

V. Vozniuk, student,
N. Filimonova, PhD,
M. Makarchuk, Dr. Sci,
I. Zyma, Dr. Sci,
O. Horbunov, PhD
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
V. Kalnyh, Dr. Sci
Yu. I. Kundiyeva Institute for occupation health NAMS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

FEATURES OF HEART RATE REGULATION AND ACTIVITY OF THE BRAIN DURING TESTING THE REACTION OF CHOICE IN THE MILITARY MAN WITH TRAUMATIC BRAIN INJURY

This study involved 23 male volunteers, right-handers, ages 18-21, without complaints of health – students of Taras Shevchenko National University of Kyiv (control group), 14 male volunteers, right-handers, aged 27-43, military men who took part in the operations in the east of Ukraine with traumatic brain injuries (TBI), later – military men with TBI – the patients of the Yu.I.Kundiyeva Institute for occupation health NAMS of Ukraine, Kyiv and 24 volunteers, right-handed, age 20-51: 14 military men with TBI and 10 with military men with post-traumatic stress disorder (PTSD) – patients of the Center for Medical Rehabilitation and Health Centre of the Ministry of Defence of Ukraine "Pushcha Voditsa". EEG- and ECG-study and analysis of brain dipoles using the LORETA and Heart Rate Variability Technique during the reaction of choice test revealed a significant decrease in the response speed of choice for military men with TBI as compared to the control group, while in the for military men with PTSD the response speed of choice was not differed from the control group. In comparison with the simple sensorimotor reaction test, only for military men with TBI, when testing the reaction of choice, a decrease in the activity of the sympathetic department of the ANS was revealed. In the control group, the reaction of choice was essentially involving Anterior Cingulate Cortex, while in the group with TBI – the Parietal Cortex, and in the group with PTSD – Middle Frontal Gyrus.

Key words: reaction of choice, military men with TBI, military men with PTSD, LORETA, ACC, sympathetic activity of ANS.

УДК: 616.127-005.4:543.632.52:577.171.6

А. Шевцова, д-р біол. наук, проф.,
В. Ткаченко, викладач
ДЗ "Дніпропетровська медична академія МОЗ України", Дніпро, Україна,
Ю. Кот, канд. біол. наук, доц.
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Харків, Україна

НЕФЕРМЕНТАТИВНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ ТА РІВЕНЬ ГАЛЕКТИНУ-3 У ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЮ ІШЕМІЄЮ МІОКАРДА

Наведено результати визначення продуктів окисної модифікації, неферментативної глікації білків і вмісту галектину-3 при експериментальній ішемії міокарда у щурів, що індукована шляхом комбінованого введення пітуїтрину та ізадрину (ПІІМ). Розвиток гострої ішемії міокарда у щурів, що за клінічними виявами має схожість із гострим інфарктом міокарда в людини, відбувається за рахунок звуження судин і підвищення артеріального тиску під дією пітуїтрину з підсиленням ефекту ізадрином – агоністом β-адренорецепторів. У процесі досліджень було показано, що при ПІІМ у плазмі крові експериментальних тварин вірогідно збільшується вміст раних (альдегідфенілгідрозонів, АФГ) і пізніх (кетонфенілгідрозонів, КФГ) продуктів окисної модифікації білків (ОМБ), а також флюоресціюючих кінцевих продуктів глікації (КПГ), причому ці зміни спостерігаються на тлі нормальної концентрації глюкози в крові. Одночасно встановлено наявність у плазмі крові експериментальних тварин моно-, ді-, три- та тетрамерних форм галектину-3, який є скавенджер-рецептором КПГ. Під дією антиоксидантів кверцетину та 2-оксоглутарату, інгібітору КПГ аміноуанідину, тетрациклінового антибіотика доксицикліну і селективного антагоніста рецепторів альдостерону еплеренону рівень АФГ, КФГ і КПГ достовірно знижувався, хоча концентрація глюкози мала тенденцію до підвищення. Ці зміни супроводжувалися перерозподілом моно- й олігомерних форм галектину-3. На підставі отриманих результатів висунуто гіпотезу, що гальмування карбонільно-окисного стресу і швидкість видалення ОМБ та КПГ значною мірою визначають кардіопротекторний ефект зазначених вище препаратів.

Ключові слова: окисна модифікація білків, кінцеві продукти глікації, галектин-3, ішемія міокарда, кардіопротекторні препарати.

Вступ. Неферментативні посттрансляційні модифікації білків (НФМБ) утворюються внаслідок спонтанних хімічних реакцій бічних радикалів амінокислот за різних механізмами, такими як окиснення або глікація, тобто за умов карбонільно-окисного стресу. Окиснення білків – процес їх ковалентної модифікації, викликаний безпосереднім впливом активних форм кисню (АФК), а також взаємодією зі вторинними побічними продуктами окисного стресу. Як індуктори утворення окисно-модифікованих білків (ОМБ) можуть виступати не тільки АФК, але й активні форми азоту, метали змінної валентності, продукти перекисного окиснення ліпідів. На сьогодні найбільш вивченим варіантом ОМБ є формування карбонільних похідних унаслідок окиснення амінокислотних залишків поліпептидного ланцюга [1, 10]. При цьому окиснення залишків лізину, аргініну, гістидину, проліну спричинює формування альдо- або кетопохідних, а за окиснення залишків глутамінової та аспарагінової кислот відбувається розщеплення пептидного зв'язку з утворенням пірувільної групи на N-кінці поліпептидного ланцюга [20]. Глікація білків зумовлена реакцією між редуруючими цукрами й

аміногрупами білків з утворенням продуктів Амадорі, які потім можуть перетворюватись на кінцеві продукти глікації (КПГ). Ці продукти можуть також утворюватись при взаємодії бічних радикалів амінокислот з активними карбонільними сполуками, такими як гліюксаль, метилгліюксаль, 3-дезоксигліюксон, або продуктами перекисного окиснення ліпідів, такими як малоновий діальдегід, 4-гідрокси-2-ноненаль і акролеїн [13].

Підвищення ОМБ та КПГ спостерігається при діабеті [25], хронічних захворюваннях печінки [11] та нирок [6]. Останнім часом з'явилися роботи тосовно змін цих показників при серцево-судинних захворюваннях, які пов'язані з цукровим діабетом [7], але досліджень, присвячених визначенню й оцінюванню ролі зазначених показників при ішемічній хворобі серця недіабетогенного походження, практично немає. Проте визначення рівня ОМБ та КПГ дає інформацію не тільки про механізми розвитку патологічного стану, але й може бути корисним при визначенні ефективності терапевтичних заходів. Аналіз літературних джерел свідчить, що кардіопротекторні ефекти антиоксидантів і гіпоглікемічних препаратів мають окремі обмеження. Дослідження

впливу корвітину, що є водорозчинним аналогом біофлавоноїду кверцетину, показало, що його відновлююча дія після ішемії обумовлена регулюванням активності антиоксидантної системи і зниженням карбонілювання протеїнів [18], але цей препарат відновлює активність антиоксидантних ензимів не в повному обсязі [24]. Класичний гіпоглікемізуючий препарат аміногуанідин знижує кількість кінцевих продуктів глікації при тривалому застосуванні, але має побічну токсичну дію [15]. Попередні дослідження стосовно кардіопротекторної дії антибіотика тетрациклінового ряду доксицикліну показали, що цей препарат знижує постінфарктне ремоделювання лівого шлуночка [8] і виявляє захисний ефект при моделюванні серцевої недостатності [21, 26], проте його точний молекулярний механізм досі не відомий. Найчастіше обговорюється здатність цього антибіотика інгібувати матриксні металопротеїнази, що відповідають за процеси ремоделювання серцевого м'яза. Крім цього, спостерігається різноспрямованість його дії залежно від дози і тривалості застосування [5]. Поряд з уже відомими антиоксидантними препаратами викликає інтерес пошук інших, перспективніших засобів. Наприклад, для попередження фокальної ішемії мозку за умов оклюзії сонної артерії використовують метаболіт циклу Кребса 2-оксоглутарат (2-ОГ) [15]. З'ясовано, що цей препарат виявляє поліпотентні ефекти, проте його вплив на процеси окисної модифікації білків не визначений [16]. У кардіології широко використовуються антагоністи альдостерону, серед яких особливу увагу привертає калій-зберігаючий діуретик еплеренон, що застосовується як доповнення до стандартної терапії для зменшення ризику кардіоваскулярної захворюваності та летальності у стабільних пацієнтів з дисфункцією лівого шлуночка і клінічними виявами серцевої недостатності після перенесеного інфаркту міокарда (ІМ), але його вплив на ступінь посттрансляційних змін білків не досліджувався.

Окисна модифікація та глікація протеїнів призводять не тільки до порушення структури та функцій протеїнів, але й до їх взаємодії з рецепторами, наслідком чого може бути активація або інгібування окремих сигнальних механізмів, процесів деградації та елімінації білків. Відомо, що КПГ-модифіковані протеїни є лігандами для цілої групи рецепторів, серед яких на особливу увагу заслуговує галектин-3, або AGE-R3. Цей галактозоспецифічний лектин тваринного походження широко використовується в кардіології як маркер хронічної серцевої недостатності, фіброзу міокарда і прогнозу несприятливого перебігу ІМ із високим ризиком несприятливих кардіоваскулярних подій і смерті [22, 23]. Однак відомостей стосовно взаємозв'язку AGE-R3 із рівнем КПГ при серцево-судинній патології не знайдено, хоча такі дані можуть мати велике значення в діагностиці та моніторингу ефективності терапевтичних заходів у хворих після гострого ІМ. Отже, **метою дослідження** було визначити зв'язок між процесами неферментативної модифікації білків і рівнем галектину-3 при експериментальній ішемії міокарда й оцінити вплив кардіопротекторних препаратів на ці показники.

Матеріали та методи дослідження. Ішемію міокарда у щурів лінії Вістар моделювали шляхом комбінованого введення ізадрину та пітуїтрину за схемою, що описана нами в попередніх дослідженнях [3]. Щурів

було розділено на 7 груп по 10 тварин у кожній групі. Перша група щурів (контрольна) отримувала ін'єкції фізіологічного розчину впродовж двох діб; друга група – щури з пітуїтринізадриніндукованою ішемією міокарда (ПІМ); тварини третьої групи (ПІМ+ОГ) отримували після індукції ПІМ 1 %-й розчин 2-оксоглутарату із сахарозою, люб'язно наданий доктором Pierzynowski S. (Department of Biology, Lund University, Sweden), кожна тварина споживала в середньому 5–6 мл розчину на добу з питною водою *ad libitum* протягом 6 днів; у четвертій групі після ПІМ застосовували аміногуанідин (ПІМ+АГ) *per os* протягом 6 днів дозою 200 мг/кг (Sigma-AldrichInc, StLouis, MO, USA); п'ята група отримувала корвітин (Борщагівський ХФЗ) протягом 5 днів після ПІМ за схемою виробника (ПІМ+К); шоста (ПІМ+Е) – щури отримували еплеренон (дозою 5 мг/кг); шурам сьомої групи (ПІМ+Д) після моделювання ПІМ вводили перорально доксициклін упродовж 6 днів дозою 4,2 мг/кг (РУП "Белмедпрепарати", Республіка Білорусь). Усі експерименти виконувались відповідно до етичних норм, установлених Законом України № 3447-IV від 21.02.06 р. "Про захист тварин від жорстокого поводження", і вимог Міжнародної конвенції за правилами гуманного поводження з лабораторними тваринами. Щурів утримували у стандартних умовах віварію, з вільним доступом до їжі та води, контролюючи фізіологічний стан. Виведення тварин з експерименту проводили, використовуючи як знеболюючий препарат тіопентал натрію (40 мкг/кг). Усі препарати використовувались у дозах, адаптованих до фізіологічних особливостей щурів.

Показники посттрансляційної неферментативної модифікації білків (НФМБ) і ступеня карбонільно-окисного стресу визначались за рівнем кінцевих продуктів глікації (КПГ), які оцінювали методом флуоресцентної спектроскопії [4], за визначенням ТБК-активних речовин (ТБКАР) [2], альдегід- і кетонфенілгідрозонів (АФГ і КФГ) відповідно до методики Дубініної [1]. Галектин-3 визначали методом імуноблотингу з використанням специфічних поліклональних антитіл до цього лектину і вторинних антитіл, мічених ФІТЦ. Мембрани візуалізували з використанням Red™ Imaging System (Alpha Innotech).

Статистичний аналіз проводили за допомогою програмного продукту Statistica 6.0, денситометрію блотограм – за допомогою програми Sorbfil TLC. Для малих груп при порівнянні результатів використовували U-критерій Манна – Уїтні, рівень відмінностей розглядався як статистично значущий за ймовірності помилки $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Результати визначення НФМБ у плазмі крові експериментальних тварин представлені в табл. 1, з якої видно, що при ПІМ вірогідно підвищуються всі досліджувані показники. Під дією антиоксидантів (АГ, 2-ОГ, К), антагоніста альдостерону еплеренону і тетрациклінового антибіотика доксицикліну вміст АФГ, КФГ і КПГ повертався практично до норми, а в деяких випадках їх рівень був навіть нижче норми. Слід зазначити, що рівень глюкози в усіх групах тварин був у межах норми, лише при застосуванні 2-ОГ спостерігалось підвищення цього показника, що зумовлено наявністю сахарози у складі цього препарату.

Таблиця 1. Вміст продуктів неферментативної модифікації в плазмі крові експериментальних тварин (M±m, n=10)

Групи тварин	Альдегідфеніл-гідразони, мкмоль/мл	Кетонфеніл-гідразони, мкмоль/мл	Кінцеві продукти глікації (мг/мл)	ТБК-активні речовини, нмоль/мл	Рівень глюкози (ммоль/мл)
1 Контроль	1,57±0,08	1,46±0,11	0,07±0,003	0,74±0,09	4,71±0,57
2 ПІІМ	2,19±0,11***	1,71±0,07***	0,09±0,004***	2,09±0,11***	6,03±0,63
3 ПІІМ+ОГ	1,75±0,04	1,50±0,05	0,07±0,01§§§	0,77±0,08§§§	7,63±0,62**
4 ПІІМ+АГ	1,72±0,24	1,33±0,21§§	0,07±0,01§§§	0,64±0,09§§§	5,02±0,28§
5 ПІІМ+К	1,88±0,06*§§	1,54±0,08***	0,08±0,002**§	1,06±0,09**§§§	4,91±0,29§
6 ПІІМ+Е	1,69±0,15§	1,47±0,05§	0,06±0,04§§§	1,26±0,12**§	4,72±0,41§§
7 ПІІМ+Д	1,45±0,13§§§	1,41±0,05§	0,07±0,01§§§	1,06±0,14**§§§	6,98±0,36*

Тут і далі: ПІІМ – пітуїтринзадриніндукована ішемія міокарда, ОГ – оксиглутарат, АГ – аміногуанідин, К – корвітин, Е – еплеренон, Д – доксициклін.

* p ≤ 0,05; ** p ≤ 0,01; *** p ≤ 0,001 – відносно групи контролю; § p ≤ 0,05, §§ p ≤ 0,01, §§§ p ≤ 0,001 – відносно групи з ПІІМ

Представлені дані свідчать про те, що одним із механізмів кардіопротекторної дії досліджуваних препаратів є зниження кількості циркулюючих продуктів карбонільної модифікації та неферментативної глікації у тварин із ПІІМ. Цей результат може бути наслідком знешкодження АФК та АКС за участю ферментів антиоксидантної системи та гліоксалаз або посиленої елімінації КПП після їх взаємодії з рецепторами. У попередніх дослідженнях ми показали, що під дією досліджуваних препаратів підвищується активність пероксидрозщеплюючих ферментів – глутатіонпероксидази та каталази. Особливо значні зміни спостерігалися при застосуванні водорозчинної форми кверцетину, аміногуанідину та доксицикліну, що викликало зниження індексу окисного стресу [24]. Ці результати узгоджуються з даними інших дослідників, згідно з якими застосування кверцетину підвищує рівень антиоксидантних ензимів [12, 14], у той час як аміногуанідин знижує рівень АФК [17]. Що стосується активності гліоксалаз, то літературні дані досить суперечливі. Наприклад, за даними Wortmann та ін. зміни експресії гліоксалази 1 не впливають на розвиток атеросклеротичної бляшки [27], у той час як інші дослідники стверджують, що рівень експресії цього ензиму зменшується при формуванні нестабільної атеросклеротичної бляшки [19].

Ураховуючи, що в якості скавенджер-рецепторів може виступати галектин-3 або AGE-R3, ми провели дослідження вмісту цього лектину за допомогою імуноблотинга й установили, що в плазмі крові циркулюють моно-, ди-, три- і тетрамерні форми AGE-R3 з молекулярними масами 35, 70, 95 і 120 кДа, відповідно. Денситометричний аналіз блотограм показав, що при ПІІМ змінюється співвідношення цих форм: кількість мономерних форм зменшується, а тетрамерних, навпаки, збільшується (рис. 1). Оскільки олігомеризація AGE-R3 відбувається після його взаємодії з лігандами [9], то є всі підстави припускати, що збільшення концентрації КПП при експериментальній ішемії міокарда викликає збільшення експресії рецепторів типу AGE-R3, активацію процесів елімінації КПП, олігомеризацію рецепторів та їх надходження в циркуляторне русло.

Таке припущення узгоджується з результатами наших досліджень щодо впливу різних кардіопротектор-

них препаратів на розподіл моно- й олігомерних форм AGE-R3. Як видно з рис. 1, під дією корвітину достовірно збільшується кількість тетрамерних форм, у той час як під дією еплеренону різко збільшується вміст мономерів AGE-R3. Очевидно, корвітин, відомий як потужний антиоксидант, не тільки нейтралізує активні форми кисню, але й сприяє елімінації КПП після їх взаємодії з рецепторами, у той час як еплеренон не викликає олігомеризації AGE-R3, а скоріше підсилює їх експресію. Така гіпотеза вимагає подальшого підтвердження, однак наведені в роботі результати пілотних досліджень дозволяють по-новому розглядати роль AGE-R3 у патогенезі серцево-судинних захворювань і оцінювати рівень цього лектиноподібного рецептора при серцево-судинних захворюваннях.

Висновки

1. За умов ПІІМ розвивається карбонільно-окисний стрес, що зумовлює підвищення продуктів ОМБ та КПП на тлі нормального рівня глюкози в плазмі крові.

2. Установлено наявність моно- та олігомерних форм галектину-3, що є скавенджер-рецептором КПП та ОМБ. У щурів із ПІІМ вірогідно збільшується рівень ді- та тетрамерних форм, що свідчить про активацію процесів знешкодження КПП.

3. Зниження вмісту ОМБ та КПП і перерозподіл моно- та олігомерних форм галектину-3 під впливом різних за механізмом дії кардіопротекторних препаратів свідчать, що їх терапевтична дія значною мірою зумовлена гальмуванням карбонільно-окисного стресу та швидкістю видалення продуктів неферментативної модифікації протеїнів.

Автори висловлюють щире подяку зав. кафедри біохімії Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, д-ру біол. наук Е. С. Перському за надану можливість користуватись сучасним обладнанням і консультативну допомогу.

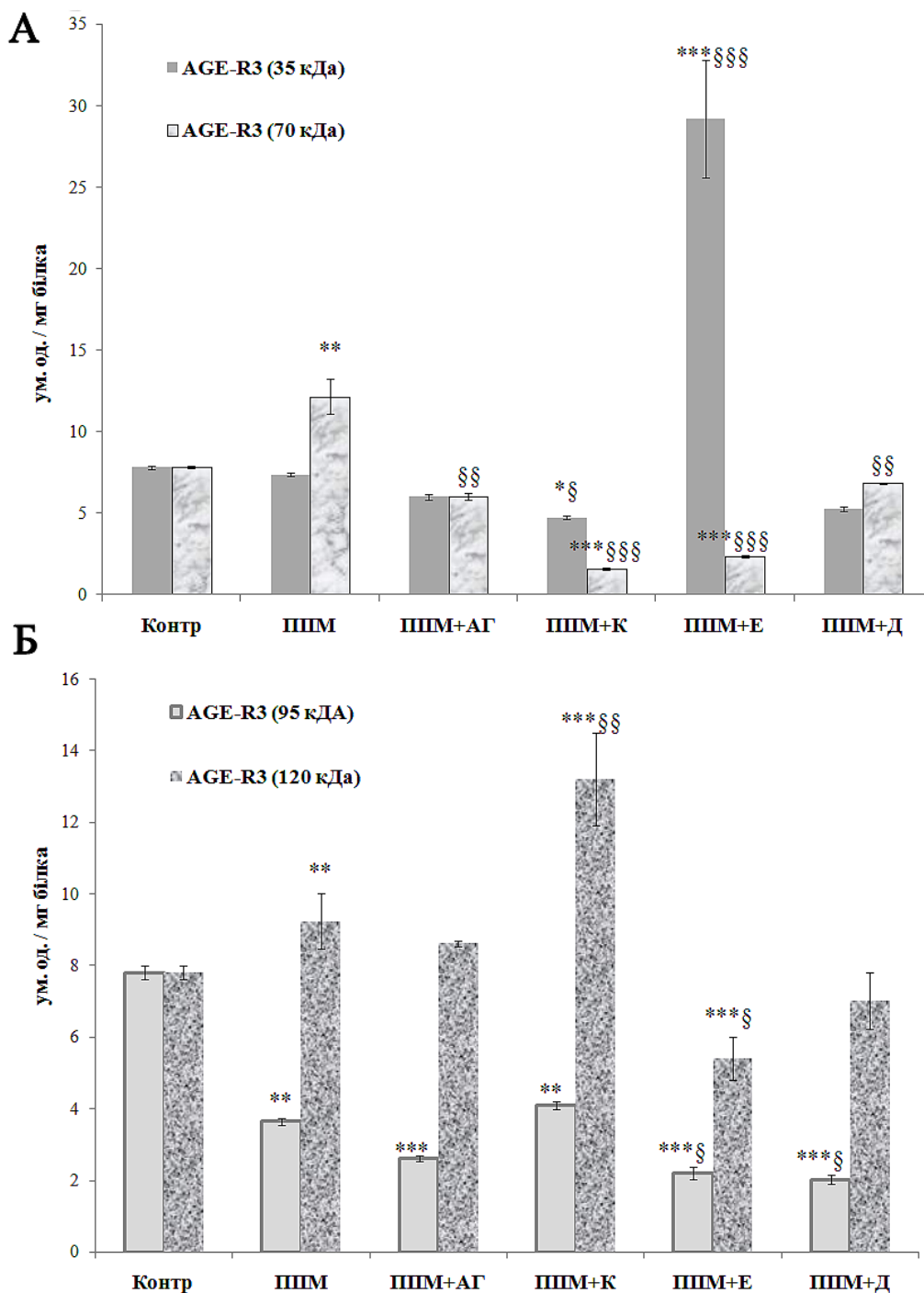


Рис. 1. Вміст різних форм AGE-R3 у плазмі крові експериментальних тварин (А; Б) (M±m, n=10).

* p ≤ 0,05; ** p ≤ 0,01; *** p ≤ 0,001 – відносно групи контролю; § p ≤ 0,05, §§ p ≤ 0,01, §§§ p ≤ 0,001 – відносно групи з ПІІМ

Список використаної літератури:

1. Дубинина Е. Е. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях / Е. Е. Дубинина, А. В. Пустыгина // Укр. біохім. журн. – 2008. – Т. 80, № 6. – С. 5–18.
2. Біохімічні та біофізичні методи оцінки порушень окислювального гемостазу в осіб, що зазнали радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС / Л. М. Овсяннікова, С. М. Альохіна, О. В. Дробінська та ін. // Методичні рекомендації. – К.: Вид-во "Чорнобильінтерінформ", 1999.
3. Ткаченко В. Вплив еплеренону на фізіологічні параметри та ступінь карбонільно-оксидативного стресу у щурів з експериментальним ушкодженням міокарда / В. А. Ткаченко // Укр. біофармацевтичний журн. – 2018. – № 2. – С. 4–12.
4. Спосіб визначення флюоресціюючих кінцевих продуктів глікації у плазмі крові. Пат. 116929 UA, МПК G 01 N 1/00, 21/39, 21/64, 33/49 / А. І. Шевцова, В. А. Ткаченко, О. А. Коваль та ін.; – заявл. 21.12.2016; опубл. 12.06.2017, Бюл. № 11.

5. Combined subthreshold dose inhibition of myosin light chain phosphorylation and MMP-2 activity provides cardioprotection from ischaemic/reperfusion injury in isolated rat heart / V. Cadete, J. Sawicka, L. Bekar, G. Sawicki // Br. J. Pharmacol. – 2013. – Vol. 170, № 2. – P. 380–90. doi: 10.1111/bph.12289.
6. Protein oxidation in chronic kidney disease / G. Caimi, C. Carollo, E. Hopps et al. // Clinical Hemorheology and Microcirculation. – 2013. – Vol. 54, № 4. – P. 409-13. doi:10.3233/CH-131739.
7. Diabetes mellitus: a cardiovascular disease / R. Candido, P. Srivastava, M. E. Cooper, L. M. Burrell // Curr Opin Investig Drugs. – 2003. – Vol. 4, № 9. – P. 1088-94.
8. Early short-term doxycycline therapy in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction to prevent the ominous progression to adverse remodelling: the TIPTOP trial / G. Cerisano, P. Buonamici, R. Valenti et al. // Eur Heart J. – 2014. – Vol. 35(3). – P. 184-91. doi: 10.1093/eurheartj/eh420.

9. Galectins as Molecular Targets for Therapeutic Intervention / R. P. M. Dings, M. C. Miller, R. J. Griffin, K. H. Mayo // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol. 19, № 3. – P. pii: E905. doi: 10.3390/ijms19030905.

10. Hauck A. K. Oxidative stress and lipotoxicity / A. K. Hauck, D. A. Bernlohr // *J. Lipid Res.* – 2016. – Vol. 57, № 11. – P. 1976-1986. doi:10.1194/jlr.R066597.

11. Hollenbach M. Implication of advanced glycation endproducts (AGEs) related to their receptor RAGE and glyoxalase-I (Glo-I) in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma (HCC) / M. Hollenbach // *Internal Medicine Review.* – 2017. – Vol. 3, № 5. – P. 1–25.

12. Molecular and biochemical evidence on the protective effects of quercetin in isoproterenol-induced acute myocardial injury in rats / M. Kumar, E. R. Kasala, L. N. Bodduluru et al. // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* – 2017. – Vol. 31(1). – P. 1–8. doi: 10.1002/jbt.21832.

13. Kumphune S. Oxidative Stress and Diseases: Oxidatively Modified Biomolecules: An Early Biomarker for Acute Coronary Artery Disease / S. Kumphune // *InTech.* – 2012. – Vol. 9. – H. 190-214. doi: 10.5772/32503.

14. Li C. Quercetin inhibits LPS-induced adhesion molecule expression and oxidant production in human aortic endothelial cells by p38-mediated Nrf2 activation and antioxidant enzyme induction / C. Li, W. J. Zhang, B. Frei // *Redox Biol.* – 2016. – Vol. 9. – P. 104–113. doi: 10.1016/j.redox.2016.06.006. 2016.

15. Nandagopal M. Behavioral assessment studies in cerebral ischemia induced by bilateral carotid artery occlusion in rats / M. Nandagopal, P. Muralidharan, G. Thirumurugan // *Annals of Biological Research.* – 2001. – Vol. 1, № 1. – P. 208–223.

16. Alpha-Ketoglutarate: physiological functions and applications / Nan Wu et al. // *Biomol. Ther (Seoul).* – 2016. – Vol. 24, № 1. – P. 1–8.

17. Aminoguanidine inhibits ventricular fibrosis and remodeling process in isoproterenol-induced hypertrophied rat hearts by suppressing ROS and MMPs / A. Parthasarathy, V. Gopi, K. Devi et al. // *Life Sci.* – 2014. – Vol. 118, № 1. – P. 15–26. doi.org/10.1016/j.lfs.2014.09.030.

18. Therapeutic potential of quercetin as a cardiovascular agent / R. Patel, B. Mistry, S. Shinde et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2018. – Vol. 155. – P. 889–904. doi: 10.1016/j.ejmech.2018.06.053.

19. Paneni F. Advanced glycation end products and plaque instability: a link beyond diabetes / F. Paneni, F. Cosentino // *Eur. Heart J.* – 2014. – Vol. 35. – P. 1095–1097. doi.org/10.1093/eurheartj/eh454.

20. Protein oxidation: Identification and utilisation of molecular markers to differentiate singlet oxygen and hydroxyl radical-mediated oxidative pathways / J. E. Plowman et al. // *Photochemical and Photobiological Sciences.* – 2013. – Vol. 12, № 11. – P. 1960–1967. doi:10.1039/c3pp50182e.

21. Smith J. Protective effects of doxycycline in mesenteric ischemia and reperfusion / J. Smith, W. Gabler // *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* – 1995. – Vol. 88, № 3. – P. 303-15. PMID:8564386.

22. Suarez G. Heart failure and galectin 3 / G. Suarez, G. Meyerrose // *Ann. Transl. Med.* – 2014. – Vol. 2, № 9. – P. 86–92. doi: 10.3978/j.issn.2305-5839.2014.09.10.

23. The Predictive Value of Plasma Brain Natriuretic Peptide and Galectin-3 in Elderly Patients / M. Testa, G. L. Rosso, C. Ferreri, M. Feola // *Heart Failure Diseases.* – 2018. – Vol. 6, № 4. – P. pii: E88. doi: 10.3390/diseases6040088.

24. The cardio- and neuroprotective effects of Corviten and 2-oxoglutarate in rats with pituitrin-isoproterenol-induced myocardial damage / V. Tkachenko, Y. Kovalchuk, N. Bondarenko et al. // *Biochem. Research International.* – 2018. – № 9302414. doi.org/10.1155/2018/9302414.

25. Ullah A. Diabetes mellitus and oxidative stress – A concise review / A. Ullah, A. Khan, I. Khan // *Saudi Pharmaceutical J.* – 2016. – Vol. 24. – P. 547–553. doi.org/10.1016/j.jsps.2015.03.013.

26. Chronic doxycycline exposure accelerates left ventricular hypertrophy and progression to heart failure in mice after thoracic aorta constriction / L. Vinet, P. Rouet-Benzineb, X. Marniquet et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2008. – Vol. 295(1). – P. H352-60. doi:10.1152/ajpheart.01101.2007.

27. Glyoxalase-1 knockdown does not have major short term effects on energy expenditure and atherosclerosis in mice / M. Wortmann, M. Hakimi, T. Fleming et al. // *J. Diabetes Res.* – 2016. – Vol. 2016. – P. 2981639. http://dx.doi.org/10.1155/2016/2981639.

References

1. Dubinina E. Pustigina A.V. Oxidative modification of proteins, its role in pathological conditions. *Ukrainian Biochemical Journal* 2008;80(6):5-18.

2. Ovsyannikova L., Alohina S., Drobinska O., et al. Biochemical and biophysical methods for evaluating the disturbances of oxidative hemostasis in people who have been exposed to radiation due to the Chernobyl accident. *Metodichni rekomendatsiyi. Chornobyl InterInform*, 1999:18.

3. Tkachenko V. Effects of eplerenone on behavioral responses and indicators of carbonyl/oxidative stress in rats with experimental myocardial damage. *Ukrainian biopharmaceutical journal.* 2018;2: 4-12.

4. Shevtsova A.I., Tkachenko V.A., Koval' O.A. et al. The method for the determination of fluorescing glycated end-products in blood plasma. *Pat. 116929 UA, MPK G 01 N 1/00, 21/39, 21/64, 33/49 / Dnipropetrovs'ka medychna akademija MOZ Ukrainy – zjavl. 21.12.2016; opubl. 12.06.2017, Bjul. № 11.*

5. Cadete V., Sawicka J., Bekar L., Sawicki G. Combined subthreshold dose inhibition of myosin light chain phosphorylation and MMP-2 activity provides cardioprotection from ischaemic/reperfusion injury in isolated rat heart. *Br J Pharmacol.* 2013;170(2):380-90. doi: 10.1111/bph.12289.

6. Caimi G., Carollo C., Hopps E., et al. Protein oxidation in chronic kidney disease. *Clinical Hemorheology and Microcirculation.* 2013; 54(4):409-13. doi:10.3233/CH-131739

7. Candido R. Srivastava P., Cooper M.E., Burrell L.M. Diabetes mellitus: a cardiovascular disease. *Curr Opin Investig Drugs.* 2003; 4(9):1088-94.

8. Cerisano G., Buonamici P., Valenti R., Sciagrà R., et al. Early short-term doxycycline therapy in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction to prevent the ominous progression to adverse remodelling: the TIPTOP trial. *Eur Heart J.* 2014;35(3):184-91. doi: 10.1093/eurheartj/eh420.

9. Dings R.P.M, Miller M.C., Griffin R.J., Mayo K.H. Galectins as Molecular Targets for Therapeutic Intervention. *Int J Mol Sci.* 2018;19(3):pii: E905. doi: 10.3390/ijms19030905.

10. Hauck A.K., Bernlohr D.A. Oxidative stress and lipotoxicity. *J Lipid Res.* 2016;57(11):1976-1986. doi:10.1194/jlr.R066597

11. Hollenbach M. Implication of advanced glycation endproducts (AGEs) related to their receptor RAGE and glyoxalase-I (Glo-I) in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma (HCC). *Internal Medicine Review.* 2017;3(5): 1-25.

12. Kumar M., Kasala E.R., Bodduluru L.N, Kumar V, Lahkar M. Molecular and biochemical evidence on the protective effects of quercetin in isoproterenol-induced acute myocardial injury in rats. *J Biochem Mol Toxicol.* 2017;31(1):1-8. doi: 10.1002/jbt.21832.

13. Kumphune S. Oxidative Stress and Diseases: Oxidatively Modified Biomolecules: An Early Biomarker for Acute Coronary Artery Disease. *InTech.* 2012;9:190-214. doi: 10.5772/32503

14. Li C., Zhang W.J., Frei B. Quercetin inhibits LPS-induced adhesion molecule expression and oxidant production in human aortic endothelial cells by p38-mediated Nrf2 activation and antioxidant enzyme induction. *Redox Biol.* 2016;9:104-113. doi: 10.1016/j.redox.2016.06.006. 2016

15. Nandagopal M., Muralidharan P., Thirumurugan G. Behavioral assessment studies in cerebral ischemia induced by bilateral carotid artery occlusion in rats. *Annals of Biological Research.* 2001;1(1):208-223.

16. Nan Wu., Mingyao Y. et al. Alpha-Ketoglutarate: physiological functions and applications. *Biomol Ther (Seoul).* – 2016;24(1):1-8.

17. Parthasarathy A., Gopi V., Devi K., Balaji N., et al. Aminoguanidine inhibits ventricular fibrosis and remodeling process in isoproterenol-induced hypertrophied rat hearts by suppressing ROS and MMPs. *Life sci.* 2014;118(1):15-26. doi.org/10.1016/j.lfs.2014.09.030.

18. Patel R., Mistry B., Shinde S., Syed R., et al. Therapeutic potential of quercetin as a cardiovascular agent. *Eur J Med Chem.* 2018;155:889-904. doi: 10.1016/j.ejmech.2018.06.053.

19. Paneni F., Cosentino F. Advanced glycation endproducts and plaque instability: a link beyond diabetes. *European Heart Journal.* 2014; 35(17):1095–1097. doi.org/10.1093/eurheartj/eh454

20. Plowman J.E., et al. Protein oxidation: Identification and utilisation of molecular markers to differentiate singlet oxygen and hydroxyl radical-mediated oxidative pathways. *Photochemical and Photobiological Sciences.* 2013;12(11):1960-1967. doi:10.1039/c3pp50182e

21. Smith J., Gabler W. Protective effects of doxycycline in mesenteric ischemia and reperfusion. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* 1995;88(3):303-15. PMID:8564386.

22. Suarez G., Meyerrose G. Heart failure and galectin 3. *Ann Transl Med.* 2014;2(9): 86-92. doi: 10.3978/j.issn.2305-5839.2014.09.10

23. Testa M., Rosso G.L., Ferreri C., Feola M. The Predictive Value of Plasma Brain Natriuretic Peptide and Galectin-3 in Elderly Patients. *Heart Failure Diseases.* 2018;6(4): pii: E88. doi: 10.3390/diseases6040088.

24. Tkachenko V., Kovalchuk Y., Bondarenko N., et al. The cardio- and neuroprotective effects of Corviten and 2-oxoglutarate in rats with pituitrin-isoproterenol-induced myocardial damage. *Biochemistry Research International.* 2018;9302414. doi.org/10.1155/2018/9302414

25. Ullah A., Khan A., Khan I. Diabetes mellitus and oxidative stress – A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal.* 2016; 24: 547–553. doi.org/10.1016/j.jsps.2015.03.013.

26. Vinet L., Rouet-Benzineb P., Marniquet X., Pellegrin N., et al. Chronic doxycycline exposure accelerates left ventricular hypertrophy and progression to heart failure in mice after thoracic aorta constriction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;295(1):H352-60. doi:10.1152/ajpheart.01101.2007.

27. Wortmann M. Hakimi M., Fleming T., Peters A.S., et al. Glyoxalase-1 knockdown does not have major short term effects on energy expenditure and atherosclerosis in mice. *Diabetes Res.* 2016;2016:2981639. http://dx.doi.org/10.1155/2016/2981639

Надійшла до редколегії 26.09.2018
Отримано виправлений варіант 29.10.2018
Підписано до друку 29.10.2018

Received in the editorial 26.09.2018
Received a revised version on 29.10.2018
Signed in the press on 29.10.2018

А. Шевцова, д-р биол. наук, проф.,
В. Ткаченко, преподаватель
ГУ "Днепропетровская медицинская академия МОЗ Украины", Днепро, Украина,
Ю. Кот, канд. биол. наук, доц.
Харьковский национальный университет имени Н. В. Каразина, Харьков, Украина

НЕФЕРМЕНТАТИВНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ И УРОВЕНЬ ГАЛЕКТИНА-3 У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИЕЙ МИОКАРДА

Приведены результаты определения продуктов окислительной модификации, неферментативного гликирования белков и уровня галектина-3 при экспериментальной ишемии миокарда у крыс, индуцированной последовательным введением питуитрина и изадрина (ПИИМ). Сужение сосудов и повышение артериального давления под действием питуитрина совместно с действием синтетического катехоламина изадрина, являющегося прямым агонистом β 1-2-рецепторов, вызывает состояние, подобное острому инфаркту миокарда у людей. В ходе исследований было показано, что при ПИИМ в плазме крови экспериментальных животных достоверно увеличивается содержание ранних (альдегидфенилгидразоны, АФГ) и поздних (кетонфенилгидразоны, КФГ) продуктов окислительной модификации белков, а также флуоресцирующих конечных продуктов гликирования (КПГ), причем эти изменения наблюдаются на фоне нормальной концентрации глюкозы в крови. В плазме крови экспериментальных животных установлено наличие моно-, ди-, три- и тетрамерных форм галектина-3, который является скавенджер-рецептором КПГ. Под действием антиоксидантов кверцетина и 2-оксоглутарата, ингибитора КПГ аминогуанидина, тетрациклинового антибиотика доксициклина и селективного антагониста рецепторов альдостерона эплеренона уровень АФГ, КФГ и КПГ достоверно снижался, хотя концентрация глюкозы имела тенденцию к повышению. Эти изменения сопровождались перераспределением моно- и олигомерных форм галектина-3. На основании полученных результатов сделан вывод о том, что ингибирование карбонильно-окислительного стресса и скорость удаления ОМБ и КПГ в значительной мере определяют кардиопротекторный эффект исследованных в работе препаратов.

Ключевые слова: окислительная модификация белков, конечные продукты гликирования, галектин-3, ишемия миокарда, кардиопротекторные препараты.

A. Shevtsova, Dr. Sc. Prof.,
V. Tkachenko, assis.
SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine,
Yu. Kot, Ass. Prof.
V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

NON-ENZYMATIC MODIFICATION OF PROTEINS AND THE LEVEL OF GALECTIN-3 IN THE RATS WITH EXPERIMENTAL MYOCARDIAL ISHEMIA

The results of the determination of the products of oxidative modification, non-enzymatic protein glycation and galectin-3 under experimental myocardial ischemia in rats with pituitrin-isoproterenol induced myocardial ischemia (PIIM), were presented in this work. Vasoconstriction and increase of blood pressure under the action of pituitrin, together with the isoproterenol, which is a β -adrenoreceptor agonist, caused the condition similar to acute myocardial infarction. The increase of the early (aldehyde phenylhydrazones, APH) and the late (ketone phenylhydrazones, KPH) products of oxidative modification of proteins, as well as fluorescent advanced glycation end-products (AGE) were shown in blood of the rats with PIIM. These changes were observed under normal content of glucose in the blood. At the same time, the presence of mono-, di-, tri-, and tetrameric forms of galectin-3, which is a scavenger of AGE, has been established in the blood of experimental animals. The levels of APH, KPH and AGE significantly reduced under the impact of the antioxidants quercetin and 2-oxoglutarate, after the treatment with the AGE-inhibitor aminoguanidine, tetracycline antibiotic doxycycline and eplerenone (selective antagonist of aldosterone receptors), although glucose concentration had a weak tendency to increase. These changes were accompanied by the redistribution of mono- and oligomeric forms of galectin-3. Based on our results, it was hypothesized that the removal of the products of oxidative modification of proteins and the inhibition of carbonyl-oxidative stress contribute to the cardioprotective effect of the studied drugs.

Key words: oxidative modification of proteins, glycation end-products, galectin 3, myocardial ischemia, cardioprotective drugs.

УДК: 612.359:612.273+612.018

Р. Янко, канд. биол. наук
Институт физиологии имени А. А. Богомольца НАН Украины, Киев, Украина

СОЧЕТАННОЕ ВЛИЯНИЕ ПРЕРЫВИСТОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ И МЕЛАТОНИНА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ПАРЕНХИМЫ ПЕЧЕНИ КРЫС

Исследованы морфологические изменения паренхимы печени крыс после сочетанного воздействия прерывистой нормобарической гипоксии (ПНГ) и мелатонина. Исследование проведено в весенний период на 24 крысах-самцах линии Вистар. Подопытным животным ежедневно подавали гипоксическую газовую смесь (12 % кислорода в азоте) в прерывистом режиме: 15 мин деоксигенация / 15 мин реоксигенация в течение 2 ч. Этим же крысам ежедневно перорально вводили экзогенный мелатонин в 10.00 в дозе 5 мг/кг. Продолжительность эксперимента составляла 28 суток. Из ткани печени изготавливали гистологические препараты по стандартной методике. Морфометрию осуществляли с помощью компьютерной программы "Image J". У крыс, подвергавшихся воздействию ПНГ и мелатонина, обнаружили достоверно большую площадь гепатоцитов, их ядер и цитоплазмы на 19, 54 и 31 %, соответственно, чем в контроле. Это привело к достоверному повышению ядерно-цитоплазматического соотношения на 35 %. У подопытных животных отмечено достоверно большее количество ядрышек в ядрах гепатоцитов на 14 % и количество двуядерных гепатоцитов на 23 %. Эти данные могут свидетельствовать о возрастании функциональной активности гепатоцитов и активации физиологической регенерации клеток на внутриклеточном уровне. Также у подопытных животных выявлено снижение расстояния между ядрами смежных гепатоцитов, что указывает на более плотное расположение клеток между собой и уменьшение количества межклеточной соединительной ткани. Сочетанное воздействие прерывистой нормобарической гипоксии и мелатонина имеет морфологические признаки повышения функциональной активности и физиологической регенерации паренхимы печени.

Ключевые слова: печень, прерывистая гипоксия, мелатонин.

Введение. В последние годы среди населения наблюдается тенденция к росту заболеваний печени. За статистическими данными ВООЗ в мире насчитывается около 700 млн людей с разными нарушениями

физиологических функций этого органа. В этой связи возрастает актуальность разработки новых эффективных методов профилактики и лечения заболеваний печени. Полагают, что одним из таких методов может