

Вплив глутамату натрію на розвиток оксидативно-нітрозативного стресу у великих півкулях головного мозку щурів при поєднанні зміни циклу «світло – темрява» та системної запальної відповіді

О. А. Волкова¹*, А. В. С. Д. Е., О. Є. Акімов¹ В. С. Е., В. О. Костенко¹ А. Е. Ф.

Полтавський державний медичний університет, Україна

А – концепція та дизайн дослідження; В – збір даних; С – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; Е – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Ключові слова:

гострий десинхронізм, синдром системної запальної відповіді, глутамат натрію, оксидативно-нітрозативний стрес, великі півкулі головного мозку, щури.

Keywords:

acute desynchronization, systemic inflammatory response syndrome, monosodium glutamate, oxidative-nitrosative stress, large cerebral hemispheres, rats.

Надійшла до редакції / Received: 20.03.2024

Після доопрацювання / Revised: 24.04.2024

Схвалено до друку / Accepted: 13.05.2024

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

*E-mail: oksanaanatom@ukr.net

Нині зростає актуальність питання щодо наслідків порушення зміни нормального циклу «світло – темрява» та підтверджено зв'язок розвитку системної запальної відповіді (СЗВ) з порушеннями циркадіанного ритму. Активно вивчають дію глутамату натрію на організм людини.

Мета роботи – визначити вплив глутамату натрію на розвиток оксидативно-нітрозативного стресу в гомогенаті великих півкуль головного мозку щурів при поєднанні гострого десинхронізму (ГД), СЗВ і введення глутамату натрію.

Матеріали і методи. Дослідження здійснили на 72 білих щурах лінії Wistar (різних статей, маса тіла – 150–200 г), яких поділили на 5 груп: контрольна (n = 15), ГД (n = 13), СЗВ (n = 15), поєднання СЗВ і ГД (n = 14), поєднання СЗВ, ГД і глутамату (n = 15). Для моделювання ГД формували нормальний цикл «світло – темрява» (12 год – світло, 12 год – темрява) впродовж 3 тижнів, наступні 3 доби зміщували фази «світло – темрява» на 6 год назад. СЗВ відтворювали внутрішньоочеревинним введенням ліпополісахариду *Salmonella typhi* в перший тиждень 0,4 мкг/кг тричі на тиждень, наступні сім тижнів – 1 раз на тиждень. Натрію глутамат вводили протягом 20 днів внутрішньошлунково у дозі 30 мг/кг, розчинений у 0,5 мл дистильованої води. У 10 % гомогенаті великих півкуль головного мозку визначали швидкість продукції супероксидного аніон-радикала (САР), вміст продуктів, які реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реактив), їх приріст, активність каталази, супероксиддисмутази (СОД), орнітиндекарбоксилази (ОДК), концентрацію нітритів, пероксинітритів, загальну активність NO-синтази (НОС), її конститутивної (кНОС) та індукційної (іНОС) ізоформ.

Результати. У групі поєднання СЗВ, ГД і глутамату порівняно з контролем визначили збільшення швидкості базової продукції САР на 175,8 % (мікросомальним шляхом – на 20,0 %, мітохондріальним – на 51,2 %); концентрації ТБК-реактивів на 83,4 %, їх приросту – на 61,7 %; зниження активності СОД на 57,1 %, каталази – на 38,1 %; збільшення вмісту пероксинітритів на 116,7 %, активності ОДК – на 161,5 %, загальної активності НОС – на 25,6 % та іНОС – на 27,4 %; зменшення активності кНОС на 15,0 % і концентрації нітритів на 35,0 % у тканинах.

Висновки. Введення глутамату натрію при поєднанні ГД і СЗВ призводить до посилення оксидативно-нітрозативного стресу, пригнічення антиоксидантного захисту, спричиняє активацію загальної активності НОС та іНОС, пригнічує активність кНОС.

Сучасні медичні технології. 2024. Т. 16, № 2(61), С. 115-121

The influence of monosodium glutamate on the development of oxidative-nitrosative stress in the large cerebral hemispheres of rats under the combination of a change in the “light-dark” cycle and a systemic inflammatory response

O. A. Volkova, O. Ye. Akimov, V. O. Kostenko

Today, the issue of the consequences of disrupting the normal “light-dark” cycle is becoming increasingly important, and the link between the development of a systemic inflammatory response (SIR) and circadian rhythm disorders has been confirmed. The effect of monosodium glutamate on the human body is being actively studied.

The aim of the work was to find out the influence of monosodium glutamate on the development of oxidative-nitrosative stress in the homogenate of the large cerebral hemispheres of rats with a combination of acute desynchronization (AD), SIR and administration of monosodium glutamate.

Material and methods. The research was carried out on 72 white Wistar rats weighing 150–200 of different sexes, divided into 5 groups: control (n = 15), AD (n = 13), SIR (n = 15), a combination of SIR and AD (n = 14), a combination of SIR, AD, and glutamate (n = 15). To simulate AD, a normal “light-dark” cycle (12 hours of light, 12 hours of darkness) was formed for 3 weeks, and the next 3 days the “light-dark” phases were shifted back by 6 hours. SIR was reproduced by intraperitoneal injection of *Salmonella typhi* lipopolysaccharide in the first

week at a dose of 0.4 µg/kg 3 times per week, the following seven weeks – once a week. Sodium glutamate was administered intragastrically for 20 days at a dose 30 mg/kg, dissolved in 0.5 ml of distilled water. In a 10 % homogenate of the large cerebral hemispheres, we determined the rate of superoxide anion radical (SAR) production, the content of products that react with thiobarbituric acid (TBA-reactants), their increase, activity of catalase, superoxide dismutase (SOD), ornithine decarboxylase (ODC), concentration of nitrites, peroxynitrites, total activity of NO-synthase (NOS), its constitutive (cNOS) and inducible (iNOS) isoforms.

Results. In the group of SIR, AD and glutamate combination, compared to the control, the following was noted: an increase in the rate of basic production of SAR by 175.8 %, by the microsomal pathway by 20.0 %, by the mitochondrial pathway by 51.2 %, the concentration of TBA-reactants by 83.4 %, their increase – by 61.7 %, decrease in the activity of SOD by 57.1 %, catalase – by 38.1 %; an increase in peroxynitrite content by 116.7 %, ODC activity by 161.5 %, total NOS activity by 25.6 % and iNOS by 27.4 %, a decrease in cNOS activity by 15.0 % and nitrite concentration by 35.0 % in brain tissues.

Conclusions. Sodium glutamate administration in combination with AD and SIR leads to increased oxidative-nitrosative stress, inhibition of antioxidant protection; contributes to the activation of the general activity of NO-synthase and iNOS, suppresses the activity of cNOS.

Modern medical technology. 2024;16(2):115-121

Набуває актуальності проблема негативних наслідків порушення циркадіанних ритмів у результаті зміни світлового режиму. Використання комп'ютерів, засобів мобільного зв'язку, закордонні відрядження, позмінна робота спричиняють збільшення кількості осіб, які можуть працювати в нічний час. Це змінює стан системи часового контролю організму, що впливає на інтенсивність вроджених циклічних коливань різних біологічних процесів, організацію та пристосування організму до циклічних змін довкілля.

У результаті досліджень доведено, що порушення світлового режиму призводить до неузгодженості в роботі та перебудови біологічних ритмів, негативно впливаючи на органи й системи організму. Так, гострий десинхроноз зумовлює зміну ритмічної організації синтезу білка, метаболізму глюкози, холестерину, білірубину, сечовини та спричиняє зміни інтенсивності вуглеводно-ліпідного обміну [1,2]. Порушення світлового режиму негативно впливає на роботу печінки, нирок, біоритми синтезу та виділення глюкокортикостероїдів, катехоламінів, мелатоніну [3,4,5]. Циркадіанний годинник регулює функцію ендотелію, утворення тромбів, рівень артеріального тиску, частоту серцевих скорочень. Відомо, що розвиток епілепсії, біполярних розладів, хвороби Паркінсона, а також модулювання когнітивних функцій і процесів пізнання протягом дня пов'язані зі зміною циркадіанних ритмів [3,6]. Також підтверджено зв'язок розвитку системної запальної відповіді (СЗВ) з порушенням циркадіанного ритму: зміна тривалості сну порушує імунну відповідь на ліпополісахарид (ЛПС) [2,7,8].

Встановлено, що на ранніх стадіях СЗВ у патогенезі хронічних обструктивних захворювань легень, патологій пародонта, під час розвитку та прогресування когнітивних порушень, хвороб нервової системи важливу роль відіграє оксидативний стрес [9,10,11]. Ознаки нітрозативно-оксидативного стресу виявляють при аутизмі, нейродегенеративних захворюваннях, ішемічних станах головного мозку, що може призводити до осередкового порушення гематоенцефалічного бар'єра і спричинити прогресування захворювань головного мозку [12,13,14,15,16].

Результати вивчення впливу харчової добавки глутамату натрію на організм людини доводять, що його вживання призводить до порушень мікроциркуляції та застійних явищ

у легенях, розвитку гастритів, виразкової хвороби шлунка і дванадцятипалої кишки, ерозивно-виразкових уражень товстої кишки [17,18]. Встановлено, що глутаматні рецептори опосередковують збудження нейронних синапсів, завдяки чому здійснюють антидепресивну функцію, посилюють нейротрофічну дію на нейрони [19]. При надходженні глутамату в організм фізіологічним шляхом гематоенцефалічний бар'єр обмежує його транспорт із крові в мозок [20].

Нез'ясованими залишаються закономірності порушень метаболічних процесів у головному мозку ссавців за умов поєднання зміни тривалості циклів «світло – темрява», системної запальної відповіді та введення глутамату натрію.

Мета роботи

Визначити вплив глутамату натрію на розвиток оксидативно-нітрозативного стресу в гомогенаті великих півкуль головного мозку щурів при поєднанні десинхронозу, СЗВ і введення глутамату натрію.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили на 72 білих щурах лінії Wistar (різних статей, маса тіла – 150–200 г), яких поділили на 5 груп: контрольна (n = 15), гострого десинхронозу (ГД; n = 13), СЗВ (n = 15), СЗВ і ГД (n = 14), СЗВ, ГД і введення глутамату натрію (n = 15).

Усіх тварин до відтворення ГД, як і контрольних, постійно утримували за умов експериментального циклу «світло – темрява» (12 год – світло, 12 год – темрява). Світлова фаза цього циклу відповідала періоду з 08:00 до 20:00, другий період доби відповідав темновій фазі. Для стандартизації світлової фази використали світлодіодні лампи, що забезпечують загальний світловий потік 820 лм та освітленість 205 лк.

Першим днем експерименту вважали день, що передував першому введенню ЛПС. СЗВ відтворювали шляхом внутрішньоочеревинного введення ЛПС *Salmonella typhi* («Sigma-Aldrich, Inc.», США) в перший тиждень 0,4 мг на 1 кг маси щура тричі на тиждень, протягом наступних семи тижнів експерименту – 1 раз на тиждень. ГД моделювали шляхом

зміщення фаз «світло – темрява» на 6 год назад протягом останніх трьох діб. Глутамат натрію вводили щодня протягом 20 днів, починаючи з 37 дня експерименту, внутрішньошлунково у дозі 30 мг/кг, у формі розчину в 0,5 мл дистильованої води кімнатної температури [17]. Загальна тривалість дослідження становила 56 днів, на 57 день щурів виводили з експерименту.

Тварини перебували у стандартних умовах на збалансованому раціоні віварію Полтавського державного медичного університету. Під час дослідження керувалися принципами біомедичної етики. Дослідження затверджені Комісією з питань біомедичної етики Полтавського державного медичного університету № 197 від 23.09.2021 року. Тварин декапітували під тіопенталовою анестезією.

Для біохімічних досліджень використали 10 % гомогенат великих півкуль головного мозку щурів. Тканини гомогенізували у 10 мМ трис-НСІ буфері, рН 7,4 (1 г тканин мозку на 9 мл середовища) протягом 30–40 с, відфільтрували та центрифугували протягом 10 хв.

Утворення супероксидного аніон-радикала (САР) оцінювали під час тесту з нітросинім тетразолієм, використовуючи спектрофотометр Ulab з індукторами: нікотинамідаденіндинуклеотидом відновленим (НАДН) для оцінювання продукції САР мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом і нікотинамідаденіндинуклеотидфосфатом відновленим (НАДФН) для оцінювання мікросомальним електронно-транспортним ланцюгом [21].

Концентрацію продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активних продуктів, ТБК-реактивів), досліджували тіобарбітуровим методом. Він ґрунтується на здатності тіобарбітурової кислоти утворювати стійкий забарвлений комплекс із проміжними продуктами перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Активність антиоксидантної системи оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних продуктів за час 1,5-годинної інкубації в залізоаскорбатному буферному розчині [21]. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали методом порівняння швидкостей автоокиснення адреналіну без гомогенату та за його наявності, активність каталази – методом визначення забарвлених продуктів, утворених при реакції перексиду водню з молібдатом амонію [21].

Концентрацію нітритів оцінювали шляхом визначення діазосполук, що утворилися під час реакції з сульфаніловою кислотою, а потім проводили реакцію з *α*-нафтиламіном (реактив Грісса–Ілосвая) [21]. В основі методики визначення концентрації пероксинітритів лужних і лужно-земельних у гомогенаті – їхня здатність відновлювати атомарний йод із йодиду калію [21].

Сумарну активність NO-синтази (НОС) визначали за різницею концентрації нітрит-іонів до та після інкубації гомогенату тканин у середовищі, що містить L-аргінін і НАДФН. Для оцінювання активності конститутивних ізоформ ферменту (кНОС) додавали 1 % розчин аміногуанідину гідрохлориду. Активність індукцибельної ізоформи (іНОС) визначали за різницею активностей загальної та кНОС [21]. Активність орнітиндекарбоксілази (ОДК) оцінювали методом Chinard у модифікації Храмова, який ґрунтується на зміні забарвлення розчину, що пропорційний концентрації орнітину в дослідженому субстраті під час нінгідринової реакції при рН = 1,0 [21].

Статистично результати опрацювали, застосувавши ANOVA за Kruskal–Wallis з наступним попарним порівнянням за методом Mann–Whitney U-test. Для уникнення феномену можливих порівнянь застосовували поправку за Bonferroni. Різницю вважали достовірною при $p < 0,05$.

Результати

Результати свідчать про зростання швидкості продукції САР у тканинах головного мозку в усіх групах тварин порівняно з контрольною групою. Так, ГД підвищив швидкість базової продукції САР на 75,8 %, при цьому НАДФН-індукована продукція зросла на 20,2 %, НАДН-індукована – на 28,0 % порівняно з контрольною групою (табл. 1). При СЗВ швидкість базової продукції САР збільшилася на 129,3 %, НАДФН-індукованої – на 43,3 %, НАДН-індукованої – на 40,4 % порівняно з контрольною групою. За умов поєднання СЗВ і ГД швидкість базової продукції зросла на 148,3 %, НАДФН-індукованої – на 26,8 %, НАДН-індукованої – на 31,0 % порівняно з контролем. При поєднанні СЗВ, ГД і введення глутамату визначили збільшення швидкості базової продукції САР порівняно з контрольною групою на 175,8 %, мікросомальним шляхом – на 20,0 %, мітохондріальним – на 51,2 % (табл. 1).

Результати, що отримали, показують: СЗВ більшою мірою, ніж порушення нормальної тривалості циклів «світло – темрява», спричиняла утворення САР. Так, швидкість базової продукції збільшилася на 30,4 %, НАДФН-індукованої – на 19,3 %, НАДН-індукованої – на 9,8 %. Поєднання СЗВ і ГД на 8,3 % більше активувало швидкість базової продукції САР порівняно з СЗВ та на 41,2 % порівняно з ГД. При цьому в мікросомах продукція САР зменшилася на 11,5 % порівняно з СЗВ та на 5,5 % збільшилася порівняно з ГД; у мітохондріях зменшилася на 6,8 % порівняно з СЗВ та зросла на 2,4 % порівняно з ГД. Додаткове введення глутамату натрію значно прискорило процеси утворення САР: швидкість базової продукції на 11,1 % більша, ніж при поєднанні СЗВ і ГД. Визначили її збільшення на 20,3 % і 56,9 % порівняно з СЗВ і ГД відповідно. Втім, глутамат натрію ще більше гальмував цей процес у мікросомах (на 5,4 % нижче, ніж за умов поєднання СЗВ і ГД, на 16,3 % менше, ніж при СЗВ, без значущої різниці з ГД), але суттєво посилював його в мітохондріях клітин (зростання на 15,4 %, 7,0% та 18,2 % відповідно за умов поєднання СЗВ і ГД, при СЗВ та при ГД).

ГД знижував активність СОД на 53,3 %, каталази – на 14,3 % порівняно з контролем. При СЗВ зростала активність СОД на 21,8 %, зменшувалася активність каталази на 3,0 % щодо контрольної групи. За умов поєднання СЗВ і ГД активність СОД і каталази зменшувалася на 41,6 % і 11,0 % відповідно порівняно з контролем. При поєднанні СЗВ, ГД і введення глутамату натрію визначили найбільше зниження активності антиоксидантних ферментів щодо контрольної групи: СОД – на 57,1 %, каталази – на 38,1 % (табл. 1).

Натомість при СЗВ спостерігали активацію СОД на 160 %, каталази – на 13,2 % порівняно з ГД. Відтворення ГД за умов СЗВ погіршувало роботу ферментної системи: активність СОД на 25 %, а каталази на 4 % більша, ніж за умов ГД; на 52,0 % та 8,2 % відповідно нижча, ніж при СЗВ.

Таблиця 1. Прооксидантний та антиоксидантний баланс у тканинах головного мозку щурів за умов ГД, СЗВ, при їх поєднанні та введенні глутамату натрію (M ± SE)

Показники, одиниці вимірювання	Групи				
	Контроль, n = 15	ГД, n = 13	СЗВ, n = 15	ГД + СЗВ, n = 14	ГД + СЗВ + Глутамат, n = 15
Швидкість базової продукції супероксиду, нмоль/с на г	0,58 ± 0,01	1,02 ± 0,01 ¹	1,33 ± 0,01 ^{1,2}	1,44 ± 0,01 ^{1,2,3}	1,60 ± 0,01 ^{1,2,3,4}
Швидкість НАДФН-індукованої продукції супероксиду, нмоль/с на г	12,04 ± 0,04	14,47 ± 0,04 ¹	17,26 ± 0,05 ^{1,2}	15,27 ± 0,07 ^{1,2,3}	14,45 ± 0,28 ^{1,3,4}
Швидкість НАДН-індукованої продукції супероксиду, нмоль/с на г	7,27 ± 0,04	9,30 ± 0,05 ¹	10,21 ± 0,05 ^{1,2}	9,52 ± 0,04 ^{1,2,3}	10,99 ± 0,37 ^{1,2,3,4}
Концентрація ТБК, мкмоль/л	25,75 ± 0,16	35,23 ± 0,18 ¹	38,86 ± 0,13 ^{1,2}	42,52 ± 0,17 ^{1,2,3}	47,23 ± 0,17 ^{1,2,3,4}
Приріст ТБК, мкмоль/л	23,96 ± 0,29	31,19 ± 0,21 ¹	33,94 ± 0,20 ^{1,2}	41,02 ± 0,20 ^{1,2,3}	38,75 ± 0,33 ^{1,2,3,4}
Активність СОД, у. о.	14,78 ± 0,46	6,90 ± 0,43 ¹	18,00 ± 0,41 ^{1,2}	8,63 ± 0,68 ^{1,2,3}	6,33 ± 0,27 ^{1,3,4}
Активність каталази, мккат/г	0,477 ± 0,003	0,409 ± 0,001 ¹	0,463 ± 0,001 ^{1,2}	0,425 ± 0,001 ^{1,2,3}	0,295 ± 0,005 ^{1,2,3,4}

¹: p < 0,05 порівняно з контролем; ²: p < 0,05 порівняно з ГД; ³: p < 0,05 порівняно з СЗВ; ⁴: p < 0,05 порівняно з поєднанням ГД і СЗВ.

Таблиця 2. Показники активності NO-синтази, вмісту активних форм азоту та ОДК у тканинах головного мозку щурів за умов ГД, СЗВ, при їх поєднанні та введенні глутамату натрію (M ± SE)

Показники, одиниці вимірювання	Групи				
	Контроль, n = 15	ГД, n = 13	СЗВ, n = 15	ГД + СЗВ, n = 14	ГД + СЗВ + Глутамат, n = 15
Загальна активність NO-синтази, мкмоль/хв на г білка	1,64 ± 0,06	0,67 ± 0,02 ¹	0,87 ± 0,02 ^{1,2}	0,56 ± 0,02 ^{1,2,3}	2,06 ± 0,04 ^{1,2,3,4}
Активність індукційної NO-синтази, мкмоль/хв на г білка	1,57 ± 0,06	0,61 ± 0,02 ¹	0,80 ± 0,02 ^{1,2}	0,50 ± 0,02 ^{1,2,3}	2,00 ± 0,04 ^{1,2,3,4}
Активність конститутивної NO-синтази, мкмоль/хв на г білка	0,0681 ± 0,0006	0,0620 ± 0,0004 ¹	0,0656 ± 0,0002 ^{1,2}	0,0654 ± 0,0003 ^{1,2}	0,0579 ± 0,0003 ^{1,2,3,4}
Концентрація нітритів, нмоль/г	4,86 ± 0,11	6,02 ± 0,14 ¹	5,29 ± 0,12 ^{1,2}	3,63 ± 0,08 ^{1,2,3}	3,16 ± 0,19 ^{1,2,3}
Концентрація пероксинітритів, мкмоль/г	1,50 ± 0,01	2,54 ± 0,01 ¹	2,79 ± 0,02 ^{1,2}	2,59 ± 0,01 ^{1,2,3}	3,25 ± 0,02 ^{1,2,3,4}
Активність ОДК, нмоль/хв на г	36,43 ± 0,98	46,08 ± 1,01 ¹	53,63 ± 0,97 ^{1,2}	84,52 ± 1,43 ^{1,2,3}	95,26 ± 3,30 ^{1,2,3,4}

¹: p < 0,05 при порівнянні з контролем; ²: p < 0,05 при порівнянні з ГД; ³: p < 0,05 при порівнянні з СЗВ; ⁴: p < 0,05 при порівнянні з поєднанням ГД та СЗВ.

Введення глутамату натрію за умов поєднання СЗВ і ГД ще більше пригнічувало активність антиоксидантної системи в тканинах головного мозку щурів: активність СОД і каталази знижені на 8,3 % і 27,6 % відповідно порівняно з ГД, на 64,8 % та 36,3 % – порівняно з СЗВ, на 26,7 % і 30,6 % – порівняно з поєднанням СЗВ і ГД.

При ГД вміст ТБК-реактивних у тканинах великих півкуль головного мозку зріс на 36,8 %, їх приріст – на 30,2 %; за умов СЗВ – на 51,0 % та 41,6 % відповідно порівняно з контролем. За умов поєднання СЗВ і ГД концентрація ТБК-активних продуктів збільшилася на 65,1 %, їх приріст – на 71,2 % щодо контрольної групи. При поєднанні СЗВ, ГД і введення глутамату визначили збільшення вмісту ТБК-реактивних у тканинах головного мозку на 83,4 %, їх приріст – на 61,7 % порівняно з контролем (табл. 1).

СЗВ, порівняно з ГД, на 8,8 % посилювала приріст ТБК-реактивних. Поєднання СЗВ та порушення світлового циклу

збільшило їх приріст на 31,5 % та 20,9 % щодо ГД та СЗВ відповідно. Додавання глутамату натрію порівняно з ГД та з СЗВ посилювало приріст ТБК-активних сполук на 24,2 % та 14,2 % відповідно, але знижувало його на 5,5 % порівняно з їх поєднанням. За умов СЗВ вміст ТБК-реактивних збільшився на 10,3 % порівняно з ГД, за умов поєднання ГД і СЗВ – на 20,7 % порівняно з порушенням світлового циклу і на 9,4 % – порівняно з СЗВ. Глутамат натрію за умов поєднання ГД і СЗВ сприяв збільшенню ТБК-активних продуктів на 34 %, ніж при ГД, на 21,5 % порівняно з СЗВ, на 11,1 % порівняно з їх поєднанням (табл. 1).

Результати дослідження активності НОС у великих півкулях головного мозку щурів показали: при модельованому ГД загальна активність НОС знизилася порівняно з контрольною групою на 59,1 %, активність іНОС – на 61,1 %, активність кНОС – на 9,0 %. СЗВ зменшила загальну активність НОС на 47,0 %, іНОС – на 49,0 %, кНОС – на 3,7 % порівняно з

контролем. За умов поєднання СЗВ і ГД загальна активність НОС знизилася на 65,8 %, іНОС – на 68,2 % і кНОС – на 4,0 % щодо контрольної групи. При поєднанні СЗВ, ГД і введення глутамату натрію визначили посилення загальної активності НОС на 25,6 %, іНОС – на 27,4 %, але зниження активності кНОС на 15,0 % порівняно з контролем (табл. 2).

Відповідно до даних, що одержали, порушення нормальної тривалості циклу «світло – темрява» більшою мірою, ніж СЗВ, знижувало активність НОС: загальну – на 29,9 %, іНОС – 31,1 %, кНОС – на 5,8 %. Поєднання СЗВ і ГД ще істотніше зменшувало загальну активність НОС – на 16,4 % порівняно з ГД, на 35,6 % порівняно з СЗВ; іНОС – на 18,0 % і 37,5 % відповідно. При цьому на 5,5 % зростала активність кНОС порівняно з ГД і без суттєвої різниці порівняно з СЗВ. При додатковому введенні глутамату натрію спостерігали значне зростання загальної активності НОС та іНОС: на 207,5 % і 227,9 % відповідно порівняно з ГД; на 137,8 % і 150 % щодо СЗВ; на 267 % і 300 % порівняно з їх поєднанням. Але глутамат натрію ще істотніше знижував активність кНОС: на 6,6 % щодо ГД, на 11,7 % порівняно з СЗВ, на 11,5 % щодо поєднання СЗВ і ГД (табл. 2).

Під час дослідження у великих півкулях головного мозку щурів визначили збільшення концентрації нітритів на 23,8 % при ГД та на 8,8 % при СЗВ порівняно з контрольною групою. За умов поєднання СЗВ і ГД концентрація нітритів знизилася на 25,3 %, при поєднанні СЗВ, ГД і введення глутамату натрію вміст нітритів зменшився на 35,0 % порівняно з контролем. Встановили, що при порушенні нормальної тривалості циклу «світло – темрява» концентрація нітритів у тканинах головного мозку на 12,1 % більша, ніж при СЗВ. Поєднання СЗВ і порушення нормального світлового режиму зменшувало їхній вміст на 39,7 % порівняно з ГД і на 31,4 % щодо СЗВ. При додатковому введенні глутамату натрію виявили істотніше зменшення концентрації нітритів у тканинах: на 47,5 % порівняно з ГД, на 40,3 % щодо СЗВ, на 13,0 % порівняно з їх поєднанням (табл. 2).

Концентрація пероксинітритів у гомогенаті головного мозку тварин збільшилася в усіх дослідних групах щурів порівняно з контролем: при ГД – на 69,3 %; за умов СЗВ – на 86,0 %; за умов поєднання СЗВ і ГД – на 72,7 %; при поєднанні СЗВ, ГД і введення глутамату натрію – на 116,7 %. Порівнявши дані дослідних груп, встановили: за умов СЗВ вміст пероксинітритів у тканинах на 9,8 % більший, ніж при порушенні нормальної тривалості циклу «світло – темрява». Поєднання СЗВ і розладів світлового режиму спричиняло зменшення їхнього вмісту на 2 % порівняно з ГД, на 7,2 % – щодо СЗВ. Додаткове введення глутамату натрію призвело до збільшення концентрації пероксинітритів у тканинах головного мозку тварин на 28 % порівняно з ГД, на 16,5 % порівняно з СЗВ, на 25,0 % порівняно з їх поєднанням (табл. 2).

Активність ОДК теж зростала в усіх експериментальних групах: при ГД – на 26,5 %; СЗВ – на 47,2 %; при поєднанні СЗВ і ГД – 132,0 %; СЗВ, ГД і введення глутамату натрію – на 161,5 % порівняно з контролем. За умов СЗВ активність ОДК збільшилася на 16,4 % порівняно з показником при порушенні світлового режиму. Поєднання СЗВ і зміни тривалості циклу «світло – темрява» спричинило посилення її активності на 83,6 % порівняно з ГД, на 57,6 % щодо СЗВ. При додатко-

вому введенні глутамату натрію активність ОДК ще більше зростала: на 106,7 % щодо ГД, на 77,6 % порівняно з СЗВ та на 12,7 % щодо показника при їх поєднанні (табл. 2).

Обговорення

Результати експериментів щодо зростання швидкості продукції САР і посилення процесів ПОЛ при СЗВ, десинхронозі схожі з висновками досліджень інших науковців. Так, при запальних пошкодженнях слизових оболонок ротової порожнини визначили збільшення продукції САР, зниження активності антиоксидантних ферментів [10]. Відомо, що підвищений рівень АФК при системному запаленні може стимулювати захисні механізми організму внаслідок активації сигнального шляху NF-κB (англ. Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) та ядерного фактора Nrf2 (англ. Nuclear factor erythroid 2-related factor 2), які індуюють транскрипцію генів антиоксидантів [22,23]. Це спостерігали під час нашого дослідження. Ознаки порушення оксидативного стресу виявляють при аутизмі, нейродегенеративних захворюваннях, когнітивних порушеннях [3,11]. Підтверджено участь транскрипційних факторів, зокрема NF-κB, у регуляції активності хронічного запального процесу [8,16]. Про розвиток ПОЛ у тканинах головного мозку щурів, за нашими даними, свідчить підвищення концентрації ТБК-активних продуктів. Збільшення приросту ТБК-реактантів вказує на антиоксидантну недостатність і нездатність тканин гальмувати ПОЛ [3]. Додавання глутамату натрію за умов СЗВ і порушення нормальної тривалості циклу «світло – темрява» спричиняє інтенсивний розвиток оксидативного стресу та погіршення антиоксидантного захисту.

Згідно з даними, що отримали, порушення нормального циклу «світло – темрява» істотніше, ніж СЗВ, зменшує роботу НОС та її ізоформ у тканинах головного мозку щурів. При поєднанні СЗВ і ГД спостерігають синергічну дію обох патогенних факторів і ще суттєвіше зниження загальної активності НОС та іНОС.

Відомо, що оксид азоту, продукція якого каталізується НОС, має і регуляторну, і пошкоджувальну дію на організм. При запаленні активується іНОС, тому зниження її активності свідчить про відсутність активного запального процесу в тканинах. Конститутивна НОС експресується в ендотеліальних клітинах кровоносних судин, у нейронах головного мозку та має важливе значення у вазодилатації, регуляції артеріального тиску, синаптичній передачі імпульсів. Зниження активності кНОС може загрожувати розвитком ішемії та гіпоксії в тканинах головного мозку щурів [14,15,24,25].

Під час нашого дослідження встановили виражене збільшення вмісту нітритів у тканинах головного мозку щурів при ГД, дещо менше – при СЗВ. Пояснюємо це тим, що в результаті суттєвого зниження активності НОС і, як наслідок, зменшення продукції оксиду азоту в організмі відбувається перерозподіл і переміщення нітритів з кишківника до тканин головного мозку, де вони використовуються як джерело оксиду азоту для запобігання дисфункції судин та ішемії головного мозку [26]. Поєднання ГД і СЗВ супроводжується зниженням активності НОС і вмісту нітритів у тканинах головного мозку.

ку. Оскільки одночасна дія двох патогенних чинників має сильніший оксидативний вплив на орган, імовірно, можливе використання нітратів не тільки для підтримання судинного гомеостазу, але й для утворення пероксинітриду, а це може ще більше посилити дефіцит оксиду азоту у головному мозку.

Крім того, виявили посилення активності ОДК в усіх групах тварин, але найбільше – при одночасному впливі СЗВ, порушення нормального циклу «світло – темрява» та введення глутамату натрію. Відомо, що ОДК є ферментом аргіназного шляху перетворення L-аргініну, що каталізує лімітуючу стадію біосинтезу поліамінів – декарбоксілювання L-орнітину, проміжної сполуки циклу сечовини, з утворенням путресцину [27,28]. Вочевидь, у головному мозку при стресових ситуаціях, якими є ГД, СЗВ та їх поєднання, переважає аргіназний шлях метаболізму L-аргініну.

Цікаві результати отримали при введенні глутамату натрію за умов поєднання СЗВ і ГД: на тлі істотнішого зниження вмісту нітритів спостерігали суттєве підвищення порівняно з контрольною групою загальної активності НОС та іНОС, а активність кНОС зменшилася. Це свідчить про посилення ендотеліальної дисфункції. При цьому накопичуються пероксинітриди, що є маркерами нітрозативного стресу, та зростає активність ОДК. У нашому дослідженні найбільшу концентрацію пероксинітриду в тканинах головного мозку щурів визначили при введенні глутамату натрію за умов поєднання СЗВ і ГД.

Раніше повідомляли про можливість посилення активності іНОС у нервових клітинах-попередниках за допомогою полі-L-орнітину – проміжного продукту аргіназного шляху метаболізму L-аргініну [11,28,29]. Експресія іНОС свідчить про активацію нейрозалпалення, а знижена активність кНОС – про посилення ендотеліальної дисфункції в тканинах головного мозку.

Глутамат у високих дозах (4 г/кг) може збільшувати активність іНОС, спричиняти оксидативний стрес і розвиток запалення у нервовій тканині [29]. Відомо, що зменшення експресії НОС у синергічній дії з деякими іншими умовами, як-от гіпоксія, може мати пошкоджувальний ефект і призводити до загибелі клітин [13]. Встановлено також важливу роль високих концентрацій оксиду азоту в патогенезі нейродегенеративних захворювань центральної нервової системи, пов'язаних із нейротоксичним впливом глутамату, що є збуджувальним нейротрансмітером. Глутамат і його структурні аналоги можуть зв'язуватися з глутаматними рецепторами і виявляти нейротоксичну дію [27]. Показано, що глутамат натрію може порушувати функції гіпоталамуса та гіпофіза [20]. Крім того, у результаті збільшення екзогенного глутамату в організмі зростає синтез аргініну та активується NO-синтазний шлях його метаболізму. У результаті посилення активності аргіназного шляху метаболізму L-аргініну можливе надмірне утворення поліамінів, що можуть збільшувати проникність гематоенцефалічного бар'єра [30].

Під час дослідження, яке здійснили, використано меншу дозу глутамату натрію (30 мг/кг), тому збільшення активності іНОС у групі поєднання СЗВ, ГД і глутамату не можна визначити як спричинене тільки глутаматом. Імовірно, його вплив на тлі поєднання СЗВ і ГД створює передумови для підвищення чутливості тканин головного мозку до глутамату.

Висновки

1. Поєднана дія порушення циклу «світло – темрява» й системної запальної відповіді посилює продукцію активних форм кисню і процеси пероксидного окиснення ліпідів, знижує антиоксидантний захист у тканинах головного мозку тварин. За цих умов знижується активність NO-синтази, але збільшується активність аргіназного шляху метаболізму L-аргініну в тканинах головного мозку тварин.

2. Введення глутамату натрію за умов поєднаної дії гострого десинхронізму та системної запальної відповіді призводить до посилення оксидативного ушкодження тканин головного мозку. Це супроводжується істотнішим пригніченням антиоксидантного захисту та збільшенням продукції активних форм кисню.

3. Введення глутамату натрію за умов поєднаної дії системної запальної відповіді та гострого десинхронізму спричиняє активацію загальної та індукційної активності НОС, але пригнічує активність кНОС у великих півкулях головного мозку щурів. При цьому в тканинах головного мозку щурів визначили накопичення пероксинітридів і розвиток нітрозативного стресу.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні механізмів метаболізму аргініну за умов поєднання порушення циклу «світло – темрява» та системної запальної відповіді в головному мозку тварин. Перспективним напрямом подальших наукових пошуків також є розробка препаратів, що можуть впливати на активність транскрипційних факторів та які можна застосувати як лікарські й профілактичні засоби для корекції змін у головному мозку, що спричинені порушенням фізіологічного режиму «світло – темрява».

Відомості про авторів:

Волкова О. А., аспірантка каф. патофізіології, Полтавський державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-1191-1534

Акімов О. Є., д-р філософії за спеціальністю 222 «Медицина», доцент закладу вищої освіти, Полтавський державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-4958-3695

Костенко В. О., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патофізіології, Полтавський державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-3965-1826

Information about the authors:

Volkova O. A., PhD student of the Department of Pathophysiology, Poltava State Medical University, Ukraine.

Akimov O. Ye., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathophysiology, Poltava State Medical University, Ukraine.

Kostenko V. O., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathophysiology, Poltava State Medical University, Ukraine.

References

1. Batotsyrenova EG, Bakulev SE, Nevzorova TG, Ivanov MB, Kashuro VA, Zolotoverkheja EA, et al. Changes in the Biorhythms of Biochemical Parameters in Animals with Modeled Acute Desynchronization. *Bull Exp Biol Med.* 2020;170(2):191-5. doi: 10.1007/s10517-020-05030-1
2. Kaidashev IP. [The role of the molecular clock of circadian rhythms in the pathogenesis of the metabolic syndrome]. *Endokrinologiya.* 2020;25(2):158-70. Ukrainian. doi: 10.31793/1680-1466.2020.25-2.158
3. Jones GH, Vecera CM, Pinjari OF, Machado-Vieira R. Inflammatory signaling mechanisms in bipolar disorder. *J Biomed Sci.* 2021 Jun 11;28(1):45. doi: 10.1186/s12929-021-00742-6

4. Manocchio F, Soliz-Rueda JR, Ribas-Latre A, Bravo FI, Arola-Arnal A, Suarez M, et al. Grape Seed Proanthocyanidins Modulate the Hepatic Molecular Clock via MicroRNAs. *Mol Nutr Food Res*. 2022;66(23):e2200443. doi: [10.1002/mnfr.202200443](https://doi.org/10.1002/mnfr.202200443)
5. 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. doi: [10.15407/fz68.01.020](https://doi.org/10.15407/fz68.01.020)
6. Tarianyk KA, Lytvynenko NV, Shkodina AD, Kaidashev IP. The role of circadian regulation of ghrelin levels in Parkinson's disease (literature review). *Wiad Lek*. 2021;74(7):1750-3. doi: [10.36740/wlek202107132](https://doi.org/10.36740/wlek202107132)
7. Li X, Peng H, Wu J, Xu Y. Brain Natriuretic Peptide-Regulated Expression of Inflammatory Cytokines in Lipopolysaccharide (LPS)-Activated Macrophages via NF- κ B and Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK) Pathways. *Med Sci Monit*. 2018;24:3119-26. doi: [10.12659/MSM.905580](https://doi.org/10.12659/MSM.905580)
8. Kostenko V, Akimov O, Gutnik O, Kostenko H, Kostenko V, Romantseva T, et al. Modulation of redox-sensitive transcription factors with polyphenols as pathogenetically grounded approach in therapy of systemic inflammatory response. *Heliyon*. 2023;9(5):e15551. doi: [10.1016/j.heliyon.2023.e15551](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15551)
9. Wu CY, Cilic A, Pak O, Dartsch RC, Wilhelm J, Wujak M, et al. CEACAM6 as a Novel Therapeutic Target to Boost HO-1-mediated Antioxidant Defense in COPD. *Am J Respir Crit Care Med*. 2023;207(12):1576-90. doi: [10.1164/rccm.202208-1603OC](https://doi.org/10.1164/rccm.202208-1603OC)
10. Yelins'ka AM, Akimov OYe, Kostenko VO. Role of AP-1 transcriptional factor development of oxidative and nitrosative stress in periodontal tissues during systemic inflammatory response. *Ukr Biochem J*. 2019;91(1):80-5. doi: [10.15407/ubj91.01.080](https://doi.org/10.15407/ubj91.01.080)
11. Tewari D, Sah AN, Bawari S, Nabavi SF, Dehpour AR, Shirooie S, et al. Role of Nitric Oxide in Neurodegeneration: Function, Regulation, and Inhibition. *Curr Neuropharmacol*. 2021;19(2):114-26. doi: [10.2174/1570159X18666200429001549](https://doi.org/10.2174/1570159X18666200429001549)
12. Mehta R, Bhandari R, Kuhad A. Effects of catechin on a rodent model of autism spectrum disorder: implications for the role of nitric oxide in neuroinflammatory pathway. *Psychopharmacology (Berl)*. 2021;238(11):3249-71. doi: [10.1007/s00213-021-05941-5](https://doi.org/10.1007/s00213-021-05941-5)
13. Mehta R, Bhandari R, Kuhad A. Exploring nordihydroguarectic acid (NDGA) as a plausible neurotherapeutic in the experimental paradigm of autism spectrum disorders targeting nitric oxide pathway. *Metab Brain Dis*. 2021;36(7):1833-57. doi: [10.1007/s11011-021-00811-7](https://doi.org/10.1007/s11011-021-00811-7)
14. Underly RG, Shih AY. Rapid, Nitric Oxide Synthesis-Dependent Activation of MMP-9 at Pericyte Somata During Capillary Ischemia in vivo. *Front Physiol*. 2021;11:619230. doi: [10.3389/fphys.2020.619230](https://doi.org/10.3389/fphys.2020.619230)
15. Yang N, Yang X, Fang Y, Huang Y, Shi W, Li W, et al. Nitric oxide promotes cerebral ischemia/reperfusion injury through upregulating hypoxia-inducible factor1- α -associated inflammation and apoptosis in rats. *Neurosci Lett*. 2023;795:137034. doi: [10.1016/j.neulet.2022.137034](https://doi.org/10.1016/j.neulet.2022.137034)
16. Shah A, Varma M, Bhandari R. Exploring sulforaphane as neurotherapeutic: targeting Nrf2-Keap & NF-Kb pathway crosstalk in ASD. *Metab Brain Dis*. 2024;39(3):373-85. doi: [10.1007/s11011-023-01224-4](https://doi.org/10.1007/s11011-023-01224-4)
17. Yeroshenko GA, Donets IM, Shevchenko KV, Grigorenko AS, Kinash OV, Lisachenko OD. [Effect of sodium glutamate on the respiratory system in rats]. *Bulletin of problems biology and medicine*. 2021;3(161):31-4. doi: [10.29254/2077-4214-2021-3-161-31-34](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2021-3-161-31-34)
18. Yeroshenko GA, Grygorenko AS, Shevchenko KV, Lysachenko OD, Maksymenko NT, Vatsenko AV, et al. The features of the normal ultrastructure of the rat duodenum and under the combined effect of the food additives complex. *Wiad Lek*. 2022;75(6):1466-70. doi: [10.36740/WLek202206107](https://doi.org/10.36740/WLek202206107)
19. Onalapo AY, Onalapo OJ. Dietary glutamate and the brain: In the footprints of a Jekyll and Hyde molecule. *Neurotoxicology*. 2020;80:93-104. doi: [10.1016/j.neuro.2020.07.001](https://doi.org/10.1016/j.neuro.2020.07.001)
20. Fernstrom JD. Monosodium Glutamate in the Diet Does Not Raise Brain Glutamate Concentrations or Disrupt Brain Functions. *Ann Nutr Metab*. 2018;73 Suppl 5:43-52. doi: [10.1159/000494782](https://doi.org/10.1159/000494782)
21. Akimov OO, Kostenko VO. [Oxidative – nitrosative stress and its research methods]. *Lviv: Magnolia*; 2021. 152 p. Ukrainian.
22. Kitaoka Y, Tamura Y, Takahashi K, Takeda K, Takemasa T, Hatta H. Effects of Nrf2 deficiency on mitochondrial oxidative stress in aged skeletal muscle. *Physiol Rep*. 2019;7(3):e13998. doi: [10.14814/phy2.13998](https://doi.org/10.14814/phy2.13998)
23. El Assar M, Álvarez-Bustos A, Sosa P, Angulo J, Rodríguez-Mañas L. Effect of Physical Activity/Exercise on Oxidative Stress and Inflammation in Muscle and Vascular Aging. *Int J Mol Sci*. 2022;23(15):8713. doi: [10.3390/ijms23158713](https://doi.org/10.3390/ijms23158713)
24. Yang Y, Li Y, Wang J, Hong L, Qiao S, Wang C, An J. Cholinergic receptors play a role in the cardioprotective effects of anesthetic preconditioning: Roles of nitric oxide and the CaMKK β /AMPK pathway. *Exp Ther Med*. 2021;21(2):137. doi: [10.3892/etm.2020.9569](https://doi.org/10.3892/etm.2020.9569)
25. Khalaf D, Krüger M, Wehland M, Infanger M, Grimm D. The Effects of Oral L-Arginine and L-Citrulline Supplementation on Blood Pressure. *Nutrients*. 2019;11(7):1679. doi: [10.3390/nu11071679](https://doi.org/10.3390/nu11071679)
26. Romanenko YH, Hryhorenko LV, Komskyi MP, Sribnyk PL, Sinkovska OO. Nitric oxide formation in the metabolism of nitrates in the oral cavity. *Zaporozhye medical journal*. 2019;21(5):685-90. doi: [10.14739/2310-1210.2019.5.179472](https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.5.179472)
27. Maksymchuk NO, Konovchuk VM. [Arginine metabolism: prospects for clinical use (literature review)]. *Buk Med Herald*. 2017;21(1):205-10. Ukrainian. doi: [10.24061/2413-0737.XX1.1.81.2017.44](https://doi.org/10.24061/2413-0737.XX1.1.81.2017.44)
28. Datsko VA, Oleshchuk OM, Datsko TV, Holovata TK. [Morphological confirmation of mechanisms of projective action of L-ornithine L-aspartate in liver cirrhosis]. *Achievements of Clinical and Experimental Medicine*. 2021;(2):54-61. Ukrainian. doi: [10.11603/1811-2471.2021.v.i2.12203](https://doi.org/10.11603/1811-2471.2021.v.i2.12203)
29. Albrakati A. Monosodium glutamate induces cortical oxidative, apoptotic, and inflammatory challenges in rats: the potential neuroprotective role of apigenin. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2023;30(9):24143-53. doi: [10.1007/s11356-022-23954-1](https://doi.org/10.1007/s11356-022-23954-1)
30. Zhang L, Lee HK, Pruess TH, White HS, Bulaj G. Synthesis and applications of polyamine amino acid residues: improving the bioactivity of an analgesic neuropeptide, neurotensin. *J Med Chem*. 2009;52(6):1514-7. doi: [10.1021/jm801481y](https://doi.org/10.1021/jm801481y)