



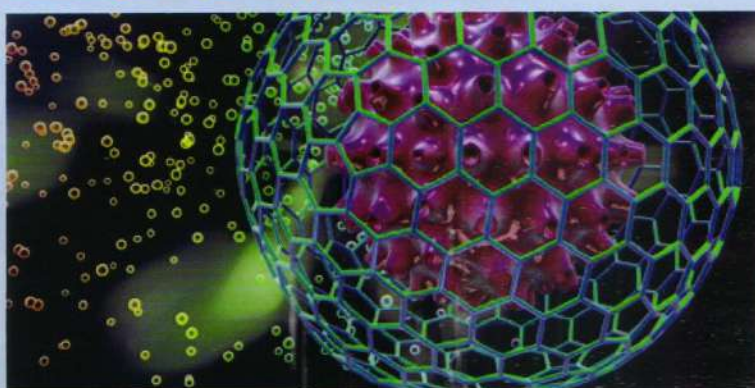
БИОХИМИЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY

Выпуск 2

Границы биологических наук
Сигналинг и метаболизм

Frontiers in Life Science
Signalling and Metabolism



НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ

РЕСПУБЛИКАНСКОЕ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЕ УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ
«ИНСТИТУТ БИОХИМИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ»

БИОХИМИЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY

Выпуск 2

Границы биологических наук
Сигналинг и метаболизм

Frontiers in Life Science
Signalling and Metabolism

*СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ КОНФЕРЕНЦИИ
(8–9 ноября 2018 г., Гродно)*

Минск
«ИВЦ Минфина»
2018

11. Vogel, J.L. Autocatalytic proteolysis of the transcription factor-coactivator C1 (HCF): A potential role for proteolytic regulation of coactivator function / J. L. Vogel, T.M. Kristie // PNAS. – 2000. – Vol. 97 (17). – P. 9425–9430.

Chirkin A.A., Dolmatova V.V.

INTRACELLULAR SIGNALING AND PROTEOLYSIS: EVOLUTION AND ONCOLOGICAL ASPECTS

Vitebsk State University named after P.M. Masherov, Vitebsk, Belarus

Summary. The role of proteolysis in the basic cellular processes - gene expression, cell proliferation and programmed death (for example, apoptosis) is considered in the article. Due to the interaction of various signaling pathways, the synthesis of a number of proteins that perform regulatory functions is controlled. Their action is short-lived, as they are quickly destroyed by proteolysis systems. Thus, cellular signaling and regulated proteolysis determine the fate of the cell, and, consequently, the proteins and enzymes of these processes that were to be formed at the stage of emergence of multicellular organisms.

Шевцова А.И., Ткаченко В.А.

КОНЕЧНЫЕ ПРОДУКТЫ ГЛИКИРОВАНИЯ И ИХ РЕЦЕПТОРЫ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ МИОКАРДА

*ГУ «Днепропетровская медицинская академия МОЗ Украины»,
Днепр, Украина*

Резюме. В работе обсуждается роль продуктов окислительно-карбонильной модификации белков и конечных продуктов гликирования (КПГ) в патогенезе ишемического повреждения миокарда (ИПМ) и рассматриваются механизмы коррекции ИПМ с точки зрения взаимодействия КПГ с рецепторами типа AGE-R3. Впервые показано, что увеличение КПГ в крови при ИПМ сопровождается олигомеризацией AGE-R3 с формированием ди-, три- и тетрамерных форм. На основании анализа перераспределения моно- и олигомерных форм AGE-R3 под действием различных препаратов обосновывается диагностико-прогностическая значимость взаимодействий КПГ-AGE-R3 в развитии ИПМ и оценке эффективности его терапии.

Введение. Конечные продукты гликирования (КПГ, advanced glycation end products или AGE) – гетерогенная группа соединений, образованных комбинацией процессов гликирования, окисления и/или карбонилирования белков, нуклеиновых кислот и аминофосфолипидов. До сих пор образование и токсические эффекты этих продуктов в организме человека связывали с длительной гипергликемией, обусловленной сахарным диабетом. Однако работы последних лет свидетельствуют о значительно более широком спектре патологических состояний, ассоциированных с накоплением КПГ, среди которых особый интерес представляют заболевания сердечно-сосудистой системы. Оказалось, что повышение уровня КПГ связано с заболеваниями периферических артерий и их осложнениями, такими как острый инфаркт миокарда, острый ишемический инсульт, которые часто заканчиваются смертью [4,9]. Патогенетическое действие КПГ на сердечно-сосудистую систему может быть результатом их непосредственного влияния на структуру и функции

макромолекул (рецептор-независимые эффекты), либо же проявляться как следствие их взаимодействия с рецепторами (рецептор-опосредованные эффекты). Рецептор-независимые кардиотоксические эффекты КПП обусловлены изменениями структуры и функциональной активности белков миокарда и сосудистого эндотелия, нарушениями в системе гемостаза и формированием дислипидемии [3,6]. Рецептор-опосредованные эффекты КПП связаны с активацией процессов воспаления, апоптоза, ангиогенеза, кальцификации и генерации активных форм кислорода в эндотелиоцитах, гладкомышечных клетках, тромбоцитах и клетках моноцитарно-макрофагальной системы [5,7].

Рецепторы КПП (RAGE) найдены не только на поверхности мембраны различных клеток, но и в кровотоке (sRAGE and eRAGE). Циркулирующие рецепторы сохраняют свою КПП-связывающую активность и способствуют их элиминации. Помимо RAGE, в связывании и элиминации КПП принимают участие скавенжер-рецепторы, среди которых особое значение имеет галектин 3 или AGE-R3. Этот галактозо-специфический лектин животного происхождения широко используется в кардиологии как маркер хронической сердечной недостаточности, фиброза миокарда и прогноза неблагоприятного течения инфаркта миокарда с высоким риском смертельного исхода. Однако, сведений, касающихся взаимосвязи галектина 3 с уровнем КПП при сердечно-сосудистой патологии мы не нашли. Между тем, исследование этих взаимодействий может иметь решающее значение в диагностике и мониторинге ишемического повреждения миокарда, а также оценке эффективности действия лекарственных препаратов. Целью настоящей работы было исследование взаимосвязи КПП / галектин 3 и влияния различных кардиопротекторных препаратов на их взаимодействие.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена с использованием экспериментальной модели питуитрин-изадрин индуцированной ишемии миокарда (ПИИМ), детально описанной нами ранее [8]. Все животные были разделены на 7 групп по 10 крыс в каждой группе. Исследования проводились с учетом требований Международной конвенции правил гуманного обращения с экспериментальными животными и этическим кодексом МОЗ Украины. В работе исследовали влияние следующих препаратов: корвитин (водорастворимая форма кверцетина), 2-оксоглутарат (ОГ), аминогуанидин (АГ), эплеренон (Э) и доксициклин (Д). Все препараты использовались в дозах, адаптированных к физиологическим особенностям крыс. Содержание конечных продуктов гликирования (КПП) оценивали методом флуоресцентной спектроскопии [2], альдегид- и кетонфенилгидразонов (АФГ и КФГ, соответственно) – согласно методике, описанной Дубининой [1]. Галектин 3 определяли методом иммуноблотинга с использованием специфических антител к этому лектину с флуоресцентной меткой. Статистический анализ проводили с помощью программного продукта Statistica 6.0, денситометрию блотограмм - с помощью программы Sorbfil TLC.

Результаты и их обсуждение. Результаты определения продуктов карбонильно-окислительной модификации белков в плазме крови экспериментальных животных представлены в таблице 1, из которой видно, что при ПИИМ достоверно повышаются все исследуемые показатели.

Под действием антиоксидантов (АГ, ОГ, К), антагониста альдостерона эплеренона и тетрациклинового антибиотика доксициклина содержание АФГ, КФГ и КПП возвращалось практически к норме, а в некоторых случаях было даже ниже

нормы, что сопровождалось улучшением общего состояния и физиологических показателей экспериментальных животных.

Таблица 1 - Содержание продуктов окислительной и карбонильной модификации в плазме крови экспериментальных животных.

Группа животных	Альдегидфенилгидразоны (АФГ) мкмоль/мл	Кетонфенилгидразоны (КФГ) мкмоль/мл	Конечные продукты гликирования (мг/мл)
Контроль	1,57±0,08	1,46±0,11	0,07±0,003
ПИИМ	2,19±0,11***	1,71±0,07***	0,09±0,004***
ПИИМ+ОГ	1,75±0,04	1,50±0,05	0,07±0,01§§§
ПИИМ+АГ	1,72±0,24	1,33±0,21§§	0,07±0,01§§§
ПИИМ+К	1,88±0,06*§§	1,54±0,08***	0,08±0,002**§
ПИИМ+ Э	1,69±0,15§	1,47±0,05§	0,06±0,04§§§
ПИИМ + Д	1,45±0,13§§§	1,41±0,05§	0,07±0,01§§§

*Примечание здесь и далее: *P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001 – по сравнению с контролем; § P ≤ 0,05, §§ P ≤ 0,01, §§§ P ≤ 0,001 – по сравнению с группой ПИИМ.*

Представленные данные свидетельствуют о том, что одним из механизмов кардиопротекторного действия изучаемых препаратов является снижение количества циркулирующих продуктов карбонильной модификации и неферментативной гликации у животных с ПИИМ. Такой результат может быть следствием обезвреживания активных карбонильных соединений под действием глиоксальоксидаз, либо усиленной элиминации КППГ после их взаимодействия с рецепторами.

Учитывая, что в качестве скавенжер-рецепторов может выступать галектин 3 (AGE-R3), мы провели исследование этого лектина с помощью иммуоблотинга и установили, что в плазме крови циркулируют моно-, ди-, три- и тетрамерные формы галектина 3 с молекулярными массами 35 кДа, 70 кДа, 95кДа и 120кДа, соответственно. Денситометрический анализ блотограмм показал, что при ПИИМ изменяется соотношение этих форм: количество мономерных форм уменьшается, а тетрамерных - увеличивается (рис.1). Поскольку олигомеризация галектина происходит после встречи с лигандами, есть все основания предполагать, что увеличение концентрации КППГ при экспериментальной ишемии миокарда приводит к увеличению экспрессии рецепторов типа AGE-R3, активации процессов элиминации КППГ, олигомеризации рецепторов и их поступления в кровоток.

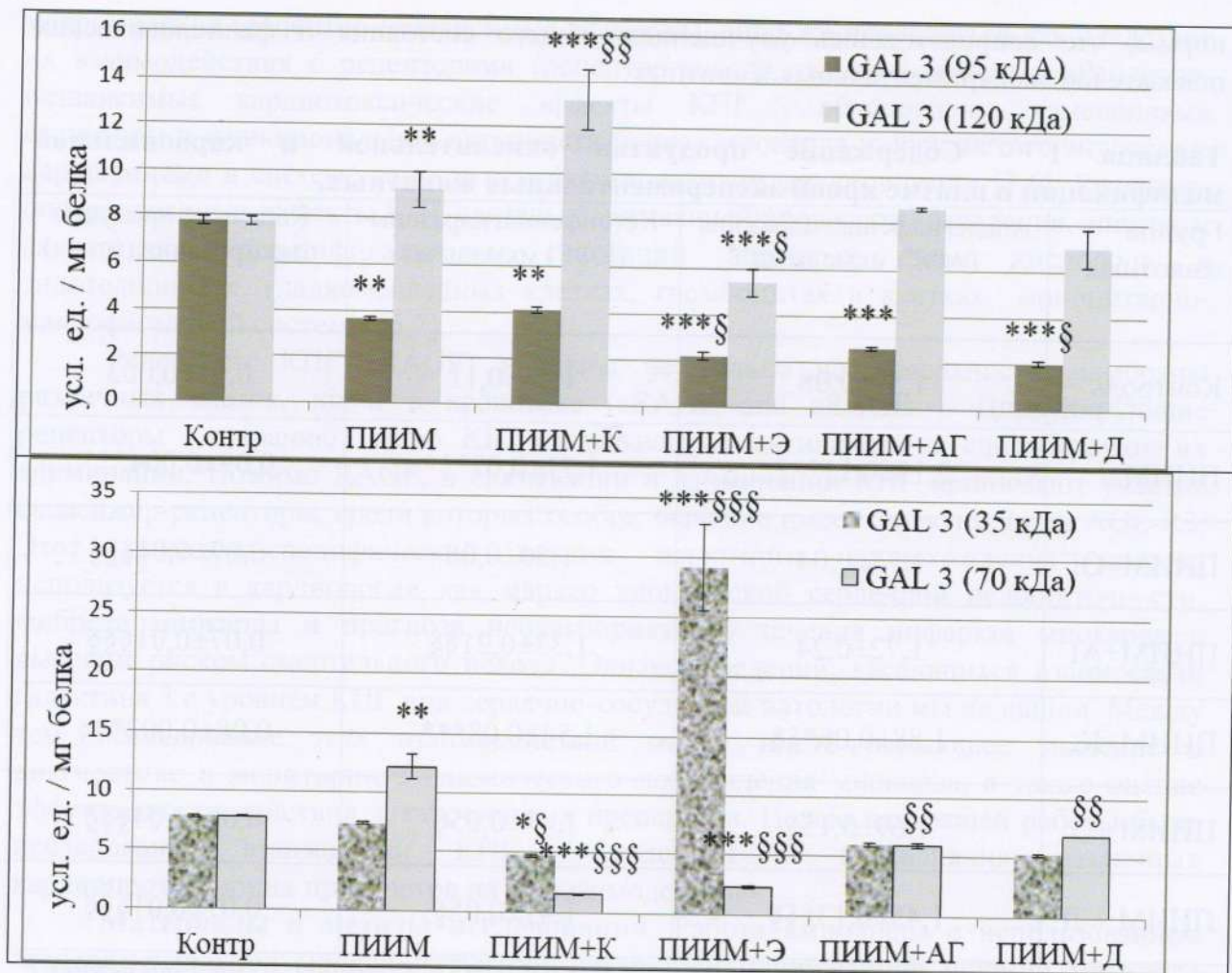


Рисунок 1 – Содержание различных форм галектина 3 в плазме крови экспериментальных животных.

Такое предположение согласуется с результатами наших исследований по влиянию различных кардиопротекторных препаратов на распределение моно- и олигомерных форм галектина 3. Как видно из рисунка 1, под действием кверцетина достоверно увеличивается количество тетрамерных форм, в то время как под действием эплеренона резко увеличивается содержание мономеров AGE-R3. Очевидно, кверцетин, известный как мощный антиоксидант, не только нейтрализует активные формы кислорода, но и способствует элиминации КППГ после их взаимодействия с рецепторами, в то время как эплеренон не вызывает олигомеризации AGE-R3, а скорее, усиливает их экспрессию. Такая гипотеза требует дальнейших исследований, однако приведенные в работе результаты пилотных исследований позволяют по-новому взглянуть на роль галектина 3 в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний и использование его в диагностике патологических состояний.

Список использованных источников:

1. Дубинина Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов, и др. // Вопросы мед. химии. – 1995. – Т. 41, №1. – С. 24-26.

2. Способ определения флуоресцирующих конечных продуктов гликирования в плазме крови. Пат. 116929 UA, А.И. Шевцова, В.А. Ткаченко, О.А. Коваль и др.– опубл. 12.06.2017.
3. Godfrey L. Arginine-directed glycation and decreased HDL plasma concentration and functionality. / L. Godfrey, N. Yamada-Fowler, J. Smith, P.J. Thornalley, N. Rabbani // *Nutr Diabetes*. – 2014. – Vol. 4. – P.134-136.
4. Ikeda T. Serum pentosidine, an advanced glycation end product, indicates poor outcomes after acute ischemic stroke / T. Ikeda, K. Maruyama, N. Ito, A. Utagawa, M. Nagane, Y. Shiokawa // *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* – 2012. – Vol.21. – P.385–390.
5. Chen J. Advanced glycation end products induce apoptosis of endothelial progenitor cells by activating receptor RAGE and NADPH oxidase/JNK signaling axis. /J. Chen, J. Jing, Sh. Yu, M. Song, et al. // *Am J Transl Res*. – 2016.– Vol.8, №5. – P.2169–2178.
6. Neviere R. Implication of advanced glycation end products (Ages) and their receptor (Rage) on myocardial contractile and mitochondrial functions./ R. Neviere , Y. Yu, L. Wang, et al. // *Glycoconj J*. – 2016.– Vol.33, №4.– P. 607-17. doi: 10.1007/s10719-016-9679-x.
7. Shekhtman A. Glycation & the RAGE axis: targeting signal transduction through DIAPH1/ A. Shekhtman, R. Ramasamy, A.M. Schmidt // *Expert Rev Proteomics*. – 2017. – Vol.14, №2. – P.147-156. doi: 10.1080/14789450.2017.1271719.
8. Tkachenko V. The cardio- and neuroprotective effects of Corvutin and 2-oxoglutarate in rats with pituitrin-isoproterenol-induced myocardial damage / V. Tkachenko, Y. Kovalchuk, N. Bondarenko, et al. // *Biochemistry research international*. – 2018. – Vol. 2018, №9302414. – P.1-11. doi.org/10.1155/2018/9302414.
9. de Vos L.C. Advanced glycation end products: An emerging biomarker for adverse outcome in patients with peripheral artery disease./ L.C. de Vos , J.D. Lefrandt , R.P. Dullaart , et al. // *Atherosclerosis*. – 2016.– Vol. 254.– P.291-299. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.10.012.

Shevtsova A.I., Tkachenko V.A.

ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS AND THEIR RECEPTORS IN EXPERIMENTAL MYOCARDIAL ISCHEMIA

*SI “Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine”,
Dnipro, Ukraine*

Summary. The role of products of oxidative-carbonyl modification of proteins and advanced glycation end products (AGE) in the pathogenesis of ischemic damage of heart (IDH) was studied in this work. The mechanisms of IDH development are discussed from the point of view of the interaction of AGE with their receptors named AGE-R3. For the first time, it was shown that an increase of AGE in the blood during IDH was accompanied by oligomerization of AGE-R3 with the formation of its di-, tri-, and tetrameric forms. The diagnostic and prognostic significance of AGE-R3 were substantiated by the redistribution of its mono- and oligomeric forms under the influence of various drugs.