

DOI: 10.26693/jmbs03.02.016

УДК 616.379:599.323.4(615.874+577.115.3)

Бєлікова О. І.

## ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ СТАН ІНСУЛІН-ЧУТЛИВИХ ОРГАНІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГІПОМЕЛАТОНІНЕМІЇ ТА ПРИЗНАЧЕННЯ ВУГЛЕВОДНО-ЛІПІДНОЇ ДІЄТИ

Миколаївський національний університет імені В. О. Сухомлинського, Україна

laboratoriyankb@ukr.net

У експерименті на 28 білих щурах досліджено вплив гіпомелатоніемії, індукованої цілодобовим освітленням тварин, на показники окисно-нітрозативного стресу в інсулін-чутливих органах (печінці, скелетних м'язах) за умов призначення висококалорійної вуглеводно-ліпідної дієти. Виявлено, що цілодобове освітлення щурів інтенсивністю 1500 лк протягом 60 діб підвищує генерацію супероксидного аніон-радикала в печінці і м'язах стегна, збільшує у тканинах печінки утворення пероксинітриту та вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів. Цілодобове освітлення щурів протягом часу призначення їм вуглеводно-ліпідної дієти супроводжується суттєвим збільшенням продукції супероксидного аніон-радикала НАДФН-залежними (мікросомальним і NO-синтазним) і НАДН-залежним (мітохондріальним) електронно-транспортними ланцюгами у тканинах печінки та генерації цього радикала дихальним ланцюгом мітохондрій у м'язах стегна, яке значно перевищує швидкість його утворення зазначеними джерелами при ізолюваному застосуванні цілодобового освітлення та вуглеводно-ліпідної дієти. Концентрація вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів за цих умов у тканинах печінки істотно перевищує таку при окремому застосуванні вуглеводно-ліпідної дієти.

**Ключові слова:** синдром інсулінорезистентності, гіпомелатоніемія, активні форми кисню та азоту, окисно-нітрозативний стрес, 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.** В останні роки показано, що цикл світло-темрява та особливості раціону харчування здатні модулювати коливання рівню мелатоніну [13]. Зме-

нення концентрації мелатоніну викликає системні метаболічні розлади – інсулінорезистентність (ІР) та цукровий діабет 2-го типу [10]. Дослідження взаємодії мелатоніну та інсуліну при моделюванні в експерименті на щурах ІР виявило зворотний зв'язок: збільшення рівню мелатоніну призводить до зниження секреції інсуліну та навпаки [12].

Нещодавно нами виявлено, що гіпомелатоніемія, особливо за умов призначення щурам «дієти західного типу», супроводжується порушеннями вуглеводного та ліпідного метаболізму, залежними від транскрипційного ядерного чинника κВ (NF-κB), активація якого опосередковує розвиток гіперінсулінемії та ІР, дисліпопротеїнемії, гіпо-α-ліпопротеїнемії та гіпертриацилгліцеролемії, прозапальної гіперцитокінемії [1].

Відомо, що з активацією NF-κB пов'язана експресія низки генів, що кодують синтез потужних індукторів окисно-нітрозативного стресу в різних органах (прозапальних цитокінів, індукційної NO-синтази, металопротеїнази, молекул клітинної адгезії, циклооксигенази-2 тощо) [15]. За цих умов можливе суттєве підвищення генерації активних форм кисню і азоту різними джерелами [2, 4, 6].

Проте нез'ясованим залишається вплив гіпомелатоніемії, індукованої цілодобовим освітленням щурів, на вільнорадикальні процеси в інсулін-чутливих органах (печінці, скелетних м'язах) за умов призначення тваринам висококалорійного раціону, збагаченого вуглеводами та ліпідами. Вирішення цього питання дозволить розширити існуючі засоби попередження та лікування синдрому ІР.

**Метою роботи** було вивчення впливу гіпомелатоніемії, індукованої цілодобовим освітленням щурів, на показники окисно-нітрозативного стресу в інсулін-чутливих органах (печінці, скелетних м'язах) за умов призначення тваринам висококалорійної вуглеводно-ліпідної дієти (ВЛД).

**Матеріали та методи дослідження.** Дослідження були проведені на 28 щурах-самцях лінії

Вістар масою 215–255 г у 4-х серіях дослідів: у першій необхідні показники вивчали у інтактних тварин (контрольна серія), у другій – моделювали хронічну гіпомелатоніемію, у третій – протягом 60 діб щурам призначали ВЛД, у четвертій – хронічну гіпомелатоніемію моделювали у тварин, що знаходилися на ВЛД (протягом 60 діб). Тварин декапітували під ефірним наркозом.

Хронічну гіпомелатоніемію відтворювали шляхом цілодобового освітлення тварин інтенсивністю 1500 лк протягом 60 діб. При цьому вміст мелатоніну у сироватці крові зменшується до  $16,0 \pm 1,2$  пг/мл (у інтактних щурів –  $31,8 \pm 2,5$  пг/мл), тобто на 49,7% ( $p < 0,001$ ).

ВЛД складалася з 20% водного розчину фруктози для пиття та раціону харчування, який містив такі компоненти: 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% [7].

У гомогенаті печінки спектрофотометрично оцінювали активність сумарних NO-синтаз (NOS) та концентрацію пероксинітриту [9]. Утворення супероксидного аніон-радикала (САР) у гомогенаті печінки та м'язів стегна оцінювали спектрофотометрично при проведенні тесту з нітросинім тетразолієм з індукторами у вигляді НАДН, НАДФН та ліпополісахариду *Salmonella typhi* (препарат «Пірогенал», фірма «Медгамал», Росія): оцінювали генерацію САР відповідно НАДФН-залежними (мікосомальним і NO-синтазним) електронно-транспортними ланцюгами (ЕТЛ), НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ і НАДФН-оксидазою лейкоцитів [3]. Активність сумарних NO-синтаз (NOS) та концентрацію пероксинітриту у гомогенаті печінки оцінювали спектрофотометрично [9].

Рівень пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) в печінці оцінювали за утворенням у реакції тіобарбітурової кислоти (ТБК) з ТБК-активними продуктами забарвленого триметинового 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 супероксиддисмутази (СОД) [5].

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).

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

#### Результати дослідження та їх обговорення.

Цілодобове освітлення щурів підвищує генерацію САР (табл. 1) у тканинах печінки НАДФН-залежними ЕТЛ (мікосомальним і NOS) – на 37,4% ( $p < 0,001$ ), НАДН-залежним ЕТЛ (мітохондріальним) – на 27,8% ( $p < 0,001$ ). Утворення САР НАДФН-оксидазою лейкоцитів істотно не змінюється.

Призначення ВЛД підвищує продукцію САР у тканинах печінки не тільки НАДФН-залежними (на 52,7%,  $p < 0,001$ ) та НАДН-залежним ЕТЛ (на 37,4%,  $p < 0,001$ ), але і НАДФН-оксидазою лейкоцитів (на 28,2%,  $p < 0,05$ ).

Цілодобове освітлення щурів протягом часу призначення їм ВЛД збільшує генерацію САР у тканинах печінки НАДФН-залежними ЕТЛ, яка перевищує на 93,1% ( $p < 0,001$ ) результат першої серії, на 40,6% ( $p < 0,001$ ) – другої, та на 26,5% ( $p < 0,001$ ) – третьої серії дослідів. Утворення цього

**Таблиця 1** – Показники окисно-нітрозативного стресу в тканинах печінки в умовах цілодобового освітлення та призначення щурам ВЛД ( $M \pm m$ ,  $n=28$ )

Показники	Інтактні тварини	Цілодобове освітлення	ВЛД	ВЛД + цілодобове освітлення
<b>Джерела генерації САР, нмоль/г-с</b>				
НАДФН-залежні ЕТЛ	18,19±0,54	24,99±0,68 *	27,77±1,14 *	35,13±0,67*/**/**
НАДН-залежний ЕТЛ	21,53±0,44	27,51±0,40 *	29,58±0,43 *	38,34±0,27*/**/**
НАДФН-оксидаза лейкоцитів	1,03±0,10	1,11±0,11	1,32±0,08 *	1,38±0,06 *
NOS, мкмоль $NO_2^-$ /г-хв.	8,09±0,73	10,06±0,78	11,91±0,55 *	12,88±0,50*/**
Пероксинітрит, мкмоль/г	1,21±0,05	1,58±0,09 *	1,64±0,10 *	1,92±0,09*/**
<b>ТБК- активні сполуки, мкмоль/кг</b>				
до інкубації	28,23±1,14	35,75±1,42 *	40,49±1,22 *	43,85±0,78*/**/**
приріст	8,07±0,72	10,1±0,75	11,88±0,57 *	12,91±0,48 */**
СОД, од. акт.	0,34±0,04	0,28±0,05	0,23±0,04	0,16±0,02 */**

**Примітки:** \* –  $p < 0,05$  у порівнянні з даними першої серії (інтактні тварини); \*\* –  $p < 0,05$  у порівнянні з даними другої серії (цілодобове освітлення інтенсивністю 1500 лк); \*\*\* –  $p < 0,05$  у порівнянні з даними третьої серії (ВЛД).

**Таблиця 2** – Продукція САР у м'язах стегна в умовах цілодобового освітлення та призначення шурам ВЛД (M±m, n=28)

Джерела генерації САР, нмоль/г·с	Інтактні тварини	Цілодобове освітлення	ВЛД	ВЛД + цілодобове освітлення
Загальний фон	0,91±0,08	1,17±0,09	1,39±0,12 *	1,53±0,11**/**
НАДН-залежний ЕТЛ	16,79±0,31	18,83±0,41 *	20,69±0,46 *	26,86±0,53**/**/**

**Примітки:** \* –  $p < 0,05$  у порівнянні з даними першої серії (інтактні тварини); \*\* –  $p < 0,05$  у порівнянні з даними другої серії (цілодобове освітлення інтенсивністю 1500 лк); \*\*\* –  $p < 0,05$  у порівнянні з даними третьої серії (ВЛД).

радикала мітохондріальним ЕТЛ також підвищується та на 78,1% ( $p < 0,001$ ) перевищує дані першої серії, на 39,4% ( $p < 0,001$ ) – другої, та на 29,6% ( $p < 0,001$ ) – третьої серії експериментів. Продукція у тканинах печінки САР НАДФН-оксидазою лейкоцитів – збільшується на 34,0% ( $p < 0,02$ ), але не перевищує відповідні результати другої та третьої серій.

За нашими попередніми даними, важливою ланкою ініціації оксидативного стресу може бути ядерна транслокація NF- $\kappa$ B [1]. Так, NF- $\kappa$ B-залежний синтез прозапальних цитокінів сприяє збільшенню активності НАДФН-оксидази і НАДН-залежних ферментів дихального ланцюга мітохондрій [15]. Вироблення САР мікосомальним і мітохондріальним ЕТЛ та НАДФН-оксидазою лейкоцитів значно зростає за умов гіпомелатоніемії та коригується введенням інгібітора активації NF- $\kappa$ B – JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл)бензол-1,2-діаміну) [8].

Цілодобове освітлення шурав протягом 60 діб істотно не впливає на сумарну активність NOS, але підвищує концентрацію пероксинітриту – на 30,6% ( $p < 0,01$ ).

Призначення ВЛД підвищує сумарну активність NOS – на 47,2% ( $p < 0,01$ ), а концентрацію пероксинітриту – на 35,5% ( $p < 0,01$ ).

Цілодобове освітлення шурав протягом часу призначення їм ВЛД збільшує активність NOS, яка перевищує на 59,2% ( $p < 0,001$ ) результат першої серії, та на 28,0% ( $p < 0,02$ ) – другої серії дослідів. За цих умов підвищується також концентрація пероксинітриту, яка перевищує на 58,7% ( $p < 0,001$ ) дані першої серії, та на 21,5% ( $p < 0,05$ ) – другої серії дослідів.

Відомо, що підвищення експресії індукцибельної NOS пов'язано з активацією NF- $\kappa$ B [15]. Примітно, що активність цього ізоферменту знаходиться під гальмівним контролем мелатоніну [11].

Цілодобове освітлення шурав підвищує концентрацію ТБК-активних сполук у гомогенаті печінки – на 26,6% ( $p < 0,01$ ). Проте приріст концентрації ТБК-активних сполук за час 1,5-годинної інкубації та активність СОД суттєво не змінюються, що вказує на компенсований характер ПОЛ.

Призначення ВЛД також підвищує концентрацію ТБК-активних сполук у гомогенаті печінки – на

43,4% ( $p < 0,001$ ). Приріст концентрації ТБК-активних сполук за час 1,5-годинної інкубації збільшується на 47,2% ( $p < 0,01$ ). Ці зміни вказують на декомпенсований характер ПОЛ у тканинах печінки зі зниженням антиоксидантного потенціалу. Проте активність СОД істотно не змінюється.

Цілодобове освітлення шурав протягом часу призначення їм ВЛД у більшій мірі збільшує концентрацію ТБК-активних сполук у гомогенаті печінки, що перевищує на 55,3% ( $p < 0,001$ ) результат першої серії, на 22,7% ( $p < 0,001$ ) – другої, та на 8,3% ( $p < 0,05$ ) – третьої серії експериментів. Приріст концентрації ТБК-активних сполук за час 1,5-годинної інкубації гомогенату печінки збільшується та перевищує на 60,0% ( $p < 0,001$ ) дані першої серії та на 27,8% ( $p < 0,01$ ) – другої. Активність СОД у тканинах печінки зменшується та поступається на 52,9% ( $p < 0,01$ ) відповідному результату першої серії та на 42,9% ( $p < 0,05$ ) – другої. Ці зміни вказують на розвиток декомпенсованого ПОЛ у тканинах печінки, проте інтенсивність цього процесу, за отриманими даними, суттєво не відрізняється від такого при окремому призначенні ВЛД.

Цілодобове освітлення шурав істотно не позначається на нестимульованій продукції (загальному фоні) САР у м'язах стегна (табл. 2), але збільшує його вироблення при застосуванні індуктора мітохондріального ЕТЛ (НАДН) – на 12,2% ( $p < 0,01$ ).

Призначення ВЛД підвищує загальний фон продукції САР у м'язах стегна – на 52,7% ( $p < 0,01$ ), а також швидкість його утворення НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ – на 23,2% ( $p < 0,001$ ).

Цілодобове освітлення шурав протягом часу призначення їм ВЛД збільшує загальний фон генерації САР у м'язах стегна, який перевищує на 68,1% ( $p < 0,001$ ) результат першої серії, та на 30,8% ( $p < 0,05$ ) – другої. Утворення цього радикала мітохондріальним ЕТЛ також підвищується та перевищує на 60,0% ( $p < 0,001$ ) дані першої серії, на 42,6% ( $p < 0,001$ ) – другої, та на 29,8% ( $p < 0,001$ ) – третьої серії експериментів.

Таким чином, генерація активних форм кисню збільшується не тільки печінкою, але й скелетними м'язами. Це вказує на внесок різних інсулін-чутливих органів у розвиток окисно-нітрозативного

стресу, який ще в більшій мірі сприяє розвитку IP [14].

#### Висновки

1. Цілодобове освітлення щурів інтенсивністю 1500 лк протягом 60 діб підвищує генерацію активних форм кисню в чутливих до інсуліну органах (печінці, скелетних м'язах): збільшується продукція супероксидного аніон-радикала НАДФН-залежними (мікосомальним і NOS) і НАДН-залежним (мітохондріальним) електронно-транспортними ланцюгами у тканинах печінки; зростає вироблення цього радикала дихальним ланцюгом мітохондрій у м'язах стегна.
2. Цілодобове освітлення щурів підвищує у тканинах печінки щурів утворення пероксинітриду та вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-активних сполук), але суттєво не впливає на антиоксидантний потенціал і активність антиоксидантних ферментів.
3. Цілодобове освітлення щурів протягом часу призначення їм вуглеводно-ліпідної дієти (60 діб) супроводжується суттєвим збільшенням утворення активних форм кисню в чутливих до інсуліну органах (печінці, скелетних м'язах):

продукція супероксидного аніон-радикала НАДФН-залежними (мікосомальним і NOS) і НАДН-залежним (мітохондріальним) електронно-транспортними ланцюгами у тканинах печінки та генерація цього радикала дихальним ланцюгом мітохондрій у м'язах стегна значно перевищують швидкість утворення цього радикала зазначеними джерелами при ізольованому застосуванні цілодобового освітлення та відповідного вуглеводно-ліпідного раціону.

4. За умов цілодобового освітлення щурів протягом часу призначення їм вуглеводно-ліпідної дієти (60 діб) концентрація вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-активних сполук) у тканинах печінки істотно перевищує таку при ізольованому застосуванні відповідної вуглеводно-ліпідної дієти.

**Перспективи подальших досліджень.** Отримані результати доводять доцільність подальших експериментальних і клінічних досліджень щодо розробки засобів профілактики та лікування синдрому інсулінорезистентності за умов десинхронізації, що супроводжуються розвитком гіпомелатоніемії.

#### References

1. Byelikova OI, Danylchenko SI. Vplyv poyednanoho zastosuvannya inhibitora NF- $\kappa$ B ta melatoninu na vilnoradykalni protsesy v orhanyzmi shchuriv v umovakh tsilodobovoho osviltleniya ta vuhlevodno-lipidnoi diyety. *Ukrainskyi zhurnal medytsyny, biolohiyi ta sportu*. 2017; 4 (6): 7-12. [Ukrainian] <https://doi.org/10.26693/jmbs02.04.007>.
2. Bohdanov OV, Kostenko VO. Vplyv inhibitora yadernoi translokatsiyi transkryptsyynoho faktora  $\kappa$ B na okysnyi metabolizm u tkanynakh parodonta shchuriv za umov poyednanoho nadlyshkovoho nadkhodzhennya nitratu ta ftorydu natriyu. *Aktualni problemy suchasnoi medytsyny: Visnyk Ukrainiskoi med stomatol akademiyi*. 2017; 17 (1): 217-9. [Ukrainian].
3. Kostenko VO, Tsebrzhynskiy OI. Produktsiya superoksydnoho anion-radikala ta oksydu azotu u tkanyni nyrok pislya khirurhichnoho vtruchannya. *Fiziolohichnyi zhurnal*. 2000; 46 (5): 56-62. [Ukrainian].
4. Lyashenko LI, Kostenko VO. NF- $\kappa$ B-oposeredkovanyi vplyv NO-syntaz na vilnoradykalni protsesy u tkanynakh parodonta za umov eksperymentalnoho metabolichnoho syndromu. *Aktualni problemy suchasnoi medytsyny: Visnyk Ukrainiskoi med stomatol akademiyi*. 2014; 14 (2): 140-3. [Ukrainian].
5. Berkalo LV, Bobovych OV, Bobrova NO, ta in. *Metody klinichnykh ta eksperymentalnykh doslidzhen v medytsyni*. Za red IP Kaydasheva. Poltava, 2003. 320 s. [Ukrainian].
6. Nahornyak IV, Kostenko VO. Efektyvnist poyednanoho zastosuvannya L-arhininu ta inhibitora yadernoho faktora  $\kappa$ B dlya korektsiyi vilnoradykalnykh protsesiv i funktsiy slynnykh zaloz shchuriv za umov diyi metylovoho efiru metakrylovoi kysloty. *Aktualni problemy suchasnoi medytsyny: Visnyk Ukrainiskoi med stomatol akademiyi*. 2015; 15 (3/1): 221-5. [Ukrainian].
7. Talash VV, Kostenko VO. Vplyv inhibitoriv aktyvatsiyi yadernoho faktora  $\kappa$ B na metabolizm i hemokoahulyatsiyu za umov vidtvorennya metabolichnoho syndromu. *Farmakolohiya ta likarska toksykolohiya*. 2015; 2: 83-9. [Ukrainian].
8. Frenkel YuD, Cherno VS. Rol transkryptsyonnoho yadernoho faktora  $\kappa$ B v mekhanizmach narushenyi okyslytelnoho metabolizma v holovnom mozhe kryv pry khronycheskoy hypomelatonynemiyi. *Georgian Medical News*. 2014; 7-8: 99-102. [Russian].
9. 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. <https://doi.org/10.15407/ubj88.06.070>.
10. Hardeland R. Neurobiology, pathophysiology, and treatment of melatonin deficiency and dysfunction. *Sci World J*. 2012; 2012: 640389. PMID: PMC3354573. doi: 10.1100/2012/640389.
11. Oktem G, Uslu S, Vatansever 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; 28: 157-62. PMID: 16362227. <https://doi.org/10.1007/s00276-005-0065-9>
12. Peschke E, Bähr I, Mühlbauer E. Melatonin and pancreatic islets: interrelationships between melatonin, insulin and glucagon. *Int J Mol Sci*. 2013; 14 (4): 6981-7015. <https://doi.org/10.3390/ijms14046981>
13. Peuhkuri K., Sihvola N., Korpela R. Dietary factors and fluctuating levels of melatonin. *Food Nutr Res*. 2012; 56. PMID: 22826693. PMID: PMC3402070. DOI: 10.3402/fnr.v56i0.17252
14. Seraphim DCC, Punaro GR, Fernandes TO, Ginoza M, Lopes GS, Higa EMS. Assessment of fructose overload in the metabolic profile and oxidative/nitrosative stress in the kidney of senescent female rats. *Exp Gerontol*. 2017; 99: 53-60. PMID:28939527. DOI: 10.1016/j.exger.2017.09.011
15. 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. PMID: 22995730. DOI: 10.1016/j.tcb.2012.08.001

УДК 616.379:599.323.4(615.874+577.115.3)

**ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЕ СОСТОЯНИЕ ИНСУЛИН-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ОРГАНОВ КРЫС В УСЛОВИЯХ ГИПОМЕЛАТОНИНЕМИИ И НАЗНАЧЕНИЯ УГЛЕВОДНО-ЛИПИДНОЙ ДИЕТЫ****Беликова Е. И.**

**Резюме.** В эксперименте на 28 белых крысах исследовано влияние гипомелатонинемии, индуцированной круглосуточным освещением животных, на показатели окислительно-нитрозативного стресса в инсулин-чувствительных органах (печени, скелетных мышцах) в условиях назначения высококалорийной углеводно-липидной диеты. Выявлено, что круглосуточное освещение крыс интенсивностью 1500 лк в течение 60 суток повышает генерацию супероксидного анион-радикала в печени и мышцах бедра, увеличивает в тканях печени образование пероксинитрита и вторичных продуктов перекисного окисления липидов. Круглосуточное освещение крыс во время назначения им углеводно-липидной диеты сопровождается существенным увеличением продукции супероксидного анион-радикала НАДФН-зависимыми (микросомальной и NOS) и НАДН-зависимой (митохондриальной) электронно-транспортными цепями в тканях печени и генерации этого радикала дыхательным цепью митохондрий в мышцах бедра, которые значительно превышают скорость его образования указанными источниками при изолированном применении круглосуточного освещения и углеводно-липидной диеты. Концентрация вторичных продуктов перекисного окисления липидов в этих условиях в тканях печени существенно превышает таковую при изолированном применении углеводно-липидной диеты.

**Ключевые слова:** синдром инсулинорезистентности, гипомелатонинемия, активные формы кислорода и азота, окислительно-нитрозативный стресс, инсулин-чувствительные органы.

UDC 616.379:599.323.4(615.874+577.115.3)

**Pro- and Antioxidant State of Insulin-sensitive Organs of Rats Kept on Carbon-lipid Disease under Conditions of Hypomelatoninemia****Belikova O. I.**

**Abstract.** *The purpose of this work was to study the influence of hypomelatoninemia induced by round-the-clock illumination in rats kept on high calorie carbohydrate-lipid diet (CLD) on the indices of oxidative-nitrosative stress in insulin-sensitive organs (liver, skeletal muscle).*

*Materials and methods.* The studies were carried out on 28 Wistar male rats weighing 215-255 g in 4 series experiment. In the first series we studied relevant indices in intact animals (control series), in the second one we modeled chronic hypomelatoninemia, in the third series we kept the animals on CLD for 60 days, and in the fourth series the animals kept on the CLD were subjected to modeled chronic hypomelatoninemia within 60 days. Then the animals were decapitated with ethereal anesthesia.

Chronic hypomelatoninemia was simulated by round-the-clock illumination of the animals with intensity of 1500 lux for 60 days. CLD included 20% aqueous fructose for drinking and a diet containing the following components: refined wheat flour – 45%, dry non-fat cow milk – 20%, starch – 10%, margarine (with a fat content of 72-82%) – 20%, peroxidized sunflower oil – 4%, sodium chloride – 1%.

Spectrophotometry was used to assess the superoxide anion radical (SAR) production with inductors as NADH, NADPH, and bacterial lipopolysaccharide, activity of NO-synthase (NOS) and peroxy-nitrite concentration, the formation of by-products of lipid peroxidation (compounds reacting with thiobarbituric acid), the activity of superoxide dismutase.

*Results and discussion.* It was found out that the round-the-clock illumination of the rats with intensity of 1500 lux for 60 days increased the generation of reactive oxygen species in insulin-sensitive organs (liver, skeletal muscles): production of SAR by NADPH-dependent (microsomal and NOS) and NADH-dependent (mitochondrial) electron-transport chains in the liver tissues was growing; the generation of this radical by the mitochondrial respiratory chain in the femur muscles was rising. Under these conditions, we observed increased peroxy-nitrite formation and lipid peroxidation byproducts (compounds reacting with thiobarbituric acid).

*Conclusions.* Round-the-clock illumination of the rats kept on CLD was accompanied by the significant increase in the formation of reactive oxygen species in insulin-sensitive organs: SAR production by NADPH-dependent (microsomal and NOS) and NADH-dependent (mitochondrial) electron-transport chains in liver tissues and the generation of this radical by the mitochondrial respiratory chain in the femur muscles significantly exceeded the rate of this radical formation by the sources mentioned above under the isolated use of round-the-clock lighting and an appropriate carbohydrate-lipid diet. In this case, the concentration of compounds reacting with thiobarbituric acid in liver tissues substantially exceeded the one with isolated use of CLD.

**Keywords:** insulin resistance syndrome, hypomelatoninemia, reactive oxygen and nitrogen species, oxidative-nitrosative stress, insulin-sensitive organs.

Стаття надійшла 28.12.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування