

Вплив модуляторів факторів транскрипції NF-κB і Nrf2 на показники оксидативно–нітрозативного стресу в скелетних м'язах щурів за умов хронічної гіпомелатоніемії та вуглеводно–ліпідної дієти

Ю.Д. Френкель¹, В.С. Черно¹, В.О. Костенко²

¹Чорноморський національний університет імені Петра Могили, Миколаїв; e-mail: cherno1965@gmail.com

²Полтавський державний медичний університет; e-mail: v.kostenko@pdmu.edu.ua

Досліджували вплив інгібітора NF-κB піролідиндітіокарбамату амонію та індуктора Nrf2 диметилфумарату на показники оксидативно–нітрозативного стресу в скелетних м'язах щурів за умов хронічної гіпомелатоніемії, індукованої цілодобовим освітленням інтенсивністю 1500 лк упродовж 30 діб на тлі 60-денного утримання тварин на вуглеводно–ліпідній дієті (20%-й розчин фруктози та відповідний раціон). Виявлено, що введення піролідиндітіокарбамату амонію та диметилфумарату за умов експерименту обмежувало розвиток гіпомелатоніемії, що супроводжувалося дворазовим зростанням концентрації мелатоніну в сироватці крові порівняно з результатами контрольної групи, що зазнавала цілодобового освітлення на тлі вуглеводно–ліпідної дієти. Крім того, зменшувалася у м'язах стегна швидкість генерації супероксидного аніон-радикала мітохондріями (на 47,9 і 51,3%) та саркоплазматичним ретикуломом (на 48,6 і 52,0%), загальна активність NO-синтази (на 37,2 і 36,2%) та її індукційної ізоформи (на 41,1 і 40,0%), концентрація пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів (на 37,2 і 41,0%) при зростанні активності конститутивних NO-синтаз (у 2,9 і 2,8 раза) та індексу їх спряження (в 5,2 і 5,4 раза) порівняно з відповідними значеннями контролю. Зроблено висновок щодо ефективності застосування модуляторів редоксчутливих транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 за умов хронічної гіпомелатоніемії та призначення вуглеводно–ліпідної дієти як засобів обмеження в скелетних м'язах розвитку оксидативно–нітрозативного стресу.

ВСТУП

Наразі підтверджено, що нічне використання візуальних дисплеїв, смартфонів та світлодіодного освітлення призводить до дезорганізації циркадіанної системи, маркером якої є зменшення пінеальної продукції мелатоніну [1, 2]. Наслідком цього є розвиток таких порушень обміну речовин, як гіперглікемія, інсулінорезистентність, дисліпідемія й ожиріння [3]. Підтверджено зв'язок гіпомелатоніемії з виникненням метаболічних розладів у м'язах [4]. Зменшення концентрації мелатоніну в сечі жінок у постменопаузі корелює з саркопенією [5]. При цьому екзогенний мелатонін виявився здатним обмежувати інсулінорезистентність

і мітохондріальну дисфункцію у скелетних м'язах щурів [4], міокарді та діафрагмі мишей [6], сповільнювати м'язову атрофію у кастрованих щурах-самцях [7], а також зменшувати ознаки стресу ендоплазматичного ретикула та хімічноіндукованого апоптозу в культурі міоцитів [4].

Розвиток гіпомелатоніемії при цілодобовому освітленні (ЦО) щурів посилюється призначенням щурам висококалорійного вуглеводно–ліпідного раціону [8]. Проте відновлення вмісту мелатоніну при його екзогенному введенні суттєво не впливає на індекс інсулінорезистентності HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) та лише частково обмежує гіпер-

глікемію, дисліпопротеїнемію та продукцію активних форм кисню й азоту (АФК і АФА відповідно) в тканинах скелетних м'язів і печінки [9]. Це вказує на те, що відновлення концентрації мелатоніну в сироватці крові виявляється недостатнім за цих умов для повноцінної корекції метаболічних порушень, розвиток яких підтримується патогенетичними механізмами, які вийшли з-під контролю центральних регуляторних систем та утворюють своєрідні «замкнені кола». Припускаємо, що до числа таких процесів належить надмірна активація транскрипційного фактора NF-κB (англ. Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells). Так, збільшення ядерного вмісту NF-κB у пінеалоцитах викликає пригнічення їх функції [10]. За різних умов активацію NF-κB можуть забезпечувати не тільки рецепторопосередковані стимули (бактеріальні ліпополісахариди, цитокіни, вільні жирні кислоти тощо), але й АФК і АФА, що виробляються внаслідок дії перших. АФК і АФА так само можуть впливати на канонічний і неканонічний шляхи NF-κB-сигналізації внаслідок альтернативного фосфорилування інгібіторного білка IκBα, а також активації критично чутливих до змін редокс-потенціалу ферментів – IκB-кіназного комплексу та NF-κB-індукувальної кінази [11]. Водночас NF-κB знаходиться у антагоністичних стосунках з іншим редокс-чутливим транскрипційним фактором – Nrf2 (англ. Nuclear Factor Erythroid 2-related Factor 2) [12].

Застосування в експерименті на білих щурах інгібітора NF-κB піролідиндитіокарбамату амонію у разі гіпомелатоніемії, індукованої ЦО, та призначення вуглеводно-ліпідної дієти (ВЛД) істотно послаблює метаболічні розлади: обмежує інсулінорезистентність, зменшує гіперглікемію, гіперінсулінемію, дисліпопротеїнемію, гіпо-α-ліпопротеїнемію та гіпертригліцеридемію, гальмує розвиток системної запальної відповіді [13]. Подібні ефекти за таких самих умов експерименту забезпечує також введення індуктора Nrf2 димети-

лфумарату [14]. Але закономірності впливу модуляторів редоксчутливих транскрипційних факторів на генерування АФК і АФА в скелетних м'язах при відтворенні гіпомелатоніемії та ВЛД залишаються нез'ясованими.

Метою нашої роботи було вивчення впливу інгібітора NF-κB піролідиндитіокарбамату амонію та індуктора Nrf2 диметилфумарату на показники оксидативно-нітрозативного стресу в скелетних м'язах щурів за умов хронічної гіпомелатоніемії та призначення ВЛД.

МЕТОДИКА

Досліди було проведено на 28 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 215–255 г, яких утримували в стандартних умовах віварію (температура повітря $22 \pm 2^\circ\text{C}$, вологість повітря 30–60%). Інтактних щурів (1-ша група, контроль I) годували стандартною їжею та утримували за 12/12-годинним циклом світло/темрява. У щурів 2-ї групи (контроль II) відтворювали хронічну гіпомелатоніемію та утримували на ВЛД. Тварини 3-ї та 4-ї групи отримували піролідиндитіокарбамат амонію (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) у дозі 76 мг/кг [15] та диметилфумарат (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) у дозі 15 мг/кг [16] відповідно внутрішньоочередово тричі на тиждень, починаючи з 30-ї доби експерименту. Тваринам 2-ї групи замість модуляторів редоксчутливих транскрипційних факторів внутрішньоочередово тричі на тиждень вводили ізотонічний розчин хлориду натрію («плацебо»).

ВЛД застосовували протягом 2 місяців, призначаючи щурам 20%-й водний розчин D-фруктози (“ADM”, Туреччина) для пиття та збагачений на вуглеводи та ліпіди раціон харчування, описаний нами раніше [17]. Для відтворення хронічної гіпомелатоніемії тварин, починаючи з 30-ї доби знаходження на ВЛД, піддавали ЦО інтенсивністю 1500 лк упродовж наступних 30 дб.

Експеримент відповідав вимогам «Європейської конвенції по захисту хребетних

тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страбсбург, 1986) та Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 ЄС щодо експериментів на тваринах. Комісія з біоетики Чорноморського національного університету імені Петра Могили під час цього дослідження не виявила порушень морально-етичних норм. Тварин декапітували під етерним наркозом у ранковий час (8.00–10.00), що давало змогу усунути вплив добових коливань пінеальної секреції мелатоніну та робило можливим порівняння контрольних і дослідних груп.

Концентрацію мелатоніну у сироватці крові вимірювали методом імуноферментного аналізу за допомогою набору Rat Melatonin ELISA Kit (“MyBioSource.com”, США).

Утворення супероксидного аніон-радикала ($\cdot\text{O}_2^-$) у гомогенаті м’язів стегна визначали за допомогою спектрофотометра Ulab 101 (Китай) за концентрацією диформазану, що утворюється в реакції $\cdot\text{O}_2^-$ з нітросинім тетразолієм (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) [18]. Для оцінки здатності електронно-транспортних ланцюгів (ЕТЛ) мітохондрій і саркоплазматичного ретикулума продукувати $\cdot\text{O}_2^-$ використовували індуктори – нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений (НАДН, “Sigma-Aldrich Inc.”, США) і нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений (НАДФН, “Sigma-Aldrich, Inc.”, США) відповідно [18].

Загальну NO-синтазу (NOS) активність визначали за збільшенням концентрації нітритів упродовж інкубації гомогенату м’язів стегна впродовж 30 хв в інкубаційному розчині (2,5 мл 0,1 моль/л тріс-буфера, 0,3 мл 320 ммоль/л водного розчину L-аргініну та 0,1 мл 1 ммоль/л розчину НАДФН) [19]. Вміст нітрит-іонів вимірювали у реакції з сульфаніловою кислотою та α -нафтиламіном за допомогою спектрофотометра Ulab 101 (Китай) при довжині хвилі 540 нм. Для оцінки активності конститутивних NOS (сNOS) до розчину, відібраного для первинної оцінки нітритів, додавали 0,1 мл 1%-го роз-

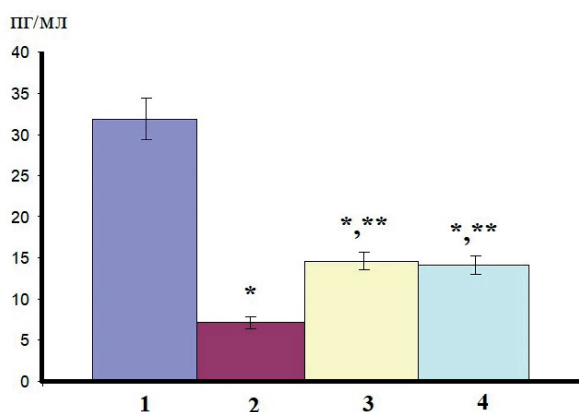
чину селективного інгібітора індукцибельної NOS (iNOS) гідрохлориду аміногуанідину (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) [20]. За активність iNOS брали різницю між значеннями активності загальної NOS та сNOS. Індекс спряження сNOS розраховували як відношення між активністю сNOS та продукцією $\cdot\text{O}_2^-$ НАДФН-залежним ЕТЛ.

Концентрацію пероксинітритів лужних і лужноземельних металів у гомогенаті м’язів стегна визначали спектрофотометрично, використовуючи реакцію з йодидом калію (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) [19].

Одержані результати були статистично оброблені за допомогою програмного пакета Microsoft Office Excel з розширенням Real Statistics 2019 із застосуванням тесту Шапіро-Уїлка для перевірки нормальності дисперсій. Були розраховані основні статистичні показники, такі як середнє арифметичне (M) і стандартна помилка середнього (m). Оскільки всі зразки мали нормальний розподіл, ми застосували параметричний дисперсійний аналіз ANOVA з подальшим попарним порівнянням груп за критерієм t Стьюдента для незалежних зразків. Для уникнення явища багаторазових порівнянь використовували поправку Дана-Шідака.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При комбінованому впливі ЦО і ВЛД концентрація мелатоніну в сироватці крові знижувалася з $31,8 \pm 2,5$ пг/мл (у 1-й групі) до $7,1 \pm 0,7$ пг/мл (рисунок). Суттєве зменшення вмісту мелатоніну (в 4,5 раза) порівняно з контролем свідчить про розвиток у щурів гіпомелатоніемії, у патогенезі якого дія ЦО посилюється дієтичним чинником. Раніше нами було показано, що концентрація мелатоніну за умов ЦО щурів інтенсивністю 1500 лк та призначення ВКД була вірогідно меншою за результат, отриманий при окремій дії ЦО [8]. Нещодавно було виявлено, що такі харчові компоненти, як глюкоза, натрій, етанол і кофеїн, можуть впливати на



Концентрація мелатоніну в сироватці крові контрольних тварин (1), після цілодобового освітлення та утримання на вуглеводно-ліпідній дієті (2), а також введення за цих умов піролідиндитіокарбамату амонію (3) та диметилфумарату (4). *P < 0,05 порівняно зі значеннями 1-ї групи (контролю I); **P < 0,05 порівняно зі значеннями 2-ї групи (контролю II)

біологічні ритми та вироблення мелатоніну завдяки змінам експресії білків циркадіанного осцилятора [21]. Не виключено, що інші вуглеводи (крім глюкози) і ліпіди також здатні зменшувати пінеальне вироблення мелатоніну за подібним механізмом.

Введення піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату за умов експерименту призводило до зростання концентрації

мелатоніну в сироватці крові до $14,6 \pm 1,1$ та $14,1 \pm 1,1$ пг/мл відповідно, що вдвічі перевищувало значення 2-ї групи.

Активація NF-κB, як відомо, негативно впливає на вироблення мелатоніну, про що свідчить збільшення ядерного вмісту компонентів цього транскрипційного фактора у денний час та їх зменшення вночі [22]. Саме активований NF-κB пригнічує транскрипцію ключового ферменту пінеального синтезу мелатоніну – арилалкіламін-N-ацетилтрансферази [10]. Вочевидь індукція Nrf2 також може сприяти продукуванню мелатоніну епіфізом або через здатність цього фактора транскрипції гальмувати ядерну транслокацію NF-κB [12], або безпосередньо, що потребує подальшого з'ясування.

Утримання щурів на ВЛД за умов відтворення хронічної гіпомелатоніемії супроводжувалося достовірним збільшенням вироблення $\cdot O_2^-$ у гомогенаті м'язів стегна дихальним ланцюгом мітохондрій та саркоплазматичного ретикулула вдвічі порівняно зі значеннями 1-ї групи (табл. 1).

Вироблення АФК і АФА скелетними м'язами має велике значення у розвитку низки дегенеративних захворювань м'язів [4]. Окрім того, $\cdot O_2^-$ є основним кисневим

Таблиця 1. Вплив модуляторів редоксчутливих транскрипційних факторів на продукцію супероксидного аніон-радикала різними джерелами (нмоль/г·с) у гомогенаті м'язів стегна за умов хронічної гіпомелатоніемії та призначення щурам вуглеводно-ліпідної дієти ($M \pm m$)

Умови досліджу	Джерела генерації супероксидного аніон-радикала	
	Мітохондрії	Саркоплазматичний ретикулум
Інтактні тварини (контроль I)	$14,42 \pm 0,23$	$15,48 \pm 0,24$
Хронічна гіпомелатоніемія та вуглеводно-ліпідна дієта (контроль II)	$28,55 \pm 0,97^*$	$30,25 \pm 0,85^*$
Введення піролідиндитіокарбамату амонію за умов хронічної гіпомелатоніемії та вуглеводно-ліпідної дієти	$14,87 \pm 0,33^{**}$	$15,56 \pm 0,35^{**}$
Введення диметилфумарату за умов хронічної гіпомелатоніемії та вуглеводно-ліпідної дієти	$13,90 \pm 0,25^{**}$	$14,53 \pm 0,25^{**}$

Примітка: тут і в табл. 2 *P < 0,05 порівняно зі значеннями 1-ї групи (контролю I); **P < 0,05 порівняно зі значеннями 2-ї групи (контролю II).

радикалом, що генерується скелетними м'язами, концентрація якого впливає на їх скорочувальну активність. В останні роки як переважаюче джерелом $\cdot\text{O}_2^-$ у скелетних м'язах розглядається не мітохондріальний ЕТЛ, а НАДФН-оксидаза [23], що відповідає одержаним нами результатам.

Застосування піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату виявило їхню здатність істотно обмежувати продукцію $\cdot\text{O}_2^-$ у м'язах стегна. У гомогенаті м'язів стегна вірогідно зменшувалося вироблення $\cdot\text{O}_2^-$ мітохондріями на 47,9 і 51,3%, а саркоплазматичним ретикулумом – на 48,6 і 52,0% порівняно з відповідними результатами 2-ї групи.

Моделювання хронічної гіпомелатоніемії за умов утримання щурів на ВЛД достовірно збільшувало у гомогенаті м'язів стегна загальну та індукцибельну активність NOS – у 1,9 та 2,2 раза відповідно порівняно зі значеннями 1-ї групи (табл. 2). Водночас у 1,7 раза знижувалася активність cNOS. Відомо, що експресія гена iNOS знаходиться під

гальмівним контролем мелатоніну [24]. Тому розвиток гіпомелатоніемії закономірно супроводжується підвищенням концентрації та активності iNOS.

Індекс спряження cNOS за умов досліджу зменшувався у 6,6 раза порівняно з контролем I, що відображає перехід cNOS у неспряжений стан, у якому фермент втрачає властивість виробляти оксид азоту (NO) та генерує $\cdot\text{O}_2^-$. Таке порушення спряження cNOS зазвичай є наслідком нестачі деяких субстратів (L-аргініну, O_2) і кофактора тетрагідробіоптерину [25] та збільшує ризик утворення такої цитотоксичної АФА, як пероксинітрит [26]. Дійсно, концентрація пероксинітритів лужних та лужноземельних металів у гомогенаті м'язів стегна за умов експерименту зростала у 1,74 раза порівняно зі значенням 1-ї групи.

Введення піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату за умов хронічної гіпомелатоніемії та утримання щурів на ВЛД достовірно зменшувало у гомогенаті

Таблиця 2. Вплив модуляторів редоксчутливих транскрипційних факторів на утворення активних форм азоту в гомогенаті м'язів стегна за умов хронічної гіпомелатоніемії та призначення щурам вуглеводно-ліпідної дієти (M ± m)

Умови досліджу	Активність NO-синтази, мкмоль NO_2^- /г·хв			Індекс спряження конститутивних ізоформ NO-синтази	Вміст пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів, мкмоль/г
	загальна	конститутивних ізоформ	індуцибельної ізоформи		
Інтактні тварини (контроль I)	4,23 ± 0,24	0,52 ± 0,07	3,71 ± 0,25	0,033 ± 0,004	1,05 ± 0,04
Хронічна гіпомелатоніемія та вуглеводно-ліпідна дієта (контроль II)	8,17 ± 0,39*	0,14 ± 0,03*	8,03 ± 0,38*	0,005 ± 0,001*	1,83 ± 0,07*
Введення піролідиндитіокарбамату амонію за умов хронічної гіпомелатоніемії та вуглеводно-ліпідної дієти	5,13 ± 0,41**	0,40 ± 0,02**	4,73 ± 0,41**	0,026 ± 0,001**	1,15 ± 0,05**
Введення диметилфумарату за умов хронічної гіпомелатоніемії та вуглеводно-ліпідної дієти	5,21 ± 0,29*,**	0,39 ± 0,02**	4,82 ± 0,30*,**	0,027 ± 0,001**	1,08 ± 0,02**

м'язів стегна загальну активність NOS на 37,2 і 36,2%, а активність iNOS на 41,1 та 40,0% відповідно порівняно з результатами 2-ї групи. Водночас істотно зростала активність sNOS – у 2,9 і 2,8 раза відповідно.

Застосування зазначених модуляторів редоксчутливих транскрипційних факторів значно збільшувало індекс спряження sNOS: при введенні піролідиндитіокарбамату амонію в 5,2 раза, диметилфумарату в 5,4 раза порівняно з відповідними значеннями 2-ї групи. Вміст пероксинітритів лужних та лужноземельних металів у гомогенаті м'язів стегна при застосуванні піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату експерименту вірогідно зменшувався на 37,2 і 41,0% відповідно порівняно з контролем II.

Пригнічення NF-κB, з одного боку, гальмує експресію низки генів прооксидантних білків (НАДФН-оксидаз, ксантинооксидаз, циклооксигенази 2, 5-ліпоксигенази та ін.). З іншого боку, за цих умов обмежується синтез прозапальних цитокінів, які активують сигнальні шляхи, спрямовані на вироблення АФК і АФА [27]. Цьому також сприяє здатність піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату зменшувати метаболічні розлади, спричинені гіпомелатоніемією і ВЛД, зокрема інсулінорезистентність та дисліпопротеїнемію [13, 14], які, як відомо, також сприяють виробленню АФК і АФА та прозапальних цитокінів [28]. Надмірна активація NF-κB виявляється особливо небезпечною для функціонування скелетних м'язів, наслідком чого є порушення їх скоротливості та атрофія [29], розвиток інсулінорезистентності [30].

Здатність індукції Nrf2 обмежувати оксидативно-нітрозативний стрес, на наш погляд, може бути пов'язаною не тільки зі збільшенням експресії генів, залежних від антиоксидант-респонсивного елементу (супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази тощо) [31], але і з антагоністичною дією на прооксидантні сигнальні шляхи, в першу чергу, NF-κB-асоційовані [11].

Певні перспективи подальших досліджень можуть бути пов'язаними з вивченням впливу на метаболізм і функції скелетних м'язів менш токсичних природних сполук, здатних одночасно пригнічувати NF-κB та індукувати Nrf2. Наприклад, деякі поліфеноли (кверцетин, епігалокатехін-3-галат, куркумін) підтвердили здатність пригнічувати утворення АФК і АФА в тканинах печінки, пародонта та слинних залоз [17, 32–35].

Здатність модуляторів редоксчутливих транскрипційних факторів обмежувати оксидативно-нітрозативний стрес у скелетних м'язах за умов хронічної гіпомелатоніемії та вживання раціону, збагаченого вуглеводами та жирами, обґрунтовує доцільність подальшого їх дослідження як потенційних профілактичних і терапевтичних засобів у ендокринології, спортивній і реабілітаційній медицині.

ВИСНОВКИ

1. Введення інгібітора NF-κB піролідиндитіокарбамату амонію та індуктора Nrf2 диметилфумарату за умов цілодобового освітлення та утримання щурів на вуглеводно-ліпідній дієті (20%-й розчин фруктози та відповідний раціон) гальмує розвиток гіпомелатоніемії, що супроводжується вірогідним зростанням концентрації мелатоніну в сироватці крові.

2. Застосування піролідиндитіокарбамату амонію та диметилфумарату за умов хронічної гіпомелатоніемії та призначення вуглеводно-ліпідної дієти суттєво обмежує в скелетних м'язах щурів показники оксидативно-нітрозативного стресу: вироблення супероксидного аніон-радикала електронно-транспортними ланцюгами мітохондрій і саркоплазматичного ретикулума, активність NO-синтази за рахунок її індукційної ізоформи, вміст пероксинітритів, збільшує активність і спряженість конститутивних NO-синтаз.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated

with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

Yu.D. Frenkel¹, V.S. Chern¹, V.O. Kostenko²

EFFECT OF NF- κ B AND NRF2 TRANSCRIPTION FACTOR MODULATORS ON INDICATORS OF OXIDATIVE–NITROSATIVE STRESS IN SKELETAL MUSCLES OF RATS UNDER CHRONIC HYPOMELATONINEMIA AND CARBOHYDRATE-LIPID DIET

¹ Petro Mohyla Black Sea National University, Mykolayiv, Ukraine;

² Poltava State Medical University, Ukraine; e-mail: v.kostenko@pdmu.edu.ua

This article describes the effect of NF- κ B inhibitor ammonium pyrrolidine dithiocarbamate and Nrf2 inducer dimethylfumarate on indicators of oxidative-nitrosative stress in skeletal muscles of rats with chronic hypomelatoninemia, induced by round-the-clock illumination with an intensity of 1500 lux for 30 days, against the background of a carbohydrate-lipid diet (20% fructose solution and appropriate food) for 60 days. The study demonstrated that the administration of ammonium pyrrolidine dithiocarbamate and dimethylfumarate under the experimental conditions impedes the development of hypomelatoninemia, this was accompanied by a two-fold increase in the blood serum melatonin concentration compared to the control group. Moreover, the administration of ammonium pyrrolidine dithiocarbamate and dimethylfumarate significantly reduces the production of superoxide anion radical by electron transport chains of mitochondria (by 47.9 and 51.3%) and sarcoplasmic reticulum (by 48.6 and 52.0%) in the homogenate of femoral muscles, the total activity of NO synthase (by 37.2 and 36.2%) and its inducible isoform (by 41.1 and 40.0%), the concentration of peroxynitrites of alkaline and alkaline earth metals (by 37.2 and 41.0 %), while the activity of constitutive NO-synthases (by 2.9 and 2.8 times) and their conjugation index (by 5.2 and 5.4 times) increases compared to the respective control values. We suggest that modulators of redox-sensitive transcription factors NF- κ B and Nrf2 under conditions of chronic hypomelatoninemia and the exposure to the carbohydrate-lipid diet are effective means to restrain the development of oxidative-nitrosative stress in skeletal muscles. Key words: hypomelatoninemia; round-the-clock lighting; carbohydrate-lipid diet; melatonin; oxidative–nitrosative stress; transcription factors NF- κ B and Nrf2; skeletal muscles.

REFERENCES

1. Bonmati-Carrion MA, Arguelles-Prieto R, Martinez-Madrid MJ, Reiter R, Hardeland R, Rol MA, Madrid JA. Protecting the melatonin rhythm through circadian healthy light exposure. *Int J Mol Sci.* 2014;15(12):23448-500.
2. Blume C, Garbazza C, Spitschan M. Effects of light on human circadian rhythms, sleep and mood. *Somnologie.* 2019;23(3):147-56.
3. Rios PAZ, Zavala MOQ. Circadian dyssynchrony and its effect on metabolic syndrome parameters in workers. *Enfermería Global.* 2021;20(2): 603-13.
4. Stacchiotti A, Favero G, Rodella LF. Impact of melatonin on skeletal muscle and exercise. *Cells.* 2020;9(2):288.
5. Lee JY, Kim JH, Lee DC. Urine melatonin levels are inversely associated with sarcopenia in postmenopausal women. *Menopause.* 2014;21(1):39-44.
6. Rodriguez MI, Escames G, López LC, García JA, Ortiz F, López A, Acuña-Castroviejo D. Melatonin administration prevents cardiac and diaphragmatic mitochondrial oxidative damage in senescence-accelerated mice. *J Endocrinol.* 2007;194(3):637-43.
7. Reiter RJ, Tan DX, Galano A. Melatonin: exceeding expectations. *Physiology (Bethesda).* 2014;29(5):325-33.
8. Belikova OI, Chern¹ VS, Frenkel YuD. Influence of chronic hypomelatoninemia on carbohydrate and lipid metabolism of rats kept on “Western pattern diet”. *Fiziol Zh.* 2018;64(3):52-60. [Ukrainian].
9. Belikova EI, Frenkel YuD, Chern¹ VS. Influence of exogenous melatonin on free radical processes in rats exposed to light around the clock under modeling of insulin resistance syndrome. *Modern problems of hygiene, radiation and environmental medicine (Grodno, Belarus).* 2017;(7):35-51.
10. Markus RP, Cecon E, Pires-Lapa MA. Immune-pineal axis: nuclear factor κ B (NF- κ B) mediates the shift in the melatonin source from pinealocytes to immune competent cells. *Int J Mol Sci.* 2013;14(6):10979-97.
11. Siomek A. NF- κ B signaling pathway and free radical impact. *Acta Biochim Pol.* 2012;59(3):323-31.
12. Gao W, Guo L, Yang Y, Wang Y, Xia S, Gong H, Zhang BK, Yan M. Dissecting the crosstalk between Nrf2 and NF- κ B response pathways in drug-induced toxicity. *Front Cell Dev Biol.* 2022;9:809952.
13. Belikova OI, Frenkel' YuD, Chern¹ VS. Influence of nuclear factor κ B inhibitor on biochemical markers of insulin resistance syndrome under hypopinealism and high-calorie carbohydrate-lipid diet. *Svit Med Biol.* 2017;(3):80-2. [Ukrainian].
14. Frenkel YD, Chern¹ VS, Kostenko VO. Nrf2 induction alleviates metabolic disorder and systemic inflammatory response in rats under a round-the-clock lighting and high-carbohydrate-lipid diet. *Rom J Diabetes Nutr Metab Dis.* 2022;29(2):194-201.
15. Akimov OY, Kostenko VO. Role of NF- κ B transcriptional factor activation during chronic fluoride intoxication in

- development of oxidative-nitrosative stress in rat's gastric mucosa. *J Trace Elem Med Biol.* 2020;61:126535.
16. Zhao X, Sun G, Zhang J, Ting SM, Gonzales N, Aronowski J. Dimethyl fumarate protects brain from damage produced by intracerebral hemorrhage by mechanism involving Nrf2. *Stroke.* 2015;46(7):1923-8.
 17. Frenkel' YD, Zyuzin VO, Chernov VS, Kostenko VO. Effect of epigallocatechin-3-gallate and quercetin on the production of reactive oxygen and nitrogen species in liver of rats exposed to round-the-clock light and kept on carbohydrate-lipid diet. *Fiziol Zh.* 2022;68(1): 20-7. [Ukrainian].
 18. Kostenko VO, Tsebrzhins'kii OI. Production of superoxide anion radical and nitric oxide in renal tissues sutured with different surgical suture material. *Fiziol Zh.* 2000; 46(5):56-62. [Ukrainian].
 19. Akimov O Ye, 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.
 20. Yelins'ka AM, Akimov OYe, Kostenko VO. Role of AP-1 transcriptional factor in development of oxidative and nitrosative stress in periodontal tissues during systemic inflammatory response. *Ukr Biochem J.* 2019;91(1):80-5.
 21. Li J, Wei L, Zhao C, Li J, Liu Z, Zhang M, Wang Y. Resveratrol maintains lipid metabolism homeostasis via one of the mechanisms associated with the key circadian regulator Bmal1. *Molecules.* 2019;24(16):2916.
 22. Cecon E, Fernandes PA, Pinato L, Ferreira ZS, Markus RP. Daily variation of constitutively activated nuclear factor kappa B (NFκB) in rat pineal gland. *Chronobiol Int.* 2010;27(1):52-67.
 23. Sakellariou GK, Jackson MJ, Vasilaki A. Redefining the major contributors to superoxide production in contracting skeletal muscle. The role of NAD(P)H oxidases. *Free Radic Res.* 2014;48(1):12-29.
 24. Oktem G, Uslu S, Vatansver 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 May;28(2):157-62.
 25. Luo S, Lei H, Qin H, Xia Y. Molecular mechanisms of endothelial NO synthase uncoupling. *Curr Pharm Des.* 2014;20(22):3548-53.
 26. Farah C, Kleindienst A, Bolea G, Meyer G, Gayrard S, Geny B, Obert P, Cazorla O, Tanguy S, Reboul C. Exercise-induced cardioprotection: a role for eNOS uncoupling and NO metabolites. *Basic Res Cardiol.* 2013;108(6):389.
 27. Morgan MJ, Liu ZG. Crosstalk of reactive oxygen species and NF-κB signaling. *Cell Res.* 2011 Jan;21(1):103-15.
 28. Kaidashev IP. NF-κB activation as a molecular basis of pathological process by metabolic syndrome. *Fiziol Zh.* 2012;58(1):93-101. [Ukrainian].
 29. Gallego-Selles A, Galvan-Alvarez V, Martinez-Canton M, Garcia-Gonzalez E, Morales-Alamo D, Santana A, Gonzalez-Henriquez JJ, Dorado C, Calbet JAL, Martin-Rincon M. Fast regulation of the NF-κB signalling pathway in human skeletal muscle revealed by high-intensity exercise and ischemia at exhaustion: Role of oxygenation and metabolite accumulation. *Redox Biol.* 2022;55:102398.
 30. Nisr RB, Shah DS, Ganley IG, Hundal HS. Proinflammatory NFκB signalling promotes mitochondrial dysfunction in skeletal muscle in response to cellular fuel overloading. *Cell Mol Life Sci.* 2019;76(24):4887-904.
 31. Tu W, Wang H, Li S, Liu Q, Sha H. The anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway in chronic diseases. *Aging Dis.* 2019;10(3):637-51.
 32. 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):869-73.
 33. Yelins'ka AM, Liashenko LI, Kostenko VO. 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 Aug 31;72(8):1499-503.
 34. 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):2127-32.
 35. Kozaeva R, Klymenko MO, Katrushov OV, Kostenko VO. Bioflavonoids as agents for correcting nitro-oxidative stress and salivary gland functions in rats exposed to alcohol during modeled lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response. *Wiad Lek.* 2022;75(3):685-90.

Матеріал надійшов до редакції 18.01.23