

Ю. Д. Френкель<sup>1</sup>, В. С. Черно<sup>1</sup>, В. О. Костенко<sup>2</sup>

# Вплив біофлавоноїдів на розвиток оксидативно-нітрозативного стресу в головному мозку щурів за умов їх цілодобового освітлення та утримання на вуглеводно-ліпідній дієті

<sup>1</sup>Чорноморський національний університет імені Петра Могили, м. Миколаїв<sup>2</sup>Полтавський державний медичний університет

**Ключові слова:** біофлавоноїди, епігалокатехін-3-галат, кверцетин, оксидативно-нітрозативний стрес, головний мозок, метаболічний синдром

Останніми роками було виявлено патогенетичні зв'язки між компонентами метаболічного синдрому (порушеннями вуглеводного та ліпідного обміну, оксидативним стресом, хронічним запаленням, збільшенням маси тіла, артеріальною гіпертензією) та молекулярними механізмами біологічного годинника [1, 2]. Серед головних чинників порушень циркадіанних ритмів виділяють зміну тривалості циклів «світло – темрява», часу сну, вживання їжі в другій половині дня [1]. У разі поєднаної дії цілодобового освітлення (ЦО) та 60-денного знаходження щурів на висококалорійній вуглеводно-ліпідній дієті (ВЛД, 20 % розчин фруктози та відповідний раціон) виявляються більш значні метаболічні порушення (гіпомелатоніємія, гіперінсулінемія, дисліпопротеїнемія, гіпо- $\alpha$ -ліпопротеїнемія, гіпертриацилгліцеролемія, збільшення маси вісцерального жиру), ніж за дії окремих названих чинників [3]. Введення за цих умов мелатоніну лише частково зменшує ці ознаки, суттєво не впливаючи на індекс інсулінорезистентності HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) [4]. Одержані результати свідчать, що

відновлення рівня мелатоніну виявляється недостатнім для корекції за умов експерименту метаболічних порушень через можливий саморозвиток патологічних процесів унаслідок тривалої активації редокс-чутливих транскрипційних факторів, зокрема, NF- $\kappa$ B [5, 6]. Дійсно, введення щурам, які зазнавали ЦО та отримували ВЛД, інгібітора NF- $\kappa$ B амонію піролідиндітіокарбамату суттєво обмежує розлади вуглеводного та ліпідного метаболізму, а також гальмує розвиток системної запальної відповіді (прозапальну гіперцитокінемію та реакцію гострої фази) [7]. Проте цей інгібітор NF- $\kappa$ B виявляє низку побічних ефектів, зокрема, генотоксичність [8].

Нещодавно було виявлено здатність деяких рослинних поліфенолів, наприклад, епігалокатехін-3-галату (EGCG), який є активним компонентом зеленого чаю (*Camellia sinensis*), та кверцетину [9], пригнічувати активність 26S протеасоми [10, 11], що унеможливує убіквітин-залежний протеоліз інгібіторного білка I $\kappa$ B і подальшу транслокацію білків родини NF- $\kappa$ B у ядро [12]. Обидва поліфеноли активують сигнальну систему Nrf2 – антиоксидант респонсивний елемент (ARE), що є антагоністичною щодо NF- $\kappa$ B [13, 14].

Застосування EGCG і водорозчинної форми кверцетину (корвітину) при відтворенні ліпополісахарид-

індукованої системної запальної відповіді зменшує гіперінсулінемію, інсулінорезистентність та ознаки оксидативно-нітрозативного стресу [15–17]. Це дає підстави сподіватися на позитивну дію цих біофлавоноїдів на метаболізм у внутрішніх органах.

Проте закономірності впливу біофлавоноїдів EGCG і кверцетину на розвиток оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах головного мозку при відтворенні моделі метаболічного синдрому (за умов ЦО та ВЛД) залишаються нез'ясованими.

*Мета дослідження* – вивчення впливу EGCG і кверцетину на показники оксидативно-нітрозативного стресу в гомогенаті великих півкуль головного мозку щурів за умов ЦО та утримання на ВЛД.

**Матеріали та методи.** Дослідження були проведені на 32 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 215–255 г, розподілених на 4 групи: 1 – інтактні тварини (контроль I); тваринам інших груп протягом часу ЦО на тлі ВЛД щоденно вводили внутрішньошлунково через зонд 1 мл 20 % водного розчину фруктози («плацебо», контроль II), EGCG і кверцетин («Sigma-Aldrich, Inc.», США) у дозі 40 і 200 мг/кг відповідно [16]. Біофлавоноїди вводили разом з вуглеводами (20 % водний розчин фруктози), що збільшує їхню розчинність і біодоступність [11].

ВЛД застосовували для годування щурів упродовж 2 місяців: тваринам призначали 20 % водний розчин фруктози (торгова марка «Vitamin», виробник – Україна, країна походження – США) 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 доби експерименту, щурів піддавали ЦО інтенсивністю 1500 лк протягом наступних 30 діб [3]. Тварин декапітували під етерним наркозом, дотримуючись положень «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986 р.). Згідно з висновком комісії з біоетики Чорноморського національного університету імені Петра Могили, при виконанні дослідження були дотримані всі процедури, пов'язані з гуманним поводженням з тваринами та їхнім використанням в експериментах.

Швидкість генерації супероксидного аніон-радикала ( $O_2^-$ ) у гомогенаті великих півкуль головного мозку оцінювали за тестом з нітросинім тетразолієм з використанням спектрофотометра Ulab 101 (Китай) з індукторами у вигляді нікотинамідаденіндинуклеотиду відновленого (НАДН, «Sigma-Aldrich Inc.», США) для оцінки продукції  $O_2^-$  дихальним ланцюгом мітохондрій, нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату відновленого (НАДФН, «Sigma-Aldrich, Inc.», США) – мікросомальними монооксигеназами та NO-синтазою (NOS), ліпополісахариду *Salmonella typhi* (препарат «Пірогенал», фірма «Медгамал», РФ) – НАДФН-оксидазою лейкоцитів і гліальних клітин [18].

Активність загальної NO-синтази (NOS) [19], її конститутивної ізоформи (cNOS) [20] у гомогенаті великих півкуль головного мозку визначали з використанням спектрофотометра Ulab 101 (Китай). Активність індукбельної ізоформи (iNOS) визначали за різницею між активностями NOS і cNOS. Для оцінки здатності останньої в несупряженому стані продукувати

$O_2^-$  розраховували індекс супряження cNOS як відношення активності cNOS до швидкості вироблення  $O_2^-$  НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами. Утворення пероксинітриту оцінювали за вмістом у гомогенаті великих півкуль головного мозку пероксинітритів лужних і лужно-земельних металів [19].

Отримані результати статистично обробляли з використанням пакета програм Microsoft Office Excel з розширенням Real Statistics 2019, з використанням Shapiro-Wilk тесту для перевірки нормальності дисперсій. Оскільки всі вибірки мали нормальний розподіл, то використовували параметричний метод дисперсійного аналізу ANOVA з наступним попарним порівнянням груп за Student's t-критерієм для незалежних вибірок та аналізом за Tukey's HSD (Honestly Significant Difference) процедурою. Для уникнення феномену множинних порівнянь була використана поправка за Dunn-Šidák. Різницю вважали статистично значущою в разі  $p < 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** Знаходження щурів на ЦО та ВЛД супроводжувалося вірогідним збільшенням

продукції  $O_2^-$  у гомогенаті великих півкуль головного мозку мікросомальними монооксигеназами та NOS – на 93,3 %, дихальним ланцюгом мітохондрій – на 97,4 %, а також НАДФН-оксидазою лейкоцитів і гліальних клітин – на 98,7 % порівняно з контролем I (табл. 1).

Введення EGCG і кверцетину за умов експерименту значно зменшувало в гомогенаті великих півкуль головного мозку вироблення  $O_2^-$  мікросомальними монооксигеназами та NOS – на 40,6 та 41,6 %, дихальним ланцюгом мітохондрій – на 40,6 та 38,0 %, НАДФН-оксидазою лейкоцитів і гліальних клітин – на 36,3 та 33,8 % порівняно з відповідними результатами контролю II.

Відомо, що збільшення продукції АФК НАДФН-залежними ситемами (мікросомальними монооксигеназами, лейкоцитами та гліальними клітинами) є важливим механізмом розвитку нейрозапалення за нейродегенеративних і цереброваскулярних захворювань [21, 22]. Порушення процесу транслокації NF- $\kappa$ B в ядро клітини при дії JSH-23 (4-метил-N-(3-енілпропіл)бензол-1,2-діаміну) та амонію піролідиндитіокарбамату

Таблиця 1

*Продукція супероксидного аніон-радикала в гомогенаті великих півкуль головного мозку щурів за умов цілодобового освітлення, вуглеводно-ліпідної дієти та впливу біофлавоноїдів, нмоль/г · с ( $M \pm m$ )*

| Джерела генерації $O_2^-$                    | 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-синтаза   | 12,63 ± 0,26                  | 24,42 ± 0,35*  | 14,5 ± 0,35*, **       | 14,27 ± 0,30*, ** |
| Дихальний ланцюг мітохондрій                 | 15,29 ± 0,34                  | 30,18 ± 0,90*  | 17,92 ± 0,43*, **      | 18,70 ± 0,58*, ** |
| НАДФН-оксидаза лейкоцитів і гліальних клітин | 0,79 ± 0,04                   | 1,57 ± 0,03*   | 1,0 ± 0,02*, **        | 1,04 ± 0,03*, **  |

Примітка. Тут і в табл. 2: \* $P < 0,05$  порівняно зі значеннями контролю I; \*\* $P < 0,05$  порівняно зі значеннями контролю II.

суттєво зменшує генерацію  $O_2^-$  НАДФН-залежними електронно-транспортними системами [6, 23]. EGCG і кверцетин, які здатні пригнічувати активацію NF- $\kappa$ B [10, 11], виявляють дію, порівняну зі специфічними її інгібіторами.

До того ж EGCG і кверцетин зменшують у гомогенаті великих півкуль головного мозку генерацію  $O_2^-$  дихальним ланцюгом мітохондрій. Цьому, вочевидь, сприяє наявність у флавоноїдів хіноної структури, завдяки чому стає можливим перенесення електронів від дегідрогеназ і піридиннуклеотидів через убіхінон, що усуває перевідновленість клітин і зменшує ризик вироблення  $O_2^-$  на рівні мітохондріального ферментного комплексу I [24].

Знаходження щурів на ЦО та ВЛД вірогідно збільшувало в гомогенаті великих півкуль головного мозку загальну активність NOS – на 77,8 %, активність її індукцибельного ізоферменту – на 99,3 % порівняно з контролем I (табл. 2). Активність cNOS,

навпаки, знижувалася – на 62.2 %. При цьому індекс її супряження на 80,0 % поступався даним контролю I, що вказує на можливість cNOS у несупряженому стані виробляти  $O_2^-$  замість оксиду азоту (NO). Це, як відомо, виникає при нестачі необхідних для функціонування ферменту субстратів і кофакторів (L-аргініну, кисню, тетрагідробіоптерину) [25]. Концентрація пероксинітритів лужних і лужно-земельних металів, що утворюються за умов зростання у середовищі вмісту  $O_2^-$  та NO, збільшувалася в гомогенаті великих півкуль головного мозку на 74,0 %.

Введення EGCG і кверцетину за умов експерименту вірогідно зменшувало в гомогенаті великих півкуль головного мозку загальну активність NOS на 41,0 і 31,9 %, активність iNOS – на 45,3 і 35,6 % порівняно з відповідними значеннями контролю II. Активність cNOS за цих умов зростала на 106,0 і 93,5 %, а індекс її супряження – у 3,38 і 3,23 рази порівняно з контролем II. Концентрація

Таблиця 2

*Показники нітрозативного стресу в гомогенаті великих півкуль головного мозку щурів за умов цілодобового освітлення, вуглеводно-ліпідної дієти та впливу біофлавоноїдів ( $M \pm m$ )*

| Показник   | 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 NOS, мкмоль $NO_2^-/г \cdot хв$              | 6,17 ± 0,65                   | 10,97 ± 0,61*  | 6,47 ± 0,89**          | 7,47 ± 0,57**      |
| Активність cNOS, мкмоль $NO_2^-/г \cdot хв$                      | 0,82 ± 0,08                   | 0,31 ± 0,03*   | 0,64 ± 0,02*, **       | 0,60 ± 0,03*, **   |
| Активність iNOS, мкмоль $NO_2^-/г \cdot хв$                      | 5,35 ± 0,58                   | 10,66 ± 0,63*  | 5,83 ± 0,89**          | 6,87 ± 0,58**      |
| Індекс супряження cNOS   | 0,065 ± 0,006                 | 0,013 ± 0,001*   | 0,044 ± 0,002*, **     | 0,042 ± 0,002*, ** |
| Вміст пероксинітритів лужних і лужно-земельних металів, мкмоль/г | 1,23 ± 0,04                   | 2,14 ± 0,09*   | 1,46 ± 0,05*, **       | 1,38 ± 0,05*, **   |

пероксинітритів лужних і лужно-земельних металів зменшувалася на 31,8 і 35,5 % відповідно.

Ці результати також дозволяють простежити ефекти EGCG і кверцетину як інгібіторів NF-κB, оскільки саме його активація є найпотужнішим позитивним регулятором експресії гена iNOS [26]. Зменшення під впливом біофлавоноїдів продукції  $O_2^-$  та NO закономірно обмежує утворення інших високотоксичних АФК/АФА, зокрема, пероксинітритів. У свою чергу, покращання супряження cNOS забезпечує утворення NO, що виконує не цитотоксичну, як за умов NF-κB-залежної активації iNOS, а сигнальну функцію.

Дослідження останніх років доводять, що обмеження оксидативно-нітрозативного стресу при надходженні біофлавоноїдів у більшій мірі може бути пов'язаним з їхньою здатністю модулювати редокс-чутливі фактори транскрипції, ніж з їхньою безпосередньою дією як скевенджерів  $O_2^-$ -пероксинітриту та гідроксильного радикала [6, 15, 16, 27]. Проте антиоксидантні ефекти EGCG і кверцетину можуть реалізуватися також завдяки наявності в їхній структурі слабких фенольних гідроксильних груп, які легко віддають свій атом водню при взаємодії з вільними радикалами [24]. Крім цього, біофлавоноїди є інгібіторами циклооксигенази та ліпоксигенази, які беруть участь у ферментативному пероксидному окисненні ліпідів з

утворенням простагландинів і лейкотрієнів [11, 24].

Здатність EGCG і кверцетину обмежувати оксидативно-нітрозативний стрес у головному мозку за умов експерименту обґрунтовує доцільність подальшого дослідження біофлавоноїдів як безпечних засобів лікування та попередження нейрозапалення та інших нейропатологічних процесів при дії факторів ризику розвитку хвороб цивілізації («дієти західного типу», порушеннях світлового режиму).

## Висновки

1. Цілодобове освітлення щурів упродовж 30 діб на тлі 60-денного утримання тварин на висококалорійній вуглеводно-ліпідній дієті супроводжується розвитком у великих півкулях головного мозку оксидативно-нітрозативного стресу, що підтверджується збільшенням продукції супероксидного аніон-радикала, загальної активності NO-синтази та активності її індукцйбельної ізоформи, концентрації пероксинітритів.
2. Введення за умов експерименту біофлавоноїдів – епігалокатехіну-3-галату та кверцетину – ефективно обмежує у великих півкулях головного мозку продукцію супероксидного аніон-радикала різними джерелами, пригнічує активність NO-синтази за рахунок її індукцйбельної ізоформи, зменшує концентрацію пероксинітритів.

1. Кайдашев И. П. Роль молекулярных часов циркадианных ритмов в патогенезе метаболического синдрома. *Ендокринология*. 2020. Т. 25 (2). С. 158–170.
2. Ríos P. A. Z., Zavala M. O. Q. Circadian dyssynchrony and its effect on metabolic syndrome parameters in workers. *Enfermería Global*. 2021. V. 20 (2). P. 603–613.
3. Вплив хронічної гіпомелатоніемії на вуглеводний і ліпідний обмін за умов призначення щурам «дієти західного типу». О. І. Белікова, В. С. Черно, Ю. Д. Френкель, В. О. Костенко. *Фізіологічний журнал*. 2018. Т. 64 (3). С. 52–60.
4. Белікова О. І., Черно В. С., Костенко В. О. Поєднаний вплив мелатоніну та метформіну гідрохлориду на біохімічні маркери синдрому інсулінорезистентності в умовах експериментального гіпопінеалізму. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. № 4–5. С. 57–65.

5. Френкель Ю. Д., Черно В. С. Роль транскрипционного ядерного фактора  $\kappa\text{B}$  в механизмах нарушений окислительного метаболизма в головном мозге крыс при хронической гипомелатонинемии. *Georgian Medical News*. 2014. № 7–8. P. 99–102.
6. Явтушенко І. В., Костенко В. О. Пригнічення транскрипційних чинників NF  $\kappa\text{B}$  та AP-1 обмежує розвиток окисно-нітрозативного стресу в тканині великих півкуль головного мозку щурів після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2020. Т. 20 (1). С. 80–85.
7. Вплив інгібітора ядерного чинника  $\kappa\text{B}$  на біохімічні маркери синдрому інсулінорезистентності в умовах гіпопінеалізму та призначення висококалорійної вуглеводно-ліпідної дієти. О. І. Белікова, Ю. Д. Френкель, В. С. Черно, В. О. Костенко. *Світ медицини та біології*. 2017. № 3. С. 80–82.
8. Pre-clinical safety evaluation of pyrrolidine dithiocarbamate. M. Chabicovsky, E. Prieschl-Grassauer, J. Seipelt et al. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2010. V. 107 (3). P. 758–767.
9. Bathaie S. Z., Tamanoi F. Natural Products and Cancer Signaling: Isoprenoids, Polyphenols and Flavonoids. Academic Press / Elsevier, 2014. 282 p.
10. Green tea polyphenols as proteasome inhibitors: implication in chemoprevention. H. Yang, K. Landis-Piwowar, T. H. Chan, Q. P. Dou. *Curr Cancer Drug Targets*. 2011. V. 11 (3). P. 296–306.
11. Биофлавоноиды как органопротекторы (кверцетин, корвитин, квертин). Н. П. Максютин, А. А. Мойбенко, Н. А. Мохорт и др. Киев : Наукова думка, 2012. 274 с.
12. Kravtsova-Ivantsiv Y., Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome system and activation of NF- $\kappa\text{B}$ : involvement of the ubiquitin ligase KPC1 in p105 processing and tumor suppression. *Mol Cell Oncol*. 2015. V. 2 (4). Art. e1054552.
13. Impact of epigallocatechin-3-gallate on expression of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 and  $\gamma$ -glutamyl cysteine synthetase genes in oxidative stress-induced mouse renal tubular epithelial cells. X. Du, J. Yu, X. Sun et al. *Mol Med Rep*. 2018. V. 17. P. 7952–7958.
14. Modulation of Nrf2 by quercetin in doxorubicin-treated rats. A. Sharma, M. Parikh, H. Shah, T. Gandhi. *Heliyon*. 2020. V. 6 (4). Art. e03803.
15. Quercetin limits the progression of oxidative and nitrosative stress in the rats' tissues after experimental traumatic brain injury. I. V. Yavtushenko, S. M. Nazarenko, O. V. Katrushov, V. O. Kostenko. *Wiad Lek*. 2020. V.73 (10). P. 2127–2132.
16. Yelins'ka A. M., Liashenko L. I., Kostenko V. O. Quercetin potentiates antiradical properties of epigallocatechin-3-gallate in periodontium of rats under systemic and local administration of lipopolysaccharide of Salmonella typhi. *Wiad Lek*. 2019. V. 2 (8). P. 1499–1503.
17. Єлінська А. М., Костенко В. О. Поєднана дія кверцетину та модуляторів редокс-чутливих чинників на показники системної запальної відповіді, вуглеводного та ліпідного метаболізму в крові щурів за умов внутрішньоочеревиного та внутрішньоосередного введення ліпополісахариду Salmonella typhi. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2020. Т. 20 (1). С. 13–18.
18. Костенко В. О., Цебржинський О. І. Продукція супероксидного аніон-радикала та оксиду азоту у тканині нирок після хірургічного втручання. *Фізіологічний журнал*. 2000. Т. 46, № 5. С. 56–62.
19. Akimov O. Ye., Kostenko V. O. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride. *Ukr Biochem J*. 2016. V. 88 (6). P. 70–75.
20. Yelins'ka A. M., Akimov O. Ye., Kostenko V. O. Role of AP-1 transcriptional factor in development of oxidative and nitrosative stress in periodontal tissues during systemic inflammatory response. *Ukr Biochim J*. 2019. V. 91 (1). P. 80–85.
21. Simpson D. S. A., Oliver P. L. ROS Generation in Microglia: Understanding Oxidative Stress and Inflammation in Neurodegenerative Disease. *Antioxidants (Basel)*. 2020. V. 9 (8). P. 743.
22. NRF2 and NF- $\kappa\text{B}$  interplay in cerebrovascular and neurodegenerative disorders: Molecular mechanisms and possible therapeutic approaches. F. Sivandzade, S. Prasad, A. Bhalerao, L. Cucullo. *Redox Biol*. 2019. V. 21. Art. 101059.
23. Френкель Ю. Д., Черно В. С., Костенко В. О. Вплив піролідиндітіокарбамату амонію на утворення активних форм кисню та азоту в печінці щурів за умов їх цілодобового освітлення та утримання на вуглеводно-ліпідній дієті. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2021. Т. 21 (3). С. 214–218.
24. Лукьянова Л. Д. Сигнальные механизмы гипоксии. Москва : РАН, 2019. 215 с.
25. Molecular mechanisms of endothelial NO synthase uncoupling. S. Luo, H. Lei, H. Qin, Y. Xia. *Curr Pharm Des*. 2014. V. 20 (22). P. 3548–3553.
26. Morgan M. J., Liu Z. G. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- $\kappa\text{B}$  signaling. *Cell Res*. 2011. V. 1. P. 103–115.
27. Явтушенко І. В., Костенко В. О. Вплив модуляторів редоксчутливих транскрипційних чинників на неврологічний дефіцит у щурів після відтворення черепно-мозкової травми. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2020. Т. 20 (2). С. 198–202.

**Ю. Д. Френкель, В. С. Черно, В. О. Костенко**

## **Вплив біофлавоноїдів на розвиток оксидативно-нітрозативного стресу в головному мозку щурів за умов їх цілодобового освітлення та утримання на вуглеводно-ліпідній дієті**

Відновлення рівня мелатоніну в разі відтворення моделі метаболічного синдрому, індукованого цілодобовим освітленням (ЦО) і вуглеводно-ліпідною дієтою (ВЛД), виявляється недостатнім для корекції метаболічних порушень через можливий саморозвиток патологічних процесів унаслідок тривалої активації редокс-чутливих транскрипційних факторів. Нещодавно була виявлена здатність біофлавоноїдів – епігалокатехіну-3-галату (EGCG) і кверцетину впливати на NF-κB і Nrf2-залежні сигнальні шляхи, що обґрунтовує доцільність їх вивчення як перспективних засобів патогенетичної терапії метаболічного синдрому.

*Мета дослідження* – вивчення впливу EGCG і кверцетину на показники оксидативно-нітрозативного стресу в гомогенаті великих півкуль головного мозку щурів за умов їх ЦО та утримання на ВЛД.

Дослідження були проведені на 32 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 215–255 г, розподілених на 4 групи: 1 – інтактні тварини (контроль I); тваринам інших груп протягом часу ЦО на тлі ВЛД щоденно вводили внутрішньошлунково через зонд 1 мл 20 % водного розчин фруктози («плацебо», контроль II), EGCG і кверцетин у дозі 40 та 200 мг/кг відповідно. Біофлавоноїди вводили разом з вуглеводами (20 % водним розчином фруктози), що збільшує їхню розчинність і біодоступність. ВЛД застосовували для годування щурів упродовж 2 місяців: тваринам призначали 20 % водний розчин фруктози для пиття та раціон харчування, збагачений вуглеводами та жирами. Починаючи з 30 доби експерименту щурів піддавали ЦО інтенсивністю 1500 лк протягом наступних 30 днів.

Введення EGCG і кверцетину за умов експерименту суттєво зменшувало в гомогенаті великих півкуль головного мозку вироблення супероксидного аніон-радикала мікросомальними монооксигеназами та NO-синтазою (NOS) – на 40,6 і 41,6 %, дихальним ланцюгом мітохондрій – на 40,6 і 38,0 %, НАДФН-оксидазою лейкоцитів і гліальних клітин – на 36,3 і 33,8 % порівняно з відповідними результатами контролю II. При цьому в гомогенаті великих півкуль головного мозку зменшувалася загальна активність NOS на 41,0 і 31,9 %, активність її індукцибельної ізоформи – на 45,3 і 35,6 %, зростала активність її конститутивного ізоферменту на 106,0 і 93,5 % та індекс його супряження – у 3,38 і 3,23 разу порівняно з контролем II. Концентрація пероксинітритів лужних і лужно-земельних металів зменшувалася на 31,8 і 35,5 % відповідно.

Здатність EGCG і кверцетину обмежувати оксидативно-нітрозативний стрес у головному мозку за умов експерименту обґрунтовує доцільність подальшого дослідження біофлавоноїдів як безпечних засобів лікування та попередження нейрозапалення та інших нейропатологічних процесів за дії факторів ризику розвитку хвороб цивілізації («дієти західного типу», порушеннях світлового режиму).

*Ключові слова:* біофлавоноїди, епігалокатехін-3-галат, кверцетин, оксидативно-нітрозативний стрес, головний мозок, метаболічний синдром

**Ю. Д. Френкель, В. С. Черно, В. А. Костенко**

## **Влияние биофлавоноидов на развитие оксидативно-нитрозативного стресса в головном мозге крыс в условиях их круглосуточного освещения и содержания на углеводно-липидной диете**

Восстановление уровня мелатонина при воспроизведении модели метаболического синдрома, индуцированного круглосуточным освещением (КО) и углеводно-липидной диетой (УЛД), оказывается недостаточным для коррекции метаболических нарушений из-за возможного саморазвития патологических процессов вследствие длительной активации редокс-чувствительных транскрипционных факторов. Недавно была обнаружена способность биофлавоноидов – эпигаллокатехина-3-галлата (EGCG) и кверцетина влиять на NF-κB и Nrf2-зависимые сигнальные пути, что обосновывает целесообразность их изучения как перспективных средств патогенетической терапии метаболического синдрома.

*Цель исследования* – изучение влияния EGCG и кверцетина на показатели оксидативно-нитрозативного стресса в гомогенате больших полушарий головного мозга крыс при КО и содержании на УЛД.

Исследование было проведено на 32 белых крысах-самцах линии Вистар массой 215–255 г, распределенных на 4 группы: 1 – интактные животные (контроль I); животным других групп в течение времени КО на фоне УЛД ежедневно вводили: внутривенно через зонд 1 мл 20 % водного раствора фруктозы («плацебо», контроль II), EGCG и кверцетин в дозе 40 и 200 мг/кг соответственно. Биофлавоноиды вводили вместе с углеводами (20 % водным раствором фруктозы), что увеличивает их растворимость и биодоступность. УЛД применяли для кормления крыс в течение 2 месяцев: животным назначали 20 % водный раствор фруктозы для питья и рацион питания, обогащенный углеводами и жирами. Начиная с 30 суток эксперимента крыс подвергали КО интенсивностью 1500 лк в течение следующих 30 суток.

Введение EGCG и кверцетина в условиях эксперимента существенно уменьшало в гомогенате больших полушарий головного мозга выработку супероксидного анион-радикала микросомальными

---

---

ми монооксигеназами и NO-синтазой (NOS) – на 40,6 и 41,6 %, дыхательной цепью митохондрий – на 40,6 и 38,0 %, НАДФН-оксидазой лейкоцитов и глиальных клеток – на 36,3 и 33,8 % по сравнению с соответствующими результатами контроля II. При этом в гомогенате больших полушарий головного мозга уменьшалась общая активность NOS на 41,0 и 31,9 %, активность ее индуцибельной изоформы – на 45,3 и 35,6 %, возрастала активность ее конститутивного изофермента на 106,0 и 93,5 % и индекс его сопряжения – в 3,38 и 3,23 раза по сравнению с контролем II. Концентрация пероксинитритов щелочных и щелочноземельных металлов уменьшалась на 31,8 и 35,5 % соответственно.

Способность EGCG и кверцетина ограничивать оксидативно-нитрозативный стресс в головном мозге в условиях эксперимента обосновывает целесообразность дальнейшего исследования биофлавоноидов как безопасных средств лечения и предупреждения нейровоспаления и других нейропатологических процессов при действии факторов риска развития болезней цивилизации («диете западного типа», нарушениях светового режима).

*Ключевые слова:* биофлавоноиды, эпигаллокатехин-3-галлат, кверцетин, оксидативно-нитрозативный стресс, мозг, метаболический синдром

**Yu. D. Frenkel', V. S. Chernov, V. O. Kostenko**

### **Effect of bioflavonoids on the development of oxidative-nitrosative stress in the brain of rats exposed to round-the-clock light and kept on carbohydrate-lipid diet**

The restoration of melatonin content under the experimental metabolic syndrome induced by the exposure to round-the-clock lighting (RCL) and carbohydrate-lipid diet (CLD) has been proven as insufficient for correcting metabolic disorders due to the possible development of pathological processes resulted from prolonged activation of redox-sensitive transcription factors. The recent studies have demonstrated the capability of bioflavonoids, epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and quercetin, to impact on NF- $\kappa$ B and Nrf2-dependent signalling pathways: this fact determines the appropriateness of their further investigation as promising means of pathogenetically-based therapy for metabolic syndrome.

*The purpose of this work* is to investigate the effect, which EGCG and quercetin can produce on oxidative-nitrosative stress in the homogenate of cerebral hemispheres in rats exposed to RCL and kept on CLD.

The study was performed on 32 white male Wistar rats weighing 215–255 g, divided into 4 groups: the 1<sup>st</sup> included intact animals (control I); animals of other groups, exposed to RCL and kept on CLD, daily received 1 ml of 20 % aqueous solution of fructose (placebo, control II), EGCG (group III), and quercetin (group IV) in a dose of 40 and 200 mg/kg, respectively. The substances were administered intragastrically by gavage. To enhance their solubility and bioavailability, bioflavonoids were given in combination with carbohydrates (20 % aqueous fructose solution). The rats were being kept on CLD for 2 months: the animals received 20 % aqueous fructose solution for drinking and a diet rich in carbohydrates and fats. Since the 30<sup>th</sup> day of the experiment, the rats were exposed to RCL with 1500 lux intensity over the next 30 days.

The administration of EGCG and quercetin in the experiment considerably restricted production of superoxide anion radical in the homogenate of cerebral hemispheres by microsomal monooxygenases and NO synthase (NOS) by 40.6 and 41.6 %, by the mitochondrial respiratory chain – by 40.6 and 38.0 %, and by the leukocyte NADPH oxidase – by 36.3 % and 33.8 %, respectively, compared to the respective findings in the control II. In the homogenate of cerebral hemispheres the total NOS activity was down by 41.0 and 31.9 %, the activity of its inducible isoform declined by 45.3 and 35.6 %; there was a growth in the activity of NOS constitutive isoenzyme by 106.0 and 93.5 %, and an increase of its coupling index in 3.38 and 3.23 times compared to the control II. The concentration of peroxy-nitrites of alkali and alkaline earth metals fell by 31.8 and 35.5 %, respectively.

The capability of EGCG and quercetin to restrain oxidative-nitrosative stress in the brain under the above-mentioned experimental conditions determines the necessity for further investigation of bioflavonoids as safe means for the therapy and prevention of neuroinflammation and other neuropathological processes, which may be caused by the impact of risk factors for diseases of civilization («Western diet», disorders of circadian rhythms).

*Key words:* bioflavonoids, epigallocatechin-3-gallate, quercetin, oxidative-nitrosative stress, brain, metabolic syndrome

---

Надійшла: 1 листопада 2021 р.

Прийнята до друку: 8 грудня 2021 р.

**Контактна особа:** Черно Валерій Степанович, доктор медичних наук, професор, Чорноморський національний університет імені Петра Могили, корпус № 4, вул. 68 Десантників, м. Миколаїв, 54000. Тел.: + 38 0 512 76 92 73. Електронна пошта: cherno1965@gmail.com