quantum chemistry in combination with experimental methods, including electrochemical that enables not only to justify the positive effect of antioxidants, but also to establish the potential significance of these substances as medicines. Electrochemical studies have confirmed the antioxidant properties of melatonin and at the macroscopic level the fundamental difference in the mechanisms of inhibition of antioxidant molecules of hydroxyl radicals and superoxide anion radicals under predominant antioxidant activity with melatonin has been proven. The antioxidant activity of melatonin in the aspect of its clinical application in COVID-19 was supported by comparing the results of quantum chemical studies obtained at the nano-scale (redistribution of electron density, orders of relations between atoms, energy characteristics) with changes in the macroscopic parameters of the process of electroreduction of reactive oxygen species in the presence of melatonin. The potential of applying quantum chemical calculations in combination with electrochemical studies has been demonstrated to substantiate and establish the characteristics and differences of antioxidant activity of melatonin when interacting with a superoxide anion radical and a hydroxyl radical in order to predict ways to create new medicines based on the pharmacological activity of melatonin for its clinical use in COVID-19.

DOI 10.31718/2077-1096.22.1.123
УДК 616-001:599.323.4:612.08

Таран О.В., Костенко В.О.

ВПЛИВ МОДУЛЯТОРІВ ТРАНСКРИПЦІЙНИХ ЧИННИКІВ НА ВУГЛЕВОДНИЙ І ЛІПІДНИЙ ОБМІН У ЩУРІВ ПІСЛЯ ЛАПАРАТОМІЇ ЗА УМОВ ЛІПОПОЛІСАХАРИД-ІНДУКОВАНОЇ СИСТЕМНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ ВІДПОВІДІ

Полтавський державний медичний університет

Вивчали вплив модуляторів транскрипційних чинників NF-κB та Nrf2 на маркери хірургічного стресу та гострофазової відповіді, вуглеводний і ліпідний обмін при нанесенні абдомінальної хірургічної травми (лапаротомії) за умов ліпополісахарид (ЛПС)-індукованої системної запальної відповіді (СЗВ). Дослідження були проведені на 35 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 220-250 г, розподілених на 5 груп: 1-ша (контрольна) – «хибнооперовані» тварини; 2-га – щурам виконували лапаротомію після відтворення ЛПС-індукованої СЗВ; тваринам 3-ї, 4-ї та 5-ї груп після лапаротомії, змодельованої на тлі ЛПС-індукованої СЗВ, протягом 7-діб внутрішньоочеревинно вводили, відповідно, інгібітор активації NF-κB амонію піролідиндитіокарбамат (у дозі 76 мг/кг), індуктор Nrf2 диметилфумарат (у дозі 15 мг/кг у 10% розчині диметилсульфоксиду) та водорозчинну форму кверцетину (у дозі 100 мг/кг, що становить 10 мг/кг у перерахунку на кверцетин). Дослідження проводили через 7 діб після «хибної» операції або лапаротомії. Виявлено, що застосування піролідиндитіокарбамату амонію, диметилфумарату, а також водорозчинної форми кверцетину за умов поєднаного впливу хірургічної травми (лапаротомії) та ЛПС S. typhi значно зменшує концентрацію кортизолу в плазмі крові та вміст церулоплазміну в сироватці крові, знижує рівень гіперглікемії та гіпертриацилгліцеролемії.

Ключові слова: транскрипційні фактори NF-κB і Nrf2, хірургічна травма, лапаротомія, ліпополісахарид-індукована системна запальна відповідь, вуглеводний і ліпідний обмін.

ВСТУП

Хірургічна операція є керованою ятрогенною механічною травмою та чинить комплексну дію на тканини або органи людини, зокрема, завжди супроводжується рановим процесом і стресовою реакцією. На загальні реакції організму впливає об'єм оперативного втручання, психоемоційне збудження, біль, патологічні рефлекси небольового характеру, крововтрата та вид анестезії [1, 2]. Кожний із зазначених факторів проявляється по-різному в залежності від загального стану хворого (включаючи попередню патологію), тривалості та травматичності оперативного втручання, а також адекватності анестезіологічного захисту.

Важливою ланкою патогенезу хірургічної травми, на думку дослідників, є системна запальна відповідь (СЗВ) [3]. У деяких сприйнятливих осіб СЗВ може викликати розвиток синдрому поліорганної недостатності та смерть.

Первинні прояви хірургічної травми пов'язані зі зниженням метаболічних процесів протягом 24 годин після хірургічного втручання. Надалі розвивається катаболічна фаза тривалістю до 2 тижнів, спрямована на досягнення корисного результату елімінації масиву чужорідних тканин. У крові підвищується рівень кортизолу, соматотропного гормону, глюкагону, антидіуретичного гормону, пролактину і катехоламінів, пригнічується секреція інсуліну [1].

Посилення секреції стрес-реалізуючих гормонів призводить до перерозподілу субстратів і джерел енергії, мобілізованих нейроендокринною катаболічною системою з депо жирових, м'язових клітин та інших джерел. Під час цієї фази пригнічується синтез білка, активується протеоліз (особливо у м'язах) та ліполіз, підви-

щується рівень амінокислот, необхідних для синтезу білків гострої фази у печінці [1]. Повідомляється про розвиток післяопераційної інсулінорезистентності та випадки пов'язаної з нею гіперглікемії [4, 5], зміни ліпідного спектру крові [6, 7].

В останні роки як засоби корекції метаболічних розладів при СЗВ та пов'язаному з нею оксидативно-нітрозативному стресі досліджуються модулятори редоксчутливих транскрипційних чинників, зокрема інгібітори ядерного фактора капа В (NF-κB) та індуктори транскрипційного фактора Nrf2 (nuclear factor erythroid 2–related factor 2) [8-11].

Нещодавно виявлено здатність біофлавоноїду кверцетину пригнічувати NF-κB-залежну сигнальну систему та активувати фактор транскрипції Nrf2 [12-14].

Проте закономірності дії модуляторів транскрипційних чинників на метаболізм у організмі щурів за умов хірургічної травми та ліпополісахарид (ЛПС)-індукованої СЗВ залишаються нез'ясованими.

Метою нашої роботи було вивчення впливу специфічних модуляторів транскрипційних чинників NF-κB та Nrf2 на маркери хірургічного стресу та гострофазової відповіді, вуглеводний і ліпідний обмін при нанесенні абдомінальної хірургічної травми (лапаротомії) за умов ЛПС-індукованої СЗВ.

Матеріали та методи

Дослідження були проведені на 35 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 220-250 г, розподілених на 5 груп: 1-ша (контрольна) – «хибнооперовані» тварини; 2-га – щурам виконували лапаротомію після відтворення ЛПС-індукованої СЗВ; тваринам 3-ї, 4-ї та 5-ї груп після лапаротомії, змодельованої на тлі ЛПС-індукованої СЗВ, протягом 7-діб внутрішньоочеревинно вводили, відповідно, інгібітор активації NF-κB амонію піролідиндітіокарбамат (у дозі 76 мг/кг), індуктор Nrf2 диметилфумарат (у дозі 15 мг/кг у 10% розчині диметилсульфоксиду) та водорозчинну форму кверцетину (у дозі 100 мг/кг, що становить 10 мг/кг у перерахунку на кверцетин).

Процедура «хибної» операції включала наркоз, епіляцію, фіксацію тварин, стиснення шкіри живота затискачем Мікуліча на одне клацання, без нанесення хірургічної рани.

Оперативне втручання (лапаротомію) проводили під внутрішньоочеревинним кетаміновим наркозом (7 мг/кг на 1 кг маси тіла) після початку наркотичного сну і досягнення адекватного ступеня анестезії. Щурам після гоління операційного поля та обробки шкіри антисептичним розчином проводили лінійний розріз довжиною 1 см у ділянці гіпогастрію. Далі розсікали м'язи, фасції, очеревину, в рану виводили петлю тонкої кишки, яку протягом 10 с подразнювали масажними рухами вказівного та великого пальців [15]. Після цього кишку опускали в черевну порожнину, рану пошарово ушивали полігліколідною ниткою "мефіл" з атравматичною голкою (НВО "Біополімер", Україна) та обробляли антисептиком.

Для відтворення СЗВ використовували ЛПС *S. typhi* (пірогенал, «Медгамал», РФ), який вводили із розрахунку 4-х мінімальних пірогенних доз (по 0,4 мкг/кг маси) 3 рази протягом 1-го тижня та одноразово щотижнево впродовж наступних 7-ми тижнів [10].

Лабораторні дослідження проводили через 7 діб після часу «хибної» операції або лапаротомії. Тварин декапітували під етерним наркозом, дотримуючись положення «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986).

Як маркер хірургічного стресу в плазмі крові досліджували концентрацію кортизолу з використанням спектрофотометру Ulab 101 (Китай) за утворенням у реакції з нітросинім тетразолієм у метанолі в присутності тетраметилгідроксидпентагідрату аммонію хромогену червоно-помаранчевого кольору з максимальним світлопоглинанням на довжині хвилі 510 нм [16]. Для оцінки гострофазової відповіді за умов СЗВ визначали вміст у сироватці крові церулоплазміну за методом, що базується на окисненні *п*-фенілендіаміну [17].

Концентрацію глюкози, холестеролу ліпопротеїнів високої щільності та триацилгліцеролів визначали за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (м. Дніпро, Україна).

Статистичні розрахунки проводили з використанням пакету програм Microsoft Office Excel з розширенням Real Statistics. Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Шапіро-Вілка. Якщо дані відповідали нормальному розподілу, то для їх порівняння використовували t-критерій Стьюдента для незалежних вибірок. У випадку, коли ряди результатів не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали, використовуючи непараметричний метод – U-критерій Манна-Уітні. Для множинного порівняння застосовували поправку Бонферроні, а при розподілі, який відрізняється від нормального, – критерій Краскела-Уоліса.

Результати дослідження та їх обговорення

Застосування піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату за умов поєднаного впливу хірургічної травми (лапаротомії) та ЛПС *S. typhi* суттєво зменшувало концентрацію кортизолу в плазмі крові (рис. 1) – до 26.73±0.84 та 25.25±1.96 нмоль/л відповідно, що на 30.3 та 34.2% (усі на рівні $P<0.001$) було меншим за відповідні результати 2-ї групи.

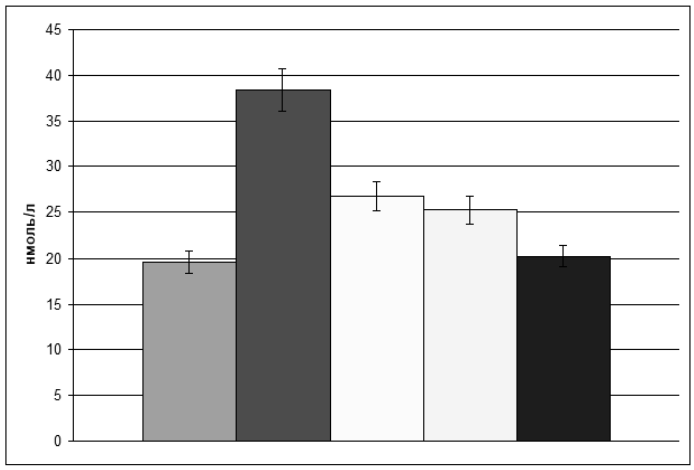


Рис. 1. Концентрація кортизолу в плазмі крові (нмоль/л) «хибнооперованих» тварин (1); після лапаротомії та введення ліпополісахариду S. typhi (2) та призначення на цих умов піролідиндитіокарбамату амонію (3), диметилфумарату (4) та водорозчинної форми кверцетину (5).

Введення водорозчинної форми кверцетину також значно знижувало вміст кортизолу в плазмі крові – до 20.29±1.10 нмоль/л, що на 47.1% (P<0.001) було меншим за значення 2-ї групи.

Цей поліфенол інгібує 26S протеасому, яка забезпечує убіквітинзалежний протеоліз інгібіторного білка IκB, що утворює комплекс з димерами білків родини NF-κB [18], що унеможливлює експресію генів низки прозапальних цитокінів і прооксидантних білків [19]. Окрім того кверцетин зменшує синтез білка p65, що належить до родини NF-κB [20]. Індукція кверцетином Nrf2 також супроводжується порушенням активації NF-κB [21].

При цьому концентрація кортизолу, на відміну від такої при дії піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату, нормалізувалася, тобто вірогідно не відрізнялася від результату 2-ї групи.

Раніше вже повідомлялося, що стрес-індукована продукція кортизолу викликає активацію NF-κB з подальшою експресією мРНК прозапальних цитокінів, а також регуляторних цитоплазматичних білків [22]. Показана здатність цього гормону пригнічувати Nrf2-залежну антиоксидантну відповідь у клітинах печінки [23].

При множинному порівнянні різниці у концентрації кортизолу в плазмі крові при застосуванні специфічних модуляторів транскрипційних чинників NF-κB і Nrf2 не виявлено. Проте величина цього показника при призначенні водорозчинної форми кверцетину була вірогідно нижчою за значення груп із застосуванням піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату – на 24.1% (P<0.001) та на 19.6% (P<0.05) відповідно.

Як піролідиндитіокарбамат амонію, так і диметилфумарат за умов експерименту значно зменшували концентрацію церулоплазміну в сироватці крові (рис. 2) – до 272.6±26.1 та 256.0±19.0 мг/л відповідно, що на 36.9 та 40.7% (усі на рівні P<0.001) було меншим за відповідні результати 2-ї групи.

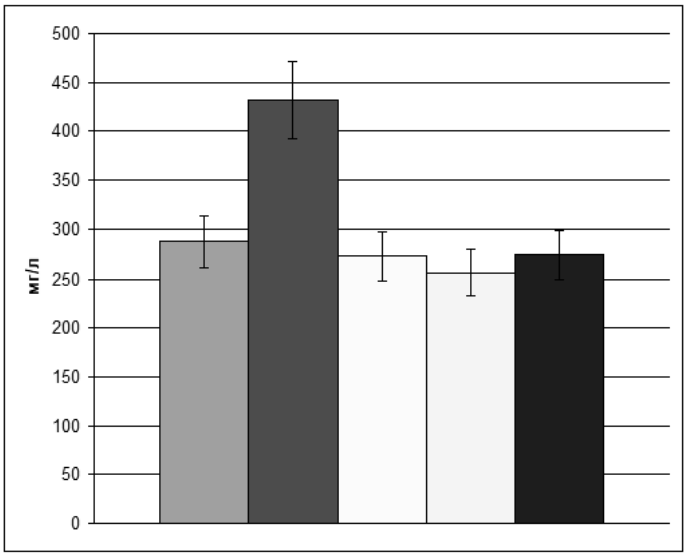


Рис. 2. Концентрація церулоплазміну в сироватці крові (мг/л) у «хибнооперованих» тварин (1); після лапаротомії та введення ліпополісахариду S. typhi (2) та призначення на цих умов піролідиндитіокарбамату амонію (3), диметилфумарату (4) та водорозчинної форми кверцетину (5).

Введення водорозчинної форми кверцетину знижувало вміст церулоплазміну в сироватці крові – до 273.4±31.1 мг/л, що на 36.7% (P<0.01) було меншим за значення 2-ї групи.

При множинному порівнянні різниці в концентрації церулоплазміну в сироватці крові при застосуванні наведених модуляторів транскрипційних чинників NF-κB і Nrf2 не виявлено.

Застосування інгібітора активації NF-κB піролідиндитіокарбамату амонію та індуктора сигнальної системи Nrf2 / ARE диметилфумарату за умов поєднаного впливу хірургічної травми (лапаротомії) та ЛПС *S. typhi* суттєво зменшувало концентрацію глюкози в сироватці крові (рис. 3) – до 4.14±0.22 та 3.15±0.21 ммоль/л відповідно, що на 36.0 та 51.3% (усі на рівні P<0.001) було меншим за відповідні результати 2-ї групи.

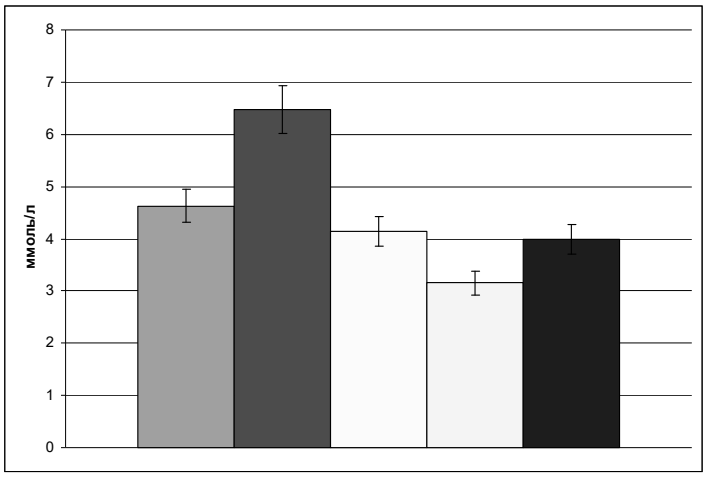


Рис. 3. Концентрація глюкози в сироватці крові (ммоль/л) «хибнооперованих» тварин (1); після лапаротомії та введення ліпополісахариду S. typhi (2) та призначення на цих умов піролідиндитіокарбамату амонію (3), диметилфумарату (4) та водорозчинної форми кверцетину (5).

Введення водорозчинної форми кверцетину знижувало вміст глюкози в сироватці крові – до 3.99±0.17 ммоль/л, що на 38.3% (P<0.001) було меншим за значення 2-ї групи.

При множинному порівнянні різниці в концентрації глюкози в сироватці крові при застосуванні піролідиндитіокарбамату амонію та водорозчинної форми кверцетину не виявлено. Проте величина цього показника при призначенні диметилфумарату була вірогідно нижчою за значення груп із застосуванням названих вище сполук – на 23.9 та 21.1% (обидва на рівні P<0.01) відповідно.

Концентрація холестеролу ліпопротеїнів високої щільності в сироватці крові (рис. 4) за умов поєднаного впливу хірургічної травми (лапаротомії) та ЛПС *S. typhi* становила: при застосуванні піролідиндитіокарбамату амонію – 0.86±0.05 ммоль/л; при застосуванні диметилфумарату – 0.77±0.04 ммоль/л; при застосуванні водорозчинної форми кверцетину – 0.81±0.05 ммоль/л.

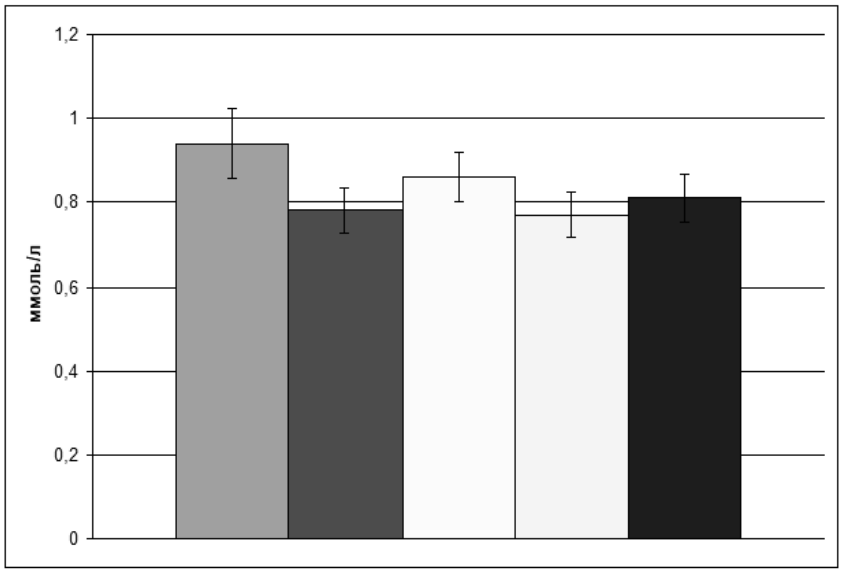


Рис. 4. Концентрація холестеролу ліпопротеїнів високої щільності в сироватці крові (ммоль/л) «хибнооперованих» тварин (1); після лапаротомії та введення ліпополісахариду S. typhi (2) та призначення на цих умов піролідиндитіокарбамату амонію (3), диметилфумарату (4) та водорозчинної форми кверцетину (5).

Усі ці результати істотно не відрізнялися від відповідних значень 2-ї групи та між собою. Проте вміст холестеролу ліпопротеїнів високої щільності в сироватці крові при введенні піролідиндитіокарбамату амонію та водорозчинної форми кверцетину нормалізувався (вірогідно не відрізнялася від результату 2-ї групи), у той час як при застосуванні диметилфумарату все ще залишався достовірно нижчим за значення 2-ї групи.

Застосування піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату за умов поєднаного впливу хірургічної травми (лапаротомії) та ЛПС *S. typhi* суттєво зменшувало концентрацію триацилгліцеролів в сироватці крові (рис. 5) – до 1.19±0.07 та 1.26±0.08 ммоль/л відповідно, що на 42.2 та 38.8% (усі на рівні P<0.001) було меншим за відповідні результати 2-ї групи.

Введення водорозчинної форми кверцетину також значно знижувало вміст триацилгліцеролів в сироватці крові – до 0.66±0.06 ммоль/л, що на 68.0% (P<0.001) було меншим за значення 2-ї групи. При цьому концентрація триацилгліцеролів, на відміну від такої при дії піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату, нормалізувалася, тобто вірогідно не відрізнялася від результату 2-ї групи.

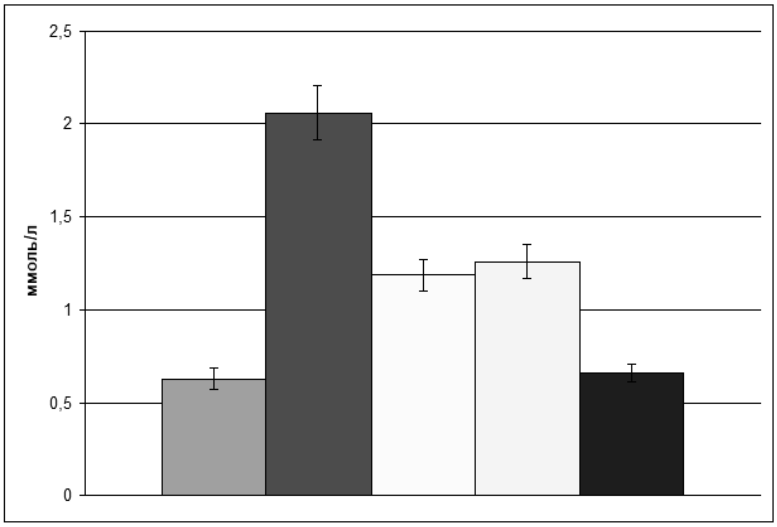


Рис. 5. Концентрація триацилгліцеролів в сироватці крові (ммоль/л) «хибнооперованих» тварин (1); після лапаротомії та введення ліпополісахариду S. typhi (2) та призначення на цих умов піролідиндитіокарбамату амонію (3), диметилфумарату (4) та водорозчинної форми кверцетину (5).

Раніше вже повідомлялося про здатність жирних кислот активувати NF-κB [24]. Інші речовини ліпідної природи також можуть активувати NF-κB через зв'язування з Толл-подібними рецепторами 4 типу. Прозапальні цитокіни, що виробляються після активації NF-κB, підтримують інсулінорезистентність через фосфорилювання за серином субстрату інсулінового рецептора IRS-1 [25].

При множинному порівнянні різниці в концентрації триацилгліцеролів у сироватці крові при застосуванні специфічних модуляторів транскрипційних чинників NF-κB і Nrf2 не виявлено. Проте величина цього показника при призначенні водорозчинної форми кверцетину була вірогідно нижчою за значення груп із застосуванням піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату – на 44.5 та 47.6% (обидва при P<0.001) відповідно.

Висновки

1. Застосування інгібітора активації NF-κB піролідиндитіокарбамату амонію, індуктора Nrf2 диметилфумарату, а також водорозчинної форми кверцетину за умов поєднаного впливу хірургічної травми (лапаротомії) та ЛПС *S. typhi* значно зменшує концентрацію кортизолу в плазмі крові та вміст церулоплазміну в сироватці крові.

2. Застосування інгібітора активації NF-κB піролідиндитіокарбамату амонію, індуктора Nrf2 диметилфумарату, а також водорозчинної форми кверцетину за умов поєднаного впливу хірургічної травми (лапаротомії) та ЛПС *S. typhi* значно зменшує рівень гіперглікемії та гіпертриацилгліцеролемії.

Література

1. Hryshko Yu. M. Vplyv L-arhininu na mistsevi ta systemni protsesy vidnovlennya orhanizmu pislya diyi ahresyvnykh faktoriv khirurhichnoyi [Effect of L-arginine on local and systemic processes of body restoring after aggressive factors of surgical trauma]. Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny. 2017;17(1):293-298. (Ukrainian)
2. Dobson GP. Trauma of major surgery: A global problem that is not going away. Int J Surg. 2020 Sep;81:47-54.
3. Smajic J, Tupkovic LR, Husic S et al. Avdagic SS, Hodzic S, Imamovic S. Systemic Inflammatory Response Syndrome in Surgical Patients. Med Arch. 2018;72(2):116-119.
4. Schricker T, Lattermann R. Perioperative catabolism. Can J Anaesth. 2015 Feb;62(2):182-193.
5. Vogel TR, Smith JB, Kruse RL. The association of postoperative glycemic control and lower extremity procedure outcomes. J Vasc Surg. 2017 Oct;66(4):1123-1132.
6. He T, Wang Z, Wu Y et al. Lipid changes during the perioperative period in patients with early breast cancer: a real-world retrospective analysis. BMC Surg. 2021 Nov 12;21(1):396.
7. Mihalj M, Heinisch PP, Huber M et al. Effect of Perioperative Lipid Status on Clinical Outcomes after Cardiac Surgery. Cells. 2021 Oct 11;10(10):2717.
8. Akimov OY, Kostenko VO. Role of NF-κB transcriptional factor activation during chronic fluoride intoxication in development of

oxidative-nitrosative stress in rat's gastric mucosa. J Trace Elem Med Biol. 2020 Apr 19;61:126535.
9. Yavtushenko IV, Nazarenko SM, Katrushov OV, Kostenko VO. Quercetin limits the progression of oxidative and nitrosative stress in the rats' tissues after experimental traumatic brain injury. Wiad Lek. 2020;73(10):2127-2132.
10. Yelins'ka AM, Shvaykovs'ka OO, Kostenko VO. Epigallocatechin-3-gallate prevents disruption of connective tissue in periodontium and salivary glands of rats during systemic inflammation. Wiad Lek. 2018;71(4):869-873.
11. Frenkel' YD, Zyuzin VO, Cherno VS, Kostenko VO. Vplyv bioflavonoyidiv na utvorennya aktyvnykh form kysnyu ta azotu v pechintsi shchuriv za umov yikh tsilodobovoho osvitlennya ta utrymannya na vuhlevodno-lipidniy diyeti [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):20-27. (Ukrainian)
12. Carrasco-Pozo C, Castillo RL, Beltrán C et al. Molecular mechanisms of gastrointestinal protection by quercetin against indomethacin-induced damage: role of NF-κB and Nrf2. J Nutr Biochem. 2016 Jan;27:289-298.
13. Rubio V, García-Pérez AI, Herráez A, Diez JC. Different roles of Nrf2 and NFkB in the antioxidant imbalance produced by esculetin or quercetin on NB4 leukemia cells. Chem Biol Interact. 2018 Oct 1;294:158-166.
14. Sanjay S, Girish C, Toi PC, Bobby Z. Quercetin modulates NRF2 and NF-κB/TLR-4 pathways to protect against isoniazid- and rifampicin-induced hepatotoxicity in vivo. Can J Physiol Pharmacol. 2021 Sep;99(9):952-963.
15. Belozertseva IV, Dravolina OA, Krivov VO et al. Eksperimental'noye modelirovaniye posleoperatsionnykh kognitivnykh rasstroystv u krys [Experimental simulation of post-operative cognitive disorders in rats]. Vestnik Anest Rean. 2016;13(5):37-49. (Russian).
16. Tu E, Pearlmutter P, Tiangco M et al. Comparison of Colorimetric Analyses to Determine Cortisol in Human Sweat. ACS Omega. 2020;5(14):8211-8218.
17. Kaydashev IP, editor. Metody klinichnykh ta eksperymental'nykh doslidzhen' v medytsyni [Methods of clinical and experimental research in medicine]. Poltava; 2003. 320 p. (Ukrainian).
18. Kang CH, Choi YH, Moon SK et al. Quercetin inhibits lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in BV2 microglial cells by suppressing the NF-κB pathway and activating the Nrf2-dependent HO-1 pathway. Int Immunopharmacol. 2013 Nov;17(3):808-813.
19. Liu X, Lin R, Zhao B et al. Correlation between oxidative stress and the NF-κB signaling pathway in the pulmonary tissues of obese asthmatic mice. Mol Med Rep. 2016 Feb;13(2):1127-1134.
20. Lai WW, Hsu SC, Chueh et al. Quercetin inhibits migration and invasion of SAS human oral cancer cells through inhibition of NF-κB and matrix metalloproteinase-2/-9 signaling pathways. Anticancer Res. 2013 May;33(5):1941-1950.
21. Kim Y, Kim CS, Joe Y et al. Quercetin Reduces Tumor Necrosis Factor Alpha-Induced Muscle Atrophy by Upregulation of Heme Oxygenase-1. J Med Food. 2018 Jun;21(6):551-559.
22. Kuebler U, Zuccarella-Hackl C, Arpagaus A et al. Stress-induced modulation of NF-κB activation, inflammation-associated gene expression, and cytokine levels in blood of healthy men. Brain Behav Immun. 2015 May;46:87-95.
23. Kratschmar DV, Calabrese D, Walsh J et al. Suppression of the Nrf2-dependent antioxidant response by glucocorticoids and 11β-HSD1-mediated glucocorticoid activation in hepatic cells. PLoS One. 2012;7(5):e36774.
24. Rogero MM, Calder PC. Obesity, Inflammation, Toll-Like Receptor 4 and Fatty Acids. Nutrients. 2018;10(4):432.
25. Tornatore L, Thotakura AK, Bennett J et al. The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation. Trends Cell Biol. 2012 Nov;22(11):557-566.

Реферат

ВЛИЯНИЕ МОДУЛЯТОРОВ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ НА УГЛЕВОДНЫЙ И ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН У КРЫС ПОСЛЕ ЛАПАРАТОМИИ В УСЛОВИЯМ ЛИПОПОЛИСАХАРИД-ИНДУЦИРОВАННОГО СИСТЕМНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА

Таран Е.В., Костенко В.А.

Ключевые слова: транскрипционные факторы NF-κB и Nrf2, хирургическая травма, лапаротомия, липополисахарид-индуцированный системный воспалительный ответ, углеводный и липидный обмен.

Изучали влияние модуляторов транскрипционных факторов NF-κB и Nrf2 на маркеры хирургического стресса и гострофазового ответа, углеводный и липидный обмен при нанесении абдоминальной хирургической травмы (лапаротомии) в условиях липополисахарид (ЛПС)-индуцированного системного воспалительного ответа (СВО). Исследования были проведены на 28 белых крысах-самцах линии Вистар массой 220-250 г, распределённых на 4 группы: 1-я (контрольная) – «ложнооперированные» животные; 2-я – крысам выполняли лапаротомию после воспроизведения ЛПС-индуцированного СВО; животным 3-й, 4-й и 5-й групп после лапаротомии, смоделированной на фоне ЛПС-индуцированного СВО, в течение 7 суток внутрибрюшинно вводили, соответственно, ингибитор активации NF-κB аммония пирролидиндитиокарбамат (в дозе 76 мг/кг), индуктор Nrf2 диметилфумарат (в дозе 15 мг/кг в 10% растворе диметилсульфоксида) и водорастворимую форму кверцетина (в дозе 100 мг/кг, что составляет 10 мг/кг в пересчете на кверцетин) соответственно. Измерения проводили через 7 суток после «ложной» операции или лапаротомии. Выявлено, что применение пирролидиндитиокарбамата аммония, диметилфумарата, а также водорастворимой формы кверцетина при сочетанном воздействии хирургической травмы (лапаротомии) и ЛПС S. typhi значительно уменьшает концентрацию кортизола в плазме крови и содержание церулоплазмина в сыворотке крови, снижает уровень гипергликемии и гипертриацилглицеролемии.

Summary

EFFECT OF TRANSCRIPTION FACTOR MODULATORS ON CARBOHYDRATES AND LIPID METABOLISM IN RATS AFTER LAPARATOMY UNDER LIPOPOLYSACCHARIDE-INDUCED SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE

Taran O.V., Kostenko V.O.

Key words: transcription factors NF-κB and Nrf2, surgical trauma, laparotomy, lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response, carbohydrate and lipid metabolism.

This study is devoted to investigating the effect of NF-κB and Nrf2, transcription factor modulators, on markers of surgical stress and acute phase response, carbohydrate and lipid metabolism in the case of abdominal surgical trauma (laparotomy) under lipopolysaccharide (LPS)-induced systemic inflammatory response (SIR). The study was performed on 28 white Wistar male rats weighing 220-250 g, divided into 4 groups: 1st (control) included "pseudo-operated" animals; 2nd group involved rats, who underwent laparotomy following the LPS-induced SIR modelling; the animals of the 3rd, 4th and 5th groups subjected to laparotomy following LPS-induced SIR then for 7 days received ammonium pyrrolidinedithiocarbamate, an NF-κB activation inhibitor, in a dose of 76 mg/kg, dimethyl fumarate, an N inducer, in a dose of 15 mg / kg in 10% dimethyl sulfoxide solution, and a water-soluble form of quercetin in a dose of 100 mg/kg that is 10

mg/kg in terms of quercetin. The measurements were carried out in 7 days after the false surgical operation or laparotomy. It has been found out that the use of ammonium pyrrolidine dithiocarbamate, dimethyl fumarate, and water-soluble form of quercetin under the combined effects of surgical trauma (laparotomy) and S. typhi LPS significantly reduces the concentration of cortisol in blood plasma and the content of ceruloplasmin in the blood serum, lowers the level of hyperglycemia and hypertriacylglycerolemia.

DOI 10.31718/2077-1096.22.1.129
УДК 616.314-089-085

Френкель Ю.Д.[1], Черно В.С.[1], Костенко В.О.[2]

ІНДУКЦІЯ ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ФАКТОРА NRF2 ПРИГНІЧУЄ ПРОДУКЦІЮ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ І АЗОТУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ ЗА УМОВ ЦІЛОДОБОВОГО ОСВІТЛЕННЯ

[1] Чорноморський національний університет імені Петра Могили, м. Миколаїв
[2] Полтавський державний медичний університет, м. Полтава

Метою дослідження було оцінити вплив індуктора Nrf2 диметилфумарату на продукцію активних форм кисню та азоту у печінці щурів при моделюванні метаболічного синдрому за умов цілодобового освітлення. Білим щурам на тлі відтворення метаболічного синдрому (20%-й водний розчин фруктози для пиття та раціон, збагачений вуглеводами та ліпідами) внутрішньоочеревинно вводили диметилфумарат у 10%-му розчині диметилсульфоксиду в дозі 15 мг/кг. У гомогенаті печінки щурів визначали швидкість генерації супероксидного аніон-радикала ($\bullet O_2^-$), активність загальної NO-синтази (NOS), її конститутивної та індуцибельної ізоформ (cNOS, iNOS), вміст пероксинітритів лужних та лужноземельних металів. Введення диметилфумарату за умов експерименту суттєво зменшувало в тканинах печінки вироблення $\bullet O_2^-$ мікросомами та NOS – на 48,9%, мітохондріями – на 47,3%, NADPH-оксидазою лейкоцитів – на 45,6%, активність NOS (загальну та iNOS) на 33,1% та 35,9%, відповідно, концентрацію пероксинітритів – на 39,7% порівняно зі значеннями контрольної групи, що отримувала тільки розчинник (10% розчин диметилсульфоксиду). Активність cNOS та індекс спряження перевищували результат контролю у 2,95 та 5,5 раза, відповідно. Введення індуктора Nrf2 диметилфумарату при відтворенні моделі метаболічного синдрому за умов цілодобового освітлення щурів є ефективним засобом обмеження у тканинах печінки вироблення активних форм кисню та азоту.

Ключові слова: транскрипційний фактор Nrf2, диметилфумарат, активні форми кисню та азоту, метаболічний синдром, цілодобове освітлення, печінка.

Вступ

Численні експериментальні та клінічні дослідження показують, що порушення світлового режиму, що супроводжуються гіпомелатонінемією, призводять до змін вуглеводного та ліпідного метаболізму, системної запальної відповіді, артеріальної гіпертензії, ендотеліальної дисфункції та надлишкової продукції активних форм кисню та азоту (АФК / АФА). Всі ці порушення є компонентами метаболічного синдрому (МС). В останні роки отримала підтвердження точка зору про патогенетичну єдність МС та неалкогольної жирової хвороби печінки [3].

Раніше нами було показано, що цілодобове освітлення щурів, що перебували на вуглеводно-ліпідній дієті (ВЛД), супроводжується більш вираженими метаболічними порушеннями (гіперінсулінемією, дисліпопротеїнемією, гіпо-α-ліпопротеїнемією, збільшенням маси вісцерального жиру) порівняно з окремим застосуванням [4]. Проте застосування за цих умов мелатоніну лише частково зменшує ці ознаки, істотно не впливаючи на індекс інсулінорезистентності [5]. Таким чином, корекція рівня мелатоніну виявляється недостатньою для ліквідації метаболічних розладів.

Одним з найважливіших механізмів саморозвитку патологічних процесів при МС вважається тривала гіперактивація транскрипційних факторів (NF-κB, AP-1, STAT та ін) з подальшим збільшенням експресії генів, що кодують біосинтез низки прозапальних та прооксидантних білків [6]. Активація транскрипційних факторів, зокрема NF-κB, може бути пов'язана як з надлишком у раціоні вуглеводів та жирів («дієта західного типу») [7], так і зі змінами експресії індуцибельних генів центрального та периферичних циркадіанних осциляторів при порушенні світлового режиму [8].

Дійсно, продукція АФК у тканинах печінки значно посилюється при поєднанні цілодобового освітлення щурів та ВЛД [9]. Введення за цих умов інгібітору ядерної транслокації NF-κB піролідиндитіокарбамату амонію істотно послаблює маркери окиснювально-нітрозативного стресу в тканинах печінки [7]. Однак цей інгібітор NF-κB виявляє високу генотоксичність [10].

Нестача продукції мелатоніну може супроводжуватися зниженням активності транскрипційного фактора Nrf2 (англ. Nuclear Factor Erythroid