

Д.О. Пашевін, В.Є. Досенко, **Ю.В. Биць**, О.О. Мойбенко

Антиатерогенний ефект корвітину: вплив на протеасомну активність в аорті, серці та клітинах крові

Вивчали зміни протеасомного протеолізу за моделювання холестеринового атеросклерозу у кролів. Встановлено, що трипсиноподібна активність протеасоми зростає у 2,4 рази ($P < 0,05$), хімотрипсиноподібна на 43 %, пептидилглютамілпептидгідролазна на 10 %. В тканинах серця спостерігалось підвищення трипсиноподібної активності на 14 %. Застосування корвітину (водорозчинний препарат кверцетину) призводило до значного зниження активності протеасоми як в тканинах, так і в лейкоцитах крові. При цьому значно зменшувалася кількість та вираженість атеросклеротичних змін в аорті. Отримані результати свідчать про виражені ангіопротективні властивості корвітину, які опосередковані дією на протеасомний протеоліз.

Ключові слова: протеасомна активність, атеросклероз, аорта, лейкоцити.

ВСТУП

Відомо, що руйнування протеїнів відіграє важливу роль у регуляції життєдіяльності клітини, а його порушення є основою для розвитку багатьох патологічних процесів [11, 18, 25]. Це стосується і найбільш розповсюдженої патології в серцево-судинній системі – атеросклерозу. Обмін ліпопротеїдів, експресія молекул клітинної адгезії, рециклінг рецепторів, апоптоз гладеньком'язових та ендотеліальних клітин, тобто процеси, що мають важливе значення в атерогенезі, відбуваються за участі протеасомного протеолізу [1, 9, 26, 29, 30]. Останнім часом з'явилися відомості про зміни активності протеасоми при атеросклерозі судин людини. У дослідженні Versari та співавт. [28] було встановлено, що в атеросклеротичних бляшках каротидних артерій пацієнтів з симптомами ішемії головного мозку, спостерігалось зниження хімотрипсиноподібної активності протеасоми та накопичення убіквітинових

кон'югатів порівняно з відповідними ділянками артерій хворих без згаданих симптомів [28]. Відсутність даних про активність протеасомного протеолізу у атеросклеротично неушкоджених артеріях людини не дає можливості визначитися відносно значення змін його активності при атеросклерозі та спонукає до вирішення цієї проблеми експериментальним шляхом. У наших попередніх роботах показано, що активність протеасоми збільшується при моделюванні холестеринового атеросклерозу [3], проте з'ясувати патогенетичне значення цих змін, на нашу думку, практично неможливо без застосування інгібіторів протеасоми. Призначення останніх тваринам одночасно з гіперхолестериновою дієтою дало змогу б оцінити роль вказаних зрушень та одночасно обґрунтувати характер терапевтичного втручання при атерогенезі.

У роботах американських дослідників було показано, що поліфеноли зеленого чаю (особливо епігалокатехін-3-галат) є потуж-

© Д.О. Пашевін, В.Є. Досенко, **Ю.В. Биць**, О.О. Мойбенко

ними специфічними інгібіторами хімотрипсиноподібної активності протеасоми як *in vitro*, так і *in vivo* [22]. А в наших експериментах отримано переконливі докази здатності кверцетину, як одного із поширених дієтичних біофлавоноїдів, пригнічувати активність протеасоми [2]. Вже через 2 год після внутрішньовенного введення водорозчинної форми кверцетину корвітину кролям значно знижувалась активність протеасоми в ізольованих клітинах їх крові.

Викладене вище стало для нас достатньо вагомим підґрунтям, щоб обрати саме корвітин як інгібітор протеасоми, який ми застосували при моделюванні холестеринового атеросклерозу, для з'ясування патогенетичного значення змін хімотрипсино-, трипсиноподібної та пептидилглютамілпептидгідролазної (ХТП, ТП і ПППГ відповідно) активності протеасоми в динаміці атерогенезу в тканинах аорти, серця, а також в ізольованих лейкоцитах крові дослідних тварин.

МЕТОДИКА

Досліди проведені на 30 кролях обох статей, масою 2,95 кг \pm 0,35 кг. Тварини були розділені на три групи по 10 кролів у кожній: I – контрольна, тварини II і III групи щодня отримували корм зі вмістом холестерину (1 %) протягом 4 тиж. Кролям III групи одночасно з холестериновою дієтою внутрішньовенно вводили корвітин з розрахунку 5 мг/кг один раз на дві доби. На 4-му тижні експерименту у тварин забирали кров з крайової вени вуха для визначення активності протеасоми у лейкоцитах.

Фракціонування крові проводили з використанням центрифугування в градієнті перколу. Для цього стабілізовану натрієвою сіллю ЕДТА кров розводили 0,9%-м розчином хлористого натрію в співвідношенні 1:1, після чого нашаровували на заздалегідь підготовлений градієнтний розчин перколу, який складався з 4 шарів з відносною густиною 72, 63, 54, 45 %. Такі концентрації

перколу одержували при змішуванні 9 частин перколу і 1 частини 10-кратного розчину Хенкса (рН 7,4), після чого необхідну густину створювали за допомогою розбавлення відповідною кількістю 0,9%-го розчину хлористого натрію. Центрифугування крові проводили в два етапи: 1) при 400 g протягом 5 хв, після чого відбирався перший надосадовий шар, а відібраний об'єм заповнювався фізіологічним розчином; 2) при 800 g протягом 15 хв, з подальшим відбором клітин між шарами густини 45 і 54 % (моноцити), 54 та 63 % (лімфоцити), 63 та 72 % (нейтрофільні гранулоцити). Відмивання клітин від перколу проводили центрифугуванням протягом 5 хв при 800 g з подальшим відбором осаду та його ресуспензуванням у розчині Хенкса. Кількість клітин підраховували в камері Горяєва, після чого їх піддавали дії ультразвуку максимальної інтенсивності протягом 3 хв з використанням ультразвукового диспергатора «УЗДН А», пермеабілізували їх мембрани додаванням 10 мкл сапоніну та використовували для біохімічного аналізу.

ХТП, ТП і ПППГ активності протеасоми визначали в 0,025 М тріс-НСІ (рН 7,5), що містив у кінцевій концентрації 6 мкмоль/л одного із субстратів протеасоми: сукциніл-лейцин-лейцин-валін-тирозин-7-амідо-4-метилкумарину (LLVT-АМС), бок-лейцин-серин-треонін-аргінін-7-амідо-4-метилкумарину (LSTA-АМС) або N-Cbz-лейцин-лейцин-глутамін-амідо-4-метилкумарину (LLG-АМС) [4]. Проби інкубували із зазначеними субстратами при 37 °С протягом 30 хв при визначенні ТП активності та 60 хв – ХТП і ПППГ. Мірою активності протеасоми була інтенсивність гідролізу специфічних флюорогенних субстратів, яку оцінювали на спектрофлюориметрі «Hitachi-4000» (довжина хвилі збудження/емісії (Ex/Em) – 360/440). Для підтвердження специфічності протеасомального гідролізу використовували селективні інгібітори протеасоми – класто-лактацистин- β -лак-

тон і MG-132 у концентрації 5 мкмоль/л. Відсоток зменшення активності гідролізу відповідних субстратів під дією зазначених інгібіторів трактували як активність протеасоми і виражали в наномолях на 1 л 7-амідо-4-метилкумарину на 1 млн. клітин за 1 хв. Калібрувальні графіки будували з використанням розведень 7-амідо-4-метилкумарину (від 0,017 до 0,272 мкмоль/л).

Для дослідження активності протеасоми у тканинах тварин піддавали етаназії за допомогою повітряної емболії. Аорту гомогенізували в скляному гомогенізаторі в тріс-НСІ буфері (рН 7,4), центрифугували (900 г протягом 10 хв), а супернатант використовували для біохімічного дослідження. Вміст білка в гомогенатах аорти визначали за методом Lowry [20]. Активність протеасоми виражали в наномолях на 1 л 7-амідо-4-метилкумарину на 1 мг білка за 1 хв. Флюорогенні субстрати та інгібітори протеасомної активності були вироблені фірмами «Sigma» та «ICN» (США).

Гістологічні зміни у тканинах аорти оцінювали таким чином: з заморожених аорт на мікромомі готували зрізи товщиною 10–12 мкм і фіксували на склі. Насичений розчин червоного жирного в ізопропанолі розводили дистильованою водою у співвідношенні 3:2 та фільтрували. Отримані мікропрепарати забарвлювали протягом 10 хв. Після цього препарати промивали дистильованою водою, забарвлювали гематоксиліном упродовж 3 хв і знову промивали. Отримані гістологічні препарати фіксували і фотографували.

Результати обробляли математично з використанням комп'ютерних програм Origin 7.0 і Excel. Достовірність різниці середніх значень визначали за критерієм t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати досліджень свідчать про суттєвий вплив гіперхолестеринової дієти на активність протеасоми в тканинах аорти та

серця, причому окремі складові види протеїназної активності цього мультиферментного комплексу змінюються різною мірою. В тканинах аорти протеасомний протеоліз змінювався так: ТП активність збільшилась у 2,4 раза порівняно з контролем ($P < 0,05$), ХТП – на 43 %, а ПППГ – на 10 % (рисунок). Наші результати збігаються з даними Herrmann та співавт. [12], які холестеринний атеросклероз моделювали у свиней (утримання на гіперхолестеринової дієти протягом 12 тиж). Група дослідних тварин, що отримували разом з атерогенною дієтою препарат корвітин відрізнялася значно меншою активністю протеасоми в тканинах аорти. Зокрема, ТП-активність порівняно зі значеннями у кролів, що отримували лише корм з холестерином була знижена на 25 % ($P < 0,05$), ХТП-активність мала найбільш виражені зміни внаслідок дії кверцетину та знижувалась у 10 разів ($P < 0,05$). ПППГ-активність в аорті тварин внаслідок дії корвітину знижувалась на 50 % ($P < 0,05$) порівняно з тваринами, що отримували лише холестеринний корм.

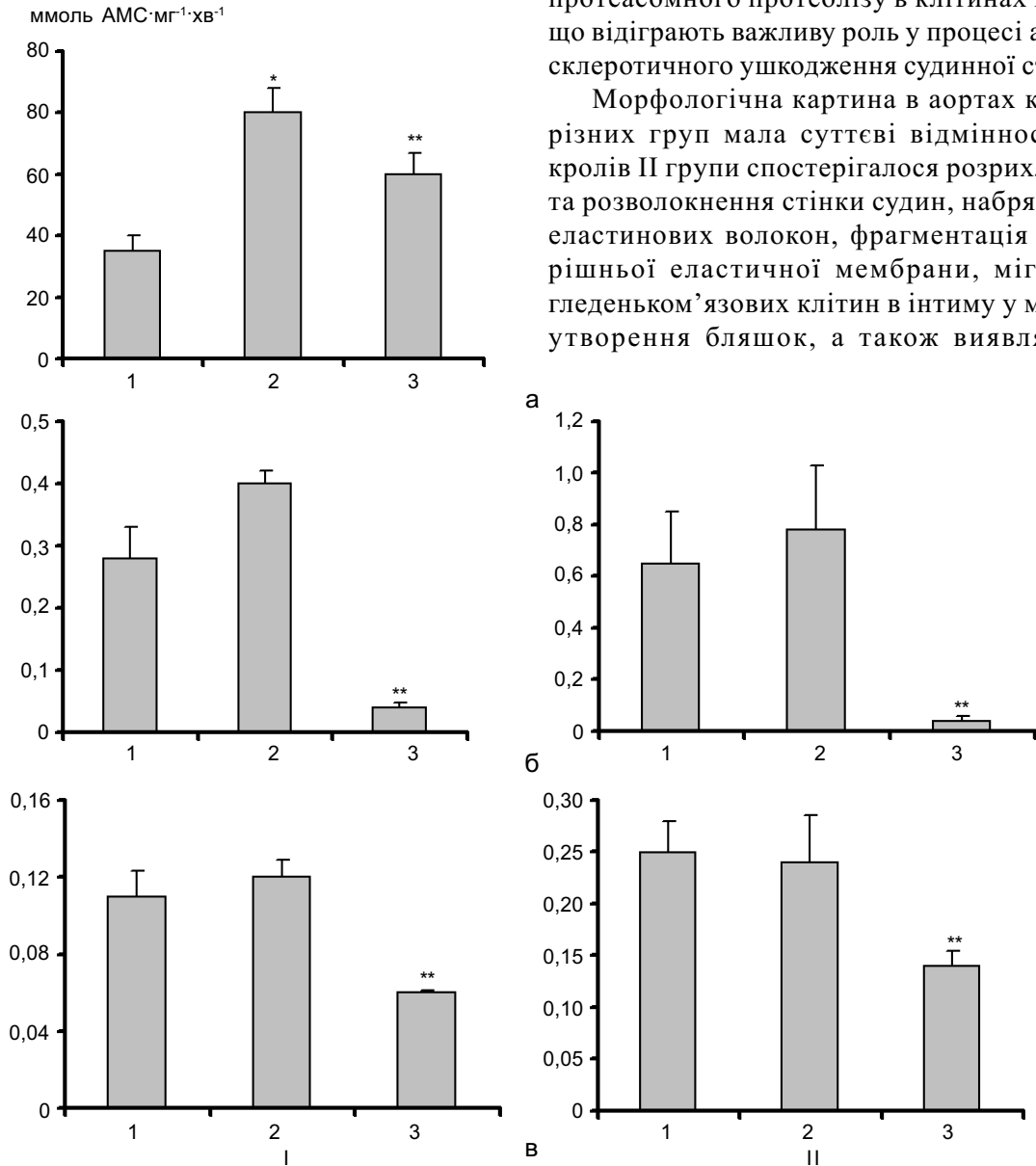
Динаміка активності протеасоми в тканинах серця при гіперхолестеринемії мали менш виражений характер, ніж в аорті. ПППГ-активність вірогідно не змінювалася (див. рисунок, в), а ХТП-активність підвищувалася на 14 % (див. рисунок, б). Вплив кверцетину на протеасомну активність тканин серця був не менш вираженим, ніж в аорті та проявлявся такими змінами: ХТП-активність знижувалась у 23 рази порівняно з тканинами серця тварин, що отримували лише холестеринний корм ($P < 0,05$), як і ПППГ-активність (на 56 %; $P < 0,05$).

Зміни у ізольованих клітинах крові були такими: ХТП-активність протеасомного протеолізу у моноцитах крові тварин II групи порівняно з контролем знижувалась на 40 %, а введення корвітину спричинювало зниження активності у 2,5 раза; ПППГ-активність не мала достовірних змін

у тварин II групи порівняно з контролем, а застосування корвітину знижувало її у 8,7 рази (таблиця). Подібні результати спостерігались і у лімфоцитах: ХТП-активність при атерогенній дієті підвищувалася на 10 %, ПГПГ-активність у 4 рази. Введення корвітину знижувало ХТП-активність у 16,5 разів, а ПГПГ-активність – у 7,4 рази

порівняно з тваринами, що отримували лише холестериновий корм. ХТП- і ПГПГ-активність у нейтрофільних гранулоцитах також знижувалася при застосуванні корвітину: у 5 разів та на 40 % відповідно порівняно з тваринами II групи. Отримані результати доводять, що застосування корвітину знижує ХТП- і ПГПГ-активності протеасомного протеолізу в клітинах крові, що відіграють важливу роль у процесі атеросклеротичного ушкодження судинної стінки.

Морфологічна картина в аортах кролів різних груп мала суттєві відмінності. У кролів II групи спостерігалося розрихлення та розволокнення стінки судин, набрякання еластинових волокон, фрагментація внутрішньої еластичної мембрани, міграція гледеньком'язових клітин в інтиму у місцях утворення бляшок, а також виявлялися



Зміни трипсиноподібної (а), хімотрипсиноподібної (б) та пептидилглютамілпептидгідролазної (в) активності у тканинах аорти (I) та серця (II): 1 – контроль; 2 – холестеринова дієта; 3 – холестеринова дієта та введення корвітину. AMC – 7-амідо-4-метилкумарин.

* P<0,05 порівняно з контролем, ** P<0,05 порівняно з холестериновою дієтою

ділянки повної чи часткової деендотелізації аорти. В окремих зонах судинної стінки інтима різко збільшена внаслідок розростання сполучної тканини та ліпідних включень, що виявлялися за допомогою забарвлення жироспецифічним барвником «Oil Red». Значне накопичення ліпідів виявляли як в інтимі, так і в медії судин. У зрізах аорти тварин, що отримували корвітин, не спостерігалось вираженого потовщення інтими, не було ознак накопичення й агрегації «Oil Red»-позитивних включень в ендотеліоцитах і гладеньком'язових клітинах. Водночас спостерігалось потоншення чи десквамація ендотелію. В цілому гістологічна картина судинної стінки свідчить про менший спупінь ураження аорти у тварин, що отримували під час холестеринової дієти ін'єкції корвітину.

Аналіз отриманих результатів дає змогу дійти висновку про патогенетичне значення підвищення всіх складових активності протеасоми або її окремих каталітичних субодиниць при атерогенезі, бо її пригнічення за допомогою корвітину протективно діяло на стінку аорти, суттєво зменшуючи відкладення ліпідів в інтимі. При цьому спостерігалися різкі зміни активності протеасоми як у тканинах, так і в ізольованих клітинах крові – активність мультикаталітичного протеасомного комплексу була значно нижчою в усіх досліджених

об'єктах. Найбільш виражено корвітин впливав на ХТП-активність (β_5 -субодиниця) протеасоми, що вважається найбільш значущою для формування мультикаталітичного комплексу та його функціонування.

Вважається, що активність протеасомного протеолізу насамперед змінюється залежно від стадії атеросклеротичних змін судинної стінки, а також рівня оксидативного стресу [4]. Можливий варіант розвитку подій у такому разі: постійний надмірний вплив етіологічного чинника на судинну стінку призводить до утворення в ній великої кількості модифікованих білків. Через деякий час компенсаторно підвищується протеасомна активність для адекватної їх утилізації, проте регуляторна її функція від цього порушується. Зміни регуляції внутрішноклітинних процесів в умовах продовження дії етіологічного чинника може призводити до різних патологічних проявів, але у будь-якому разі кількість білків, що потребують утилізації, буде підвищуватися, а «час очікування» – збільшуватися. Під час «очікування» білки зазнають додаткових змін, що значно утруднює, а іноді й унеможлиблює їх протеасомну утилізацію. В результаті все більша і більша кількість модифікованих білків накопичується в цитоплазмі і в комплексі з позаклітинними пошкоджу-

Протеасомна активність та її зміни у лейкоцитах крові кролів

Показник	Хімотрипсиноподібна активність	Пептидилглютамілпептид-гідролазна активність
Моноцити		
контроль	21,97 ± 3,5	0,059±0,008
холестеринова дієта	15 ± 1,8	0,05±0,01
холестеринова дієта та корвітин	6,13 ± 2,8 **	0,0057±0,002**
Лімфоцити		
контроль	8,46 ± 1,6	0,1 ± 0,03
холестеринова дієта	9,2 ± 2,9	0,4 ± 0,1*
холестеринова дієта та корвітин	0,55 ± 0,18 **	0,054 ± 0,01 **
Нейтрофіли		
контроль	3,83 ± 0,6	0,2 ± 0,05
холестеринова дієта	3,56 ± 0,55	0,11 ± 0,1
холестеринова дієта та корвітин	0,7 ± 0,13 **	0,08 ± 0,01

вальними факторами викликає оксидативний стрес такої сили, що протеасомний протеоліз також виходить з ладу і настає стадія декомпенсації, яка залежно від обставин завершується некротичною, аутофагічною чи апоптотичною загибеллю клітини. Саме така ситуація спостерігається на другій стадії атеросклерозу і спричинює атероматозні зміни. З іншого боку, прозапальна відповідь клітин організму, що відбувається при гіперхолестеринемії (активація NFκB, експресія молекул клітинної адгезії тощо), також потребує залучення протеасомного протеолізу [12]. В експерименті показано, що навіть однократне застосування протеасомного інгібітора MG-132 на 75 % попереджує утворення неоінтимі після ендотеліальної денудації сонних артерій, а також зменшує інфільтрацію макрофагами та проліферацію гладеньком'язових клітин [21]. Також доведено, що пригнічення протеасомної активності дещо попереджує гіпертрофію судинної стінки у щурів зі спонтанною та експериментально викликаною гіпертензією, що може пояснюватися зниженою експресією ендотеліну-1 [23].

Вищенаведені особливості перебігу атеросклеротичного ушкодження судинної стінки роблять застосування біофлаваноїдів, зокрема кверцетину, в профілактиці та терапії атеросклеротичних ушкоджень судин досить обґрунтованим. Зрозуміло, що біофлаваноїди, окрім здатності пригнічувати протеасому, мають багато антиатерогенних властивостей. Кверцетин є одним з найбільш розповсюджених і доступних поліфенолів для людини, доведена його біологічна активність як антиоксиданта, інгібітора аденілатциклази, ліпоксигенази та багатьох протеїнкіназ [8, 13, 24]. Ці та інші властивості разом пояснюють механізми впливу на попередження чи запуск апоптозу клітин, вазорелаксацію, проти-запальний, антипроліферативний ефекти та багато інших процесів, що причетні до патогенезу атеросклеротичних уражень.

Біофлаваноїди знижують здатність ліпопротеїнів низької щільності до окиснення та агрегації [10], що пов'язано з їх протективними властивостями щодо α-токоферолу, який є головним антиоксидантом у складі ліпопротеїнів низької щільності людини. Застосування біофлаваноїдів знижує активність синтезу та кількість ендотеліну-1 у дослідах з моделювання оксидативного стресу [15, 23]. Кверцетин знижує експресію E-селектину та молекул клітинної адгезії [19]. Важливою здатністю цієї групи речовин з огляду на можливе антиатерогенне застосування є попередження гіпертрофії гладеньком'язових клітин судинної стінки внаслідок пригнічення активності мітогенактивууючих протеїнкіназ. Це великою мірою пов'язано з антиоксидантними властивостями кверцетину. Крім того, за даними Kamada та співавт. [16], кверцетин накопичується в ділянках аорти, котрі уражені атеросклерозом, і деякий час залишається там, перешкоджаючи окисненню ліпідів [16].

Наскільки вагомими є антипротеасомні характеристики кверцетину у його загальній антиатерогенній дії невідомо, проте величезне та універсальне значення протеасомного протеолізу у функціонуванні клітин дає змогу припустити, що переважна більшість описаних вище ефектів кверцетину зумовлена саме впливом на протеасому, а наслідком її пригнічення є зміни у тих чи інших білкових системах [7]. У будь-якому разі отримані нами результати підтверджують зміни активності протеасомного протеолізу під час холестериніндукованого атеросклеротичного ураження судинної стінки, показують вплив гіперхолестеринової дієти на активність протеасомного протеолізу у тканинах серця і лейкоцитах, а також безпосередньо вказують на антиатерогенні властивості корвітину, що реалізуються, зокрема, через вплив на активність протеасомного протеолізу в тканинах аорти, серця та ізольованих лейкоцитах крові.

Практичне значення отриманих резуль-

татів є цілком очевидним. У разі значного прискорення атерогенезу при хірургічному remodelюванні судин, балонній дилатації, стентуванні пригнічення активності протеасоми, а разом з тим і проліферації гладеньком'язових, експресії прозапальних цитокінів і молекул клітинної адгезії тощо, повинно забезпечити ангиопротективну дію. Водорозчинний, малотоксичний препарат для внутрішньовенного введення, – корвітин, на нашу думку, є вельми перспективним фармакологічним препаратом, що може значно підвищити ефективність вищезгаданих втручань.

Д.А. Пашевин, В.Е. Досенко, Ю.В. Биць, А.А. Мойбенко

АНТИАТЕРОГЕННЫЙ ЭФФЕКТ КОРВИТИНА: ВЛИЯНИЕ НА ПРОТЕАСОМНУЮ АКТИВНОСТЬ В АОРТЕ, СЕРДЦЕ И КЛЕТКАХ КРОВИ

Изучали изменения протеасомного протеолиза при моделировании холестерина атеросклероза у кроликов. Установлено, что трипсиноподобная активность протеасомы возрастает в 2,4 раза ($P < 0,05$), химо-трипсиноподобная на 43 %, ПППГ на 10 %. В тканях сердца наблюдалось повышение трипсиноподобной активности на 14 %. Применение корвитина (водорастворимый препарат кверцетин) приводило к значительному снижению активности протеасомы как в тканях, так и в лейкоцитах крови. При этом выраженность атеросклеротических изменений в аорте была значительно меньшей. Полученные результаты свидетельствуют об ангиопротекторных свойствах корвитина, которые опосредованы действием на протеасомный протеолиз.

Ключевые слова: протеасомная активность, атеросклероз, аорта, лейкоциты.

D.O.Pashevina, V.E.Dosenko, Yu.V.Byts, A.A.Moibenko

ANTIATHEROGENIC PROPERTY OF "KORVITIN": EFFECT ON PROTEASOME ACTIVITY IN AORTA, HEART AND BLOOD CELLS

We studied the changes in proteasomal proteolysis during modeling of rabbit cholesterol-induced atherosclerosis. It was determined that in aorta the TL activity of proteasome increased 2,4-fold ($P < 0,05$), CTL activity increased by 43 %, and PGPG – by 10 %. In heart tissue it was observed the increase of CTL proteasome activity by 14 %. The application of "Korvitin"

(water-soluble form of quercetine) followed by considerable decrease of proteasomal activity both in tissues (aorta and heart) and leucocytes. The intensity of atherosclerotic changes in aorta was significantly smaller. Obtained data suggest that "Korvitin" reveals angioprotective properties mediated by its effect on proteasomal proteolysis.

O.O.Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гольдберг А., Еледж С., Гарпер Дж.В. Механізми клітинної смерті // Світ науки. – 2001. – № 2. – С.32–37.
2. Досенко В.Є., Нагібін В.С., Тумановська Л.В. та ін. Вплив кверцетину на активність пурифікованої 20 S та 26 S протеасоми та активність протеасоми в ізольованих кардіоміоцитах // Біомед. хімія. – 2006 – 52, №2. – С. 138–145.
3. Пашевін Д.О., Досенко В.Є., Биць Ю.В., Мойбенко О.О. Активність протеасоми в тканинах аорти, серця та лейкоцитах крові в процесі моделювання холестеринного атеросклерозу // Фізіол. журн. – 2007 – 53, №6. – С. 3–10.
4. Bulteau A.L., Lundberg K.C., Humphries K.M. et al. Oxidative modification and inactivation of The proteasome during coronary occlusion/reperfusion // J. Biol. Chem. – 2001. – 276. – P.30057–30063.
5. Campbell B., Adams J., Shin Y.K., Lefer A.M. Cardioprotective effects of a novel proteasome inhibitor following ischemia and reperfusion in the isolated perfused rat heart // J. Mol. Cell Cardiol. – 1999. – 31. – P.467–476.
6. Chen M.S., Chen D., Dou Q.P. Inhibition of proteasome activity by various fruits and vegetables is associated with cancer cell death // In vivo. – 2004. – 18. – P. 73–80.
7. Dahlmann B. Role of proteasomes in disease. – BMC Biochem. – 2007 – 22. – P. 1–12.
8. Davies S.P., Reddy H., Caivano M., Cohen P. Specificity and mechanism of action of some commonly used protein kinase inhibitors // Biochem. J. – 2000. – 351. – P.95–105.
9. Drexler H.C., Risau W., Konecny M.A. Disregulation of proteasome function induces programmed cell death in proliferating endothelial cells // FASEB J. – 2000. – 14. – P.65–77.
10. de Whalley C., Rankin S., Hoult J. et al. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages // Biochem. Pharmacol. – 1990. – 39. – P.1743–1750.
11. Fang C–H., Wang J.J., Hobler S. et al. Proteasome blockers inhibit protein breakdown in skeletal muscle after burn injury in rats // Clin. Sci. – 1998. – 95. – P.225–233.
12. Hermann J., Gulati R., Napoli C. et al. Oxidative stress-related increase in ubiquitination in early coronary atherogenesis // FASEB J. – 2003. – 17, №12. – P.1730–1732.

13. Hubbard G.P., Stevens J.M., Cicmil M. et al. Quercetin inhibits collagenstimulated platelet activation through inhibition of multiple components of the glycoprotein VI signaling pathway // *J. Thromb. Haemost.* – 2003. – **1**. – P.1079–1088.
14. Itoh M., Takaoka M., Shibata A. et al. Preventive effect of lactacystin, a selective proteasome inhibitor, on ischemic acute renal failure in rats // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2001. – **298**. – P.501–507.
15. Jiménez R., Lypcz-Sepúlveda R., Kadmiri M. et al. Polyphenols restore endothelial function in DOCA-salt hypertension: role of endothelin-1 and NADPH oxidase // *Free Radic. Biol. and Med.* – 2007. – **43**(3). – P.462–473.
16. Kamada C., da Silva E.L., Ohnishi-Kameyama M. et al. Attenuation of lipid peroxidation and hyperlipidemia by quercetin glucoside in the aorta of high cholesterol-fed rabbit // *Free Radic. Res.* – 2005. – **39**, №2. – P.185–194.
17. Kukan M. Emerging roles of proteasomes in ischemia-reperfusion injury of organs // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2004. – **55**. – P.3–15.
18. Lecker S., Jagoe R.T., Gilbert A. et al. Multiple types of skeletal muscle atrophy involve a common program of changes in gene expression // *FASEB J.* – 2004. – **18** – P.39–51.
19. Lotito S.B., Frei B. Dietary flavonoids attenuate tumor necrosis factor alpha-induced adhesion molecule expression in human aortic endothelial cells. Structure-function relationships and activity after first pass metabolism // *J. Biol. Chem.* – 2006. – **281**(48). – P.37102–37110.
20. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L. et al. Protein measurement with Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* – 1951. – **193**. – P.265–275.
21. Meiners S., Laule M., Rother W. et al. Ubiquitin-proteasome pathway as a new target for the prevention of restenosis // *Circulation.* – 2002. – **105**. – P.483–489.
22. Nam S., Smith D.M., Dou Q.P. Ester bond-containing tea polyphenols potently inhibit proteasome activity in vitro and in vivo // *J. Biol. Chem.* – 2001. – **276**. – P.13322–13330.
23. Okamoto H., Takaoka M., Ohkita M. et al. A proteasome inhibitor lessens the increased aortic endothelin-1 content in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats // *Eur. J. Pharmacol.* – 1998. – **350**, №1. – P.11–12.
24. Sadik C.D., Sies H., Schewe T. Inhibition of 15-lipoxygenases by flavonoids: structure-activity relations and mode of action // *Biochem. Pharmacol.* – 2003. – **65**. – P.773–781.
25. Temparis S., Asensi M., Taillandier D. et al. Increased ATP-ubiquitin-dependent proteolysis in skeletal muscles of tumor-bearing rats // *Cancer Res.* – 1994. – **54** – P.5568–5573.
26. Tummala P.E., Chen X.L., Sundell C.L. et al. Angiotensin II induces vascular cell adhesion molecule-1 expression in rat vasculature: A potential link between the renin-angiotensin system and atherosclerosis // *Circulation.* – 1999. – **11**. – P.1223–1229.
27. Tsukamoto O., Minamino T., Okada K. et al. Depression of proteasome activities during the progression of cardiac dysfunction in pressure-overloaded heart of mice // *Biochem. and Biophys. Res. Com.* – 2006. – **340**. – P.1125–1133.
28. Versari D., Herrmann J., Gossel M. et al. Dysregulation of the ubiquitin-proteasome system in human carotid atherosclerosis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2006. – **26**. – P.2132–2139.
29. Wenner C., Lorkowski S., Engel T., Cullen P. Apolipoprotein E in macrophages and hepatocytes is degraded via the proteasomal pathway // *Biochem. Biophys. Res. Com.* – 2001. – **2**. – P.608–614.
30. Wojcik C., di Napoli M. Ubiquitin-proteasome system and proteasome inhibition: new strategy in Stroke therapy // *Stroke.* – 2004. – **6**. – P.1506–1518.
31. Zhang L., Zhang Z.C., Zhang R.L. et al. Postischemic (6-Hour) treatment with recombinant human tissue plasminogen activator and proteasome inhibitor PS-519 reduces infarction in a rat model of embolic focal cerebral ischemia // *Stroke.* – 2001. – **32**. – P.2926–2931.

*Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ;
Нац. мед. ун-т ім. О.О. Богомольця, Київ
E-mail: DeN-Win@ukr.net*

*Матеріал надійшов до
редакції 10.11.2008*