

ВПЛИВ БІОАКТИВНИХ АЛЬДЕГІДІВ НА ВЛАСТИВОСТІ ЖЕЛАТИНИ

І. П. КРИСЮК, Н. Д. ДЗВОНКЕВИЧ, Т. Т. ВОЛОДИНА,
Н. М. ПОПОВА, С. Г. ШАНДРЕНКО

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
e-mail: iryna-kr@yandex.ua

Біоактивні альдегіди є одними з основних чинників постсинтетичних модифікацій протеїнів, що, в свою чергу, є причиною та наслідком багатьох захворювань. В дослідях *in vitro* проведено порівняльне дослідження модифікуючої дії на желатину низки альдегідів, які утворюються ендогенно. Розчин желатини (20 мМ) інкубували з: рибозою, дезоксирибозою, гліюксалем, метилгліюксалем, формальдегідом, акролеїном (20 мМ кожний) та з їх поєднаннями, в 0,1 М Na-фосфатному буфері (рН 7,4), що містив 0,02% азиду натрію, при 37 °С в темряві протягом 30 діб. Досліджували флуоресцентні властивості утворених аддуктів та електрофоретичну характеристику молекулярної маси. Показано, що утворені аддукти різняться за спектрами флуоресценції. За інтенсивністю флуоресценції встановлено шкалу альдегідів: формальдегід < метилгліюксаль < акролеїн < рибоза < дезоксирибоза < гліюксаль. Результати електрофоретичного дослідження свідчать, що за дії альдегідів утворюються міжпептидні зшивки та перерозподіл у бік збільшення молекулярної маси фрагментів желатини. За цим показником встановлено такий рейтинг: рибоза < дезоксирибоза < акролеїн < гліюксаль < формальдегід < метилгліюксаль. У разі порівняння двох вищенаведених рейтингів видно, що вони не збігаються: альдегіди, які мають найнижчу здатність формувати флуоресцентні аддукти, виявляють найвищу здатність утворювати міжмолекулярні зшивки в протеїнах. Тому оцінка інтенсивності постсинтетичних модифікацій, наприклад, в колагені шкіри, потребує залучення комплексних підходів для використання в діагностичній практиці.

Ключові слова: біоактивні альдегіди, желатина, модифікація протеїнів, флуоресценція, аддукти.

Модифікація структури протеїнів під час неензиматичного глікування супроводжується утворенням ранніх, проміжних та кінцевих продуктів, які різняться своїми біохімічними, фізико-хімічними та спектральними характеристиками. Альдегіди є одними з головних чинників постсинтетичних модифікацій протеїнів, які в свою чергу є ключовими в причинно-наслідковому ланцюжку низки захворювань. Альдегіди, що утворюються в організмі в процесі метаболізму, різняться за своєю фізіологічною дією та токсичністю. Вони можуть конкурувати між собою за вплив на ензими та структурні протеїни, демонструючи підсилення або зменшення ефекту їх комбінованого впливу. Існує кілька шляхів перетворення альдегідів в процесі метаболізму. Альдегіди, що утворюються внаслідок карбонільного стресу, завдяки редукуємим властивостям здатні неензиматично

взаємодіяти з SH- та NH₂-групами протеїнів або пептидів, у тому числі і позаклітинного матриксу, що призводить до незворотних модифікацій з утворенням різноманітних аддуктів. До таких альдегідів відносять, зокрема, моносахариди (глюкоза, фруктоза, рибоза, гліцеральдегід-3-фосфат), що являють собою альдози та кетози [1]. Останні утворюють нестійкі шиффові основи з амінокислотними залишками протеїнів. Цим запускається низка так званих реакцій Майяра або глікування [2–4]. Шиффові основи перетворюються у стабільніші кетоаміни – продукти Амадорі [5]. Останні внаслідок реакцій дегідратації та конденсації утворюють відповідні аддукти, дикарбонільні інтермедіати та внутрішньо- і міжмолекулярні зшивки [6, 7]. Незворотні стабільні кон'югати, що утворюються при цьому, отримали назву кінцевих продуктів глікування «advanced glycation end product» – AGEs [8, 9]. Саме вони здатні до флуоресценції,

а також до поглинання світла в УФ- і видимій областях спектра, що обумовлює зміну кольору протеїнів [10, 11]. Завдяки тривалому терміну життя AGEs використовують як біомаркери старіння та різних захворювань [8]. Їх утворення значно посилюється під час хвороб обміну речовин, що супроводжуються гіперпродукцією редуруючих моносахаридів, які значно посилюють утворення AGEs [12]. Цьому сприяє автоокислення альдо- та кетоформ з утворенням активних форм кисню, а також реактогенних α -оксоальдегідів (глюкسال, метилглюкسال, 3-дезоксиглюкозон та ін.) та формальдегіду, які, в свою чергу, можуть взаємодіяти з аміногрупами протеїну. Цей процес супроводжується утворенням специфічних флуоресцентних продуктів (рис. 1) [1, 13, 14]. Слід зауважити, що не всі сполуки, здатні до флуоресценції, є зшивками або можуть їх утворювати [15, 16].

За різних патологічних станів, що супроводжуються оксидативним стресом, крім активних форм кисню, відбувається утворення різноманітних альдегідів через поліольний шлях пероксидації жирних кислот. Це насичені альдегіди (етаналь, гексаналь), ненасичені (акролеїн, 4-гідрокси-2-ноненаль та ін.), а та-

кож дикарбоніли (глюкسال, метилглюкسال, малоновий діальдегід) (рис. 2) [17,18]. Останні легко утворюють зшивки в протеїнах, ДНК та амінофосфоліпідах і тому особливо небезпечні. Вони також здатні неензиматично взаємодіяти із протеїнами, утворюючи незворотно модифіковані кінцеві продукти ліпоксигенації «advanced lipoxidation end-products» – ALEs [119]. AGEs та ALEs змінюють структуру і функцію протеїнів, відіграють провідну роль у патогенезі хронічних захворювань [20, 21].

Мета роботи – провести порівняльне дослідження впливу низки альдегідів, що утворюються ендогенно, на постсинтетичну модифікацію пептидів колагену. Об'єктом дослідження обрано желатину, оскільки вона містить пептиди колагенової природи та, на відміну від колагену, є розчинною за фізіологічних значень pH. Неензиматичне глікування протеїнів супроводжує різні патології, пов'язані з цукровим діабетом, помутнінням кристалика та ін. Тому запобігання цьому процесу є актуальним питанням сучасної медицини, а дані щодо флуоресценції зразків шкіри та кристалика ока, використовують для діагностики ступеня розвитку патологічного стану.

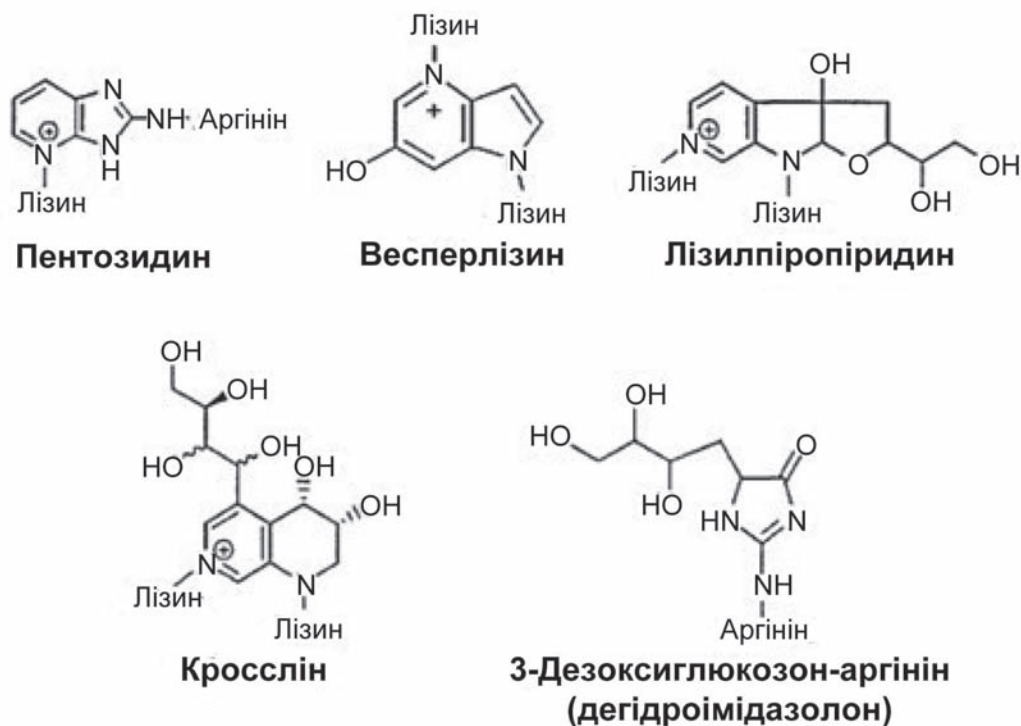
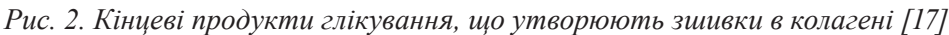


Рис. 1. Кінцеві продукти глікування, що виявляють здатність до флуоресценції [14]



У роботі використовували комерційний препарат желатини (Fluka, Німеччина). Також використовували такі реактиви: D-рибозу (AppliChem, США); гліюксаль, метилгліюксаль, акролейн (Альфарус, Україна); формальдегід, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{H}_2\text{O}$, $\text{NaNH}_2\text{PO}_4 - \text{H}_2\text{O}$, NaN_3 , KCl (ХімМед, Україна).

Спектри флуоресценції зразків визначали на спектрофлуориметрі (Quanta Master-40, Канада), інтенсивність емісії флуоресценції при $\lambda_{\text{ex}} = 360$ нм та $\lambda_{\text{em}} = 460$ нм на флуориметрі FL-800 (Biotek, США) [11]. Ступінь модифікації структури протеїну досліджували за зміною молекулярної маси за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі (ПААГ) [22], розподіл величини абсорбції в гелі оцінювали за допомогою програми Densital [23]. Статистичну обробку результатів проводили, використовуючи програму Excel 2007, а вірогідність змін перевіряли

Результати та обговорення

Одержані результати свідчать, що утворені флуоресцентні аддукти за взаємодії желатини з альдегідами різняться хімічною структурою, що описують різні максимуми довжини хвиль, та формою спектрів флуоресценції, наприклад: наявність зміни тонкої структури, напівширина (рис. 3). Для желатини $\lambda_{\text{ex max}}$ становила без альдегідів – 335 нм, у разі додавання альдегідів: рибоза – 360 нм, метилглюксаль – 413 нм, рибоза + метилглюксаль – 420 нм; $\lambda_{\text{em max}}$ без альдегідів – 431 нм, за додавання альдегідів: рибоза – 435 нм, метилглюксаль – 469 нм, рибоза + метилглюксаль – 476 нм.

Показано, що рибоза, дезоксирибоза, гліюксаль, акролейн і формальдегід взаємодіють із розчинами желатини з утворенням аддуктів флуоресценції, що досягає максимальних значень на 30-ту добу ($\lambda_{em}/\lambda_{ex}$ 360/420 нм)

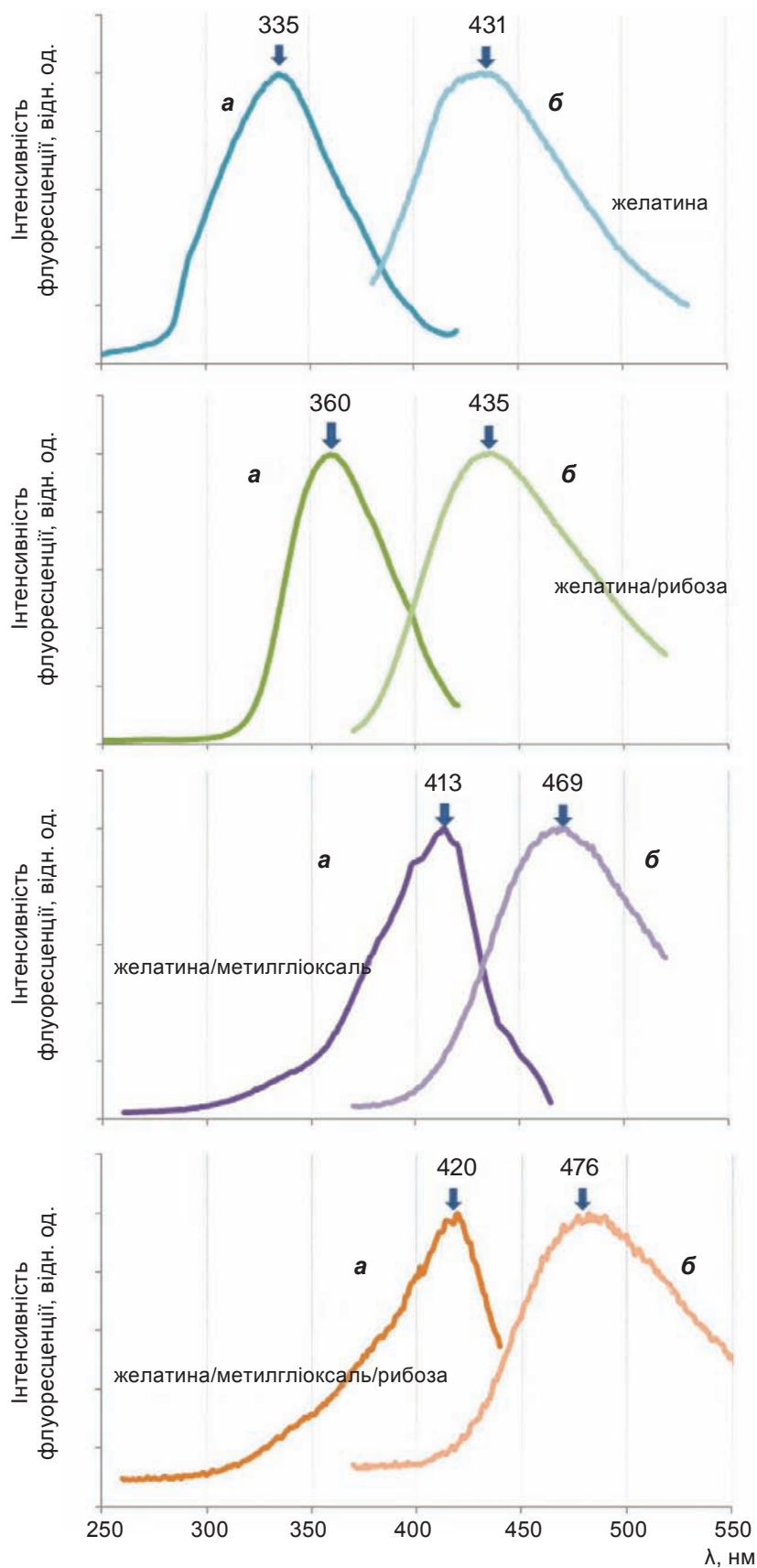


Рис. 3. Спектри збудження (а) та емісії (б) флуоресценції ($\lambda_{\text{ex}} = 360$ нм, $\lambda_{\text{em}} = 450$ нм) препаратів желатини за дії ефекторів через 30 діб інкубації без світла при 37 °C, pH 7,4

(рис. 4). У той самий час для метилглюксалю найбільша інтенсивність флуоресцентних аддуктів спостерігається за 1 добу, а на 30-ту добу знижується в 5 разів. Це може свідчити про утворення флуоресцентних аддуктів метилглюксалю із желатиною, які з часом переходять у нефлуоресцентну форму, що, в свою чергу, обумовлено особливістю структурних перетворень цього альдегіду. За вивчення впливу рибози і дезоксирибози на утворення флуоресцентних аддуктів желатини виявили зростання флуоресценції на 10- та 30-ту добу (порівняно з першою) в 6 та 30 разів відповідно, а для дезоксирибози в 3,4 і 25 разів відповідно. Рівень флуоресценції вважають показником кількості утворених аддуктів, тому згідно з одержаними результатами дезоксирибоза утворює їх май-

же у 2 рази більше, ніж рибоза, що є наслідком структурної відмінності цих сполук. Встановлено, що глюксаль під час інкубації із желатиною за 10 і 30 днів збільшує утворення флуоресцентних аддуктів у 4,8 та 7 разів відповідно. Водночас додавання рибози до інкубаційної суміші не впливає на утворення аддуктів желатини з глюксалем і метилглюксалем, тоді як дезоксирибоза із глюксалем за 10 і 30 днів збільшує утворення флуоресцентних аддуктів в 2,8 і 3,7 рази відповідно. Цей рівень майже на 25% нижчий за такий у разі дії однієї дезоксирибози. Акролеїн із желатиною за першу добу утворює значну кількість флуоресцентних аддуктів, рівень яких через 30 днів збільшується ще на 40%. Додавання до інкубаційної суміші як рибози, так і дезоксирибози значно гальмує цей процес (за

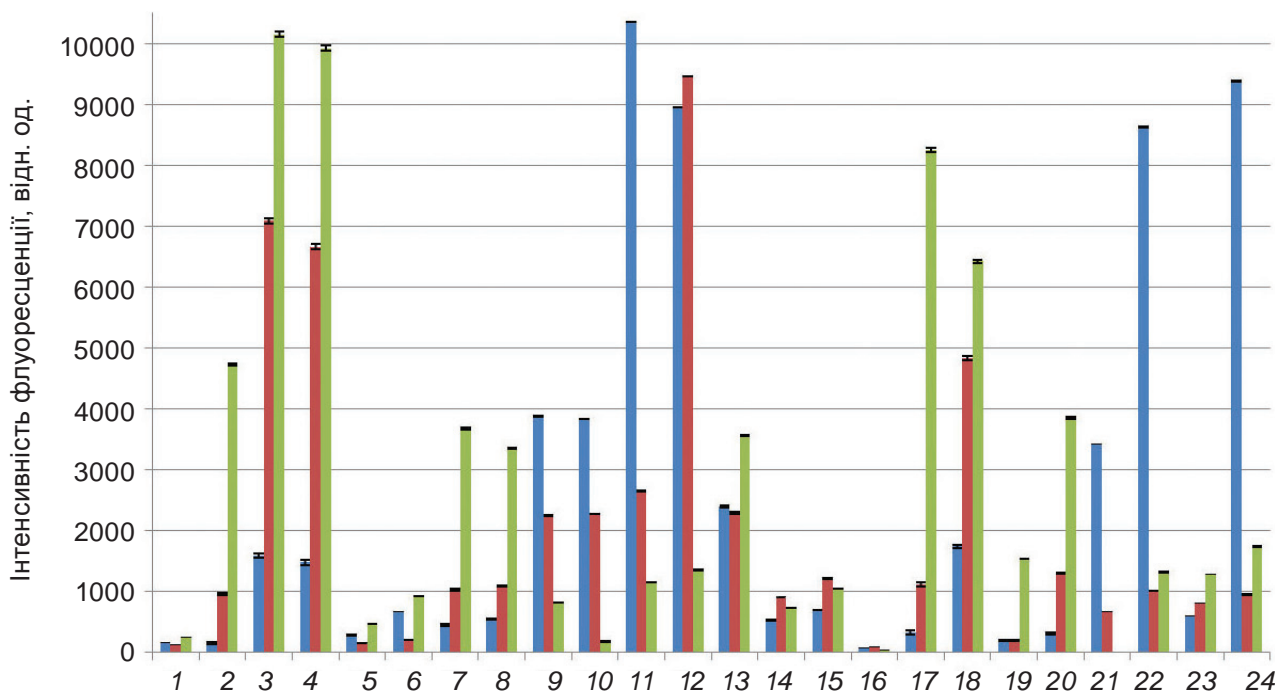


Рис. 4. Середні значення інтенсивності флуоресценції ($\lambda_{ex} = 360$ нм, $\lambda_{em} = 450$ нм) в препаратах желатини після інкубації без світла при 37°C , pH 7,4 за дії альдегідів ($n = 3$) впродовж 1(■), 10(■) та 30(■) діб. 1 – желатина без альдегідів. Желатина з альдегідами: 2 – рибозою; 3 – глюксалем; 4 – глюксалем+рибозою; 5 – формальдегідом; 6 – формальдегідом+рибозою; 7 – глюксалем+формальдегідом; 8 – глюксалем+формальдегідом+рибозою; 9 – метилглюксалем; 10 – метилглюксалем+рибозою; 11 – метилглюксалем+формальдегідом; 12 – метилглюксалем+формальдегідом+рибозою; 13 – акролеїном; 14 – акролеїном+рибозою; 15 – акролеїном+формальдегідом; 16 – акролеїном+формальдегідом+рибозою; 17 – дезоксирибозою; 18 – дезоксирибозою+глюксалем; 19 – дезоксирибозою+формальдегідом; 20 – дезоксирибозою+глюксалем+формальдегідом; 21 – дезоксирибозою+метилглюксалем; 22 – дезоксирибозою+метилглюксалем+формальдегідом; 23 – дезоксирибозою+акролеїном; 24 – дезоксирибозою+акролеїном+формальдегідом. Зміни в усіх дослідних групах по відношенню до контролю вірогідні ($P < 0,05$)

результатом на 30 добу на 84 та 64% відповідно). За взаємодії формальдегіду із пептидами желатини він виступає антагоністом до дії рибози, гліоксалу, дезоксирибози і акролеїну, пригнічує утворення флуоресцентних аддуктів цих альдегідів: для рибози – в 5 разів, дезоксирибози – в 30, гліоксалу – в 2,7, акролеїну – в 4 рази. Лише метилгліоксаль з формальдегідом збільшує утворення флуоресцентних аддуктів за першу добу майже в 4 рази, а далі відбувається перетворення останніх на продукти, що не флуоресціюють. Тенденція згідно з даними утворення флуоресцентних аддуктів на 60-ту добу зберігається.

Результати досліджень показали, що рибоза не впливає на утворення флуоресцентних аддуктів желатини із гліоксалем та метилгліоксалем, але виявляє слабку синергічну дію щодо формальдегіду. Сумісна дія акролеїну, формальдегіду і рибози не призводить до утворення флуоресцентних аддуктів в жодному із зазначених термінів. Отже, формальдегід істотно знижує аддуктоутворюючі властивості цих альдегідів.

Не дивлячись на те, що формальдегід має слабо виражену здатність до утворення флуоресцентних аддуктів, йому притаманна активна полімеризуюча дія. На рис. 5 показано полімеризуючу дію альдегідів на фрагменти желатини. При цьому з часом має місце зникнення низькомолекулярних протеїнових зон.

Результати електрофорезу в ПААГ свідчать про перерозподіл молекулярної маси пептидів желатини під впливом альдегідів, що виявляється в зниженні відсотка низькомолекулярних фрагментів желатини. Так, у широкому діапазоні протеїнових зон желатини (10–350 кДа) проби тільки із желатини містять 98% низькомолекулярних пептидів, тоді як після інкубації її з рибозою – 37%, акролеїном – 27%, гліоксалем – 18%, формальдегідом – 17%, метилгліоксалем – 1,5%. Продовження строків взаємодії альдегідів із желатиною (10, 30, 60 діб) призводить до посилення вищезазначеного ефекту.

Результати дослідження свідчать, що використані в досліді альдегіди різняться за спрямованістю утворення протеїнових модифікацій. Так, формальдегід, наприклад, маючи найнижчу здатність утворювати флуоресцентні аддукти, виявляє найвищу спроможність формувати міжмолекулярні протеїнові зшивки, тому у разі гіперпродукції формальдегіду флуоресценція поверхні шкіри або інших біологічних зразків не повною мірою буде характеризувати інтенсивність постсинтетичних модифікацій протеїнів.

Одержані результати свідчать про необхідність залучення комплексних підходів у клінічній діагностиці для оцінки постсинтетичних модифікацій протеїнів, не обмежуючись тільки флуоресцентними вимірюваннями поверхні шкіри, зразків крові та сітківки ока.

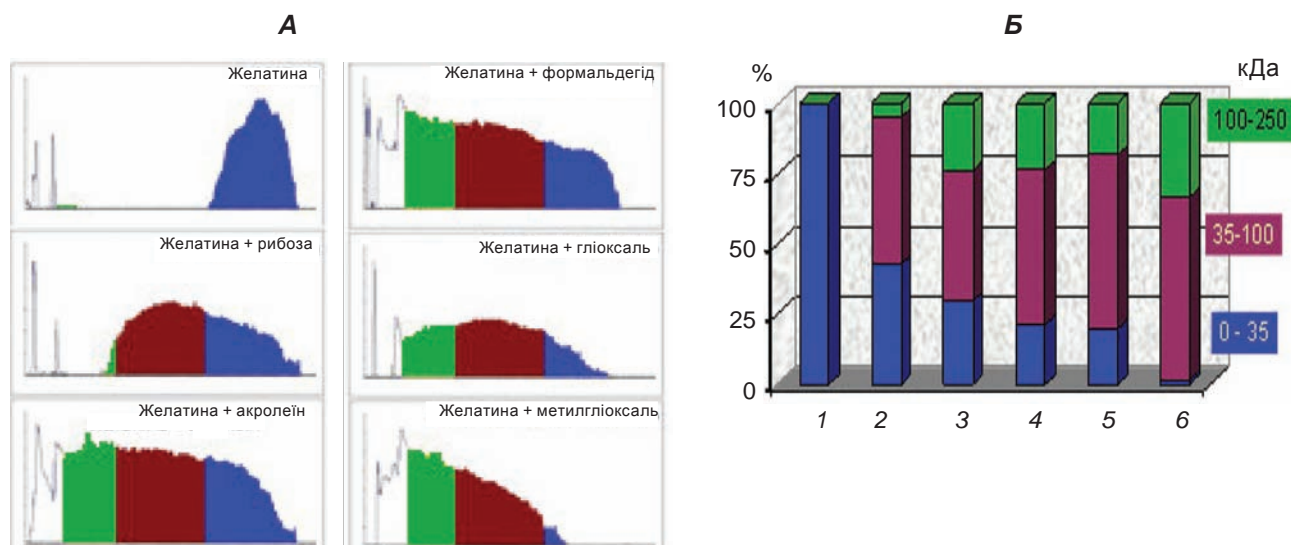


Рис. 5. Аналіз електрофоретичного розподілу желатини через 2 місяці: денситограма електрофореграми (А); розподіл за трьома зонами молекулярної маси (Б), 1 – желатина без альдегідів. Желатина з альдегідами: 2 – рибозою; 3 – акролеїном; 4 – формальдегідом; 5 – гліоксалем; 6 – метилгліоксалем

У дослідях *in vitro* на препаратах желатини порівняли модифікуючі властивості ендogenous альдегідів. За дії альдегідів на желатину утворюються флуоресцентні аддукти, та змінюється електрофоретичний розподіл молекулярної маси, що свідчить про модифікацію структури. Не всі альдегіди, що вивчалися, здатні утворювати флуоресцентні аддукти, а їхня флуоресценція не відтворює повністю процес модифікування пептидів. Шкала модифікуючої активності альдегідів за 30 діб від найактивнішого по здатності формувати флуоресцентні аддукти желатини: гліоксаль, дезоксирибоза, рибоза, метилгліоксаль, акролеїн, формальдегід. Альдегіди відрізняються динамікою утворення флуоресцентних аддуктів. Шкала модифікуючої активності альдегідів за 30 діб від найактивнішого за швидкістю утворення аддуктів: метилгліоксаль, акролеїн, гліоксаль, дезоксирибоза, рибоза, формальдегід. Альдегіди, що майже не утворюють флуоресцентні аддукти, здатні до модифікуючої дії шляхом утворення міжфрагментарних зшивань. Шкала модифікуючої активності альдегідів за 30 діб від найактивнішого за полімеризуючими властивостями: метилгліоксаль, гліоксаль, формальдегід, акролеїн, рибоза, дезоксирибоза. Утворення флуоресцентних аддуктів не пов'язане з полімеризуючими властивостями альдегідів. При комбінованій дії альдегідів на желатину формальдегід, наприклад, істотно знижує аддуктутворюючі властивості інших альдегідів. Результати досліджень показали, що залежно від особливостей перебігу в організмі карбонільного стресу необхідно коректно вибирати значущі показники постсинтетичних модифікацій.

ВЛИЯНИЕ БИОАКТИВНЫХ АЛЬДЕГИДОВ НА ЖЕЛАТИН

И. П. Крисюк, Н. Д. Дзвонкевич,
Т. Т. Володина, Н. Н. Попова,
С. Г. Шандренко

Институт биохимии им. А. В. Палладина
НАН Украины, Киев;
e-mail: iryna-kr@yandex.ua

Биоактивные альдегиды являются одними из основных факторов постсинтетических модификаций протеинов, что, в свою очередь,

является причиной и следствием многих заболеваний. В опытах *in vitro* проведено сравнительное исследование модифицирующего действия на желатин ряда альдегидов, образующихся эндогенно. Раствор желатина (20 мМ) инкубировали с: рибозой, дезоксирибозой, глиоксалем, метилглиоксалем, формальдегидом, акролеином (20 мМ каждый) и с их комбинациями, в 0,1 М Na-фосфатном буфере (рН 7,4), содержащем 0,02% азида натрия, при 37 ° С, в темноте в течение 30 суток. Исследовали флуоресцентные свойства образованных аддуктов и электрофоретическое распределение молекулярной массы. Показано, что образованные аддукты имеют разные спектры флуоресценции. По интенсивности флуоресценции установлено следующую шкалу альдегидов: формальдегид < метилглиоксаль < акролеин < рибоза < дезоксирибоза < глиоксаль. Результаты электрофоретических исследований свидетельствуют, что при действии альдегидов происходит образование межпептидных сшивок и перераспределение молекулярных масс фрагментов желатин в сторону увеличения. По этому показателю установлен следующий рейтинг: рибоза < дезоксирибоза < акролеин < глиоксаль < формальдегид < метилглиоксаль. При сравнении двух вышеприведенных рейтингов видно, что они не совпадают. Альдегиды, которые имеют самую низкую способность формировать флуоресцентные аддукты, проявляют наивысшую способность образовывать межмолекулярные протеиновые сшивки. В связи с этим оценка интенсивности постсинтетических модификаций, например, в коллагене кожи, требует привлечения комплексных подходов, для использования в диагностической практике.

Ключевые слова: биоактивные альдегиды, желатин, модификация протеинов, флуоресценция, аддукты.

EFFECT OF BIOACTIVE ALDEHYDES ON GELATIN PROPERTIES

I. P. Krysyuk, N. D. Dzvonkevych,
T. T. Volodina, N. N. Popova,
S. G. Shandrenko

Palladin Institute of Biochemistry, National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: iryna-kr@yandex.ua

Bioactive aldehydes are among main factors of proteins postsynthetic modifications, which are the cause and consequence of many diseases. Comparative study of some aldehydes modifying action on gelatin was carried out *in vitro*. Gelatin samples (20 mM) were incubated with: ribose, deoxyribose, glyoxal, methylglyoxal, formaldehyde, acrolein (20 mM each) and their combinations in 0.1 M Na-phosphate buffer (pH 7.4) containing 0.02% sodium azide at 37 °C in the dark for 30 days. We investigated the fluorescent properties of these samples and their molecular weight distribution by electrophoresis. It has been revealed that formed adducts had different fluorescence spectra. According to fluorescence intensity these aldehydes were put in order: formaldehyde < methylglyoxal < acrolein < ribose < deoxyribose < glyoxal. The electrophoresis results showed fragments of gelatin molecular weight redistribution. By this index, the aldehydes rating was as follows: ribose < deoxyribose < acrolein < glyoxal < formaldehyde < methylglyoxal. Comparison of these two ratings indicates that aldehydes with a lower ability to form fluorescent adducts have higher ability to form intermolecular crosslinks. Therefore, the traditional clinical fluorescent test of a patients' skin surface for collagen crosslinks determination has to be verified by other tests for proteins postsynthetic modifications.

Key words: aldehydes, gelatin, protein modification, fluorescence, adducts.

References

1. Singh R., Barben F., Mori T., Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia*. 2001;44(2):129-146.
2. Baynes J. W. From life to death – the struggle between chemistry and biology during aging: the Maillard reaction as an amplifier of genomic damage. *Biogerontology*. 2000;1(3):235-246.
3. Nakamura K., Hasegawa T., Fukunaga Y., Kazuهارu I. Crosslines A and B as candidates for the fluorophores in age-related and diabetes related cross-linked proteins and their diacetates produced by Maillard reaction of a N-acetyl-lysine with glucose. *J. Chem. Soc. Commun.* 1992;14:992-994.
4. Obayashi H., Nacano K., Shigeta H. Formation of crossline as a fluorescent advanced glycation end product *in vitro* and *in vivo*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996;226(4):796-801.
5. Mostafa A. A., Randell E. W., Vasdev S. C., Gill V. D., Han Y., Gadaq V., Raouf A. A., El Said H. Plasma protein advanced glycation end products, carboxymethyl cysteine, are elevated and related to nephropathy in patients with diabetes. *Mol. Cell Biochem.* 2007;302(1-2):35-42.
6. Shaikh S., Nicholson L. F. Advanced glycation end products induce *in vitro* cross-linking of alpha-synuclein and accelerate the process of intracellular inclusion body formation. *J. Neurosci. Res.* 2008;86(9):2071-2082.
7. Fuentelba D., Friguet B., Silva E. Advanced glycation end product induce photocrosslinking and oxidation of bovine lens proteins through type-1 mechanism. *Photochem. Photobiol.* 2009;85(1):185-194.
8. Krautwald M., Munch G. Advanced glycation end products as biomarkers and gerontotoxins – A basis to explore methylglyoxal-lowering agents for Alzheimer's disease? *Exp. Gerontol.* 2010;45(10):744-751.
9. Romano A. D., Serviddio G., de Matthaeis A., Bellanti F., Vendemiale G. Oxidative stress and aging. *J. Nephrol.* 2010;23(15):29-36.
10. Monnier V. M., Stevens S. L., Cerami A. The browning reaction of proteins with glucose. *Arch. Biochem.* 1979;24:157-178.
11. Schmitt A., Schmitt J., Munch G., Gasic-Milenkovic J. Characterization of advanced glycation end products for biochemical studies: side chain modifications and fluorescence characteristics. *Anal. Biochem.* 2005;338(2):201-215.
12. Goldin A., Beckman J. A., Schmitt A. M., Creager M. A. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation*. 2006;114(6):597-605.
13. Brennan M. Changes in solubility, nonenzymatic glycation and fluorescence of collagen in tail tendons from diabetic rats. *J. Biol. Chem.* 1989;264:20947-20952.
14. Monnier V. M., Vishwanat V., Frank K. E. Relation between complications of Type 2 diabetes

- mellitus and collagen-linked fluorescence. *N. Engl. J. Med.* 1986;314:403-408.
15. Obayashi H., Nakano K., Shigeta H., Yamaguchi M., Yoshimori K., Fukui M. Formation of crossline as a fluorescent advanced glycation end product *in vitro* and *in vivo*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996;226(4):37-41.
16. Pongor S., Ulrich P. C., Benesath F. A., Cerami A. Aging of proteins: isolation and identification of fluorescent chromophore from the reaction of polypeptides with glucose. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1984;81:2684-2688.
17. Igaki N., Sakai M., Hata F., Oimomi M., Kato H. Effect of 3-deoxyglucosone on the Mailrad reaction. *Clin. Chem.* 1990;36:631-634.
18. Thornalley P. J., Langborg A., Minhae H. S. Formation of glioxal, metylglyoxal and 3-deoxyglucosone in the glication of proteins by glucose. *J. Biochem.* 1999;344:109-116.
19. Kaushik M. D., Tuanji C., Hui W. Oxidative stress and aging: Is methylglyoxal the hidden enemy? *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2010;88(3):273-284.
20. Glenn J., Stitt A. The role of advanced glycation end products in retinal ageing and disease. *Biochim. Biophys. Acta.* 2009;1790(10):1109-1116.
21. Kalousova M., Zima T., Tesar V., Dusilova-Sulkova S., Skrha J. Advanced glycooxidation end products in chronic diseases – clinical chemistry and genetic background. *Mutat. Res. Fundam. Mol. Mechan. Mutagen.* 2005;579(1-2):37-46.
22. Volodina T. T., Pechonova T. M., Dzvonkevich N. D., Popova N. N., Silonova N. V., Astakhova V. S., Panchenko L. M., Guly M. F., Mykhailovsky V. O. Study of the modifying action metabolites of low molecular weight onto the state of the extracellular matrix of connective tissues. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2007;79(6):65-73. (In Ukrainian).
23. Shandrenko S. G., Golovin A. S., Dmitrenko M. P., Yurchenko A. I., Babycheva O. F. Computer registration and analysis results of thin-layer chromatography. *J. Phys. Chromatogram. Soc.* 2003;2(4):22-30. (In Ukrainian).

Отримано 19.11.2014