) поступається даним інтактної серії та вказує на розвиток гіпомелатоніемії.

Поєдане застосування мелатоніну та PDTC на тлі цілодобового освітлення та призначення щурам ВЛД суттєво зменшує концентрацію ТБК-активних сполук (**табл. 1**), яка на 47.3% ($p < 0.001$) поступається результату другої серії, на 33.0% ($p < 0.001$) – третьої та на 22.7% ($p < 0.001$) – четвертої групи.

Проте приріст концентрації ТБК-активних сполук за час 1.5-годинної інкубації достовірно не відрізняється від даних серій з ізольованим застосуванням мелатоніну та PDTC.

Раніше зменшення у крові концентрації вторинних продуктів ПОЛ та підвищення АО потенціал у крові спостерігалось при введенні інших інгібіторів активації NF-κB (JSH-23 і метформіну гідрохлориду) за умов призначення щурам ВЛД [6].

Отримані результати вказують, що введення мелатоніну на тлі пригнічення NF-κB зменшує ознаки оксидативного стресу, розвиток якого пов'язаний з експресією низки NF-κB-залежних генів (індуцибельної NOS – iNOS, інтерлейкінів 1β, -6, -12, -18, фактора некрозу пухлини-α, -β) [12].

Поєдане застосування мелатоніну та PDTC в умовах експерименту істотно не змінює величину

Таблиця 1 – Поєднана дія інгібітора NF-κB PDTC та мелатоніну на показники прооксидантно-антиоксидантного стану крові в умовах цілодобового освітлення та призначення щурам вуглеводно-ліпідної дієти (M±m, n=35)

Показники	Інтактні тварини	ВЛД + цілодобове освітлення			
		Контроль	+ мелатонін	+ PDTC	+ мелатонін + PDTC
ТБК- активні сполуки, мкмоль/л					
до інкубації	12.23±0.82	22.63±0.61 *	17.79±0.64*/**	15.42±0.49 */**	11.92±0.59**/**/****
приріст	13.43±2.17	25.34±2.25 *	18.2±1.63 **	18.61±1.48 **	15.21±1.58 **
СОД, од. акт.	2.13±0.10	1.19±0.09 *	1.72±0.18 **	1.72±0.17 **	1.97±0.11 **
Каталазне число	1.87±0.16	1.04±0.09 *	1.36±0.09 */**	1.68±0.15 **	2.04±0.12 **/**

Примітки: * – p<0.05 у порівнянні з даними першої серії (інтактні тварини); ** – p<0.05 у порівнянні з даними другої серії; *** – p<0.05 у порівнянні з даними третьої серії; **** – p<0.05 у порівнянні з даними четвертої серії.

активності СОД у порівнянні з даними серій з ізольованим застосуванням мелатоніну та PDTC. Каталазне число на 50.0% (p<0.001) перевищує відповідний результат третьої серії.

Поєднане застосування мелатоніну та PDTC на тлі цілодобового освітлення та призначення щурам ВЛД нормалізує генерацію САР у тканинах печінки НАДФН-залежними ЕТЛ (мікосомальним і NOS) і НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ (табл. 2). Величини цих показників, відповідно, на 45.3% (p<0.001) і 41.1% (p<0.001) поступається результату другої серії, на 23.8% (p<0.001) і 19.8% (p<0.001) – третьої та на 16.6% (p<0.001) і 5.6% (p<0.02) – четвертої групи.

Утворення супероксидного аніон-радикала НАДФН-оксидазою лейкоцитів за цих умов достовірно знижується і на 32.6% (p<0.001) поступається результату другої серії та на 31.6% (p<0.01) – третьої групи.

Відомо, що ядерна транслокація NF-κB є важливою ланкою ініціації оксидативного стресу за допомогою активації генів, що кодують ферменти, які беруть участь в продукції активних форм оксигену (АФО). Так, збільшення активності НАДФН-оксидаз може бути пов'язано з NF-κB-залежною продукцією прозапальних цитокінів. Це, в свою чергу, є сигналом до збільшення продукції АФО мітохондріями, які, також підтримують механізм

Таблиця 2 – Поєднана дія інгібітора NF-κB PDTC та мелатоніну на показники прооксидантно-антиоксидантного стану печінки в умовах цілодобового освітлення та призначення щурам вуглеводно-ліпідної дієти (M±m, n=35)

Показники	Інтактні тварини	ВЛД + цілодобове освітлення			
		Контроль	+ мелатонін	+ PDTC	+ мелатонін + PDTC
Джерела генерації САР, нмоль/г-с					
НАДФН-залежні ЕТЛ (мікосомальний і NOS)	18.19±0.54	35.13±0.67 *	25.24±0.90*/**	23.05±0.29 */**	19.23±0.43**/**/****
НАДН-залежний ЕТЛ (мітохондріальний)	21.53±0.44	38.34±0.27 *	28.16±0.36*/**	23.93±0.30 */**	22.58±0.39**/**/****
НАДФН-оксидаза лейкоцитів	1.03±0.10	1.38±0.06 *	1.36±0.11 *	1.17±0.10	0.93±0.05**/**
NOS, мкмоль NO ₂ ⁻ /г-хв.	8.09±0.73	12.88±0.50 *	10.49±0.78*/**	9.30±0.35 **	7.81±0.36**/**/****
Пероксинітрит, мкмоль/г	1.21±0.05	1.92±0.09 *	1.66±0.11 *	1.54±0.04 */**	1.25±0.06**/**/****
ТБК- активні сполуки, мкмоль/кг					
до інкубації	28.23±1.14	43.85±0.78 *	36.33±1.35*/**	32.83±0.86 */**	29.98±0.58**/**/****
приріст	8.07±0.72	12.91±0.48 *	10.51±0.77*/**	9.31±0.32 **	7.86±0.35**/**/****
СОД, од. акт.	0.34±0.04	0.16±0.02 *	0.25±0.05	0.29±0.03 **	0.33±0.03 **

Примітки: * – p<0.05 у порівнянні з даними першої серії (інтактні тварини); ** – p<0.05 у порівнянні з даними другої серії; *** – p<0.05 у порівнянні з даними третьої серії; **** – p<0.05 у порівнянні з даними четвертої серії.

Таблиця 3 – Поєднана дія інгібітора NF-κB PDTC та мелатоніну на продукцію супероксидного аніон-радикала у м'язах стегна в умовах цілодобового освітлення та призначення щурам вуглеводно-ліпідної дієти (M±m, n=35)

Джерела генерації CAP, нмоль/г-с	Інтактні тварини	ВЛД + цілодобове освітлення			
		Контроль	+ мелатонін	+ PDTC	+ мелатонін + PDTC
Загальний фон	0.91±0.08	1.53±0.11 *	1.09±0.08 **	0.97±0.07 **	0.78±0.06**/****
НАДН-залежний ЕТЛ (мітохондріальний)	16.79±0.31	26.86±0.53 *	20.31±0.19*/**	18.03±0.19*/**	16.89±0.19**/**/****

Примітки: * – p<0.05 у порівнянні з даними першої серії (інтактні тварини); ** – p<0.05 у порівнянні з даними другої серії; *** – p<0.05 у порівнянні з даними третьої серії; **** – p<0.05 у порівнянні з даними четвертої серії.

активації NF-κB [12]. Вироблення CAP мікросомальним і мітохондріальним ЕТЛ та НАДФН-оксидазою лейкоцитів значно зростає за умов гіпомелатонемії та коригується введенням інгібітора активації NF-κB – JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл) бензол-1,2-діаміну) [7].

Поєднане застосування мелатоніну та інгібітора NF-κB PDTC на тлі цілодобового освітлення та призначення щурам ВЛД ще у більшій мірі знижує сумарну активність NOS у тканинах печінки та концентрацію в ній пероксинітриту, що на 39.4% (p<0.001) і 34.9% (p<0.001) поступається результату другої серії, на 25.5% (p<0.01) і 24.7% (p<0.01) – третьої та на 16.0% (p<0.02) і 18.8% (p<0.01) – четвертої групи.

В останні роки показана здатність мелатоніну пригнічувати активність iNOS, з якою найчастіше пов'язують ініціацію оксидативного стресу у різних тканинах [11].

Поєднане застосування мелатоніну та інгібітора NF-κB PDTC на тлі цілодобового освітлення та призначення щурам ВЛД істотно знижує концентрацію ТБК-активних сполук у гомогенаті печінки, що на 31.6% (p<0.001) поступається результату другої серії, на 17.5% (p<0.001) (p<0.001) – третьої та на 8.7% (p<0.02) – четвертої групи.

Приріст концентрації ТБК-активних сполук за час 1.5-годинної інкубації на 39.1% (p<0.001) поступається результату другої серії, на 25.2% (p<0.01) – третьої та на 15.6% (p<0.01) – четвертої групи.

Активність СОД у тканинах печінки достовірно не відрізняється від даних серій з ізолюваним застосуванням мелатоніну та PDTC.

Поєднане застосування мелатоніну та інгібітора NF-κB PDTC на тлі цілодобового освітлення та призначення щурам ВЛД знижує загальний фон продукції CAP у м'язах стегна (табл. 3), який на 49.0% (p<0.001) поступається результату другої серії та на 28.4% (p<0.01) – третьої групи.

За цих умов істотно зменшується генерація у м'язах стегна CAP НАДН-залежним (мітохондріаль-

ним) ЕТЛ, яка на 37.1% (p<0.001) поступається результату другої серії, на 16.8% (p<0.001) – третьої та на 6.3% (p<0.01) – четвертої групи.

Таким чином, поєднане введення мелатоніну та PDTC в умовах експерименту має подібну дію на продукцію CAP у різних інсулін-чутливих тканинах (печінці, скелетних м'язах).

Висновки.

1. Поєднане застосування мелатоніну та інгібітора NF-κB PDTC на тлі цілодобового освітлення та призначення щурам вуглеводно-ліпідної дієти у більшій мірі зменшує у крові концентрацію вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів – ТБК-активних сполук, ніж це відбувається при ізолюваному призначенні названих агентів.
2. Поєднане застосування мелатоніну та інгібітора NF-κB PDTC на тлі цілодобового освітлення та призначення щурам вуглеводно-ліпідної дієти у більшій мірі обмежує продукцію супероксидного аніон-радикала НАДФН-залежними (мікросомальним і NOS) і НАДН-залежним (мітохондріальним) електронно-транспортними ланцюгами у тканинах печінки та дихальним ланцюгом мітохондрій у м'язах стегна, ніж це відбувається при ізолюваному призначенні названих сполук. Саме за цих умов у тканинах печінки пригнічується утворення супероксидного аніон-радикала НАДРН-оксидазою лейкоцитів.
3. Поєднане застосування мелатоніну та інгібітора NF-κB PDTC на тлі цілодобового освітлення та призначення щурам вуглеводно-ліпідної дієти у значно більшій мірі обмежує в тканинах печінки щурів утворення активних форм нітрогену (сумарну активність NO-синтази та концентрацію пероксинітриту), пероксидне окиснення ліпідів, збільшує антиоксидантний потенціал, ніж це відбувається при ізолюваному призначенні цих сполук.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати доводять доцільність подальших експериментальних і клінічних досліджень щодо ефективності корекції проявів синдрому ІР при поєднаному застосуванні мелатоніну та інгібіторів NF-κB.

References

1. Kaydashev IP. Aktyvatsiya NF-kB pry metabolichnomu syndromi. *Fiziol zhurn.* 2012; 58 (1): 93-101. [Ukrainian].
2. Kostenko VO, Tsebrzhynskyy OI. Produktsiya superoksydnoho anion-radikala ta oksydu azotu u tkanyni nyrok pislya khirurhichnoho vtruchannya. *Fiziol zhurn.* 2000; 46 (5): 56-62. [Ukrainian].
3. Lyashenko LI, Kostenko VO. NF-kB-oposeredkovanyy vplyv NO-syntaz na vilnoradykalni protsesy u tkanynakh parodonty za umov eksperymentalnoho metabolichnoho syndromu. *Aktualni problemy suchasnoyi medytsyny: Visn. Ukrayinskoyi med. stomatol. akademiyi.* 2014; 14 (2): 140–3. [Ukrainian].
4. Berkalo LV, Bobovych OV, Bobrova NO, ta in. *Metody klinichnykh ta eksperymentalnykh doslidzhen v medytsyni.* Za red IP Kaydasheva. Poltava; 2003. 320 s. [Ukrainian].
5. Rapoport SI, Molchanov AYU, Golichenkov VA, i dr. Melatonin i insulinorezistentnost. *Klin. meditsina.* 2013; 11: 8-14. [Russian].
6. Talash VV, Kostenko VO. Vplyv inhibitoriv aktyvatsiyi yadernoho faktora kB na metabolizm i hemokoahulyatsiyu za umov vidtvorenniya metabolichnoho. *Farmakolohiya ta likarska toksykolohiya.* 2015; 2: 83-9. [Ukrainian].
7. Frenkel YuD, Chernov VS. Rol transkriptsiynogo yadernoho faktora kB v mekhanizмах narusheniy oksylitelnoho metabolizma v golovnom mozge kryv pri khronicheskoy gipomelatoninemii. *Georgian Medical News.* 2014; 7-8: 99–102. [Russian].
8. 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): 70-5.
9. Cardinali DP, Vigo DE. Melatonin, mitochondria, and the metabolic syndrome. *Cell Mol Life Sci.* 2017 Aug 17. doi: 10.1007/s00018-017-2611-0.
10. Cecon E, Fernandes PA, Pinato L, Ferreira ZS, Markus RP. Daily variation of constitutively activated nuclear factor kappa b (NFkB) in rat pineal gland. *Chronobiol Int.* 2010; 27 (1): 52-67. DOI: 10.3109/07420521003661615.
11. Oktem G, Uslu S, Vatansever SH, 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; 28 (2): 157-62. DOI: 10.1007/s00276-005-0065-9.
12. Tornatore L, Thotakura AK, Bennett J, Moretti M, Franzoso G. The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation. *Trends Cell Biol.* 2012; 22 (11): 557-66. DOI: 10.1016/j.tcb.2012.08.001.
13. Qin JD, Cao ZH, Li XF, Kang XL, Xue Y, Li YL, Zhang D, Liu XY, Xue YZ. Effect of ammonium pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) on NF-kB activation and CYP2E1 content of rats with immunological liver injury. *Pharm Biol.* 2014; 52 (11): 1460-6. DOI: 10.3109/13880209.2014.898075.

УДК 616–008.9:577.1–092.9

ВЛИЯНИЕ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ИНГИБИТОРА NF-KB И МЕЛАТОНИНА НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ОРГАНИЗМАХ КРЫС В УСЛОВИЯХ КРУГЛОСУТОЧНОГО ОСВЕЩЕНИЯ И УГЛЕВОДНО-ЛИПИДНОЙ ДИЕТЫ

Беликова Е. И., Данильченко С. И.

Резюме. В эксперименте на 35 белых крысах исследовано сочетанное действие экзогенного мелатонина и ингибитора ядерного фактора kB (NF-kB) аммония пирролидиндителиокарбамата (PDTC) на свободнорадикальные процессы в организме крыс (крови, печени, скелетных мышцах) при воспроизведении углеводно-липидной модели синдрома инсулинорезистентности в условиях гипопинеализма, индуцированного круглосуточным освещением. Сочетанное применение мелатонина и PDTC в условиях эксперимента значительно уменьшает в крови концентрацию вторичных продуктов перекисного окисления липидов, чем это происходит при изолированном назначении названных агентов. При этом в большей степени уменьшается образование активных форм азота и перекисное окисление липидов в тканях печени крыс при увеличении антиоксидантного потенциала, ограничивается продукция супероксидного анион-радикала (в печени и мышцах бедра), чем это происходит при изолированном назначении мелатонина и PDTC.

Ключевые слова: синдром инсулинорезистентности, гипопинеализм, ядерный фактор kB, свободнорадикальное окисление, активные формы кислорода и азота, кровь, инсулин-чувствительные органы.

UDC 616–008.9:577.1–092.9

Influence of NF-Kb Inhibitor and Melatonin Combined Application on Free-Radical Processes in Rats Exposed to Round-the-Clock Lighting and Carbohydrate-Lipid Diet
Belikova O. I., Danylchenko S. I.

Abstract. The purpose of the article is evaluation of the combined application of exogenous melatonin and the nuclear factor kB (NF-kB) inhibitor on free radical processes in the body of rats (blood, liver, skeletal muscle)

during the carbohydrate-lipid modeling of insulin resistance (IR) syndrome under hypopinealism induced by round-the-clock lighting.

35 Wistar white male rats weighing 215-255 g in 5 series of experiments were examined. The first series was designed to identify the necessary parameters in intact animals (control series), the second series was to obtain the parameters in the rats after the development of modeled IR syndrome; in the third and fourth series of the experiment, tested animals with modeled IR syndrome were administered exogenous melatonin and NF- κ B inhibitor ammonium pyrrolidinedithiocarbamate (PDTC) respectively; and in the fifth series, these compounds were co-administered.

To simulate the IR syndrome, rats were kept on a carbohydrate-lipid diet for two months. In addition, from the 30th day of the experiment the animals were exposed to round-the-clock lighting with intensity of 1500 lx for the following 30 days.

Melatonin ("Sigma-Aldrich, Inc.", USA) was administered as an aqueous solution intragastrally in a dose of 0.3 mg/kg body weight per day for the following 30 days of the experiment. PDTC ("Sigma-Aldrich, Inc.", USA) was administered in a dose of 76 mg/kg 3 times per week, starting on the 30th day of the experiment.

The concentration of melatonin in serum was determined by the immune enzyme method (Rat Melatonin ELISA Kit, Wuhan EIAab Sci CO., China).

Spectrophotometry was used to assess the formation of by-products of lipid peroxidation (TBA-reactants), the superoxide anion radical (SAR) production with inductors as NADH, NADPH, and bacterial lipopolysaccharide, the activity of antioxidant enzymes, superoxide dismutase (SOD) and catalase, activity of NO-synthase (NOS) and peroxynitrite concentration.

It was found out that combined application of melatonin and PDTC to the rats kept under the round-the-clock lighting and kept on the carbohydrate-lipid diet highly reduces the concentration of TBA-active compounds, secondary products of lipid peroxide oxidation, compared with the separate application.

The combined application of melatonin and PDTC in the experimental conditions limits the production of superoxide anion radical by NADPH-dependent (microsomal and NOS) and NADH-dependent (mitochondrial) electron transport chains in liver tissues and the respiratory chain of mitochondria in the femur muscle more than under the separate administration of the agents mentioned. It is under these conditions that liver tissues suppress the formation of superoxide anion radical with leukocyte NADPH oxidase.

The co-administration of melatonin and NF- κ B PDTC to rats under the round-the-clock illumination and carbohydrate-lipid diet considerably lowers the formation of reactive nitrogen species in the liver tissues (total activity of NO synthase and peroxynitrite concentration), lipid peroxidation, and increases the antioxidant potential more than it is observed during separate application of the compounds.

Keywords: insulin resistance syndrome, hypopinealism, nuclear factor κ B, free radical oxidation, reactive oxygen and nitrogen species, blood, insulin-sensitive organs.

Стаття надійшла 28.08.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування