

DOI 10.17721/1728.2748.2023.92.1-43

Наведено експериментальні дані про особливості будови, розвитку та функціонування рослинних і тваринних організмів, флору та фауну України, одержані на основі досліджень, що проводять науковці ННЦ "Інститут біології та медицини" у галузях фізіології рослин і тварин, генетики, ботаніки, зоології, мікробіології, вірусології. Викладено нові дані стосовно біохімічних і біофізичних основ регуляції у клітинах і органах у нормі та після впливу різноманітних фізико-хімічних факторів. Подано результати нових методичних розробок.

Для викладачів, наукових співробітників, аспірантів і студентів.

Collection of articles written by the scientists of ESC "Institute of biology and medicine" contains data on research in molecular biology, physiology, genetics, microbiology, virology, botanics, zoology concerning the structure, development and function of the plant and animal organisms, flora and fauna of Ukraine. Results of newly developed biophysical methods of biological research, biochemical data regarding metabolic regulation under the influence of different factors are presented.

For scientists, professors, aspirants and students.

ВІДПОВІДАЛЬНИЙ РЕДАКТОР	Л. Остапченко, д-р біол. наук, проф. (м. Київ, Україна)
РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ	Є. Торгалю, канд. біол. наук (заст. відп. ред.) (м. Київ, Україна); Р. Мневель, лікар (м. Київ, Україна); Шарміла Фагуні, канд. біол. наук (м. Турин, Італія); Вадим Гапоненко, канд. техн. наук, проф. (м. Чикаго, США); Кет Козирицька, канд. техн. наук (м. Бостон, США); Юрій Мандрик, канд. мед. наук (м. Кобленц, Німеччина); Ніколета Лугонія, канд. хім. наук (м. Белград, Сербія); Шандор Макай, д-р біол. наук, проф. (м. Сомбатхей, Угорщина); Абенаволі Людовіко, д-р мед. наук (м. Катандзаро, Італія); Іван Бубряк, канд. мед. наук (Оксфорд, Велика Британія); В. Мартинюк, д-р біол. наук, проф. (м. Київ, Україна); М. Макарчук, д-р біол. наук, проф. (м. Київ, Україна); Н. Таран, д-р біол. наук, проф. (м. Київ, Україна); А. Сиволоб, д-р біол. наук, проф. (м. Київ, Україна); В. Джаган, канд. біол. наук, доц. (м. Київ, Україна); В. Хоперія, д-р мед. наук, проф. (м. Київ, Україна); Т. Берегова, д-р біол. наук, проф. (м. Київ, Україна); М. Держинський, д-р біол. наук, проф. (м. Київ, Україна); О. Жолос, д-р біол. наук, проф. (м. Київ, Україна)
Адреса редколегії	ННЦ "Інститут біології та медицини"; просп. акад. Глушкова, 2 а, м. Київ, 03127, Україна ☎ (38044) 521-35-98; https://bio.visnyk.knu.ua/
Затверджено	Вченою радою ННЦ "Інститут біології та медицини" 11.04.23 (протокол № 8)
Включено	до списку друкованих (електронних) періодичних видань, що включені до Переліку наукових фахових видань України (категорія "Б") Додаток 10 до наказу Міністерства освіти і науки України 18.12.2018 № 1412
Зареєстровано	Міністерством юстиції України. Свідоцтво про державну реєстрацію КВ № 25415-15355 ПР від 03.02.23
Засновник та видавець	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет". Свідоцтво внесено до Державного реєстру ДК № 1103 від 31.10.02
Адреса видавця	ВПЦ "Київський університет", б-р Тараса Шевченка, 14, м. Київ, 01601, Україна, ☎ (38044) 239 31 72, 239 32 22; факс 239 31 28
Журнал входить до наукометричних баз:	Сервіси індексування та архівування: Hinari (із 2013 р.); Directory of Open Access Journals (DOAJ) (із 2013 р.); Open Academic Journal Index (OAJI) (із 2012 р.); Quality Open Access Market (QOAM) (із 2013 р.); Research Bib (із 2013 р.). Бази журналів: Ulrich's Periodicals Directory (із 2012 р.); Index Copernicus (із 2012 р.) Репозитарії: Національна бібліотека України ім. В. І. Вернадського; Наукова бібліотека ім. М. Максимовича Київського національного університету імені Тараса Шевченка Цифрові реєстратори: CrossRef

DOI 10.17721/1728.2748.2023.92.1-43

Collection of articles written by the scientists of ESC "Institute of biology and medicine" contains data on research in molecular biology, physiology, genetics, microbiology, virology, botanics, zoology concerning the structure, development and function of the plant and animal organisms, flora and fauna of Ukraine. Results of newly developed biophysical methods of biological research, biochemical data regarding metabolic regulation under the influence of different factors are presented.

For scientists, professors, aspirants and students.

Наведено експериментальні дані про особливості будови, розвитку та функціонування рослинних і тваринних організмів, флору та фауну України, одержані на основі досліджень, що проводять науковці ННЦ "Інститут біології та медицини" у галузях фізіології рослин і тварин, генетики, ботаніки, зоології, мікробіології, вірусології. Викладено нові дані стосовно біохімічних і біофізичних основ регуляції у клітинах і органах у нормі та після впливу різноманітних фізико-хімічних факторів. Подано результати нових методичних розробок.

Для викладачів, наукових співробітників, аспірантів і студентів.

EDITOR-IN-CHIEF	Lyudmila Ostapchenko, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Kyiv, Ukraine)
EDITORIAL BOARD	Elizabeth Torgalo, PhD (Biol.), (deputy editor) (Kyiv, Ukraine); Ruslan Mnevets, Dr. (technical secretary) (Kyiv, Ukraine); Sharmila Fagoonee, PhD (Biol.) (Turin, Italy); Vadim Gaponenko, PhD (Engin.), Prof. (Chicago, United States); Kat Kozyrytska, PhD (Engin.) (Boston, United States); Yuriy Mandryk, PhD (Med.) (Koblenz, Germany); Nikoleta Lugonja, PhD (Chem.) (Belgrade, Republic of Serbia); Sandor Makai, Prof., Dr. Sci. (Biol.) (Szombathely, Hungary); Ludovico Abenavoli, Dr. Sci. (Med.), (Catanzaro, Italy); Ivan Boubriak, PhD. (Med.) (Oxford, United Kingdom); Viktor Martynyuk, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Kyiv, Ukraine); Mykola Makarchuk, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Kyiv, Ukraine); Nataliya Taran, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Kyiv, Ukraine); Andriy Syvolob, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Kyiv, Ukraine); Veronika Dzhagan, PhD (Biol.), Associate Prof. (Kyiv, Ukraine); Viktoriya Hoperia, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Kyiv, Ukraine); Tetyana Beregova, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Kyiv, Ukraine); Mykola Dzerzhynsky, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Kyiv, Ukraine); Oleksandr Zholos, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Kyiv, Ukraine)
Editorial address	ESC "Institute of Biology and Medicine", 2a, acad. Glushkov av., Kyiv, 03127, Ukraine ☎ (38044) 521 35 98; https://bio.visnyk.knu.ua/
Approved by	The Academic Council of the ESC "Institute of Biology and Medicine" 11.04.23 (Protokol № 8)
Accreditation	"Biology" is in the list of printed (electronic) periodicals that are included in the List of printed professional scientific journals of Ukraine under the "B" category (App. 10 to the Order of Ministry of Science and Education of Ukraine from 18.12.2018 №1412)
Registered by	Ministry of Justice of Ukraine. Certificate of state registration KB № 25415-15355 ПП (February 3th, 2023)
Founded and Published	Taras Shevchenko National University of Kyiv, Publishing house "Kyiv University". Certificate included in the State Register ДК № 1103 від 31.10.02
Publisher's Address	Publishing and Polygraphic Center "Kyiv University", 14, Taras Shevchenka Blvd., Kyiv, 01601, Ukraine, ☎ (38044) 239 31 72, 239 32 22; fax 239 31 28
Abstracted and Indexed:	Indexing and Archiving Services: Hinari; Directory of Open Access Journals (DOAJ); Open Academic Journal Index (OAJI); Quality Open Access Market (QOAM); Research Bib. Journal Directories: Ulrich's Periodicals Directory; Index Copernicus Repository delivery services: Maksymovych Scientific Library of Taras Shevchenko National University of Kyiv; National Library of Ukraine Vernadsky Digital Preservation : CrossRef

ЗМІСТ

Свиридова К., Афанасьєва К. Метилчутливий кометний електрофорез: аналіз рівня метилування ДНК у клітинах гліобластоми лінії T98G	5
Субін Я., Черних М., Зима І. Динаміка ЕЕГ під час сприйняття емоційних виразів облич за різного часу демонстрації: дослідження потенціалів, пов'язаних із подіями.....	10
Кот Л., Остапченко Д., Басовська О., Коленченко О., Короткий О. Патогенетичні аспекти постковідних ускладнень у системі згортання крові	17
Рачковська А., Кунцова М., Креницька Д., Савчук О., Карбовський В. Параметри ліпідного профілю у донорів, які перехворіли на COVID-19 та мають різні титри анти-SARS-CoV-2 IgG у плазмі крові	22
Швець Ю., Конопельнюк В., Фалалєєва Т. Статеві відмінності рівнів маркерів ендогенної інтоксикації у щурів з експериментальним ожирінням за умов профілактичного застосування Орлістату та біонаноконкомпозиту на основі пажитника	27
Мироненко Я., Зима І. Когнітивні потенціали головного мозку чоловіків, викликані сприйняттям облич осіб різної статі з різною емоційною модальністю	33
Коваленко О., Макарчук М. Міжпівкульна асиметрія головного мозку та метаболічні зміни у щурів з різною алкогольною мотивацією	38

CONTENTS

Svyrydova K., Afanasieva K. Methyl-sensitive comet assay: analysis of DNA methylation level in glioblastoma T98G cell line	5
Subin Ya., Chernykh M., Zyma I. EEG dynamics during emotional face perception under the variable presentation time: an ERP study	10
Kot L., Ostapchenko D., Basovska O., Kolenchenko O., Korotkyi O. Pathogenetic aspects of post-Covid – 19 complications in the blood coagulation system	17
Rachkovska A., Kuntsova M., Krenytska D., Savchuk O., Karbovskiy V. Parameters of the lipid profile in donors who had suffered from Covid-19 and had various titers of anti- SARS-CoV-2 IgG in blood plasma	22
Shvets Yu., Konopelniuk V., Falalyeyeva T. Sex differences in the levels of markers of endogenous intoxication in rats with experimental obesity under condition of preventive administration of Orlistat and bionanocomposite based on Fenugreek.....	27
Myronenko Ya., Zyma I. Cognitive potentials of the male brain evoked by perceiving human's faces with different emotional modalities	33
Kovalenko O., Makarchuk M. Interhemispheric brain asymmetry and metabolic changes in rats with different alcohol motivation	38

МЕТИЛЧУТЛИВИЙ КОМЕТНИЙ ЕЛЕКТРОФОРЕЗ: АНАЛІЗ РІВНЯ МЕТИЛУВАННЯ ДНК У КЛІТИНАХ ГЛІОБЛАСТОМИ ЛІНІЇ T98G

Метилчутливий кометний електрофорез базується на оцінці рівня міграції ДНК із індивідуальних лізованих клітин після обробки метилчутливими рестриктазами. Використовуючи модельні лімфоцити людини, було підбрано оптимальну комбінацію інтенсивності рестрикції і часу електрофорезу та запропоновано новий підхід для оцінювання відносного рівня метилування ДНК. Було встановлено, що в культурі клітин лінії T98G, які активно діляться, рівень метилування є вищим, ніж у клітин, що перебувають на стадії G1 клітинного циклу. При цьому рівень метилування ДНК у G1-клітинах лінії T98G достовірно нижчий порівняно з лімфоцитами.

Ключові слова: злаякісно-трансформовані клітини гліобластоми, лімфоцити периферичної крові людини, метилування ДНК, кометний електрофорез.

Вступ. На сьогодні загальновідомий той факт, що причиною злаякісної трансформації клітин є не лише наявність мутацій у генах, які задіяні у розвитку онкопатологій, але і зміни рівня експресії цих генів [1, 2]. Ці зміни часто пов'язані з модуляціями метилування ДНК у промоторах або з порушенням метилування ДНК клітини в цілому [3–5]. Зміна загального рівня метилування ДНК часто супроводжує зміну функціональної активності клітин і навпаки: активація транскрипційних процесів, процеси детермінації та диференціації клітин пов'язані з даною епігенетичною модифікацією [5–6]. Отже, такий показник, як метилування ДНК може бути одним із маркерів, що вказує на певні пертурбації у нормальному функціонуванні клітини.

Для аналізу як повногеномного рівня метилування ДНК, так і окремих локусів розроблено достатньо високоточних підходів: метилчутлива ПЛР, бісульфитне секвенування, методи секвенування нового покоління тощо [6–7]. Одним зі зручних підходів до аналізу повногеномного рівня метилування ДНК на рівні ізольованих клітин є модифікована методика кометного електрофорезу (електрофорезу ДНК ізольованих клітин) – метилчутливий кометний електрофорез [8–9]. У такій модифікації іммобілізовані на поверхні предметного скла у шарі агарози клітини піддаються процедурі високосольового лізису з метою отримання так званих нуклеоїдів – структур, позбавлених клітинних мембран і більшості білків. Основною складовою нуклеоїдів є надспіралізовані петлі ДНК, приєднані до залишкових білкових елементів ядра [10]. Після лізису отримані нуклеоїди піддаються обробці метилчутливими рестриктазами. Зазвичай використовують ізошизомерні ендонуклеази *HpaII* і *MspI*, які мають однаковий сайт рестрикції, проте їхня здатність розпізнавати його залежить від метилування наявних у послідовності цитозинів: неметильовані сайти упізнаються й розрізаються рестриктазою *HpaII*, метильовані – *MspI* [11–13]. Після рестрикції нуклеоїди піддаються електрофорезу, під час якого фрагменти ДНК або релаксовані петлі, отримані в результаті рестрикції, мігрують до аноду, утворюючи специфічний електрофоретичний трек, який називається хвостом комети [14–15]. Відповідно, відносна кількість внесених тією чи іншою ендонуклеазою розривів ДНК відобразить рівень метилування ДНК у клітинах: чим вищий цей рівень, тим більшою буде різниця у відносній кількості ДНК, що мігрує у хвіст комети із нуклеоїдів, оброблених рестриктазою *HpaII*, порівняно з обробленими *MspI* [8, 12, 13].

Незважаючи на простоту методу, його достатньо високу чутливість і можливість оцінювати рівень метилування ДНК в окремій клітині, існують розбіжності у методичних підходах до метилчутливого кометного електрофорезу: використовуються різний час інкубації препаратів з рестриктазами, різні концентрації ферментів і час електрофорезу, а деякі дослідники взагалі пропонують використовувати лише одну із двох ізошизомерних рестриктаз [8, 16]. Розбіжності між різними протоколами метилчутливого кометного електрофорезу стосуються також і математичних підходів до встановлення відносного рівня метилування ДНК на основі отриманих експериментальних даних [12, 13, 16].

Виходячи із вищезазначеного, метою роботи було адаптувати методіку метилчутливого кометного електрофорезу та за допомогою даного підходу оцінити рівень метилування ДНК у клітинах гліобластоми лінії T98G у культурі із сироваткою та на безсироватковому середовищі.

Матеріали та методи досліджень. Отримання й культивування клітин. У дослідженні були використані лімфоцити периферичної крові людини та клітини гліобластоми лінії T98G. Лімфоцити ізолювали із цільної крові здорових донорів-добровольців шляхом зонального центрифугування у градієнті щільності Histopaque 1077 (Sigma, США) [14, 17]. Отриману суспензію клітин двічі відмивали у розчині Хенкса і використовували для подальших досліджень. Клітини лінії T98G культивували у середовищі DMEM із 10-відсотковою сироваткою та антибіотиками при 37° С. Для зниження рівня транскрипційних процесів у цих клітинах та їхнього арешту на стадії G1 клітинного циклу було проведено інкубацію у цьому самому середовищі без сироватки протягом 24 годин [18–19].

Приготування препаратів і обробка клітин рестриктазами. Для іммобілізації клітин на поверхні предметного скла, 50 мкл суспензії клітин змішували зі 100 мкл 1 % легкоплавкої агарози (Sigma, США) та наносили на попередньо підготоване предметне скло. Після полімеризації агарози отримані препарати-слайди переносили в лізуючий буфер (2,5 M NaCl, 0,01 M Tris-HCl (pH 8,0), 0,1 M Na₂EDTA та 1 % Triton X-100), що був охолоджений до 4° С. Лізис проводили протягом доби за температури 4° С. Після лізису слайди двічі відмивали від лізуючого буферу в буфері TBE (0,089 M Tris, 0,089 M H₃BO₃ та 0,002 M Na₂EDTA, pH 7,5). Обробку нуклеоїдів ізоши-

зомерними рестриктазами *HpaII* і *MspI* (сайт рестрикції 5'-CCGG-3') проводили у вологій камері, попередньо витримавши препарати у буфері для рестрикції (5 мМ TrisHCl, 5 мМ NaCl, 0,5 мМ β-меркаптоетанол, 1 мМ Na₂EDTA, рН 7,5) протягом 10 хв. На препарати, приготовані одночасно, наносили 100 мкл розчину рестриктази *HpaII* або *MspI* у рестрикційному буфері ONE (EURX, Польща) з активністю 1,5 або 2,5 одиниць активності (U), накривали покривним склом і витримували протягом 55 хв за 37° С. Для припинення реакції рестрикції препарати відмивали у буфері TBE і одразу проводили електрофорез.

Електрофорез, візуалізація та аналіз препаратів. Кометний електрофорез проводили в буфері TBE за температури 4° С (напруженість електричного поля – 1 В/см, сила струму 300 мА) протягом 5, 7 та 15 хв. Після закінчення електрофорезу слайди фарбували флуоресцентним барвником DAPI (4',6'-diamidino-2-phenylindole, Sigma, США) у концентрації 1,3 мкг/мл й аналізували під люмінесцентним мікроскопом ("ЛОМО", СРСР). Випадково обрані 100 нуклеоїдів фотографували камерою Canon EOS 1000 D, під'єднаною до мікроскопа, та аналізували зображення за допомогою програмного забезпечення TriTek Comet Score TM. Визначали відносний

уміст ДНК у хвості комети як відношення рівня інтенсивності флуоресценції у хвості комети до сумарної інтенсивності флуоресценції.

Відносний рівень метилування ДНК оцінювали, використовуючи формулу:

$$(M/(M+H)) \times 100 \%,$$

де *M* – частка ДНК, що міститься у хвостах комет після обробки нуклеоїдів рестриктазою *MspI*, *H* – частка ДНК, що розташована у хвостах комет після обробки нуклеоїдів рестриктазою *HpaII* (обидва значення являють собою оцінену в експерименті частку ДНК мінус *K* – частку ДНК у хвостах контрольних необроблених рестриктазами комет). Статистичну обробку результатів проводили методами варіаційної статистики.

Результати та їх обговорення. Типові зображення комет, отриманих із нуклеоїдів лімфоцитів і клітин лінії T98G до та після обробки рестриктазами, представлені на рис. 1. Для адаптації методики метилчутливого кометного електрофорезу використовували нуклеоїди, отримані із лімфоцитів периферійної крові людини, як одну із найбільш зручних моделей для проведення електрофорезу ДНК ізольованих клітин [13, 16, 17].

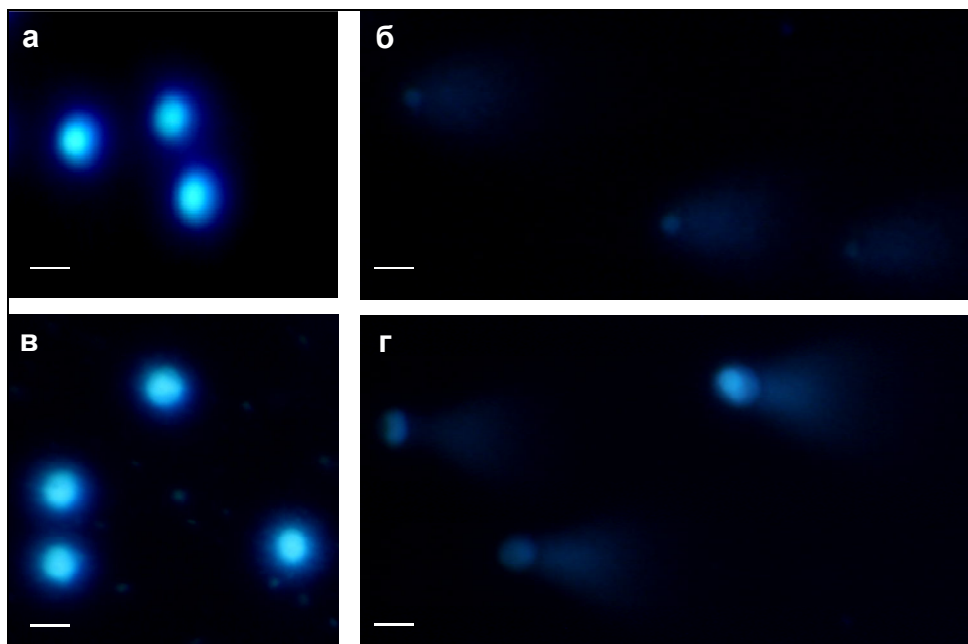


Рис. 1. Типові зображення комет після 5-ти хв електрофорезу нуклеоїдів лімфоцитів (а, б) і клітин лінії T98G (в, г) до (а, в) та після (б, г) їх обробки рестриктазою *MspI*

Було встановлено, що проведення електрофорезу протягом 15 хв після обробки нуклеоїдів рестриктазами як з активністю 1,5 U, так і 2,5 U, є надто тривалим, оскільки за цей час отримані в результаті рестрикції фрагменти ДНК встигають мігрувати на велику відстань від голови комети (основної частини ДНК нуклеоїдів) і аналіз таких препаратів є неможливим. Зменшення часу електрофоретичного пробігу до 7 та 5 хв дозволило отримати комети зі значним відносним умістом ДНК у хвості, причому незалежно від активності рестриктази. Частка ДНК, що мігрувала у хвіст комети на п'ятій хвилині електрофорезу, становила $84,5 \pm 4 \%$ і $94,3 \pm 0,9 \%$ після обробки нуклеоїдів рестриктазами *HpaII* та *MspI* відповідно та $85,2 \pm 1,7 \%$ і $91,9 \pm 1,9\%$ після семи хвилин електро-

форезу для нуклеоїдів, оброблених відповідними рестриктазами. На основі отриманих даних було розраховано відносний рівень метилування ДНК у лімфоцитах (рис. 2). Отримані результати вказують на те, що в лімфоцитах більше половини сайтів рестрикції є метильованими, а отже відносний рівень метилування ДНК достатньо високий, що є типовою характеристикою термінально диференційованих клітин. Ураховуючи відсутність статистично значущих різниць між результатами, отриманими в усіх варіантах комбінацій часу електрофорезу й активності рестриктаз, у подальших дослідженнях ми використовували такі параметри для метилчутливого кометного електрофорезу: час електрофоретичного пробігу – 5 хв, активність рестриктаз – 1,5 U.

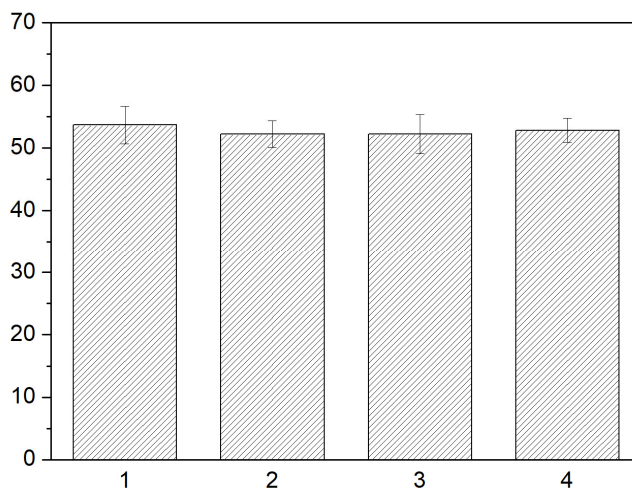


Рис. 2. Відносний рівень метилювання ДНК у лімфоцитах, оцінений за допомогою кометного електрофорезу: 1 – активність рестриктази 1,5U, електрофорез 5 хв; 2 – активність рестриктази 1,5 U, електрофорез 7 хв; 3 – активність рестриктази 2,5 U, електрофорез 5 хв; 4 – активність рестриктази 2,5 U, електрофорез 7 хв

Зазначимо, що для розрахунку відносного рівня метилювання ДНК на основі отриманих значень відсотка ДНК у хвостах комет після електрофорезу нуклеїдів, оброблених рестриктазами *HpaII* (впізнає неметильовані сайти) та *MspI* (впізнає метильовані сайти), нами було застосовано новий підхід, який базується на оцінці відношення відсотку ДНК у хвостах комет після обробки рестриктазою *MspI* до сумарного відсотку ДНК у хвостах комет після обробки нуклеїдів обома рестриктазами (див. Матеріали і методи досліджень). У попередніх роботах, присвячених розробці метилчутливого кометного електрофорезу, було запропоновано декілька варіантів розрахунків відносного рівня метилювання ДНК, кожний із яких достатньо дискусійний [10, 11]. Зокрема, одна із наведених формул для розрахунку досліджуваного параметра [10] не дає можливості оцінити рівень метилювання ДНК у діапазоні від 0 до 100 %, а отримані цифри іноді становлять від'ємні значення. Очевидно, що такі підходи не задовольняють вимоги стосовно оцінювання метилювання ДНК. Запропонована нами формула дозволить визначити відносний рівень метилювання ДНК у клітинах за шкалою від 0 до 100 %, що полегшить порівняння результатів, отриманих у різних експериментах.

Результати аналізу рівня метилювання ДНК у клітинах лінії гліобластоми T98G подано на рис. 3. Мор-

фологія комет після обробки нуклеїдів рестриктазами загалом була подібною до лімфоцитарних нуклеїдів (рис. 1), проте частка ДНК у хвостах комет після електрофорезу нуклеїдів, оброблених рестриктазами, була нижче, ніж у лімфоцитів, і не перевищувала 60 %. У культурі клітин, що активно діляться, рівень метилювання ДНК був вищий, ніж у лімфоцитах, і становив $58,3 \pm 2,8$ % (рис. 3). Цей показник збігається з отриманими значеннями рівня метилювання ДНК у клітинах карциноми HerG2, наведеними у дослідженні Lewies зі співавторами [10]. Зауважимо, що в обох випадках ідеться про асинхронну культуру, яка представлена клітинами на різних стадіях клітинного циклу, у тому числі й клітинами на стадії G2 і різних стадіях мітозу. Можливо, саме наявністю таких клітин пояснюється дещо вищий, ніж у лімфоцитів, рівень метилювання ДНК. З іншого боку, гемиметильовані в результаті реплікації ДНК ділянки геному (клітини на S-фазі клітинного циклу) мають також давати свій внесок у зниження загального рівня метилювання ДНК у культурі клітин. Таким чином, значення досліджуваного показника залежатиме від того, який відсоток клітин перебуває на тій чи іншій стадії клітинного циклу. У такому випадку аналіз рівня метилювання ДНК варто проводити на синхронізованих культурах.

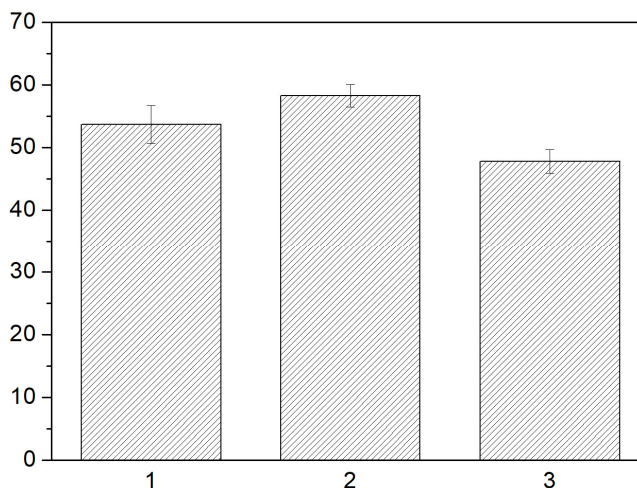


Рис. 3. Відносний рівень метилювання ДНК у лімфоцитах (1), культурі клітин T98G, що активно діляться (2), та клітинах T98G, заарештованих на G1-стадії клітинного циклу

При синхронізації культури клітин T98G та їхньому арешті на стадії G1 клітинного циклу оцінений рівень метилування ДНК становив $47,8 \pm 1,9$ %, що достовірно нижче, ніж показники, характерні як для лімфоцитів, так і для проліферуючої культури клітин T98G. Особливістю цієї клітинної лінії є те, що вона має характеристики як нормальних (арешт на стадії G1 клітинного циклу в безсироватковому середовищі), так і злоякісно-трансформованих клітин (незалежність від прикріплення до поверхні культурального посуду та здатність до нескінченної кількості поділів) [20, 21]. Таким чином, знижений порівняно із лімфоцитами рівень метилування ДНК у цих клітинах є очікуваним для ракових клітин, у яких активність транскрипційних процесів зазвичай вище. З іншого боку, цей рівень залишається достатньо високим, оскільки клітини лінії T98G при арешті на стадії G1 клітинного циклу частково призупиняють синтетичну активність і виходять на стаціонарну фазу росту.

Висновки. У цій роботі ми адаптували метод метилчутливого кометного електрофорезу і обрали найбільш удалий протокол для визначення рівня метилування ДНК. Було встановлено, що в культурі клітин лінії T98G, які активно діляться, рівень метилування є вищим, ніж у клітин, що перебувають на стадії G1 клітинного циклу. Порівняно з лімфоцитами рівень метилування ДНК у G1-клітинах лінії T98G достовірно нижчий.

Список використаних джерел

- Latha N. R. Gene expression signatures: A tool for analysis of breast cancer prognosis and therapy / N. R. Latha, A. Rajan, R. Nadhan [et al.] // *Crit Rev Oncol Hematol.* – 2020. – V. 151. – e102964. doi: 10.1016/j.critrevonc.2020.102964
- Shi D. L. RBM24 in the Post-Transcriptional Regulation of Cancer Progression: Anti-Tumor or Pro-Tumor Activity? / D. L. Shi // *Cancers (Basel).* – 2022. – V. 14, № 7. – e1843. doi: 10.3390/cancers14071843.
- Constâncio V. DNA methylation-based testing in liquid biopsies as detection and prognostic biomarkers for the four major cancer types / V. Constâncio, S. P. Nunes, R. Henrique [et al.] // *Cells.* – 2020. – V. 9, № 3. – e624. doi: 10.3390/cells9030624.
- Müller D. DNA methylation-based diagnostic, prognostic, and predictive biomarkers in colorectal cancer / D. Müller, B. Györfy // *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* – 2022. – V. 1877, № 3. – e188722. doi: 10.1016/j.bbcan.2022.188722.
- Nishiyama A. Navigating the DNA methylation landscape of cancer / A. Nishiyama, M. Nakanishi // *Trends Genet.* – 2021. – V. 37, № 11. – P. 1012–1027. doi: 10.1016/j.tig.2021.05.002.
- Martissova A. DNA Methylation in Solid Tumors: Functions and Methods of Detection / A. Martissova, J. Holcakova, N. Izadi [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2021. – V. 22, № 8. – e4247. doi: 10.3390/ijms22084247.
- Gouil Q. Latest techniques to study DNA methylation / Q. Gouil, A. Keniry // *Essays Biochem.* – 2019. – V. 63, № 6. – P. 639–648. doi: 10.1042/EBC20190027.
- Wentzel J. Assessing the DNA methylation status of single cells with the comet assay / J. Wentzel, C. Gouws, C. Huysamen [et al.] // *Anal. Biochem.* – 2010. – V. 400, № 2. – P. 190–194. doi: 10.1016/j.ab.2010.02.008.
- Perotti A. Methy-sens Comet assay and DNMTs transcriptional analysis as a combined approach in epigenotoxicology / A. Perotti, V. Rossi, A. Mutti [et al.] // *Biomarkers.* – 2015. – V. 20, № 1. – P. 64–70. doi: 10.3109/1354750X.2014.992813.
- Cook P. R. Characterization of nuclear structures containing superhelical DNA / P. R. Cook, I. A. Brazell, E. Jost // *J Cell Sci.* – 1976. – V. 22, № 2. – P. 303–324. doi: 10.1242/jcs.22.2.303
- Karimi M. Using LUMA: a Luminometric-based assay for global DNA-methylation / M. Karimi, S. Johansson, T. J. Ekström // *Epigenetics.* – 2006. – V. 1, № 1. – P. 45–48. doi: 10.4161/epi.1.1.2587.
- Lewies A. Using a medium-throughput comet assay to evaluate the global DNA methylation status of single cells / A. Lewies, E. Van Dyk, J. F. Wentzel [et al.] // *Front Genet.* – 2015. – V. 5. – e215. doi: 10.3389/fgene.2014.00215.
- Townsend T. A. The development and validation of EpiComet-Chip, a modified high-throughput comet assay for the assessment of DNA methylation status / T. A. Townsend, M. C. Parrish, B. P. Engelward [et al.] // *Environ Mol Mutagen.* – 2017. – V. 58, № 7. – P. 508–521. doi: 10.1002/em.22101.

14. DNA loop domain organization as revealed by single-cell gel electrophoresis / K. Afanasieva, M. Chopei, M. Zazhytska [et al.] // *Biochim Biophys Acta.* – 2013. – V. 1833, № 12. – P. 3237–3244. doi: 10.1016/j.bbamcr.2013.09.021.

15. Collins A. The comet assay as a tool for human biomonitoring studies: the ComNet project / A. Collins, G. Koppen, V. Valdiglesias [et al.] // *Mutat Res Rev Mutat Res.* – 2014. – V. 759. – P. 27–39. doi: 10.1016/j.mrrev.2013.10.001

16. Kurinnyi D. A. The impact of astaxanthin on the level of dna methylation in irradiated *in vitro* human lymphocytes / D. A. Kurinnyi, O. M. Demchenko, M. G. Romanenko [et al.] // *Problems of radiation medicine and radiobiology.* – 2018. – V. 23. – P. 235–245. doi: 10.33145/2304-8336-2018-23-235-245.

17. Afanasieva K. DNA loop domain organization in nucleoids from cells of different types / K. Afanasieva, M. Chopei, A. Lozovik [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2017. – V. 483, № 1. – P. 142–146. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.12.177.

18. Stein G. H. T98G: an anchorage-independent human tumor cell line that exhibits stationary phase G1 arrest *in vitro* / G. H. Stein // *J Cell Physiol.* – 1979. – V. 99, № 1. – P. 43–54. doi: 10.1002/jcp.1040990107.

19. Kiseleva L. N. Characteristics of A172 AND T98G cell lines / L. N. Kiseleva, A. V. Kartashev, N. L. Vartanyan [et al.] // *Cell Tiss Biol.* – 2016. – V. 10. – P. 341–348. doi: 10.1134/S1990519X16050072

20. Bayin N. S. Glioblastoma stem cells: Molecular characteristics and therapeutic implications / N. S. Bayin, A. S. Modrek, D. G. Placantonakis // *World J Stem Cells.* – 2014. – V. 6, № 2 – P. 230–238. doi: 10.4252/wjsc.v6.i2.230.

21. Haga Y. The effect of ST2 gene product on anchorage-independent growth of a glioblastoma cell line, T98G / Y. Haga, K. Yanagisawa, H. Ohto-Ozaki // *Eur J Biochem.* – 2003. – V. 270, № 1. – P. 163–170. doi: 10.1046/j.1432-1033.2003.03377.x.

References

- Latha N.R., Rajan A., Nadhan R., Achyutuni S., Sengodan S.K., Hemalatha S.K., Varghese G.R., Thankappan R., Krishnan N., Patra D., Warriar A., Srinivas P. Gene expression signatures: A tool for analysis of breast cancer prognosis and therapy. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2020;151:102964. doi: 10.1016/j.critrevonc.2020.102964.
- Shi D.L. RBM24 in the Post-Transcriptional Regulation of Cancer Progression: Anti-Tumor or Pro-Tumor Activity? *Cancers (Basel).* 2022;14(7):1843. doi: 10.3390/cancers14071843.
- Constâncio V, Nunes SP, Henrique R, Jerónimo C. DNA Methylation-Based Testing in Liquid Biopsies as Detection and Prognostic Biomarkers for the Four Major Cancer Types. *Cells.* 2020 Mar 5;9(3):624. doi: 10.3390/cells9030624.
- Müller D., Györfy B. DNA methylation-based diagnostic, prognostic, and predictive biomarkers in colorectal cancer. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2022;1877(3):188722. doi: 10.1016/j.bbcan.2022.188722.
- Nishiyama A., Nakanishi M. Navigating the DNA methylation landscape of cancer. *Trends Genet.* 2021;37(11):1012-1027. doi: 10.1016/j.tig.2021.05.002.
- Martissova A., Holcakova J., Izadi N., Sebuyoya R., Hrstka R., Bartosik M. DNA Methylation in Solid Tumors: Functions and Methods of Detection. *Int J Mol Sci.* 2021;22(8):4247. doi: 10.3390/ijms22084247.
- Gouil Q., Keniry A. Latest techniques to study DNA methylation. *Essays Biochem.* 2019;63(6):639-648. doi: 10.1042/EBC20190027.
- Wentzel J., Gouws C., Huysamen C., van Dyk E., Koekemoer G., Pretorius P. Assessing the DNA methylation status of single cells with the comet assay. *Anal. Biochem.* 2010;400(2):190-4. doi: 10.1016/j.ab.2010.02.008.
- Perotti A., Rossi V., Mutti A., Buschini A. Methy-sens Comet assay and DNMTs transcriptional analysis as a combined approach in epigenotoxicology. *Biomarkers.* 2015;20(1):64-70. doi: 10.3109/1354750X.2014.992813.
- Cook P.R., Brazell I.A., Jost E. Characterization of nuclear structures containing superhelical DNA. *J Cell Sci.* 1976;22(2):303-24. doi: 10.1242/jcs.22.2.303.
- Karimi M., Johansson S., Ekström T.J. Using LUMA: a Luminometric-based assay for global DNA-methylation. *Epigenetics.* 2006;1(1):45-8. doi: 10.4161/epi.1.1.2587.
- Lewies A., Van Dyk E., Wentzel J.F., Pretorius P.J. Using a medium-throughput comet assay to evaluate the global DNA methylation status of single cells. *Front Genet.* 2014;5:215. doi: 10.3389/fgene.2014.00215.
- Townsend T.A., Parrish M.C., Engelward B.P., Manjanatha M.G. The development and validation of EpiComet-Chip, a modified high-throughput comet assay for the assessment of DNA methylation status. *Environ Mol Mutagen.* 2017;58(7):508-521. doi: 10.1002/em.22101.
- Afanasieva K., Chopei M., Zazhytska M., Vikhrev M., Sivolob A. DNA loop domain organization as revealed by single-cell gel electrophoresis. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1833(12):3237-3244. doi: 10.1016/j.bbamcr.2013.09.021.
- Collins A., Koppen G., Valdiglesias V., Dusinska M., Kruszewski M., Møller P., Rojas E., Dhawan A., Benzie I., Coskun E., Moretti M., Speit G.,

Bonassi S; ComNet project. The comet assay as a tool for human biomonitoring studies: the ComNet project. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2014;759:27-39. doi: 10.1016/j.mrrev.2013.10.001

16. Kurinnyi D.A., Demchenko O.M., Romanenko M.G., Rushkovsky S.R. The impact of astaxanthin on the level of dna methylation in irradiated *in vitro* human lymphocytes. *Problems of radiation medicine and radiobiology*. 2018;23:235-245. doi: 10.33145/2304-8336-2018-23-235-245.

17. Afanasieva K., Chopei M., Lozovik A., Semenova A., Lukash L., Sivolob A. DNA loop domain organization in nucleoids from cells of different types. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017;483(1):142-146. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.12.177.

18. Stein G.H. T98G: an anchorage-independent human tumor cell line that exhibits stationary phase G1 arrest in vitro. *J Cell Physiol*. 1979;99(1):43-54. doi: 10.1002/jcp.1040990107.

19. Kiseleva L.N., Kartashev A.V., Vartanyan N.L., Pinevich A.A., Samoilovich M.P. Characteristics of A172 AND T98G cell lines. *Cell Tiss Biol*. 2016;10:341-8. doi: 10.1134/S1990519X16050072

20. Bayin N.S., Modrek A.S., Placantonakis D.G. Glioblastoma stem cells: Molecular characteristics and therapeutic implications. *World J Stem Cells*. 2014;6(2):230-8. doi: 10.4252/wjsc.v6.i2.230.

21. Haga Y., Yanagisawa K., Ohto-Ozaki H., Tominaga S, Masuzawa T., Iwahana H. The effect of ST2 gene product on anchorage-independent growth of a glioblastoma cell line, T98G. *Eur J Biochem*. 2003 Jan;270(1):163-70. doi: 10.1046/j.1432-1033.2003.03377.x.

Стаття надійшла: 20.02.23

Статтю надіслано на рецензування: 21.02.23

Статтю прийнято: 23.03.23

Подяка. Автори висловлюють щире вдячність канд. біол. наук, старш. наук. співроб., співробітнику відділу функціональної геноміки Інституту молекулярної біології і генетики НАНУ Сергію Кропивку за надані клітини лінії T98G.

K. Svyrydova, PhD Student,
K. Afanasieva, Dr. Sci. (Biol.)
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

METHYLSENSITIVE COMET ASSAY: ANALYSIS OF DNA METHYLATION LEVEL IN GLIOBLASTOMA T98G CELL LINE

Methylsensitive comet electrophoresis is based on the assessment of the level of DNA migration from individual lysed cells after treatment with methylsensitive restriction enzymes. Using model human lymphocytes, the optimal combination of restriction intensity and electrophoresis time was selected and a new approach for evaluating the relative level of DNA methylation was proposed. It was established that in the cells of the T98G culture, which are actively proliferating, the level of methylation is higher than in cells arrested at the G1 phase of the cell cycle. At the same time, the level of DNA methylation in G1 cells of the T98G line is significantly lower compared to lymphocytes.

Keywords: glioblastoma cancer cells, human peripheral blood lymphocytes, DNA methylation, comet assay.

UDC 612.82/83:612.821
DOI 10.17721/1728.2748.2023.92.10-16

Ya. Subin, Master Student,
M. Chernykh, PhD Student,
I. Zyma, Dr. Sci. (Biol.)

ESC "Institute of Biology and Medicine", Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

EEG DYNAMICS DURING EMOTIONAL FACE PERCEPTION UNDER THE VARIABLE PRESENTATION TIME: AN ERP STUDY

The face is one of the most significant elements of non-verbal communication, which allows humans to quickly get various types of information about a specific person. Therefore, understanding facial expressions is crucial for normal social interaction, as it lets us determine the emotional states and intentions of other people. The purpose of this study was to investigate the influence of the time factor on the happy and fearful facial expression processing, reflected in the structure and components of event-related potentials (ERPs). Accordingly, two parallel examinations were conducted with stimulus presentation periods of 500 ms and 100 ms. For the obtained data, two separate analyses (for happy and fearful faces) of the averaged ERP curves corresponding to different stimulus exposure periods were executed. The initial stages of processing (EPN, P3) demonstrated that the difference in the structure and amplitude characteristics of the ERP curve was not that significant, but it demonstrated an increase in attentional resources involvement and a strengthening of the primary emotional analysis. Later ERP components (N400, LPP) showed a more compelling difference, that reflected the complexity of semantic decoding, subsequent conscious evaluation, and processes related to decision-making. Thus, reducing the time of image display from 500 ms to 100 ms created the expected difficulties for the perception and processing of emotional facial expressions and was not sufficient for the normal course of these processes.

Keywords: ERP; EPN; P3; N400; LPP.

Introduction. The face is one of the most significant elements of nonverbal communication for human social interactions, that allows the rapid acquisition of various features of a specific person (age, gender, race, etc.) and the environment (for example, a frightened facial expression warns others of potential danger). Also, understanding facial expressions is crucial for determining the psycho-emotional states and intentions of other people. Therefore, the exchange of such social cues is important for the implementation of almost all life aspects [1]. Since the processing of emotional stimuli tends to be relatively fast and dynamic, the method of event-related potentials (ERPs) is one of the best options for studying these processes.

ERPs reflect bioelectrical activity in response to a certain event (sensory, motor, cognitive), which is the total activation of excitatory and inhibitory postsynaptic potentials generated by large populations of neurons. They are determined by averaging a certain number of segments of EEG data recorded with synchronization to a specific stimulus or event presentation. This method provides the best temporal resolution, but it lacks precision in terms of spatial characteristics [2].

Several parameters are distinguished in the ERP curve: latency (time indicator of the response appearance after exposure to a stimulus), amplitude (magnitude of voltage change), polarity (positive or negative), and topographic distribution over the scalp (for example, frontal, occipital). This activity is identified and named due to its polarity, approximate latency, topography (P300, early posterior negativity), as well as functional value (error-related negativity) [3].

Early posterior negativity (EPN) occurs within 250–350 ms, reaching its maximum in the occipital cortical regions. EPNs are usually associated with mechanisms of attention and emotional processing [4]. Thus, the influence of emotional facial expressions compared to neutral ones on the EPN modulation was demonstrated [5].

P300 (or P3) is a positive component of the ERP curve, which occurs approximately 300 ms after the presentation of the stimulus and can be registered in all areas of the cerebral cortex. It is usually recorded during task performance (for example, the oddball paradigm) in which frequent (standard) and rare (target) stimuli are presented,

with larger amplitude values generated in response to the latter [6]. It can also be divided into two separate components – P3a and P3b. The first usually has a frontocentral localization and is an indicator of attention distribution. The second is characterized by a parietal-temporal distribution and is associated with memory-related processes [7].

The N400 (or N400-like activity) usually has a centroparietal localization, reaching its peak around 400 ms. Originally described in linguistic research in the context of match/mismatch, it has also been found in paradigms that used faces as stimulus material. It is considered an index of general semantic evaluation [8].

The late positive potential (LPP) occurs in the time interval of 300–700 ms after the stimulus onset. In general, the amplitude increase effect was demonstrated for emotional stimuli (pleasant and unpleasant) compared to neutral ones [9]. In particular, this was observed for images of facial expressions (for example, happy and scared) [10]. However, some studies did not confirm similar effects on LPP amplitude values [11].

The purpose of this study was to investigate and assess the influence of the presentation time factor on the processing of happy and scared facial expressions, reflected in the structure and corresponding components of the ERP curve. Therefore, two separate examinations were conducted with different stimulus presentation periods: 1) 500 ms – often used and sufficient for normal discrimination and processing of facial expressions; 2) 100 ms – common exposure time reduced by five times.

Materials and Methods. 20 healthy volunteer subjects (10 men and 10 women;) aged 18 to 25 years participated in this study. EEG data recording was carried out using the hardware and software complex "Neurocom" (Kharkiv Aerospace Institute, Kharkiv, Ukraine). Electrodes were placed on the scalp according to the "10–20 %" international system.

The experimental structure was designed as follows: a resting state recording with eyes closed (3 min), a resting state recording with eyes open (3 min), and the presentation of two series of images (10 min each), during which the recording of cognitive ERPs was performed. The first series

consisted of neutral and positive facial expressions, while the second series included neutral and negative stimuli.

The stimuli were selected from KDEF (Karolinska Directed Emotional Faces) [12] and FACES [13] databases. Valence-neutral photographs of human faces were selected as frequent stimuli, while positively- and negatively-valenced images (pictures of happy and fearful faces, respectively) were selected as rare stimuli. Passive oddball was chosen as a paradigm. The participants were instructed to "look carefully at the screen and perceive images of people's faces". Averaged ERP curves were constructed based on reactions to rare stimuli (emotional facial expressions), and frequent stimuli served to create a neutral context for a better understanding of the demonstrated emotional stimuli.

Rare stimuli were displayed in a random pattern with a probability of 30 % (tracking period – 3 s. \pm 30 %, number of stimuli in one series – 100). The examinees were divided into two equal groups (10/10). In the first demonstration series of the stimulus material, the exposure period was 500 ms (4 men, 6 women; group 1), while in the second – 100 ms (6 men, 4 women; group 2). Processing of the obtained data was performed using the EEGLAB software package based on the MATLAB environment. Segments of 150 ms before and 1000 ms after stimulus onset were selected for analysis. Filtering (0.1 – 30 Hz), detection and rejection of artifact components, ICA analysis, and subsequent visualization of the obtained averaged ERP curves were performed.

Two statistical comparisons were performed: the first was between the averaged ERP curves corresponding to the presentation of 100 ms and 500 ms stimuli for rare positive stimuli; the second involved rare negative stimuli, respectively. The FDR criterion was used to identify areas with statistically significant amplitude differences ($p < 0.05$).

Results and Discussion. Comparison of responses to different valenced stimuli (happy and fearful facial expressions) of different presentation periods generally demonstrated a difference in the ERP structure and component amplitude values. A stimulus presentation time of 500 ms is widely used in research with emotional material and is quite sufficient for normal perception and cognitive processing. In contrast, reducing the display time to 100 ms created difficulties (lack of time) for these processes, which is reflected in the ERP structure differences mentioned above.

When the stimuli were exposed for 500 ms (group 1), in the time interval of 200–350 ms, positive components of the ERP appeared generally all over the scalp, with maximum values (Fig. 1) in the frontocentral cortical areas ($Fz/Cz = +4.7 \mu V$). Within these latencies (250–330 ms), a negative component also arose, reaching its maximum in the occipital regions ($O1 = -6.5 \mu V$ for happy faces). Therefore, taking into account the temporal-occipital distribution (Fig. 2) and the latent period of the component, it is quite possible to assume that this wave corresponds to early posterior negativity (EPN).

It is known that EPN is a negative wave that occurs within 250–350 ms and has a temporal-occipital distribution [4]. This component is not always associated with a specific peak, and sometimes is defined as a decrease in amplitude within a certain time interval [14]. In our studies, EPN enhancement was demonstrated for both fearful and happy facial expressions compared to neutral ones. Therefore, it can be assumed that this component reflects the enhancement of emotional processing localized in the occipitotemporal areas (possibly including the superior temporal sulcus, occipital and fusiform gyri) [15]. However, such an EPN effect was also observed while displaying images of complex visual scenes and words [16]. This evidence gives reason to consider this component as one of the indices of general (non-specific) processing of emotions, which can reflect the use of attentional resources concerning visual stimuli (including emotional information integration and attention direction) [17].

Initially, the positive activity described above appears in the occipital areas, reaching its peak magnitude around 245 ms. In some studies, within the specified latencies, the P250 component (modulated by emotional facial expressions) is distinguished, which has a parieto-occipital (sometimes occipitotemporal) distribution [18] and a separate early frontocentral P3, or is indicated in general as an early P3 (P3a) [19]. Considering also the occurrence of EPN in this interval, it is quite difficult to distinguish these two components separately. In addition, in the study by Schupp et al. [17], EPN was described as a negative deviation in the temporal-occipital areas and a corresponding change in polarity in the frontocentral regions.

P3a itself reaches its maximum in the mid-frontocentral areas and is considered a marker of directed attention [20]. Pieces of evidence of attentional redistribution have been associated with the detection of feature changes for rare stimuli; a greater discrepancy to standard stimuli will correspond to an increase in amplitude [6]. Given the above, activity in the time interval of 200–350 ms may correspond to the direction and use of attentional resources for rare (and at the same time motivationally important stimuli) to facilitate further stages of processing, as well as the initial stage of emotional determination of the stimulus.

In the case of the 100 ms presentation period (group 2), in the time interval of 200–350 ms similar ERP pattern was observed. Positive components were also most pronounced in the mid-frontocentral areas ($Cz = 5 \mu V$). In general, within the two groups, the difference between the amplitude value did not exceed $1 \mu V$ or was equal. In group 2, the EPN had a similar localization, reaching its maximum in the occipital areas (Fig. 2), demonstrating an increase in amplitude compared to group 1 (so the largest difference was $2.8 \mu V$ in the O2 lead for fearful faces perception). In this case, the increase in amplitude characteristics can be explained by an increase in attentional resources for stimulus processing and an enhancement of emotional processing. However, no statistically significant differences were found within 200–350 ms latency.

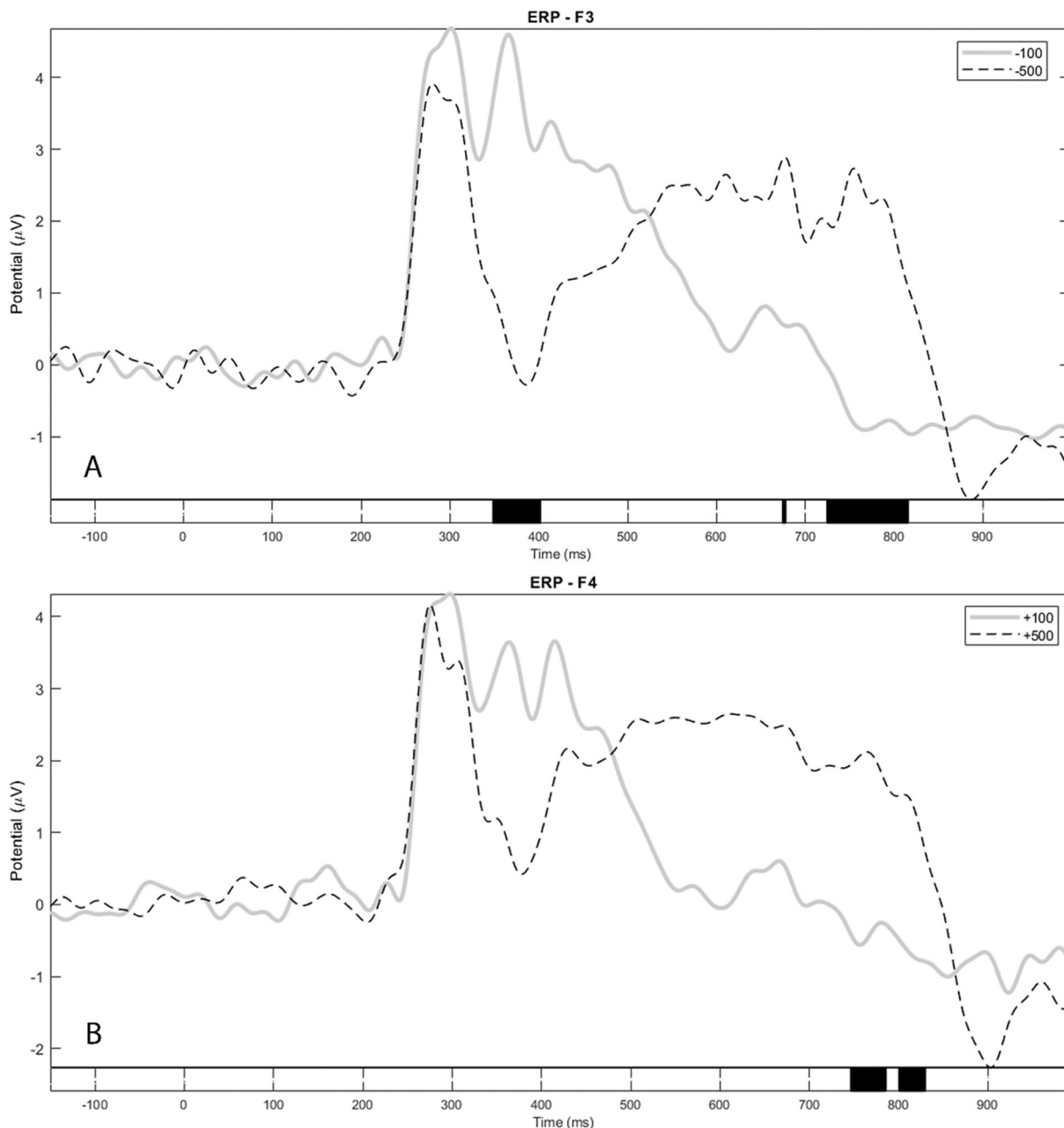


Fig. 1. Averaged ERP curves for fearful face perception in the left frontal area (A) and for happy face perception in the right frontal area (B), when presented in a neutral context. The response of group 1 is marked with a dotted black line, and the response of group 2 is marked with a grey line. Theregions of statistically significant difference are marked with black color (p < 0.05)

The ERP data of group 1 demonstrated the appearance of the negative component N 400, which reached its peak at 400 ms latency and was observed generally over the cortex. The largest amplitude values were registered in the occipital (O2 = -7.9 µV, happy faces) and parietal (-5 µV) zones (Figs. 2 and 3). For group 2, the N 400 was most pronounced in the occipital, parietal, and posterior temporal regions. The highest amplitude values were

found in the occipital areas (O2 = -11.2 µV, happy faces). Also, the largest difference for this component was observed in the occipital zones (3–5 µV in two comparisons). However, it should be noted that when comparing data from the parietal and occipital areas of two subject groups, the first group demonstrated the maximum amplitude values within 400 ms, while group 2 reached the peak values at about 500 ms (Fig. 3).

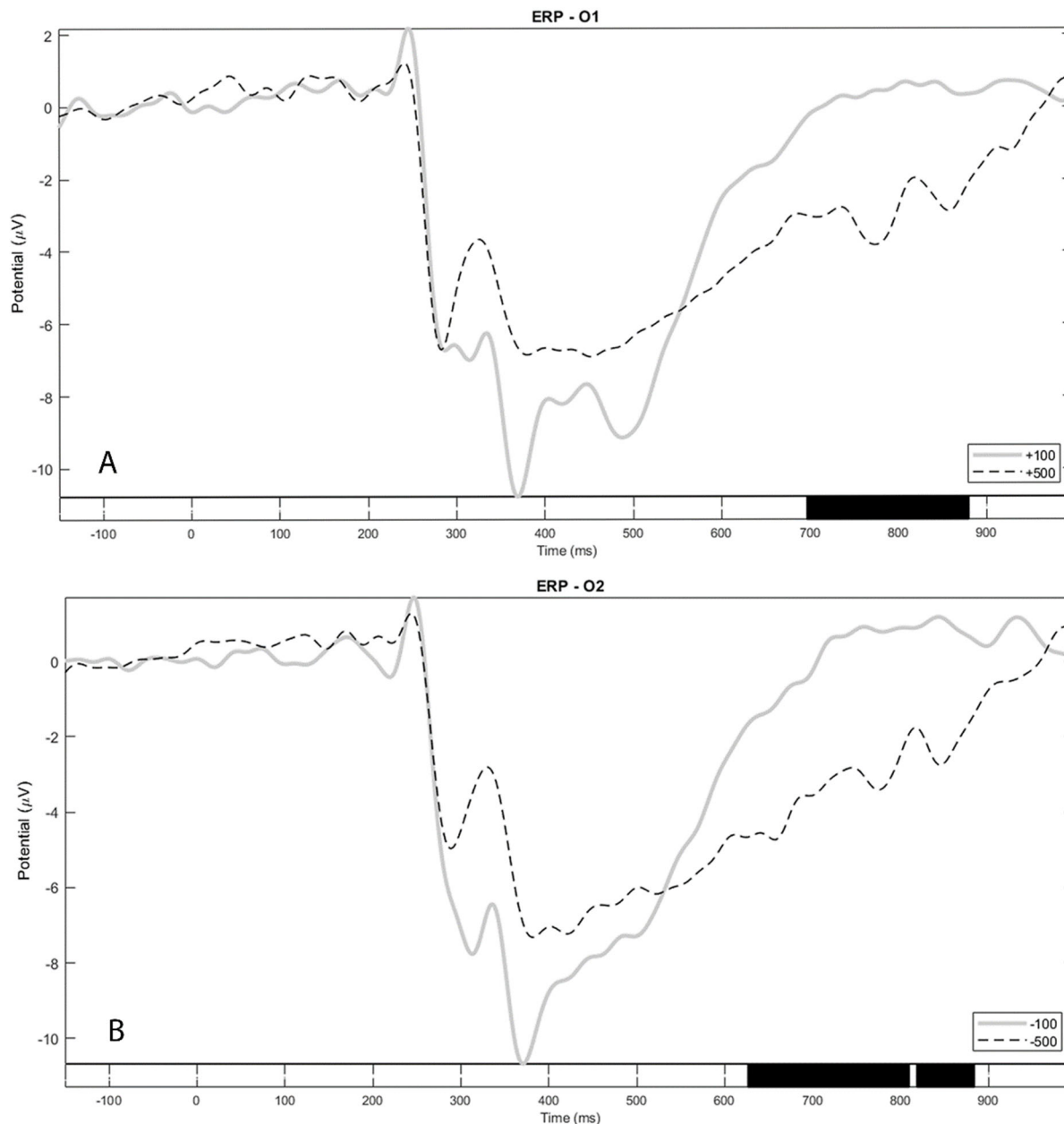


Fig. 2. Averaged ERP curves for happy face perception in the left occipital area (A) and for fearful face perception in the right occipital area (B), when presented in a neutral context. The response of group 1 is marked with a dotted black line, and the response of group 2 is marked with a grey line. Theregions of statistically significant difference are marked with black color (p < 0.05)

It is considered [8] that N400 is a general index of semantic search in available conceptual knowledge related to any meaningful stimulus. This search depends on already stored representations and received search signals created by the previous context. Thus, an increase in amplitude will correspond to an increase in semantic processing [21]. Taking this into account, the increase in N400 amplitude values in occipital areas during 100 ms stimulpresentation may correspond to the difficulties of obtaining the meaning of emotions in the created neutral context. It may also imply the recruitment of additional semantic information to compensate for the short duration of the stimulus presentation. In addition, 500 ms presentation is apparently a sufficient time interval for normal perception and discrimination of emotional stimuli,

that is, it allows to involve a larger number of areas for semantic decoding and evaluation of information.

Next, in the time interval of 400–800 ms, a late positive potential (LPP) appeared in group 1, with maximum amplitude values (Fig. 1) in the frontocentral areas (Fz = 3.5 µV – happy faces). It is believed [9] that LPP characteristics are significantly affected by the emotional aspect of stimuli. Therefore, emotional stimuli cause an increase in amplitude values compared to neutral ones (for example, facial expressions, images of complex scenes, and gestures). It has been hypothesized that the LPP reflects the processing of emotion-eliciting stimuli, including conscious appraisal, enhancedworking memory encoding, and decision-making processes [17].

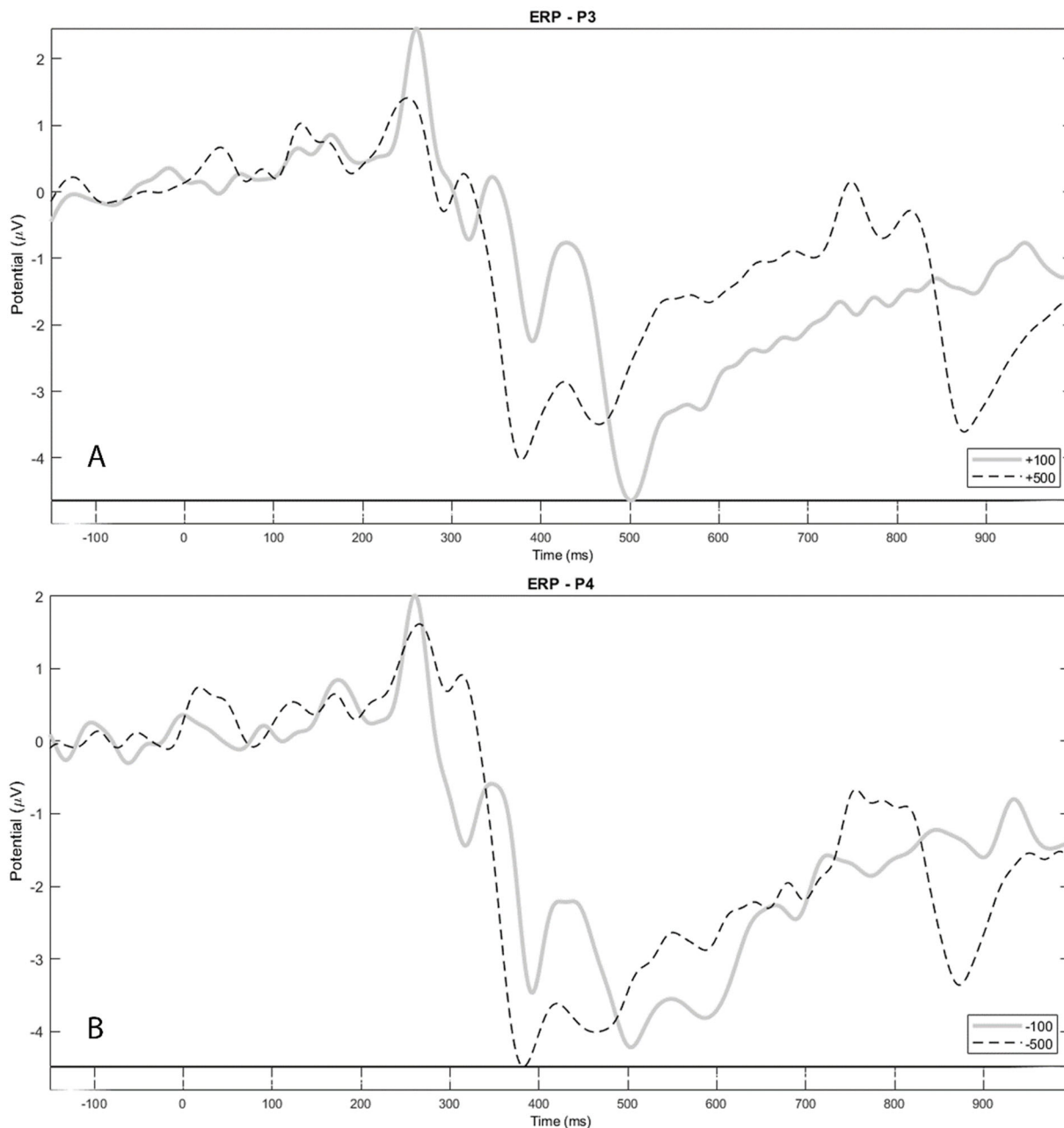


Fig. 3. Averaged ERP curves for happy face perception in the left parietal area (A) and for fearful face perception in the right parietal area (B), when presented in a neutral context. The response of group 1 is marked with a dotted black line, and the response of group 2 is marked with a grey line. Theregions of statistically significant difference are marked with black color ($p < 0.05$)

It can be seen that for group 2, the LPP lasts within 350–700 ms and reaches the maximum amplitude values (Fig. 1) in the frontal areas ($F3 = 4.6 \mu V$ – fearful faces). Overall, the two comparisons showed higher LPP amplitude values for group 2, especially for fearful faces. Although LPP is usually described in the context of parieto-occipital localization, the importance of the prefrontal cortex in the generation of this component has also been demonstrated [22]. For example, areas of the ventrolateral and dorsomedial prefrontal cortex are associated with executive functions that reflect the processes of obtaining relevant knowledge about the stimulus and choosing among competing interpretations [23].

In general, in subjects of group 2, this component appeared earlier and lasted less than in group 1. The dependence of LPP time frames on the duration of stimulus

presentation was also described in some studies: it can be expressed during the entire period of the stimulus presentation and several hundred milliseconds after [9]. Also, at the beginning of this component, in several cortical areas ($F7, F3, F4, Fz, F8, C3, C4, Cz, T3, T4$), statistically significant differences were found in the interval of 350–400 ms only for fearful faces. In these scalp areas, a positive peak occurred within the indicated latency (Fig. 1), while for group 1, N400 activity was observed (semantic analysis). Other statistically significant differences were found between 700–800 ms for fearful ($Fp1, Fp2, F3, F4, Fz, F8, Cz, C4$) and happy facial expressions ($F7, F3, Fz, F4, C3, Cz, C4, T3$). Similar differences were found in two comparisons in occipital regions within 650–900 ms (Fig. 1).

Conclusions

Thus, reducing the image presentation time from 500 ms to 100 ms created the expected difficulties for the perception and processing of emotional facial expressions (500 ms vs 100 ms) and the 100 ms period is not sufficient for the normal course of these processes. At the initial stages of ERP (EPN, P3), the difference in the structure and amplitude characteristics was not so noticeable, but it demonstrates an increase in attentional resources and an increase in primary emotional processing. Later stages (N400, LPP) showed a more pronounced difference, which was manifested in the complexity of semantic decoding, subsequent conscious evaluation, and processes related to decision-making.

References

1. Jack R.E., Schyns P.G. The Human Face as a Dynamic Tool for Social Communication. *Curr Biol.* 2015;25(14):R621-R634. doi:10.1016/j.cub.2015.05.052
2. Luck S. An introduction to the event-related potential technique. 2nd ed. Cambridge: The MIT Press; 2014
3. Ibanez A., Melloni M., Huepe D., et al. What event-related potentials (ERPs) bring to social neuroscience? *Soc Neurosci.* 2012;7(6):632-649. doi:10.1080/17470919.2012.691078
4. Aldunate N., López V., Bosman C.A. Early Influence of Affective Context on Emotion Perception: EPN or Early-N400?. *Front Neurosci.* 2018;12:708. doi:10.3389/fnins.2018.00708
5. Bublatzky F., Pittig A., Schupp H.T., Alpers G.W. Face-to-face: Perceived personal relevance amplifies face processing. *Soc Cogn Affect Neurosci.* 2017;12(5):811-822. doi:10.1093/scan/nsx001
6. Riggins T., Scott L.S. P300 development from infancy to adolescence. *Psychophysiology.* 2020;57(7):e13346. doi:10.1111/psyp.13346
7. van Dinteren R., Arns M., Jongsma M.L., Kessels R.P. P300 development across the lifespan: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2014;9(2):e87347. doi:10.1371/journal.pone.0087347
8. Olivares E.I., Iglesias J., Saavedra C., Trujillo-Barreto N.J., Valdés-Sosa M. Brain Signals of Face Processing as Revealed by Event-Related Potentials. *Behav Neurol.* 2015;2015:514361. doi:10.1155/2015/514361
9. Hajcak G., MacNamara A., Olvet D.M. Event-related potentials, emotion, and emotion regulation: an integrative review. *Dev Neuropsychol.* 2010;35(2):129-155. doi:10.1080/87565640903526504
10. Kulke L. Neural Mechanisms of Overt Attention Shifts to Emotional Faces. *Neuroscience.* 2019;418:59-68. doi:10.1016/j.neuroscience.2019.08.023
11. Bublatzky F., Gerdes A.B., White A.J., Riemer M., Alpers G.W. Social and emotional relevance in face processing: happy faces of future interaction partners enhance the late positive potential. *Front Hum Neurosci.* 2014;8:493. doi:10.3389/fnhum.2014.00493
12. Lundqvist D., Flykt A., Öhman A. The Karolinska Directed Emotional Faces – KDEF, CD ROM from Department of Clinical Neuroscience, Psychology section, Karolinska Institutet. 1998. ISBN 91-630-7164-9
13. Ebner N.C., Riediger M., Lindenberger U. FACES—a database of facial expressions in young, middle-aged, and older women and men: development and validation. *Behav Res Methods.* 2010;42(1):351-362. doi:10.3758/BRM.42.1.351
14. Rellecke J., Sommer W., Schacht A. Does processing of emotional facial expressions depend on intention? Time-resolved evidence from event-related brain potentials. *Biol Psychol.* 2012;90(1):23-32. doi:10.1016/j.biopsycho.2012.02.002
15. Schupp H.T., Junghöfer M., Weike A.I., Hamm A.O. The selective processing of briefly presented affective pictures: an ERP analysis. *Psychophysiology.* 2004;41(3):441-449. doi:10.1111/j.1469-8986.2004.00174.x
16. Schacht A., Sommer W. Emotions in word and face processing: early and late cortical responses. *Brain Cogn.* 2009;69(3):538-550. doi:10.1016/j.bandc.2008.11.005
17. Schupp H.T., Flaisch T., Stockburger J., Junghöfer M. Emotion and attention: event-related brain potential studies. *Prog Brain Res.* 2006;156:31-51. doi:10.1016/S0079-6123(06)56002-9
18. daSilva E.B., Crager K., Puce A. On dissociating the neural time course of the processing of positive emotions. *Neuropsychologia.* 2016;83:123-137. doi:10.1016/j.neuropsychologia.2015.12.001
19. Feng W., Luo W., Liao Y., Wang N., Gan T., Luo Y.J. Human brain responsivity to different intensities of masked fearful eye whites: an ERP study. *Brain Res.* 2009;1286:147-154. doi:10.1016/j.brainres.2009.06.059
20. Polich J. Updating P300: an integrative theory of P3a and P3b. *Clin Neurophysiol.* 2007;118(10):2128-2148. doi:10.1016/j.clinph.2007.04.019
21. Kutas M., Federmeier K.D. Thirty years and counting: finding meaning in the N400 component of the event-related brain potential (ERP). *Annu Rev Psychol.* 2011;62:621-647. doi:10.1146/annurev.psych.093008.131123
22. Moratti S., Saugar C., Strange B.A. Prefrontal-occipitoparietal coupling underlies late latency human neuronal responses to emotion. *J Neurosci.* 2011;31(47):17278-17286. doi:10.1523/JNEUROSCI.2917-11.2011

23. Spunt R.P., Adolphs R. The neuroscience of understanding the emotions of others. *Neurosci Lett.* 2019;693:44-48. doi:10.1016/j.neulet.2017.06.018

Список використаних джерел

1. Jack R.E. The Human Face as a Dynamic Tool for Social Communication / R. E. Jack, P. G. Schyns // *Biol Psychol.* – 2015. – Vol. 25, № 14. – P. R621-R634. – doi:10.1016/j.cub.2015.05.052
2. Luck S. An introduction to the event-related potential technique. – 2nd ed. / S. Luck. – C. : The MIT Press, 2014. – 416 p.
3. What event-related potentials (ERPs) bring to social neuroscience? / A. Ibanez, M. Melloni, D. Huepeetal. // *Soc Neurosci.* – 2012. – Vol. 7, № 6. – P. 632-649. – doi:10.1080/17470919.2012.691078
4. Early Influence of Affective Context on Emotion Perception: EPN or Early-N400? / N. Aldunate, V. López, C. A. Bosman // *Front Neurosci.* – 2018 – Vol. 12 – doi:10.3389/fnins.2018.00708
5. Face-to-face: Perceived personal relevance amplifies face processing / F. Bublatzky, A. Pittig, H. T. Schupp et al. // *Soc Cogn Affect Neurosci.* – 2017. – Vol. 12, № 5. – P. 811-822. – doi:10.1093/scan/nsx001
6. Riggins T. P300 development from infancy to adolescence / T. Riggins, L. S. Scott // *Psychophysiology.* – 2020. – Vol. 57, № 7. – P. e13346. – doi:10.1111/psyp.13346
7. P300 development across the lifespan: a systematic review and meta-analysis / R. Van Dinteren, M. Arns, M. L. Jongsma et al. // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, № 2. – P. e87347. – doi:10.1371/journal.pone.0087347
8. Brain Signals of Face Processing as Revealed by Event-Related Potentials / E. I. Olivares, J. Iglesias, C. Saavedra et al. // *Behav Neurol.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 514361. – doi:10.1155/2015/514361
9. Event-related potentials, emotion, and emotion regulation: an integrative review / G. Hajcak, A. MacNamara, D. M. Olvet // *Dev Neuropsychol.* – 2010. – Vol. 35, № 2. – P. 129-155. – doi:10.1080/87565640903526504
10. Kulke L. Neural Mechanisms of Overt Attention Shifts to Emotional Faces / L. Kulke // *Neuroscience.* – 2019. – Vol. 418. – P. 59-68. – doi:10.1016/j.neuroscience.2019.08.023
11. Social and emotional relevance in face processing: happy faces of future interaction partners enhance the late positive potential / F. Bublatzky, A. B. Gerdes, A. J. White et al. // *Front Hum Neurosci.* – 2014. – Vol. 8 – doi:10.3389/fnhum.2014.00493
12. The Karolinska Directed Emotional Faces – KDEF, CD ROM from Department of Clinical Neuroscience, Psychology section, Karolinska Institutet / D. Lundqvist, A. Flykt, A. Öhman. – 1998. – ISBN 91-630-7164-9
13. FACES – a database of facial expressions in young, middle-aged, and older women and men: development and validation / N. C. Ebner, M. Riediger, U. Lindenberger // *Behav Res Methods.* – 2010. – Vol. 42, № 1. – P. 351-362. – doi:10.3758/BRM.42.1.351
14. Does processing of emotional facial expressions depend on intention? Time-resolved evidence from event-related brain potentials / J. Rellecke, W. Sommer, A. Schacht // *Biol Psychol.* – 2012. – Vol. 90, № 1. – P. 23-32. – doi:10.1016/j.biopsycho.2012.02.002
15. The selective processing of briefly presented affective pictures: an ERP analysis / H. T. Schupp, M. Junghöfer, A. I. Weike et al. // *Psychophysiology.* – 2004. – Vol. 41, № 3. – P. 441-449. – doi:10.1111/j.1469-8986.2004.00174.x
16. Schacht A. Emotions in word and face processing: early and late cortical responses / A. Schacht, W. Sommer // *Brain Cogn.* – 2009. – Vol. 69, № 3. – P. 538-550. – doi:10.1016/j.bandc.2008.11.005
17. Emotion and attention: event-related brain potential studies / H. T. Schupp, T. Flaisch, J. Stockburger et al. // *Prog Brain Res.* – 2006. – Vol. 156. – P. 31-51. – doi:10.1016/S0079-6123(06)56002-9
18. On dissociating the neural time course of the processing of positive emotions / E. B. daSilva, K. Crager, A. Puce // *Neuropsychologia.* – 2016. – Vol. 83. – P. 123-137. – doi:10.1016/j.neuropsychologia.2015.12.001
19. Human brain responsivity to different intensities of masked fearful eye whites: an ERP study / W. Feng, W. Luo, Y. Liao et al. // *Brain Res.* – 2009. – Vol. 1286. – P. 147-154. – doi:10.1016/j.brainres.2009.06.059
20. Polich J. Updating P300: an integrative theory of P3a and P3b / J. Polich // *Clin Neurophysiol.* – 2007 – Vol. 118, № 10. – P. 2128-2148. – doi:10.1016/j.clinph.2007.04.019
21. Kutas M. Thirty years and counting: finding meaning in the N400 component of the event-related brain potential (ERP) / M. Kutas, K. D. Federmeier // *Annu Rev Psychol.* – 2011 – Vol. 62. – P. 621-647. – doi:10.1146/annurev.psych.093008.131123
22. Prefrontal-occipitoparietal coupling underlies late latency human neuronal responses to emotion / S. Moratti, C. Saugar, B. A. Strange // *J Neurosci.* – 2011. – Vol. 31, № 47. – P. 17278-17286. – doi:10.1523/JNEUROSCI.2917-11.2011
23. Spunt R. P. The neuroscience of understanding the emotions of others / R. P. Spunt, R. Adolphs // *Neurosci Lett.* – 2019 – Vol. 693. – P. 44-48. – doi:10.1016/j.neulet.2017.06.018

Submitted: 20.02.23
Reviewed: 21.02.23
Accepted: 23.03.23

Я. Субін, магістр,
М. Черних, асп.,
І. Зима, д-р біол. наук
ННЦ "Інститут біології",
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

**ДИНАМІКА ЕЕГ ПІД ЧАС СПРИЙНЯТТЯ ЕМОЦІЙНИХ ВИРАЗІВ ОБЛИЧ
ЗА РІЗНОГО ЧАСУ ДЕМОНСТРАЦІЇ:
ДОСЛІДЖЕННЯ ПОТЕНЦІАЛІВ, ПОВ'ЯЗАНИХ ІЗ ПОДІЯМИ**

Обличчя є одним із найзначніших елементів невербальної комунікації, який дозволяє швидко отримати різноманітні типи інформації про конкретну особу. Тому розуміння виразів обличчя має вирішальне значення для нормальної соціальної взаємодії, оскільки дозволяє визначати емоційні стани та наміри інших людей. Метою цього дослідження було вивчення впливу фактору часу на процес обробки щасливих і наляканих виразів обличчя. Цей вплив відображений у структурі та відповідних показниках потенціалів, пов'язаних із подіями (ППП). Для цього було проведено два паралельні обстеження із часом демонстрації стимулів 500 мс та 100 мс. Для отриманих даних було здійснено два окремих порівняння (для щасливих і для наляканих обличчя) усереднених кривих ППП між різним часом експозиції стимулів. Початкові етапи обробки (EPN, P3) демонструють, що відмінність у структурі та амплітудних характеристик ППП не є настільки помітною, проте вказує на збільшення ресурсів уваги та посилення первинного емоційного аналізу. Пізніші ж етапи (N400, LPP) підтверджують значнішу різницю, що виявляється у складнощях семантичного декодування, подальшій свідомій оцінці та процесах, пов'язаних із прийняттям рішень. Таким чином, скорочення часу демонстрації зображень від 500 до 100 мс створює очікувані труднощі для сприйняття й обробки емоційних виразів обличчя та не є достатнім для нормального перебігу цих процесів.

Ключові слова: ППП; EPN; P3; N400; LPP.

PATHOGENETIC ASPECTS OF POST-COVID-19 COMPLICATIONS IN THE BLOOD COAGULATION SYSTEM

Disorders in the blood coagulation system play an important role in the pathogenesis and clinical manifestations of COVID-19 both during the acute phase of the disease and in the post-infectious period. The coronavirus disease is associated with a high risk of thrombotic and thromboembolic complications due to a prolonged state of hypercoagulation, which can occur even after recovery. Despite the extremely large amount of scientific data, the pathophysiological aspects of SARS-CoV-2 infection remain uncertain. The presented review summarizes the results of modern scientific research on pathological changes in the hemostasis system that can occur against the background of the transferred coronavirus disease, and considers the main mechanisms of the development of COVID-19-associated coagulopathies. From scientometric databases PubMed, Scopus, Web of science, ScienceDirect, Google Scholar, etc. the latest publications devoted to this issue were selected and analyzed. Hemostasis is a dynamic, tightly regulated process which is provided by three closely interrelated links: coagulation, anticoagulation, and fibrinolytic. Activation of the coagulation cascade and the platelet link of hemostasis, which causes a prothrombotic state in convalescent patients with COVID-19, is primarily associated with dysregulation of the renin-angiotensin system, a long-term local and systemic inflammatory reaction, an increase in the immune response due to the release of pro-inflammatory mediators that interact with platelets, stimulate the expression of tissue factor, suppress the fibrinolytic system and lead to dysfunction of the endothelial cells of blood vessels, triggering thrombogenesis. Understanding the pathogenetic mechanisms of post-COVID-19 complications and monitoring the main markers of hemostasis (level of D-dimer, fibrinogen, prothrombin time, platelet count, etc.) are important for the timely detection of disorders in the blood coagulation system, and make it possible, depending on the clinical situation, to take timely measures for their correction at various stages of pathology development.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2 infection, post-COVID-19 complications, coagulopathy, hemostasis, thrombosis.

The coronavirus disease (Coronavirus disease 2019, COVID-19), which is caused by the SARS-CoV-2 virus, has so far affected more than 674 million people and caused more than 6.8 million deaths worldwide, and their number continues to grow steadily. The clinical manifestations of COVID-19 can be diverse, including both mild and moderate symptoms of the disease of the upper respiratory tract, and life-threatening pathological conditions of many organs. Among the most common causes of serious consequences of SARS-CoV-2 infection, which cause serious concern, are respiratory failure, excessive inflammatory response (the so-called cytokine storm), activation of coagulation, thrombosis, disseminated intravascular coagulation (DIC-syndrome), as well as multiorgan syndrome. Subsequently, it turned out that the transfer of the acute phase of the coronavirus disease does not yet mean complete recovery, but is only its initial stage, the severity of which depends on the prevalence of lesions and biological changes in various organs. According to the World Health Organization, the average period from the onset of COVID-19 to clinical recovery in mild cases is about 14 days, in case of severe or critical disease, more than 3-6 weeks. However, in many infected people, the symptoms of COVID-19 in the form of various clinical manifestations can persist much longer and last more than 6 months, in some cases, exacerbations are possible [1]. That is why the terms "Long-COVID-19", which implies the persistence of the SARS-CoV-2 virus, and "Post-COVID-19" when it comes to the preservation of the pathological state of the organism after the transferred coronavirus disease in the absence of an identified pathogen are increasingly used in the professional literature.

Despite the extremely large number of scientific research devoted to the study of pathogenetic mechanisms of SARS-CoV-2 infection and multisystemic aspects of its acute form, a clear understanding of the distant consequences of COVID-19 requires clarification and careful analysis [2, 3]. As is known, structural and functional disorders of many organ systems are often observed in patients who have recovered from the coronavirus disease,

including respiratory, cardiovascular, nervous, digestive, and musculoskeletal [4]. Pathological symptoms include rapid fatigue, shortness of breath, headache, arthralgia, myalgia, chronic cardiovascular complications such as heart failure, arrhythmia, atherosclerosis, pulmonary hypertension, arterial aneurysms, etc. [5, 6]. Post-COVID-19 syndrome is a pathological condition that can occur even after a mild or asymptomatic course of the disease caused by SARS-CoV-2 infection, and its development cannot be predicted in advance. Prediction of the degree of severity, duration, risk of complications after suffering from COVID-19 remains a relevant issue, especially in patients with comorbid conditions. Individuals with cardiovascular disease, cerebrovascular disease, chronic obstructive pulmonary disease, asthma, chronic renal failure, diabetes, metabolic syndrome, and obesity have the greatest risk of negative consequences of SARS-CoV-2 infection [7, 8]. Among the possible reasons for the development of complications are the persistence of the pathogen, oxygen insufficiency, a long-term state of hyperinflammation, autoimmune processes, individual characteristics of the patient's immune response, impaired endothelial functions and increased blood coagulation (hypercoagulation), which leads to numerous micro- and macrothrombosis. According to various sources, complications in the form of arterial and venous thrombosis occur in almost 30% of patients with confirmed COVID-19 and post-COVID-19 syndrome [9, 10].

Disturbances in the hemostasis system play an important role in the pathogenesis and clinical manifestations of COVID-19 both during the acute phase of the disease and in the post-infectious period [11, 12]. As you know, hemostasis is a dynamic, well-regulated process that is ensured by several interconnected structural and functional components, which include the procoagulant link (blood coagulation factors), the anticoagulant link and the fibrinolytic system. Among the most common pathologies of the blood coagulation system in patients who have undergone SARS-CoV-2 infection, there is both latent hypercoagulation, which can be established only by the

results of laboratory tests, and severe clinical manifestations in the form of pulmonary embolism, deep vein thrombosis, ischemic stroke, myocardial infarction, DIC-syndrome [13]. However, in the majority of published scientific studies devoted to violations in the hemostasis system during the coronavirus disease, attention is mainly focused on thrombohemorrhagic complications during the acute phase of the disease [14]. Only recently, isolated reports on the features of the functioning of the hemostasis system in the post-infectious period began to appear [15-17]. Fan, et al. showed that in convalescent patients with COVID-19, even in the absence of significant risk factors for the development of cardiovascular diseases and thromboembolic complications, persistent hypercoagulation, endotheliopathy, and inflammation may persist for a year after recovery [18]. There is an assumption that similar consequences of COVID-19 in some cases can lead to the development of acute thrombosis, even after a long period of time from the first clinical manifestations of the coronavirus disease [19]. According to studies by Patel, et al., in convalescent patients with confirmed SARS-CoV-2 infection who did not receive anticoagulant therapy, 30 days after hospitalization, the cumulative frequency of thrombosis (including arterial and venous thrombosis) was 2.5%, while the frequency clinically significant bleeding – 3.6% [20].

As is known, at the basis of intravascular thrombus formation, regardless of where it occurs – in the arteries, veins or microcirculatory channel, there are pathological factors that combine into the classic Virchow's triad: a change in blood properties (a state of hypercoagulation), damage to the endothelium of the vascular wall, and impaired blood flow (stasis). Usually, the etiology of coagulopathies is associated with microvascular dysfunction, the interaction of leukocytes and platelets, increased expression of tissue factors in response to the release of inflammatory mediators, and also with the effect of hypoxia on the regulation of transcription factors [21]. To explain the occurrence of coagulopathy caused by COVID-19, various mechanisms are considered, among which the so-called "immunothrombosis" is identified as one of the key ones, the basis of which is the close relationship between inflammation and the blood coagulation system. In particular, systemic inflammation can induce coagulation and cause the development of pathological venous and arterial thrombosis, which, in turn, directly increase the inflammatory process [22].

Structural and functional disorders of the endothelium, which lines the inner surface of blood vessels and ensures their reactivity, play a key role in the development of coagulopathy and activation of the thrombus formation process associated with the coronavirus disease. Persistent endothelial injury is quite common in convalescent patients with COVID-19 [23]. Damage to the vascular endothelium can be caused by a long-term effect of a viral infection, chronic hypoxia, and an inflammatory reaction. Endothelial cells, as it turned out, are the most susceptible to infection with the SARS-CoV 2 virus. Vascular endothelial cells and pericytes, like pulmonary alveolocytes, to a more significant extent, compared to cells of many extrapulmonary tissues, express the angiotensin-converting enzyme-2 (ACE-2), which the coronavirus uses as the main receptor to enter the cell, causing its damage [24]. *In vitro* experimental studies, in which a soluble form of human recombinant ACE-2 (hrsACE-2) was used, proved that SARS-CoV 2 can directly infect cells of blood vessels [25]. The causative agent of COVID-19 by binding to the receptor, modulates its activity, which leads to a decrease in the expression of ACE-2 in

tissues, and a further increase in the level of its endogenous substrate – angiotensin II (AT-II), which exhibits vasoconstrictor, inflammatory, procoagulant and antifibrinolytic effects [26]. In general, the renin-angiotensin system (RAS) is one of the main regulatory systems of the organism, which participates in the regulation of many physiological and pathophysiological states, is responsible for homeostatic processes, such as vascular tone, blood pressure level, water-electrolyte balance, etc.

Direct damage by the SARS-CoV-2 virus to endothelial cells or the indirect action of the infectious agent through immune reactions, cytokines and free radicals leads to their dysfunction and the development of endotheliitis/endotheliopathy [27]. The main manifestations of endothelial dysfunction are a violation of the bioavailability of nitric oxide, an increase in the synthesis and expression of procoagulant factors by endothelial cells, in particular tissue factor (TF), von Willebrand factor (vWF), selectin, plasminogen activator inhibitor (PAI-1), endothelin-1. Violation of the functions of endothelial cells is accompanied by a change in their properties to procoagulant due to damage to the glycocalyx and loss of anticoagulant proteins; inflammation of the inner lining of blood vessels, which complicates blood flow and may result in microcirculation disorders; narrowing of blood vessels with subsequent development of ischemia of organs, inflammation and swelling of tissues; as well as pathological changes in the blood coagulation system, which are manifested by a decrease in the number of platelets (thrombocytopenia), thrombosis, etc. [27, 28].

The pathophysiological mechanisms that underlie the activation of coagulation due to COVID-19 still require more in-depth study. It is likely that they depend more on the intensity of the individual inflammatory reaction, and not on direct specific viral activity. There is an assumption that the hyperimmune reaction, which can develop during the acute phase of the coronavirus disease, causes the development of long-term systemic "smoldering" inflammation, which results in vascular endothelium damage and complications in the blood coagulation system in the post-COVID-19 period [29]. Clinical studies have shown increased levels of pro-inflammatory cytokines such as interleukin (IL)-17, IL-12p70, IL-1 β , pro-angiogenic macrophage inflammatory protein-1 (MIP-1 β), and vascular endothelial growth factor 6 months after COVID-19, which indicated the development of chronic inflammation and the process of angiogenesis in more distant terms after SARS-CoV-2 infection [30].

The relationship between the blood coagulation system, the immune system, and inflammation is now being actively studied in various contexts [31]. It is known that SARS-CoV-2, after entering the organism, activates the innate immune system, which leads to the release of a large number of cytokines, chemokines, growth factors and cell adhesion proteins, in particular monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1), a transforming growth factor (TGF- β 1), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), and IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-17, etc. [32]. Excessive synthesis of pro-inflammatory molecules is one of the possible mechanisms underlying endothelial damage and uncontrolled activation of coagulation. Other potential factors include virus-specific mechanisms, including the interaction of the virus with components of the fibrinolytic pathway and RAS, and the influence of comorbid conditions is also important [33]. It is likely that the SARS-CoV-2 virus can directly infect cells of the innate link of the immune system, that leads to immune dysregulation and disorders in the blood coagulation system [34].

Cytokines have a procoagulant effect by activating platelets, releasing tissue factor from macrophages/monocytes and damaged endothelial cells, inhibiting the anticoagulant link, and inhibiting fibrinolysis. As a result of the coagulation cascade, thrombin is generated, which cleaves fibrinogen with the formation of fibrin, enhances platelet activation, and is a powerful stimulator of protease-activated receptor-1 (PAR-1), which leads to the development of thrombosis both in the microcirculatory channel and in large vessels [35]. It should be noted that persistent prothrombotic changes associated with increased thrombin generation, inhibition of plasma fibrinolysis, increased levels of factor VIII, vWF, and PAI-1 persisted in convalescent COVID-19 patients 4 months after SARS-CoV-2 infection which could indicate the platelets activation and prolonged intravascular coagulation in the post-COVID-19 period [19]. In addition, phosphatidylserine is expressed on various damaged cells and microvesicles, which enhances the coagulation process [36].

An important prognostic value for the development of immunoinflammatory reactions during viral diseases is the complement system, which includes more than 30 proteins and has an effect not only at the level of systemic circulation, but also directly in the cells. Complement is considered as one of the key factors in the pathogenesis of severe form of COVID-19 [37]. *In vitro* studies have shown the activation of the complement system with the participation of the SARS-CoV-2 spike protein [38]. It is indisputable that excessive activation and dysregulation of the complement system during coronavirus infection leads to the development of endothelial dysfunction, acute and chronic inflammation, induction of all links of the hemostasis system, including platelet and plasma, which may result in post-COVID-19 complications. It has been established that increased vascular permeability caused by complement activation, which was observed after SARS-CoV-2 infection, led to severe, often irreversible changes in tissues and organs [39]. However, the functioning of the complement protein system under the conditions of post-COVID-19 syndrome is still a controversial issue. Activation of the complement system under conditions of COVID-19 can occur in several ways, including the well-described – lectin, classical or alternative ways [37]. Some complement factors, anaphylatoxins C3a and C5a, and the membrane attack complex activate immune cells, inducing a significant pro-inflammatory response, releasing the IL-1 β , IL-6, and TNF- α , which stimulate TF expression on endothelial cells and monocytes, thus leading to a hypercoagulable state. In turn, platelets, which on their surface contain receptors that bind C3 and C1-q components of complement, and in granules – heparin-binding chemokine and other proteins of the thrombosis system, induce complement activation of thrombosis [40].

Platelets play a key role in maintaining hemostasis and thrombosis, and also take part in inflammatory processes, cytokine synthesis, release of vasoactive substances, angiogenesis, interaction with neutrophils, etc. Activated platelets release a number of biologically active molecules (ADP, polyphosphates, blood coagulation factors) and mediators of the immune system (complement factors), which cause further activation of platelets and strengthening of the immune response by a positive feedback mechanism, contributing to the hemostatic process [41]. Thrombocytopenia is a fairly common complication of pathological conditions caused by viral and bacterial infections, which is often found in critically ill patients and is associated with an unfavorable clinical prognosis of the disease course. A decrease in the number of platelets in the

longer term after infection with the SARS-CoV-2 virus is a relatively rare phenomenon. Usually, patients with COVID-19 may have thrombocytopenia of a mostly mild degree, which worsens as the disease progresses. The exact mechanisms by which COVID-19 causes thrombocytopenia still need to be investigated. Among the proposed potential mechanisms of the decrease in the number of platelets, direct damage to SARS-CoV-2 cells through CD-13 receptors, immune system dysfunction and autoimmunity, reduction of thrombopoietin production due to impaired liver function, aggregation and consumption of platelets during the formation of microthrombi in the lungs are considered [42].

In some studies, which are already becoming one of the priority scientific directions, disorders in the blood coagulation system during SARS-CoV-2 infection, as well as in the post-COVID-19 period, are associated with the formation of neutrophil extracellular traps (NETs) and the development netosis in response to the persistence of the pathogen and increased synthesis of pro-inflammatory mediators [43]. Middleton, et al. convincingly prove the involvement of NETs in the development of immunothrombosis and thrombotic complications in patients with COVID-19 [44]. The release of NETs is a tightly regulated process involving a number of proteolytic enzymes and peptidyl-arginine deaminase 4 (PAD4), which catalyzes histone citrullination, leading to chromatin decondensation, nuclear membrane disruption, and cytolysis. An elevated level of extracellular chromatin and specific markers of NETs – DNA of myeloperoxidase (MPO-DNA) and citrullinated histone H3 (Cit-H3) [45] was found in blood serum samples of patients with COVID-19. NETs exhibit both pro-inflammatory properties and can exert a cytotoxic effect on endotheliocytes, damage the endothelium, activate platelets, enhance thrombin generation, and inhibit fibrinolysis by "capturing" a specific tissue factor pathway inhibitor (TFPI), indicating their thrombogenic properties [46]. The important role of NETs in blood clot formation is evidenced by their detection in blood clots of patients with myocardial infarction and stroke [47].

Among the important factors contributing to the development of thrombosis both by stimulating neutrophils to release NETs and by activating endothelial cells and platelets antiphospholipid autoantibodies (aPLs) are noted. aPLs, including lupus anticoagulant, anticardiolipin, and antibodies to β -2-glycoprotein I, stimulate the formation of immune complexes and inflammation of the blood vessel wall (vasculitis), causing its damage [48]. However, the relationship between the level of aPLs and thrombotic complications, the duration of their storage and the role in the pathogenesis of post-COVID-19 complications remains a controversial issue that requires further research.

The International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) recommends that all patients diagnosed with COVID-19, as well as convalescents, undergo mandatory laboratory monitoring of the main indicators of pathological changes in the blood, which allows establishing predictors of negative consequences of SARS-CoV-2 infection. A generally accepted tactic is to determine D-dimer, fibrinogen, prothrombin time, the number of platelets, C-reactive protein (CRP), ferritin, which makes it possible to predict the course of the disease, its duration and the risk of complications, as well as to carry out adequate therapeutic measures in a timely manner. An important step is the development of effective and safe protocols for thromboprophylaxis during a disease with COVID-19. However, when analyzing indicators characterizing hemostasis, one should take into account the

presence of concomitant pathological conditions and the use of anticoagulants, which may cause the risk of an unfavorable prognosis of the course of the disease [49]. Among the key markers of coagulation activation and fibrinolysis, the most commonly used is the level of D-dimers circulating in the blood –products of cleavage of stabilized fibrin polymers with a wide range of molecular weights. An increase in the level of D-dimer is observed in various inflammatory and infectious diseases. In the conditions of COVID-19, a significant long-term increase in fibrin degradation products is associated with the severity of the course of the disease, the risk of coagulation complications and thrombus formation [50, 51]. It was established that even 4 months after the disappearance of the manifestations of an acute SARS-CoV-2 infection in about 25% of convalescent patients, an increase in the concentration of D-dimer in blood serum was noted, despite the normalization of the level of inflammatory markers and other coagulation indicators [52]. However, the value of D-dimer cannot be used only as a prognostic marker of the threat of intravascular thrombosis since its accumulation can occur both with thrombosis and with hemorrhagic complications.

Thus, disorders in the blood coagulation system are one of the most important risk factors for adverse consequences both in acute SARS-CoV-2 infection and in the post-infectious period. The pathogenesis of post-COVID-19 complications is closely related to endothelial dysfunction, activation of RAS with the release of procoagulant PAI-1, activation of the coagulation cascade and inhibition of fibrinolysis, hyperimmune response with activated platelets, systemic inflammation and release of neutrophil extracellular traps. Understanding the mechanisms that underlie the pathological changes in the hemostasis system after recovery from COVID-19 is crucial for the targeted therapy of complications and makes it possible to take measures to prevent them, especially in patients with a severe clinical course of the coronavirus disease and various comorbid conditions, primarily with diseases of the cardiovascular system.

References

- Callard F., Perego E. How and why patients made Long Covid. *Soc Sci Med.* 2021;268:113426. doi:10.1016/j.socscimed.2020.113426.
- Kim G., Wang M., Pan H., Davidson G., Roxby A. C., Neukirch J., et al. A health system response to COVID-19 in long term care and post-acute care: a three-phase approach. *J Am Geriatr Soc.* 2020;68(6):1155-61.
- Gemelli against COVID-19 post-acute care study group. Post-COVID-19 global health strategies: the need for an interdisciplinary approach. *Aging Clin Exp Res.* 2020;32(8):1613-20.
- Sudre C. H., Murray B., Varsavsky T., Graham M. S., Penfold R. S., Bowyer R. C., et al. Attributes and predictors of long COVID. *Nat. Med.* 2021;27:626-31.
- Fan B E., Cheung C. Post COVID-19 arterial thromboembolism: a clear and present danger. *Semin Thromb Hemost.* 2022 Feb;48(1):112-14. PubMed PMID: 33860515.
- Becker R. C. Anticipating the long-term cardiovascular effects of COVID-19. *J Thromb Thrombolysis.* 2020;50(3):512-24.
- Liang W.-H., Guan W.-J., Li C., Li Y.-M., Liang H.-R., Zhao Y., et al. Clinical characteristics and outcomes of hospitalised patients with COVID-19 treated in Hubei (epicentre) and outside Hubei (non-epicentre): a nationwide analysis of China. *Eur Respir J.* 2020;55:2000562. doi: 10.1183/13993003.00562-2020.
- Acanfora D., Acanfora C., Ciccone M. M., Scicchitano P., Bortone A. S., Uguccioni M., Casucci G. The cross-talk between thrombosis and inflammatory storm in acute and long-COVID-19: therapeutic targets and clinical cases. *Viruses.* 2021 Sep 23;13(10):1904. PubMed PMID: 34696334.
- Becker R. C. COVID-19 update: Covid-19-associated coagulopathy. *J Thromb Thrombolysis.* 2020 Jul;50(1):54-67. PubMed PMID: 32415579; PubMed Central PMCID: PMC7225095.
- Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y., et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395(10223):497-506.
- Pretorius E., Vlok M., Venter C., Bezuidenhout J. A., Laubscher G. J., Steenkamp J., et al. Persistent clotting protein pathology in Long

COVID/Post-Acute Sequelae of COVID-19 (PASC) is accompanied by increased levels of antiplasmin. *Cardiovasc Diabetol.* 2021;20:172. <https://doi.org/10.1186/s12933-021-01359-7>.

12. Wang C., Yu C., Jing H., Wu X., Novakovik V., Xie R., Shi J. Long COVID: the nature of thrombotic sequelae determines the necessity of early anticoagulation. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:861703. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.861703>.

13. Teimury A., Khameneh M. T., Khaledi E. M. Major coagulation disorders and parameters in COVID-19 patients. *Eur J Med Res.* 2022;27:25. <https://doi.org/10.1186/s40001-022-00655-6>.

14. Roncon L., Zuin M., Barco S., Valerio L., Zuliani G., Zonzin P., et al. Incidence of acute pulmonary embolism in COVID-19 patients: systematic review and meta-analysis. *Eur J Intern Med.* 2020;82:29-37.

15. Korompoki E., Gavriatopoulou M., Fotiou D., Ntanasis-Stathopoulos I., Dimopoulos M. A., Terpos E. Late-onset hematological complications post COVID-19: an emerging medical problem for the hematologist. *Am J Hematol.* 2022 Jan 1;97(1):119-28. PubMed PMID: 34687462.

16. Noniashvili M., Saralidze T., Svanidze T., Kandashvili T., Mamatsashvili I. Hemostasis abnormalities in post-COVID-19 syndrome [abstract]. *Res Pract Thromb Haemost.* 2021;5 Suppl 2. <https://abstracts.isth.org/abstract/hemostasis-abnormalities-in-post-covid-19-syndrome/>. Accessed December 1, 2022.

17. Zuin M., Rigatelli G., Zuliani G., Roncon L. The risk of thrombosis after acute-COVID-19 infection. *QJM.* 2021 Nov 13;114(9):619-20. PubMed PMID: 33720351; PubMed Central PMCID: PMC7989150.

18. Fan B. E., Wong S. W., Sum C. L.L., Lim G. H., Leung B. P., Tan C. W., et al. Hypercoagulability, endotheliopathy, and inflammation approximating 1 year after recovery: assessing the long-term outcomes in COVID-19 patients. *Am J Hematol.* 2022;97(7):915-23.

19. von Meijenfeldt F. A., Havervall S., Adelmeijer J., Lundström A., Magnusson M., Mackman N., et al. Sustained prothrombotic changes in COVID-19 patients 4 months after hospital discharge. *Blood advances.* 2021;5(3):756-9.

20. Patell R., Bogue T., Koshy A., Bindal P., Merrill M., Aird W. C., et al. Postdischarge thrombosis and hemorrhage in patients with COVID-19. *Blood.* 2020;136:1342-6.

21. Gupta N., Zhao Y. Y., Evans C.E. The stimulation of thrombosis by hypoxia. *Thromb Res.* 2019;181:77-83.

22. Tomerak S., Khan S., Almasri M., Hussein R., Abdelati A., Aly A., et al. Systemic inflammation in COVID-19 patients may induce various types of venous and arterial thrombosis: a systematic review. *Scand J Immunol.* 2021;94(5):e13097. doi: 10.1111/sji.13097.

23. Fogarty H., Townsend L., Morrish H., Ahmad A., Comerford C., Karampini E., et al. persistent endotheliopathy in the pathogenesis of long COVID syndrome. *J Thromb Haemost.* 2021;19:2546-53.

24. Zhang H., Penninger J.M., Li Y., Zhong N., Slutsky A. S. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med.* 2020;46:586-90.

25. Monteil V., Kwon H., Prado P., Hagelkrüys A., Wimmer R. A., Stahl M., et al. Inhibition of SARS-CoV-2 infections in engineered human tissues using clinical-grade soluble human ACE2. *Cell.* 2020;181(4):905-13.

26. Bautista-Vargas M., Bonilla-Abadía F., Cañas C.A. Potential role for tissue factor in the pathogenesis of hypercoagulability associated with in COVID-19. *J Thromb Thrombolysis.* 2020;50:479-83.

27. Varga Z., Flammer A. J., Steiger P., Haberecker M., Andermatt R., Zinkernagel A. S., et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet.* 2020;395(10234):1417-8.

28. Flaumenhaft R., Enjyoji K., Schmaier A. A. Vasculopathy in COVID-19. *Blood.* 2022;140(3):222-35.

29. Castanares-Zapatero D., Chalon P., Kohn L., Dauvrin M., Detollenaere J., Maertens de Noordhout C, et al. Pathophysiology and mechanism of long COVID: a comprehensive review. *Ann Med.* 2022 Dec;54(1):1473-87. PubMed PMID: 35594336; PubMed Central PMCID: PMC9132392.

30. Ong S.W.X., Fong S.W., Young B.E., Chan Y.H., Lee B., Amrun S.N., et al. Persistent symptoms and association with inflammatory cytokine signatures in recovered coronavirus disease 2019 patients. *Open Forum Infect Dis.* 2021;8:ofab156. doi: 10.1093/ofid/ofab156.

31. Lazzaroni M.G., Piantoni S., Masneri S., Garrafa E., Martini G., Tincani A., et al. Coagulation dysfunction in COVID-19: The interplay between inflammation, viral infection and the coagulation system. *Blood Rev.* 2021;46:100745. doi:10.1016/j.blre.2020.100745.

32. Qin C., Zhou L., Hu Z., Zhang S., Yang S., Tao Y. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clin Infect Dis.* 2020;71(15):762-8.

33. Brojakowska A., Narula J., Shimony R., Bander J. Clinical implications of SARS CoV-2 interaction with renin angiotensin system: JACC review topic of the week. *J Am Coll Cardiol.* 2020;75:3085-95.

34. Jayarangaiah A., Kariyanna P.T., Chen X., Jayarangaiah A., Kumar A. COVID-19-associated coagulopathy: an exacerbated immunothrombosis response. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2020;26:1076029620943293. doi: 10.1177/1076029620943293.

35. Iba T., Levy J.H. Inflammation and thrombosis: roles of neutrophils, platelets and endothelial cells and their interactions in thrombus formation during sepsis. *J Thromb Haemost.* 2018;16:231-41.

36. Iba T., Ogura H. Role of extracellular vesicles in the development of sepsis-induced coagulopathy. *J Intensive Care*. 2018;6:68. doi: 10.1186/s40560-018-0340-6.
37. Afzali B., Noris M., Lambrecht B.N., Kemper C. The state of complement in COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2022 Feb;22(2):77-84. PubMed PMID: 34912108; PubMed Central PMCID: PMC8672651.
38. Santiesteban-Lores L. E., Amamura T.A., da Silva T.F., Midon L.M., Carneiro M.C., Isaac L., Bavia L. A double edged-sword – the complement system during SARS-CoV-2 infection. *Life Sci*. 2021;272:119245. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119245.
39. Gralinski L.E., Sheahan T.P., Morrison T.E., Menachery V.D., Jensen K., Leist S.R., et al. Complement activation contributes to severe acute respiratory syndrome coronavirus pathogenesis. *mBio*. 2018;9(5):e01753-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.01753-18>.
40. Stark K., Massberg S. Interplay between inflammation and thrombosis in cardiovascular pathology. *Nat Rev Cardiol*. 2021;18(9):666-82.
41. Loo J., Spittle D.A., Newnham M. COVID-19, immunothrombosis and venous thromboembolism: biological mechanisms. *Thorax*. 2021;76:412-20.
42. Bhattacharjee S., Banerjee M. Immune thrombocytopenia secondary to COVID-19: a systematic review. *SN Compr Clin Med*. 2020;2(11):2048-58.
43. Zhu Y., Chen X., Liu X. NETosis and neutrophil extracellular traps in COVID-19: immunothrombosis and beyond. *Front Immunol*. 2022;13:838011. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.838011>.
44. Middleton E.A., He X.-Y., Denorme F., Campbell R.A., Ng D., Salvatore S.P., et al. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *Blood*. 2020;136:1169-79.
45. Zuo Y., Yalavarthi S., Shi H., Gockman K., Zuo M, Madison J.A., et al. Neutrophil extracellular traps in COVID-19. *JCI insight*. 2020;5(11):e138999. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.138999>.
46. Mitchell W.B. Thromboinflammation in COVID-19 acute lung injury. *Paediatr Respir Rev*. 2020;35:20-4.
47. Donkel S.J., Wolters F.J., Ikram M.A., de Maat MPM. Circulating Myeloperoxidase (MPO)-DNA complexes as marker for neutrophil extracellular traps (NETs) levels and the association with cardiovascular risk factors in the general population. *PLoS One*. 2021;16(8):e0253698. doi:10.1371/journal.pone.0253698.
48. Chen C., Amelia A., Ashdown G.W., Mueller I., Coussens A.K., Eriksson E.M. Risk surveillance and mitigation: autoantibodies as triggers and inhibitors of severe reactions to SARS-CoV-2 infection. *Mol Med*. 2021;27(1):160. doi:10.1186/s10020-021-00422-z.
49. Hadid T., Kafri Z., Al-Katib A. Coagulation and anticoagulation in COVID-19. *Blood Rev*. 2021;47:100761. doi:10.1016/j.blre.2020.100761.
50. Paliogiannis P., Mangoni A.A., Dettori P., Nasrallah G.K., Pintus G., Zinellu A. D-Dimer concentrations and COVID-19 severity: a systematic review and meta-analysis. *Front Public Health*. 2020;8:432. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00432>.
51. Gerber G.F., Chaturvedi S. How to recognize and manage COVID-19-associated coagulopathy. *J Hematol*. 2021:614-20. <https://doi.org/10.1182/hematology.2021000297>.
52. Townsend L., Fogarty H., Dyer A., Martin-Loeches I, Bannan C., Nadarajan P., et al. Prolonged elevation of D-dimer levels in convalescent COVID-19 patients is independent of the acute phase response. *J Thromb Haemost*. 2021 Apr;19(4):1064-70. PubMed PMID: 33587810; PubMed Central PMCID: PMC8013297.

Submitted: 22.02.23
 Reviewed: 23.02.23
 Accepted: 27.03.23

Л. Кот, канд. біол. наук,
 Д. Остапченко, студ.,
 О. Басовська, асп.,
 О. Коленченко, асп.,
 О. Короткий, д-р біол. наук
 Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ПАТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ПОСТКОВІДНИХ УСКЛАДНЕНЬ У СИСТЕМІ ЗГОРТАННЯ КРОВІ

Порушення у системі згортання крові відіграють важливу роль у патогенезі та клінічних виявах COVID-19 як під час гострої фази захворювання, так і у постінфекційний період. Коронавірусна хвороба асоціюється з високим ризиком розвитку тромботичних і тромбоемболічних ускладнень унаслідок тривалого стану гіперкоагуляції, який може траплятися і після одужання. Незважаючи на надзвичайно велику кількість наукових даних, патофізіологічні аспекти SARS-CoV-2 інфекції залишаються достеменно невизначеними. У представленому огляді узагальнено результати сучасних наукових досліджень щодо патологічних змін у системі гемостазу, які можуть виникати на тлі перенесеної коронавірусної хвороби. Розглянуто основні механізми розвитку COVID-19-асоційованих коагулопатій. З наукометричних баз даних Pub Med, Scopus, Web of science, Science Direct, Google Scholar обрано та проаналізовано найновіші публікації, присвячені цій проблематиці. Гемостаз є динамічним, чітко регульований процесом, який забезпечується трьома тісно взаємопов'язаними ланками: згортальною, протизгортальною та фібринолітичною. Активація коагуляційного каскаду та тромбоцитарної ланки гемостазу, що спричиняє протромботичний стан у реконвалесцентних пацієнтів з COVID-19, передусім пов'язана з дисрегуляцією ренін-ангіотензинової системи, тривалою місцевою й системною запальною реакцією, посиленням імунної відповіді через вивільнення прозапальних медіаторів, які взаємодіють із тромбоцитами, стимулюють експресію тканинного фактора, пригнічують фібринолітичну систему та призводять до дисфункції ендотеліальних клітин кровоносних судин, запускаючи тромбоз. Розуміння патогенетичних механізмів постковідних ускладнень і проведення моніторингу основних маркерів гемостазу (рівня D-димеру, фібриногену, протромбінового часу, кількості тромбоцитів та ін.) є важливими для вчасного виявлення порушень у системі згортання крові й надають змогу, залежно від клінічної ситуації, своєчасно вжити заходів для їхньої корекції на різних етапах розвитку патології.

Ключові слова: COVID-19, SARS-CoV-2 інфекція, постковідні ускладнення, коагулопатія, гемостаз, тромбоз.

УДК 577.122.8
DOI 10.17721/1728.2748.2023.92.22-26

A. Rachkovska¹, Student,
M. Kuntsova¹, Student,
D. Krenytska¹, PhD. Student,
O. Savchuk¹, Dr. Sci. (Biol.)
d.krenytska@gmail.com,
V. Karbovskiy²

¹Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

²LLC BIOPHARMA PLASMA, Kyiv, Ukraine

PARAMETERS OF THE LIPID PROFILE IN DONORS WHO HAD SUFFERED FROM COVID-19 AND HAD VARIOUS TITERS OF ANTI-SARS-CoV-2 IgG IN BLOOD PLASMA

COVID-19, caused by SARS-CoV-2, is a systemic disorder of with possible pathological complications in human organism. One of the critical targets of SARS-CoV-2 is the metabolism of lipids and products, which may influence the changes in patients with illness. Currently, the mechanism of binding between SARS-CoV-2 and lipids, as well as the consequences of these processes, is unknown. In addition, the long post-COVID-19 period has been confirmed in the majority of people who have suffered from COVID-19; therefore, additional attention should be paid to studying the biochemical parameters of lipid metabolism after SARS-CoV-2 infection. Our work is aimed the studying of lipid profile including concentration of total cholesterol, high-density lipoproteins (HDL), low-density lipoproteins (LDL), very low-density lipoproteins (VLDL) and triglycerides (TG) in donor groups who had suffered from COVID-19 and had different titers of anti-SARS-CoV-2 IgG in blood plasma. We selected donor groups with maximum and minimum changes of parameters among donor groups with titers of anti-SARS-CoV-2 IgG ≥ 10 Index (S/C), than we compared these groups to donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 0 Index (S/C). We established that the donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 95 ± 5 Index (S/C) was characterized by the maximum concentration of total cholesterol, LDL, VLDL, TG, while the donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 75 ± 5 Index (S/C) was determined as the minimum concentration of total cholesterol, HDL, LDL. In addition, donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 85 ± 5 Index (S/C) was described a lower concentration of VLDL and TG then in donors – 0 Index (S/C). These changes may be linked to a potential risk of cardiovascular disease (CVD). Our work can be useful for future research targeting the study of the changes in lipid metabolism during SARS-CoV-2 infection and in the development of the treatment of COVID-19 or laboratory diagnostics of physiological processes in the post-COVID-19 period.

Keywords: anti-SARS-CoV-2 IgG, total cholesterol, HDL, LDL, VLDL, TG.

Introduction. SARS-CoV-2 is the causative agent of COVID-19 disease, which caused a pandemic at the end of 2019. COVID-19 is asymptomatic or mild phase in the majority of patients, but SARS-CoV-2 infection is a risk factor for mortality in patients because it can lead to acute respiratory complications and artificial respiratory support, and fatal consequences in some cases. Frequently, patients suffering from COVID-19 have not only symptoms of respiratory system dysfunction, and the development of concomitant diseases; therefore, SARS-CoV-2 can cause systemic diseases in the body.

Clinical data have demonstrated that patients with various infections caused by gram-positive/gram-negative bacteria, viruses and parasites are characterized by changes in their lipid profile in the blood [1, 2]. In particular, a decrease in the concentrations of total cholesterol, HDL and LDL may be observed, while the concentration of TG may increase in patients. Generally, deviations from the normal range of the parameters of lipid profile correlate with the severity of the main disease; the more difficult the phase of an infection disorder, the stronger the changes in the concentrations of lipids and lipoproteins in the blood [3, 4]. Research has described [5] that patients with COVID-19 have decreased levels of total cholesterol, HDL, LDL and apolipoproteins A-1 and B, similar to other infections. Moreover, it has been reported that hypolipidemia occurs even in patients in the light phase of COVID-19 and worsens with disease progression and severity [6].

During COVID-19 the mechanism of lipid metabolism defects is currently unknown, but there are discoveries regarding the participation of lipids in viral pathogenesis [7]. Literature reports on the role of lipids in the composition of not only the viral membrane, but also the replication and invasion of the virus. Lipids that participate in the fusion of membranes and replication during penetration and exit from the membranes of host cells usually belong to the viral and human components of the cell. Significant changes in host lipidomes have been observed in cases of the difficult phase

of SARS-CoV-2 viral infection, resulting in immune system dysfunction and an increase in viral replication that can develop in the body [8]. HDL can participate in the modulation of the immune system and reactions against infectious agents. HDL binds to and neutralizes the lipids of pathogens that excessively activate the immune system during the development of COVID-19. It has been reported that HDL suppress inflammatory mediators that inactivate T cells and macrophages. The accumulation of pro-inflammatory cytokines in COVID-19 leads to the development of systemic inflammation. HDL can suppress this inflammatory cascade by inhibiting monocyte and neutrophil activation and maintaining antioxidant function, resulting in the neutralization of oxidative lipids and other factors. This process regulates inflammatory reactions in host cells [11]. In addition, LDL may oxidize, and lipid hydroperoxides accumulate during acute inflammatory reactions. The latter is esterified in oxidized LDL to activate a cascade of intracellular signaling reactions, leading to acute inflammatory reactions [9]. Moreover, an increase in the concentration of TG and a decrease in HDL can directly influence the endothelia of patients with COVID-19, which are linked to endothelial dysfunction, activation of thrombocytes and coagulation disorders. It can lead to thrombotic and/or cardiovascular disorders. These data have been reported for patients with diabetes and COVID-19 [10].

COVID-19 is closely associated with changes in the lipid metabolism. It is necessary to carefully study the main parameters of the lipid profile during and after COVID-19 for the appropriate selection of intensive therapy and prevention of lipid metabolism complications in the body.

The aim of our study was to investigate the potential changes in parameters of lipid metabolism, such as total cholesterol, HDL, LDL, VLDL and TG, in donors with different titers of anti-SARS-CoV-2 in blood plasma.

Materials and methods. People who had suffered with COVID-19 and agreed to be donors of blood plasma for biotechnological purposes at "BIOPHARMA-PLASMA" (Kyiv,

Ukraine). At the time of blood sampling, all participants were healthy. Blood plasma was collected from donors to 3-6 months after recovery from COVID-19. Donors were checked by screening tests before blood plasma was used to produce targeted biotechnological drugs. We were sent the blood plasma of donors with determined titers of anti-SARS-CoV-2 IgG for further scientific research. All donors voluntarily agreed to participate in the clinical experiment and provided written informed consent.

Anti-SARS-CoV-2 IgG titers in the blood plasma were determined by chemiluminescent microparticle immunoassay technology using the Abbott SARS-CoV-2 IgG assay (Abbott Diagnostics, Abbott Park, Illinois, United States). All donors were selected in groups based on their anti-SARS-CoV-2 IgG titers. As result, we have had such donor groups with titers of anti-SARS-CoV-2 IgG: 0 (n = 20), 10 ± 3 (n = 20); 55 ± 5 (n = 20); 65 ± 5 (n = 20); 75 ± 5 (n = 20); 85 ± 5 (n = 20); 95 ± 5 (n = 20); 125 ± 5 (n = 20); 175 ± 5 (n = 20) Index (S/C).

The concentrations of total cholesterol, HDL, LDL, VLDL, and TG were determined spectrophotometrically on a biochemical analyzer Humalyzer 3000 using standard test kits [12].

Statistical analysis of the results was performed using the computer program STATISTICA. The arithmetic mean and mean squared error indicators were calculated. The hypothesis of normal distribution was checked using the Shapiro-Wilk and Kolmogorov-Smirnov tests. All donor groups showed a non-normal distribution. So, differences between samples were determined using the Kruskal-Wallis test.

We estimated statistically significant changes in the analyzed parameters between the donor groups,

depending on the titers of anti-SARS-CoV-2 IgG. We selected the minimum and maximum changes of diagnostic parameters among the donor groups with titers of anti-SARS-CoV-2 IgG ≥ 10 ± 3 Index (S/C). The donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 0 Index (S/C) was chosen as the reference point.

Results and discussion. The estimation of lipid metabolism demonstrated that the maximum concentrations of LDL, VLDL, total cholesterol and TG were in the donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 95 ± 5 Index (S/C) among all donor groups (**Fig. 1**). Hyperlipidemia is a critical factor in the development of CVD. Oxidative stress can be a risk for the formation of oxidized LDL during COVID-19 infection. The accumulation leads to an imbalance in cholesterol transport, stimulates inflammation, tissue destruction and the dysfunction of endothelial cells in the vessels, resulting in the progression of atherosclerosis [13]. According to the obtained data, we assume that higher concentrations of LDL and VLDL in the donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 95 ± 5 Index (S/C) are predictors of endothelial dysfunction that may lead to the development of atherosclerotic CVD in the post-COVID-19 period [14]. In addition, it is predicted that in the donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 95 ± 5 Index (S/C) an increase in the concentration of TG can cause local inflammation and activation of complement and coagulation cascades, resulting in degradation of the functional status of endothelial tissue. It is linked to the accumulation of TG, which can be a signal for activation of the cleavage enzyme – lipoprotein lipase. Then, the NF-κB pathway is activated, resulting in high expression of proinflammatory cytokines, such as TNF-, IL-1, IL-6 and MCP-1 [15].

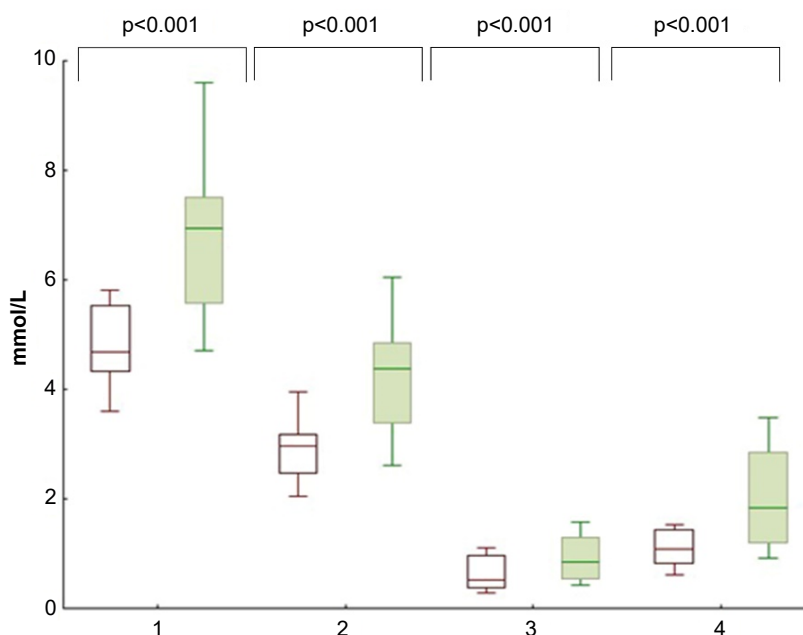


Fig. 1. The concentration of biochemical parameters of lipid metabolism:
1 – total cholesterol; 2 – LDL; 3 – VLDL; 4 – TG

□ The donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 0 Index (S/C)
 ■ The donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 95 ± 5 Index (S/C)

We determined that the minimum concentrations of total cholesterol, HDL and LDL were characterized for the donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 75 ± 5 Index (S/C) among all donor groups (**Fig. 2**). It is likely that hypolipidemia in this group binds to the inflammatory

process during SARS-CoV-2 infection. Notably, the minimum concentration of HDL can be a predictor of the destruction of endothelial function and the development of vascular diseases. In the literature, changes in lipid metabolism have been linked to changes in the

dissemination of SARS-CoV-2 in organisms. Therefore, dyslipidemia in COVID-19 can be correlated with the replication of SARS-CoV-2 in cells. Changes in the energy

exchange caused by inflammatory reactions may negatively influence lipid metabolism, leading to dyslipidemia [16, 17].

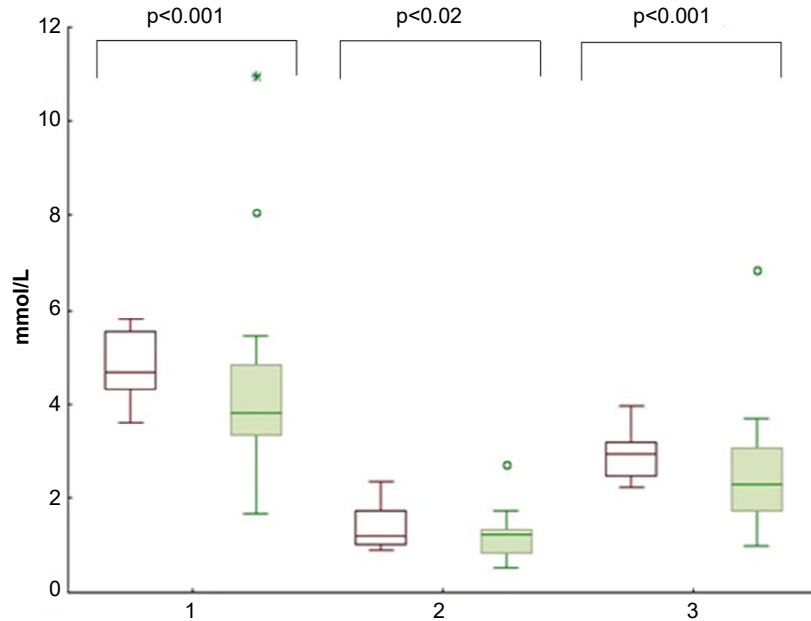


Fig. 2. The concentration of biochemical parameters of lipid metabolism:
1 – total cholesterol; 2 – HDL; 3 – LDL

□ The donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 0 Index (S/C)
■ The donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG75 ± 5 Index (S/C)

According to the obtained lipidogram parameters, the donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 85 ± 5 Index (S/C) was characterized by the lowest concentration of VLDL and TG among all donor groups (Fig. 3). Notably, it may be due to the decreased risk of CVD [18]. However, research has demonstrated that the concentration of these

parameters of lipid metabolism in the donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 85 ± 5 Index (S/C) was lower than that in donors with titer – 0 Index (S/C). Because these processes can disrupt lipid metabolism, they deserve more attention in future research.

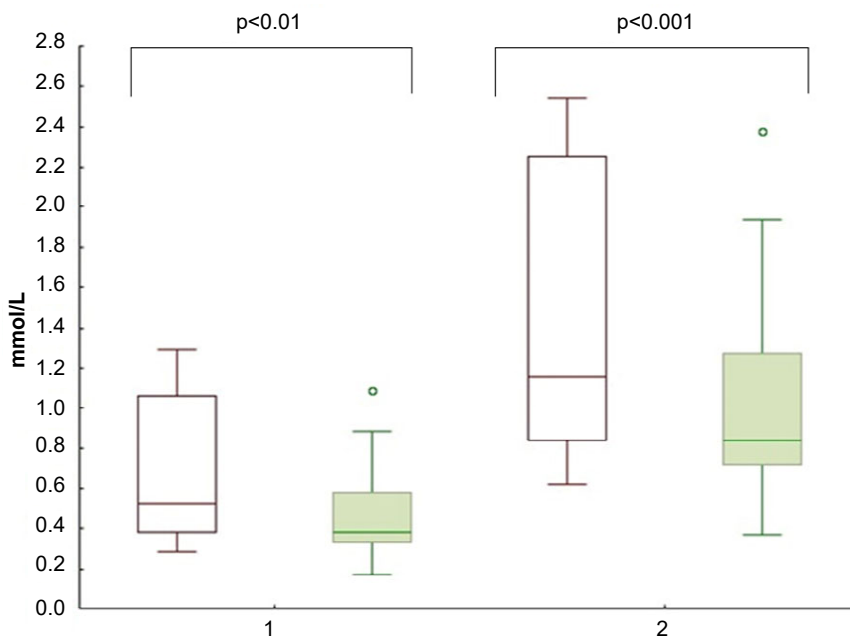


Fig. 3. The concentration of biochemical parameters of lipid metabolism:
1 – VLDL; 2 – TG

□ The donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 0 Index (S/C)
■ The donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG85 ± 5 Index (S/C)

We discovered that the donor group with the highest concentration of HDL had titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 10 ± 3 Index (S/C) (Fig. 4). Clinical data have shown that a decrease in HDL concentration is often observed in patients in the difficult phase of COVID-19 disease. HDL has both antioxidant and anti-inflammatory properties. Moreover, *in vitro* experiments demonstrated the antiviral

ability of HDL with regard to SARS-CoV-2 [19, 20]. We assumed that changes in HDL concentration could be a critical factor in predicting COVID-19. In addition, HDL has sufficient useful abilities; therefore, the increased concentration in the post-COVID-19 period is one of the main parameters for safety due to the negative consequences of disease for the organism.

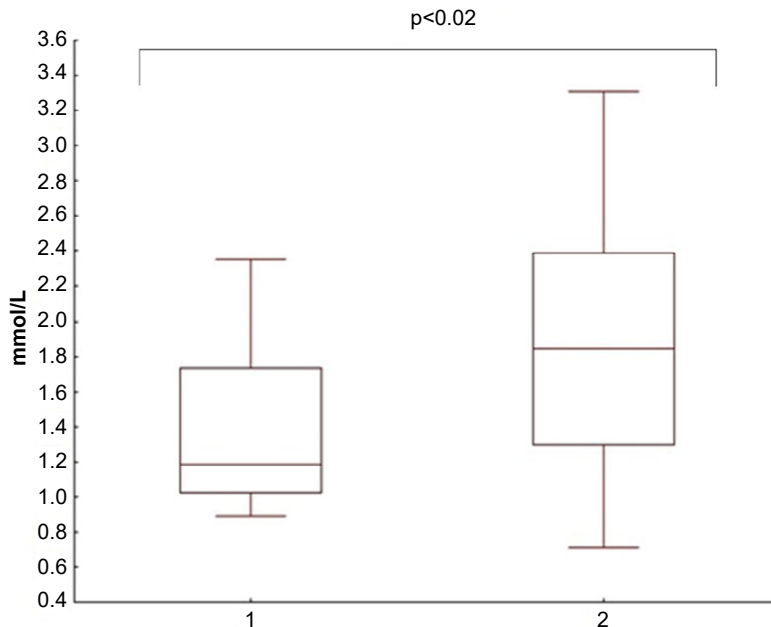


Fig. 4. The concentration of HDL in donors with titers of anti-SARS-CoV-2 IgG: 1 – 0 Index (S/C); 2 – 10 ± 3 Index (S/C)

Finally, we calculated the atherogenic index of plasma (AIP) for all donor groups. According to the results, the maximum value of AIP was obtained in the donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 95 ± 5 Index (S/C) and the minimum – 85 ± 5 Index (S/C) (Fig. 5). These findings support previously described information. In addition, a high AIP value for the donor group with titer of anti-SARS-

CoV-2 IgG 95 ± 5 Index (S/C) and the maximum concentration of total cholesterol, LDL, VLDL and TG reported the risk of CVD development in the post-COVID-19 period. A low AIP value in the donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 85 ± 5 Index (S/C) and minimum concentrations of VLDL and TG indicated a lower risk of CVD in the post-COVID-19 period.

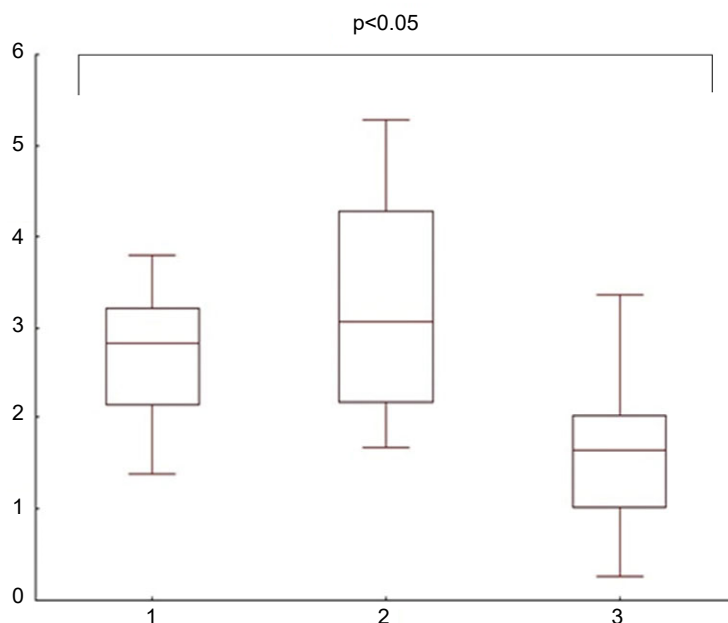


Fig. 5. The atherogenic index of plasma in donor groups with titers of anti-SARS-CoV-2 IgG: 1 – 0 Index (S/C); 2 – 95 ± 5 Index (S/C); 3 – 85 ± 5 Index (S/C)

We found that donors with titers of anti-SARS-CoV-2 IgG $\geq 10 \pm 3$ Index (S/C), including 75 ± 5 , 85 ± 5 and 95 ± 5 Index (S/C), have a potentially danger for the development of CVD. The imbalance in the lipid profile may be consequences of the inflammatory processes caused by SARS-CoV-2 and the influence of anti-SARS-CoV-2 IgG circulating in the blood.

Conclusion. In this study, we established that COVID-19 caused an imbalance in lipid metabolism, leading to hyperlipidemia, which may be a factor in the development of CVD and the spread of oxidative stress in the body, systemic inflammation, activation of complement reactions and the coagulation cascade. Our work can be useful in creating protocols for the treatment of COVID-19 and post-COVID-19 therapy to decrease the negative effects of SARS-CoV-2 and regulate lipid metabolism in organisms after recovery.

References

1. Cappi S.B., Noritomi D.T., Velasco I.T., Curi R., Loureiro T.C., Soriano F.G. Dyslipidemia: a prospective controlled randomized trial of intensive glycemic control in sepsis. *Intensive Care Med.* 2012; 38:634–641.
2. Khovidhunkit W., Kim M.S., Memon R.A., Shigenaga J.K., Moser A.H., Feingold K.R., Grunfeld C. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. *J Lipid Res.* 2004; 45:1169–1196.
3. Deniz O., Gumus S., Yaman H., Ciftci F., Ors F., Cakir E., Tozkoparan E., Bilgic H., Ekiz K. Serum total cholesterol, HDL-C and LDL-C concentrations significantly correlate with the radiological extent of disease and the degree of smear positivity in patients with pulmonary tuberculosis. *Clin Biochem.* 2007; 40:162–166.
4. Deniz O., Tozkoparan E., Yaman H., Cakir E., Gumus S., Ozcan O., Bozlar U., Bilgi C., Bilgic H., Ekiz K. Serum HDL-C levels, log (TG/HDL-C) values and serum total cholesterol/HDL-C ratios significantly correlate with radiological extent of disease in patients with community-acquired pneumonia. *Clin Biochem.* 2006; 39:287–292.
5. Fan J., Wang H., Ye G., Cao X., Xu X., Tan W., Zhang Y. Letter to the Editor: Low-density lipoprotein is a potential predictor of poor prognosis in patients with coronavirus disease 2019. *Metabolism.* 2020; 107:154243. doi: 10.1016/j.metabol.2020.154243.
6. Wei X., Zeng W., Su J., Wan H., Yu X., Cao X., Tan W., Wang H. Hypolipidemia is associated with the severity of COVID-19. *J Clin Lipidol.* 2020; 14(3):297–304. doi: 10.1016/j.jacl.2020.04.008.
7. Nie, S., Zhao, X., Zhao, K., Zhang, Z., Zhentao, Z., Zhang, Z., et al. (2020). Metabolic disturbances and inflammatory dysfunction predict severity of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a retrospective study. *MedRxiv [Preprint]*. doi: 10.1101/2020.03.24.20042283.

8. Zhao T., Wang C., Duan B., Yang P., Wu J., Zhang Q. Altered Lipid Profile in COVID-19 Patients and Metabolic Reprogramming. *Front Microbiol.* 2022; 13. doi: 10.3389/fmicb.2022.863802.

9. Changaripour S., Sarvazad H., Barghi M., Sajadi E., Sadeghian M.H., Roozbahani N.E. Lipid profile changes in patients with COVID-19 referred to medical centers in Kermanshah, Iran; a case-control study. *J Int Med Res.* 2022; 50(2). doi: 10.1177/03000605221078699.

10. Orsi E. Independent association of atherogenic dyslipidaemia with all-cause mortality in individuals with type 2 diabetes and modifying effect of gender: a prospective cohort study. *Cardiovasc. Diabetol.* 2021; 20(1): 28.

11. Malik J., Laique T., Ishaq U., et al. Effect of COVID-19 on Lipid Profile and its Correlation with Acute Phase Reactants. *medRxiv*; 2021. DOI: 10.1101/2021.04.13.21255142.

12. Zbirnyk metodychnykh rekomendatsii z vykorystannia test naboriv firmy vyrobnyka "Human" [Electronic resource] – Access mode: http://www.human.de/en/productNew/Clinical_Chemistry/Reagents_and_Consumables/Multipurpose_Reagents.php.

13. Surma S., Banach M., Lewek J. COVID-19 and lipids. The role of lipid disorders and statin use in the prognosis of patients with SARS-CoV-2 infection. *Lipids Health Dis.* 2021; 20(1):141. doi: 10.1186/s12944-021-01563-0.

14. Liu Y., Pan Y., Yin Y. Association of dyslipidemia with the severity and mortality of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *Viral J.* 2021; 18(157). <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01604-1>.

15. Peng Z., Zhenzhou W., Zhe D. Serum triglyceride levels and related factors as prognostic indicators in COVID-19 patients: A retrospective study. *ImmunInflamm Dis* 2021; 9(3): 1055-1060.

16. Zhao M., Luo Z., He H., Shen B., Liang J., Zhang J., Ye J., Xu Y., Wang Z., Ye D., Wang M., Wan J. Decreased Low-Density Lipoprotein Cholesterol Level Indicates Poor Prognosis of Severe and Critical COVID-19 Patients: A Retrospective, Single-Center Study. *Front Med (Lausanne).* 2021;8. doi: 10.3389/fmed.2021.585851.

17. Yan B., Chu H., Yang D., Sze K.H., Lai P.M., Yuan S. Characterization of the lipidomic profile of human coronavirus-infected cells: implications for lipid metabolism remodeling upon coronavirus replication. *Viruses.* (2019) 11:73. doi: 10.3390/v11010073 .

18. Prensner S.B., Mulvey C.K., Ferguson J.F., Rickels M.R., Bhatt A.B., Reilly M.P. Very low density lipoprotein cholesterol associates with coronary artery calcification in type 2 diabetes beyond circulating levels of triglycerides. *Atherosclerosis.* 2014; 236(2):244–50. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.07.008.

19. Cho, K.-H., Kim, J.-R., Lee, I.-C., and Kwon, H.-J. Native High-Density Lipoproteins (HDL) With Higher Paraoxonase Exerts a Potent Antiviral Effect against SARS-CoV-2 (COVID-19), While Glycated HDL Lost the Antiviral Activity. *Antioxidants.* 2021; 10: 209. doi:10.3390/antiox10020209.

20. Wang G., Deng J., Li J., Wu C., Dong H., Wu S., Zhong Y. The Role of High-Density Lipoprotein in COVID-19. *Front Pharmacol.* 2021; 12. doi: 10.3389/fphar.2021.720283.

Submitted: 27.02.23

Reviewed: 27.02.23

Accepted: 29.03.23

A. Рачковська¹, студ.,
M. Кунцова¹, студ.,
Д. Креницька¹, асп.,
d.krenytska@gmail.com,
O. Савчук¹, д-р біол. наук,
B. Карбовський²

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

²ТОВ "Біофарма Плазма", Київ, Україна

ПАРАМЕТРИ ЛІПІДНОГО ПРОФІЛЮ У ДОНОРІВ, ЯКІ ПЕРЕХВОРИЛИ НА COVID-19 ТА МАЮТЬ РІЗНІ ТИТРИ АНТИ-SARS-CoV-2 IgG У ПЛАЗМІ КРОВІ

Захворювання COVID-19, викликане вірусом SARS-CoV-2 – це системне ураження організму з можливими патологічними наслідками для здоров'я людини. Важливими цілями для SARS-CoV-2 виступають ліпіди та продукти їхнього обміну, що впливатиме на зміни метаболізму у хворих пацієнтів. Наразі механізми взаємодії між вірусом SARS-CoV-2 і ліпідами недостатньо відомі, так само як і наслідки до яких можуть призвести такі процеси. Крім того, у більшості людей, які перенесли COVID-19, підтверджується тривалий постCOVID-19 період. Тому слід приділити додаткову увагу вивченню біохімічних показників ліпідного обміну після перенесеної інфекції SARS-CoV-2. Наша робота присвячена дослідженню ліпідного профілю, що включає концентрації загального холестерину, ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ), ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) і тригліцеридів (ТГ) у групах донорів, які перехворіли на COVID-19 та містять у плазмі крові анти-SARS-CoV-2 IgG різних титрів. Ми відобразили групи донорів з максимальними й мінімальними змінами параметрів серед груп донорів із титрами анти-SARS-CoV-2 IgG ≥ 10 Index (S/C), потім порівняли ці групи з групою донорів із титром анти-SARS-CoV-2 IgG 0 Index (S/C). Ми встановили, що для групи донорів з титром анти-SARS-CoV-2 IgG 95 ± 5 Index (S/C) характерні максимальні концентрації загального холестерину, ЛПНЩ, ЛПДНЩ, ТГ, тоді як у групи донорів з титром анти-SARS-CoV-2 IgG 75 ± 5 Index (S/C) виявлено мінімальні концентрації загального холестерину, ЛПВЩ, ЛПНЩ. Крім цього, для групи донорів з титром анти-SARS-CoV-2 IgG 85 ± 5 Index (S/C) характерно концентрації ЛПДНЩ і ТГ нижче, ніж у контрольної групи донорів. Такі зміни можуть бути пов'язані з ризиком виникнення серцево-судинних захворювань (ССЗ). Ця робота може бути корисною у майбутніх дослідженнях, які стосуються змін метаболізму ліпідів при інфікуванні SARS-CoV-2, а також у розробці підходів лікування COVID-19 та для врегулювання процесів у постковідний період.

Ключові слова: анти-SARS-CoV-2 IgG, загальний холестерин, ЛПВЩ, ЛПНЩ, ЛПДНЩ, ТГ.

УДК 577.122.8
DOI 10.17721/1728.2748.2023.92.27-32

Ю. Швець, студ.,
В. Конопельнюк, канд. біол. наук,
Т. Фалалєєва, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

СТАТЕВІ ВІДМІННОСТІ РІВНІВ МАРКЕРІВ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ОЖИРІННЯМ ЗА УМОВ ПРОФІЛАКТИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ОРЛІСТАТУ ТА БІОНАНОКОМПЗИТУ НА ОСНОВІ ПАЖИТНИКА

Ожиріння – комплексне захворювання, пов'язане з надлишковою кількістю жиру в організмі. Як правило, воно спричинене надмірним споживанням їжі та малою фізичною активністю. Зумовлене висококалорійним харчуванням, ожиріння може виникати у осіб обох статей, але більш виражені зміни показників крові, пов'язані з цим захворюванням, частіше у чоловіків. Проте гендерні особливості механізмів розвитку ожиріння маловідомі. Тому метою нашого дослідження було визначення статевоспецифічної реакції на вміст молекул середньої маси й олігопептидів у сироватці крові щурів за умов споживання висококалорійної дієти та за умов введення біонанокмпозиту на основі фенугреку й орлістату. Для цього ми використовували модифікований метод Габриляян і математичну обробку та статистичний аналіз отриманих результатів.

Ключові слова: ожиріння, молекули середньої маси, біонанокмпозит, фенугрек, орлістат, висококалорійна дієта.

Вступ. Ожиріння – це хронічне багатофакторне метаболічне захворювання, що характеризується надмірним накопиченням жирової тканини в організмі й підвищеним ризиком розвитку супутніх захворювань [1, 2]. Проблема ожиріння актуальна незалежно від соціальної та професійної належності, зони проживання, віку і статі. В економічно розвинених країнах майже 50 % населення мають надлишкову вагу, із них 30 % страждають на ожиріння, при цьому жінки частіше [3].

Біологічні рідини організму при патологічних процесах характеризуються високим вмістом метаболітів ліпідів і вуглеводів, а також аномальних сполук, які токсично діють на клітини печінки, нирок і мозку [4, 5]. Більшість цих токсинів належить до молекул середньої маси (МСМ). Явище, яке отримало назву синдрому ендогенної інтоксикації (СЕІ), характеризується декількома неспецифічними виявами інтоксикації організму, що виникає при патологічних станах із запальними ефектами. МСМ – гетерогенна група речовин різної хімічної природи з молекулярною масою 500–5000 Да. Основна частина цих сполук – олігопептиди, які є продуктами деградації білків сироватки крові. Загалом олігопептиди, що належать до МСМ, мають вазо-, кардіо-, нейро- та імуносупресивні властивості, впливають на безліч метаболічних процесів тощо [6]. Оскільки МСМ є маркером інтоксикації, ступінь підвищення вмісту МСМ свідчить про тяжкість захворювання та його ускладнення, а також відображає ефективність лікування.

Лікування ожиріння включає кілька терапевтичних стратегій, а саме обмеження споживання калорій і збільшення фізичної активності, блокування всмоктування поживних речовин у кишечнику, модуляцію метаболізму жирів, регуляцію внутрішньоклітинної сигналізації в жировій тканині й контроль центру насичення. Але численні ліки, які протягом багатьох років використовувалися для мінімізації ожиріння, на сьогодні вилучені через їхні серйозні побічні ефекти. Тому необхідним є пошук нових речовин і стратегій для ефективного лікування, профілактики ожиріння й супутніх захворювань. Компоненти натуральних рослинних продуктів широко використовуються як діючі речовини лікарських засобів. Зокрема, джерелом для відкриття нових терапевтичних засобів для боротьби з ожирінням є харчові добавки [7]. *Trigonella foenum-graecum*, або пажитник – це рослина, яка використовується у фітотерапії. Препарати на основі пажитника виявляють гіполіпемічний ефект, гіпоглікемічний ефект, мають анти-

оксидантні властивості [8]. Лікарські препарати на основі пажитника можуть зменшити масу тіла й жирову масу, стимулюючи перистальтику кишечника та пригнічуючи реабсорбцію з нього вуглеводів і жирних кислот [9].

Індивідуальні відмінності в схильності до розвитку ожиріння, неоднаковість у будові тіла й розподілі жирових відкладень, споживання висококалорійної їжі спричиняють розвиток супутніх захворювань, пов'язаних з ожирінням [10–12]. Розвиток ожиріння у представників різних статей може відбуватися за відмінними механізмами і, як наслідок, потребувати використання різних терапевтичних підходів. Відомо, що асоційовані з ожирінням гіперглікемія, гіперхолестеринемія, інсулінорезистентність і гіперлептинемія більш виражені у чоловіків [13]. Водночас наразі маловідомі гендерні особливості механізмів розвитку ожиріння та пов'язаних з ним станів, оскільки в більшості експериментів зі створення моделей ожиріння на тваринах використовується лише одна стаття – чоловіча. Тому метою нашого дослідження було визначення статевоспецифічної реакції на вміст МСМ і олігопептидів у сироватці крові щурів за умов споживання ВКД та за умов введення біонанокмпозиту на основі фенугреку й орлістату.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на 72 щурах (самцях і самках), розділених на шість груп по шість тварин у кожній – самці та шість груп по шість тварин у кожній – самки. Тварин кожної експериментальної групи окремо розміщували в поліпропіленових клітках у кімнаті з чистим повітрям, температурою $22 \pm 3^\circ \text{C}$, циклом 12 год світла/12 год темряви та відносною вологістю $60 \pm 5\%$.

Тварин було розділено на групи:

1 – контрольна група тварин, яка перебувала на стандартному раціоні харчування;

2 – контрольна група, яка знаходилася на стандартному раціоні харчування й отримувала біонанокмпозит (БНК);

3 – контрольна група, яка була на стандартному раціоні харчування та отримувала орлістат (Орл);

4 – тварини, які споживали висококалорійний корм (ВКД);

5 – тварини, які вживали ВКД та біонанокмпозит (БНК);

6 – тварини, які споживали ВКД та отримували орлістат (Орл) [14].

Із 77 по 98 день групи 2 і 5 отримували біонанокмпозит на основі TFG (150 мг/кг маси тіла перорально), тоді як групи 3 і 6 отримували орлістат (10 мг/кг маси тіла

перорально) [15]. Споживання їжі та води вимірювали щодня в один і той самий час (з 9:00 до 10:00 год), а масу тіла визначали один раз на тиждень.

На 99-й день кров збирали з ретроорбітального сплетення щурів і сироватку відокремлювали центрифугуванням при 3000 об/хв протягом 15 хв. Зразки сироватки зберігали при -80 °С до аналізу.

Дослідження вмісту молекул середньої молекулярної маси проводили за методом Габриелян із модифікаціями [16]. Метод ґрунтується на осадженні високомолекулярних пептидів і білків біологічних рідин під впливом трихлороцтової кислоти і кількісним визначенням пептидів середньої молекулярної маси.

У центрифужні пробірки вносили 1 мл сироватки та 0,5 мл розчину ТХО (100 г/л), перемішували й центрифугували протягом 30 хв при 3000 г. Відбирали по 0,5 мл супернатанту і вносили у пробірки з 4,5 мл дистильованою водою. Визначення обсорбції проводили при 254 нм. Уміст МСМ представлений в ум. од./мл сироватки. Уміст олігопептидів у складі МСМ визначали за рівнем білка в надосаді, він представлений в ум. од./мг білка.

Математичну обробку й аналіз отриманих експериментальних даних проводили за допомогою комп'ютерного пакету для обробки та аналізу статистичної інформації Statistica 8.0. Для перевірки гіпотез щодо рівності генеральних середніх двох незалежних, незв'язаних вибірок використовували t-критерій Стьюдента з попередньою перевіркою нормальності розподілу змінних. Різницю між показниками вважали статистично значущою при $p < 0,05$. Отримані результати наведені у вигляді $M \pm SD$ (середнє арифметичне \pm стандартна (середньоквадратична) похибка середнього).

Результати та їх обговорення. Результати досліджень свідчать про значне підвищення рівня МСМ у крові щурів обох статей, які отримували висококалорійну дієту, що вказує на розвиток синдрому ендогенної інтоксикації. Більш виражені зміни рівня цього маркера виявлені у самок (рис. 1).

Застосування як орлістату, так і біонанокмполімеру на основі пажитника усуває вияви СЕІ, про що свідчить значне зниження рівня МСМ у самок і поява відповідної тенденції у самців.

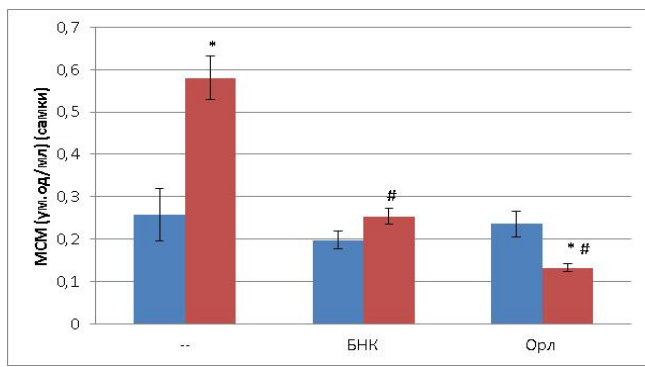
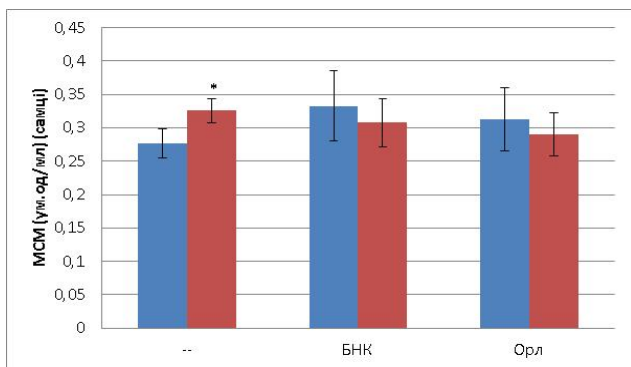


Рис. 1. Уміст молекул середніх мас у сироватці крові щурів обох статей за умов споживання висококалорійного корму та введення біонанокмполімеру й орлістату (синій колір – тварини, які споживали стандартний корм, червоний колір – тварини, які споживали висококалорійний корм)

У сироватці крові щурів-самців, які отримували висококалорійну дієту, спостерігається більше підвищення рівня олігопептидної фракції МСМ порівняно зі щурами іншої статі (рис. 2).

Аналізуючи літературні дані, можна припустити, що однією із причин відсутності таких змін у самок разом із більш вираженим підвищенням рівня МСМ може бути наявність статевих відмінностей у якісному складі

молекул середньої маси, а саме – переважання у самок непептидних МСМ, у тому числі похідних жирних кислот і ТАГ [17]. Згідно з літературними даними вважається, що накопичення пептиду МСМ, до складу якого входять продукти розпаду сироваткових білків і фрагментів колагену, є результатом підвищеної активності протеолітичних ферментів [18, 19].

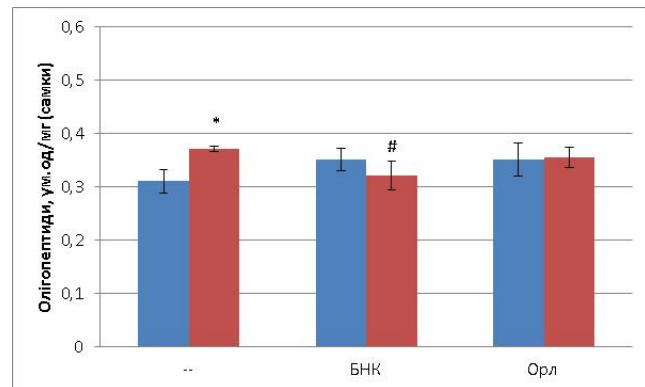
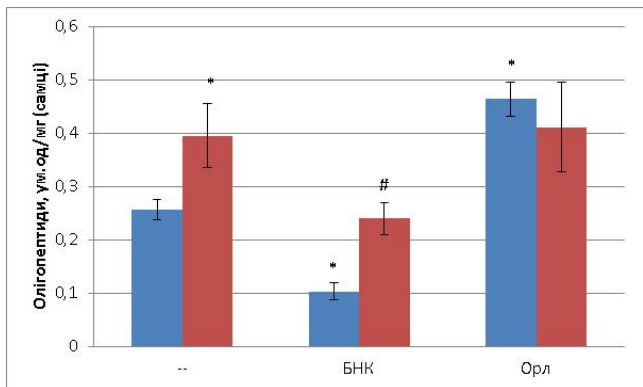


Рис. 2. Уміст олігопептидів у сироватці крові щурів обох статей за умов споживання висококалорійного корму та введення біонанокмполімеру й орлістату (синій колір – тварини, які споживали стандартний корм, червоний колір – тварини, які споживали висококалорійний корм)

Згідно з літературними джерелами, ожиріння й супутні захворювання пов'язані з підвищенням рівня протеолізу [20]. Крім того, є дані про те, що окислювальний стрес відіграє провідну роль у патогенезі ожиріння. Він відбувається в різних тканинах і забезпечує зниження рівня глутатіону та активності антиоксидантних ферментів з одночасним посиленням переокисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і окисної модифікації білків, зокрема їхнього карбонілювання [21]. Одним із наслідків окисної модифікації білків є підвищена чутливість модифікованих білків до протеолізу. За даними літератури, ожиріння характеризується підвищенням карбонілювання білків, причому рівні карбонільованих білків позитивно корелюють з індексом маси тіла (ІМТ). Активація вільнорадикального окиснення призводить до ендогенної інтоксикації та збільшення вмісту в крові молекул середньої маси [22, 23]. Іншою причиною підвищення вмісту МСМ при ожирінні може бути порушення видільної здатності нирок [24].

Літературні дані свідчать, що розвиток ураження нирок при ожирінні має кілька стадій. Однією з перших змін у нирках у відповідь на ожиріння є розвиток клубочкової гіперфільтрації. Наступні стадії хвороби нирок, асоційованої з ожирінням, характеризуються зниженням ШКФ унаслідок гіпертрофії та гіперплазії клубочкових клітин, розвитком запалення й окисного стресу [25]. Початкові етапи ураження нирок при ожирінні супроводжуються характерними змінами подоцитів. Іншими явищами, що обговорюються в літературі, які супроводжують прогресування захворювання нирок при ожирінні, є проліферація мезангіоцитів, інфільтрація ниркової тканини макрофагами й подальша стимуляція цими клітинами потужного синтезу компонентів позаклітинного матриксу [26].

Результати наших досліджень свідчать про відсутність суттєвих змін вмісту МСМ у щурів-самців при профілактичному застосуванні орлістату та БНК на основі пажитника: вміст МСМ у сироватці крові щурів за умов висококалорійної дієти при застосуванні обох сполук істотно не відрізняються від контрольних значень (рис. 1).

Водночас спостерігалися потужні зміни у фракції олігопептидів. Застосування орлістату не тільки не знижує рівень продуктів деградації білків у щурів-самців на висококалорійній дієті, але й викликає їхнє сильне утворення в контрольній групі. Поясненнями цьому можуть бути побічні ефекти цього препарату. Крім стеатореї – загальновідомого наслідку орлістату – кілька досліджень указують на порушення окисно-відновного балансу в організмі при його застосуванні шляхом зниження рівня глутатіону і, відповідно, глутатіонзалежної системи антиоксидантного захисту. Відповідно до літературних даних, через пригнічення реабсорбції жиру в кишечнику порушується споживання важливих неферментативних антиоксидантів, таких, як вітамін А та Е [27]. Розвиток окислювального стресу, сприяючи окислювальній модифікації білків, може брати участь у посиленні їхнього катаболізму.

Аналізуючи літературні дані з цього питання, іншими побічними ефектами орлістату є розлади печінки й гостре ураження нирок. Орлістат може викликати гостре ураження нирок шляхом стимуляції кишкової гіпероксалурії, яка також спостерігається у пацієнтів із порушенням всмоктування жирів. Жири, що не всмоктуються в тонкій кишці, утворюють кальцієві мила, які зменшують всмоктування вільного кальцію в кишечнику. У результаті кальцій не може зв'язувати оксалати в кишечнику, що призводить до посилення реабсорбції оксалатів. Це, у свою чергу,

викликає посилене виведення оксалатів із сечею. Перенасичення каналцевої рідини оксалатами є фактором ризику утворення преципітатів оксалату кальцію, що може спровокувати розвиток гострого ураження нирок. Ряд повідомлень свідчить про те, що вплив орлістату спричиняє зниження клубочкової фільтрації, що також сповільнює виведення олігопептидів з організму [28].

Ми також виявили значне зниження рівнів МСМ, але жодних подібних змін не знайдено у фракції олігопептидів у самок щурів, які отримували висококалорійну дієту з орлістатом. Це може вказувати на статеві відмінності у складі МСМ, а саме переважання у самок непептидних МСМ, у тому числі фрагментів ліпідів. Таке припущення можливе в зв'язку з тим, що ці сполуки не виводяться з організму із сечею, тому їхній вміст у крові не залежить від функціонального стану нирок. Орлістат, діючи як інгібітор панкреатичної ліпази, запобігає гідролізу екзогенних ТАГ і всмоктуванню їхніх компонентів, а шляхом пригнічення активності синтази жирних кислот – знижує ендогенну генерацію жирних кислот і тим самим пригнічує утворення похідних ліпідів, які належать до МСМ.

Результати наших досліджень указують на наявність статевих відмінностей у рівнях олігопептидної фракції МСМ. Дійсно, на відміну від самців, самки, які отримували висококалорійну дієту, характеризуються менш швидким збільшенням вмісту олігопептидів, а в контрольній групі не спостерігалось значного стимульованого орлістатом підвищення рівня олігопептидів. Можливим поясненням цього факту може бути більша стійкість жіночих нирок до пошкоджень як за умови висококалорійної дієти, так і при застосуванні орлістату.

Виявлене в наших дослідженнях підвищення вмісту олігопептидів у контрольній групі щурів-самців за умов застосування орлістату може – принаймні частково – бути спричинене синергічним ефектом андрогену й орлістату на рівні оксалатів у сечі, які у разі надмірного накопичення сприяють утворення кристалів оксалату кальцію; подальша агрегація кристалів та їхня взаємодія із клітинами каналців нефронів викликають пошкодження цих клітин. Самці мають вищу здатність до кристалотворення завдяки стимулюючій дії андрогену на експресію p22-Phox субодиниці НАДФН-оксидази в нирках. Крім того, андрогени стимулюють біосинтез оксалатів шляхом посилення експресії гена гліколатоксидази – пероксисомального ферменту печінки, який каталізує окиснення гліколатів і таким чином генерує гліоксилат – безпосередній попередник оксалату [29].

На відміну від орлістату, біонанокомпозит на основі пажитника суттєво знижує сироватковий рівень олігопептидів у щурів-самців контрольної групи та щурів обох статей, які отримували висококалорійну дієту. В останньому випадку значення цього показника істотно не відрізняється від нормальних рівнів. Ці ефекти можна пояснити особливостями дії речовин, що входять до складу пажитника, на різні ланки метаболізму.

Основними компонентами препарату на основі пажитника є три сполуки – діосгенін, 4-гідроксиізолейцин і компоненти фракції розчинних харчових волокон пажитника – галактоманнани. Ці сполуки виявляють потужний вплив на метаболізм глюкози та ліпідів, сигнальну систему інсуліну, функціональний стан печінки й нирок, розвиток запальних процесів [30]. Уважається, що діосгенін ефективний проти різноманітних патологій, оскільки він нормалізує гомеостаз глюкози, має гепато-

протекторну дію та зменшує вияви окисного стресу й запалення [31]. Галактоманнани є основними компонентами волокон пажитника. За структурою – це полісахариди, що складаються із залишків манози та галактози. Галактоманнани мають властивість підвищувати в'язкість, коли вони розчиняються у воді, утворюючи таким чином в'язкий гель у кишечнику. Типовими ефектами цих сполук є посилення перистальтики кишечника, пригнічення ферментів, що гідролізують ліпіди й вуглеводи у шлунково-кишковому тракті, та як наслідок – пригнічення всмоктування жирних кислот і глюкози та, відповідно, усунення гіперліпідемії й гіперглікемії. Іншою напрямленістю дії цих сполук є їхня здатність зв'язувати жовчні кислоти – необхідні компоненти міцел; останні також включають холестерин і жирні кислоти, які транспортуватимуться через мембрану ентероцитів.

Волокна пажитника також уповільнюють розвиток атеросклерозу через зниження рівня ЛПНЩ, окислених ЛПНЩ і гомоцистеїну з одночасним збільшенням кількості глутатіону та α -токоферолу. Іншою позитивною дією галактоманнів є їхня захисна дія на функцію печінки й нирок [30].

Таким чином, можна припустити, що однією з можливих причин позитивного впливу БНК на основі пажитника на рівень олігопептидів, а отже, і на вияв СЕІ може бути загальна нормалізація метаболізму у самців і самок щурів як контрольної групи, так і під час лікування висококалорійною дієтою. Ще однією можливою причиною, яка потребує подальших досліджень, зниження пептидних маркерів СЕІ при використанні БНК є потужні антиоксидантні властивості пажитника завдяки наявності таких компонентів, як поліфеноли та біофлавоноїди, сапоніни, вітаміни, селен та інші. Численні дослідження показують, що компоненти пажитника мають здатність поглинати АФК, пригнічувати процеси перекисного окиснення ліпідів і сприяти ферментативним функціям антиоксидантів [32]. Профілактичне застосування пажитника також покращує функцію нирок за рахунок значного зниження загального вмісту кальцію в нирковій тканині, зменшення процесів кальцифікації, підвищення рівня антиоксидантного захисту, зменшення виявів окислювального стресу, включаючи пригнічення перекисного окиснення ліпідів [33].

Висновки. Показано підвищення рівня маркерів синдрому ендогенної інтоксикації – молекул середньої маси й олігопептидів – у сироватці крові щурів з експериментальним ожирінням, що може бути наслідком як інтенсивного протеолізу, так і порушення видільної здатності нирок. Більш виражені зміни рівня МСМ виявляються у самок щурів, а вмісту олігопептидів – у самців. Це може свідчити про наявність статевих відмінностей у якісному складі МСМ, а саме про переважання непептидних МСМ у самок, у тому числі похідних жирних кислот і ТАГ. Лікування щурів обох статей орлістатом і БНК підтримує вміст МСМ у межах норми.

Результати проведених нами досліджень указують на існування статевих особливостей впливу орлістату на вміст олігопептидів у сироватці крові. Застосування орлістату викликає підвищення вмісту олігопептидів як у контрольній групі щурів-самців, так і в щурів-самок у умовах ВКД, що може бути спричинено вираженими побічними ефектами цього препарату на структуру й функціональну активність нирок за рахунок стимуляції розвитку гіпероксалурії та окислювального стресу. На відміну від самок, самки за умов ВКД характеризуються менш

швидким підвищенням вмісту олігопептидів, а в контролі не спостерігається істотного стимульованого орлістатом підвищення вмісту олігопептидів. Можливим поясненням цього факту може бути більша стійкість нирок самок до пошкоджень як в умовах ВКД, так і при застосуванні орлістату. Зниження рівня МСМ, яке спостерігається у самок щурів, які отримували орлістат за умов ВКД, разом із відсутністю подібних змін у фракції олігопептидів, підтверджує існування статевих відмінностей у складі МСМ, таких, як поширеність у самок непептидних МСМ, у тому числі фрагментів ліпідів, рівень яких у крові не залежить від функціонального стану нирок, оскільки вони не виводяться з організму зі складом сечі.

Застосування БНК на основі фенугреку знижує рівень олігопептидів у щурів-самок контрольної групи та нормалізує зазначений показник у щурів обох статей в умовах експерименту. Одним із пояснень цього може бути наявність у пажитнику активних інгредієнтів, які можуть підвищувати антиоксидантний захист і, поряд із нормалізацією ліпідного й вуглеводного обміну, покращувати роботу органу, що забезпечує вивільнення ендогенних токсинів, які належать до олігопептидів.

Виявлені нами статеві відмінності в сироваткових рівнях маркерів СЕІ можуть бути зумовлені особливостями впливу статевих гормонів на функціональний стан нирок. Тому в самців за умов висококалорійного харчування характерний швидкий і виражений розвиток гломерулосклерозу і фіброзу нирок, а у самок є більш стійкими до прогресування ниркової патології. Отже, статеві відмінності можуть бути одним із факторів, що визначають прогресування ураження нирок.

Список використаних джерел

- Ogden C. L. Prevalence of obesity among adults and youth: United States, 2011-2014 / C. L. Ogden, M. D. Carroll, C. D. Fryar, K. M. Flegal // *NCHS Data Brief*. – 2015. – № 219. – P. 1–8.
- Cawley J. The medical care costs of obesity: an instrumental variables approach / J. Cawley, C. Meyerhoefer // *J. Health Econ.* – 2012. – № 31. – P. 219–230.
- Panuganti K. K. Obesity / K. K. Panuganti, M. Nguyen, R. K. Kshirsagar // *Stat Pearls Publishing*. – 2022.
- Вміст молекул середньої маси та олігопептидів у крові та тканинах щурів за умов розвитку кислотного опіку стравоходу / Т. Коваль, Т. Ішук, Я. Раецька та ін. // *Біологічні системи*. – 2015. – Т. 7, № 2. – С. 144–148.
- Нетухоайло Л. Молекули середньої маси – маркери ендогенної інтоксикації при експериментальній опіковій хворобі / Л. Нетухоайло // *Сучасні проблеми токсикології*. – 2005. – № 3. – С. 57–58.
- Mykolenko A. Changes of concentration of middle mass molecules in blood serum in the early days of isolated orthopedic trauma complicated by blood loss / A. Mykolenko // *Deutscher Wissenschaftsverlag – German Science Herald*. – 2016. – № 2. – P. 16–18.
- Kumar P. Common medicinal plants with antiobesity potential: A special emphasis on fenugreek / P. Kumar, U. Bhandari // *AncSci Life*. – 2015. – Vol. 35. – № 1. – P. 58–63.
- Akbari M. Physiological and pharmaceutical effect of fenugreek: a review / M. Akbari, H. Rasouli, T. Bahdor // *IOSR Journal of Pharmacy (IOSRPHR)*. – 2012. – Vol. 2, № 4. – P. 49–53.
- Geetha M. Effect of Fenugreek on Total Body and Organ Weights: A Study on Mice / M. Geetha, S. Reddy, A. Krupanidhi [et al.] // *Pharmacology online*. – 2011. – Vol. 3. – P. 747–752.
- Allerton T. D. High-fat diet differentially regulates metabolic parameters in obesity-resistant S5B/PI rats and obesity-prone Osborne-Mendel rats / T. D. Allerton, S. D. Primeaux // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 2015. – P. 1–10.
- Calabrò P. The role of adiposity as a determinant of an inflammatory milieu / P. Calabrò, G. Limongelli, G. Pacileo [et al.] // *J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown)*. – 2008. – № 9. – P. 450–460.
- Poret J. M. High fat diet consumption differentially affects adipose tissue inflammation and adipocyte size in obesity-prone and obesity-resistant rats / J. M. Poret, F. Souza-Smith, S. J. Marcell [et al.] // *Int. J. Obes.* – 2018. – № 42. – P. 535–541.

13. Hwang L. Sex Differences in High-fat Diet-induced Obesity, Metabolic Alterations and Learning, and Synaptic Plasticity Deficits in Mice / L. Hwang, C. Wang, T. Li [et al.] // *Obesity*. – 2010. – Vol. 18, № 3. – P. 463–469.
14. Shen H. Vitamin E regulates adipocytokine expression in a rat model of dietary-induced obesity / H. Shen, Q. Tang, J. Huang // *Exp Biol Med*. – 2010. – № 235. – P. 47–51.
15. Bionanocomposite prevents body weight gain in high calorie diet – obese rats / V. V. Konopelnyuk, I. I. Goloborodko, M. O. Tymoshenko, L. I. Ostapchenko // *IJHSR*. – 2016. – Vol. 6, № 4. – P. 354–361.
16. The content of middle mass molecules and oligopeptides in the blood and tissues of rats under conditions of acid burn of the esophagus / T. V. Koval, T. V. Ishchuk, Ya. B. Raetska [et al.] // *Bioloichni systemy*. – 2015. – Vol. 7, № 2. – P. 143–148.
17. Гембаровський М. В. Особливості патогенетичних механізмів ендогенної інтоксикації у щурів за умови гострого отруєння парацетамолом на тлі харчової деривації / М. В. Гембаровський, І. М. Кліш, М. І. Марущак // *Вісник проблем біології і медицини*. – 2013. – Т. 1. – Вип. 1 (98). – С. 88–91.
18. Hua Y. Proteases in cardiometabolic diseases: Pathophysiology molecular mechanisms and clinical applications / Y. Hua, S. Nair // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*. – 2015. – Vol. 1852, № 2. – P. 195–208.
19. Van Hul M. Redpouction of adipose tissue mass by matrix metalloproteinase inhibition / M. Van Hul, R. Lijnen // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2011. – P. 11888–11896.
20. Jensen M. Protein metabolism in obesity: effects of body fat distribution and hyperinsulinemia on leucine turnover / M. Jensen, M. Haymond // *Am J Clin Nutr*. – 1991. – Vol. 53, № 1. – P. 172–176.
21. Noeman S. Biochemical Study of Oxidative Stress Markers in the Liver, Kidney and Heart of High Fat Diet Induced Obesity in Rats / S. Noeman, H. Hamooda, A. Baalash // *Diabetology&Metabolic Syndrome*. – 2011. – P. 3–17.
22. Гордієнко Л. Протеїназно-інгібіторний потенціал та вільно-радикальні процеси у тканинах слинних залоз щурів за умов глутамат-індукованого ожиріння / Л. Гордієнко // *Вісник ВДНЗУ "Українська медична стоматологічна академія"*. – Т. 13. – Вип. 4 (44). – С. 82–84.
23. Kesh S. High-fat diet-induced oxidative stress and its impact on metabolic syndrome: a review / S. Kesh, D. Sarkar, K. Manna // *Asian J Pharm Clin Res*. – 2016. – Vol. 9, № 1. – P. 47–52.
24. Hetman O. Determination of amino acids and protein metabolism indices in patients with arterial hypertension / O. Hetman // *Ліки України*. – 2014. – Т. 21, № 4. – С. 87–89.
25. Громнацька Н. Асоціації кластерів метаболічного синдрому і структурно-функціональних змін нирок у дітей / Н. Громнацька // *Буковинський медичний вісник*. – 2013. – Т. 17, № 4. – С. 49–54.
26. Дідушко О. Вплив ожиріння на функцію нирок у хворих на гіпотиреоз / О. Дідушко // *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. – 2016. – Т. 53, № 1. – С. 41–46.
27. Vincent H. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans / H. Vincent, A. Taylor // *International Journal of Obesity*. – 2006. – Vol. 30. – P. 400–418.
28. Beyea M. Does orlistat cause acute kidney injury? / M. Beyea, A. Garg, M. Weir // *Ther Adv Drug Saf*. – 2012. – Vol. 3, № 2. – P. 53–57.
29. Liang L. Androgen Receptor Enhances Kidney Stone-Ca Ox Crystal Formation via Modulation of Oxalate Biosynthesis & Oxidative Stress / L. Liang, L. Li, J. Tian [et al.] // *Molecular Endocrinology*. – 2014. – Vol. 28, № 8. – P. 1291–1303.
30. Fuller S. Diosgenin in 4-Hydroxyisoleucine, and Fiber from Fenugreek: Mechanisms of Actions and Potential Effects on Metabolic Syndrome / S. Fuller, J. Stephens // *Adv Nutr*. – 2015. – Vol. 6. – P. 189–197.
31. "Middle molecules" – Endotoxins of peptide nature / S. Galaktionov, V. Nikolaichik, V. Tseitin, L. Mikhneva // *Pharm. Chem. J*. – 1983. – Vol. 17, № 11. – P. 759–765.
32. Khorshidian N. Fenugreek: Potential Applications as a Functional Food and Nutraceutical / N. Khorshidian, M. Asli, M. Arab [et al.] // *Nutrition and Food Sciences Research*. – 2016. – Vol. 3, № 1. – P. 5–16.
33. Laroubi A. Prophylaxis effect of *Trigonella foenum-graecum* L. seeds on renal tone formation in rats / A. Laroubi, M. Touhami, L. Farouk [et al.] // *Phytotherapy Research*. – 2007. – Vol. 21, № 10. – P. 921–925.
4. Koval T.V., Ishchuk T.V., Rayetska Y.B., Savchuk A.N., Ostapchenko L.I. [The middle mass molecules and oligopeptides content in rat blood and tissues under the acid esophagus burn conditions]. *Biological Systems*. 2015; 2 (7): 144-148. Ukrainian.
5. Netiukhailo L. [The middle mass molecules are markers of endogenous intoxication in experimental burn disease]. *Modern Toxicological Aspects*. 2005; (3): 57-58. Ukrainian.
6. Mykolenko A. Changes of concentration of middle mass molecules in blood serum in the early days of isolated or thopedictrauma complicated by blood loss. *Deutscher Wissenschaftsverlag – German Science Herald*. 2016; (2): 16-18.
7. Kumar P., Bhandari U. Common medicinal plants with antiobesity potential: A special emphasis on fenugreek. *AncSci Life*. 2015; 1 (35): 58–63.
8. Akbari M., Rasouli H., Bahdor T. Physiological and pharmaceutical effect of fenugreek: a review. *IOSR Journal of Pharmacy (IOSRPHR)*. 2012; 4 (2): 49-53.
9. Geetha M., Reddy S., Krupanidhi A., et al. Effect of Fenugreek on Total Body and Organ Weights: A Study on Mice. *Pharmacology online*. 2011;(3): 747-752.
10. Allerton T.D., Primeaux S.D. High-fat diet differentially regulates metabolic parameters in obesity-resistant S5B/Plrats and obesity-prone Osborne-Mendel rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol*. 2015; 1–10.
11. Calabrò P., Limongelli G., Pacileo G., DiSalvo G., Golino P., Calabrò R. The role of adiposity as a determinant of an inflammatory milieu. *J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown)*. 2008; (9): 450–460.
12. Poret J.M., Souza-Smith F., Marcell S.J., Gaudet D.A., Tzeng T.H., Braymer H.D., Harrison-Bernard L.M., Primeaux S.D. High fat diet consumption differentially affects adipose tissue inflammation and adipocyte size in obesity-prone and obesity-resistant rats. *Int. J. Obes*. 2018; (42): 535–541.
13. Hwang L., Wang C., Li T., et al. Sex Differences in High-fat Diet-induced Obesity, Metabolic Alterations and Learning, and Synaptic Plasticity Deficits in Mice. *Obesity*. 2010; 3(18): 463–469.
14. Shen H., Tang Q., Huang J. Vitamin E regulates adipocytokine expression in a rat model of dietary-induced obesity. *Exp Biol Med*. 2010; (235): 47–51.
15. Konopelnyuk V.V., Goloborodko I.I., Tymoshenko M.O., Ostapchenko L.I. Bionanocomposite prevents body weight gain in high calorie diet-obese rats. *IJHSR*. 2016; 6 (4): 354–361.
16. Koval T.V., Ishchuk T.V., Raetska Ya.B., Savchuk O.M., Ostapchenko L.I. [The content of middle mass molecules and oligopeptides in the blood and tissues of rats under conditions of acid burn of the esophagus]. *Bioloichni systemy*. 2015; 7 (2): 143-148. Ukrainian.
17. Hembrovskiy M.V., Klishch I.M., Marushchak M.I. [Peculiarities of pathogenetic mechanisms of endogenous intoxication in rats with acute paracetamol poison in gaga in the background of food derivation]. *Bulletin of problems biology and medicine*. 2013; 1 (98): 88-91. Ukrainian.
18. Hua Y., Nair S. Proteases in cardiometabolic diseases: Pathophysiology, molecular mechanisms and clinical applications. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*. 2015; 2(1852): 195–208.
19. Van Hul M., Lijnen R. Redpouction of adipose tissue mass by matrix metalloproteinase inhibition. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2011; 11888–11896.
20. Jensen M., Haymond M. Protein metabolism in obesity: effects of body fat distribution and hyperinsulinemia on leucine turnover. *Am J Clin Nutr*. 1991; 1 (53): 172-176.
21. Noeman S., Hamooda H., Baalash A. Biochemical Study of Oxidative Stress Markers in the Liver, Kidney and Heart of High Fat Diet Induced Obesity in Rats. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2011; 3-17.
22. Hordienko L. [Proteinase-inhibitory potential and free radical processes in salivary gland and tissues of rats with glutamate-induced obesity]. *Bulletin of Ukrainian Medical Stomatological Academy*. 2013; 4 (44): 82-84. Ukrainian.
23. Kesh S., Sarkar D., Manna K. High-fat diet-induced oxidative stress and its impact on metabolic syndrome: a review. *Asian J Pharm Clin Res*. 2016; 1 (9): 47-52.
24. Hetman O. Determination of amino acids and protein metabolism indices in patients with arterial hypertension. *Medicine of Ukraine*. 2014; 4 (21): 87–89.
25. Hromnatska N. [Associations of clusters of metabolic syndrome and structural and functional changes of the kidneys in children]. *Bukovinian Medical Herald*. 2013; 4 (17): 49-54. Ukrainian.
26. Didushko O.M. [Influence of obesity on renal function in patients with hypothyroidism]. *Clinical endocrinology and endocrine surgery*. 2016; 1 (53): 41-46. Ukrainian.
27. Vincent H., Taylor A. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *International Journal of Obesity*. 2006;(30): 400–418.
28. Beyea M., Garg A., Weir M. Does orlistat cause acute kidney injury? *Ther Adv Drug Saf*. 2012; 2 (3): 53–57.

References

1. Ogden C.L., Carroll M.D., Fryar C.D., Flegal K.M. Prevalence of obesity among adults and youth: United States, 2011-2014. *NCHS data brief*. 2015;1–8.

2. Cawley J., Meyerhoefer C. The medical care costs of obesity: an instrumental variables approach. *J. Health Econ*. 2012; (31): 219–230.

3. Panuganti K.K., Nguyen M., Kshirsagar R.K. *Obesity*. Stat Pearls Publishing. 2022.

29. Liang L., Li L., Tian J., et al. Androgen Receptor Enhances Kidney Stone-Ca Ox Crystal Formation via Modulation of Oxalate Biosynthesis & Oxidative Stress. *Molecular Endocrinology*. 2014; 8 (28): 1291–1303.

30. Fuller S., Stephens J. Diosgenin, 4-Hydroxyisoleucine, and Fiber from Fenugreek: Mechanisms of Actions and Potential Effects on Metabolic Syndrome. *Adv Nutr*. 2015;(6): 189-197.

31. Galaktionov S., Nikolaichik V., Tseitin V., Mikhneva L. "Middle molecules" – Endotoxins of peptide nature. *Pharm. Chem. J.* 1983; 11 (17): 759-765.

32. Khorshidian N., Asli M., Arab M., et al. Fenugreek: Potential Applications as a Functional Food and Nutraceutical. *Nutrition and Food Sciences Research*. 2016; 1 (3): 5-16.

33. Laroubi A., Touhami M., Farouk L., et al. Prophylaxis effect of *Trigonella foenum graecum* L. seeds on renal stone formation in rats. *Phytotherapy Research*. 2007; 10 (21): 921–925.

Стаття надійшла: 27.02.23

Статтю надіслано на рецензування: 27.02.23

Статтю прийнято: 30.03.23

**Yu. Shvets, Student,
V. Konopelniuk, PhD (Biol.),
T. Falalyeyeva, Dr. Sci. (Biol.)
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine**

**SEX DIFFERENCES IN THE LEVELS OF MARKERS OF ENDOGENOUS INTOXICATION
IN RATS WITH EXPERIMENTAL OBESITY UNDER CONDITION OF PREVENTIVE ADMINISTRATION OF ORLISTAT
AND BIONANOCOMPOSITE BASED ON FENUGREEK**

Obesity is a complex disease involving an excessive amount of body fat. Obesity is generally caused by eating too much and physical activity too little. High-calorie diet-induced obesity occurs in both sexes, but more pronounced changes in blood parameters associated with this disease are more common in men. However, the gender-specific mechanisms of obesity development are little known. Therefore, the purpose of our study was to determine the sex-specific response to the content of the middle mass molecules and oligopeptides in the serum of rats under conditions of high-calorie diet consumption and after administration of a bionanocomposite based on fenugreek and orlistat. To do this, we used a modified Gabrielian method and mathematical processing and statistical analysis of the results.

Keywords: obesity, the middle mass molecules, bionanocomposite, fenugreek, orlistat, high-calorie diet.

УДК 612.8.
DOI 10.17721/1728.2748.2023.92.33-37

Я. Мироненко, студ.
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,
І. Зима, д-р біол. наук
ННЦ "Інститут біології та медицини",
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

КОГНІТИВНІ ПОТЕНЦІАЛИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЧОЛОВІКІВ, ВИКЛИКАНІ СПРИЙНЯТТЯМ ОБЛИЧ ОСІБ РІЗНОЇ СТАТІ З РІЗНОЮ ЕМОЦІЙНОЮ МОДАЛЬНОСТЮ

Здійснено обрахунок різниці піків, пов'язаних з подією потенціалів у чоловіків при експозиції різностатевих облич із диференційованим емоційним забарвленням за допомогою програмного комплексу MATLAB і EEGLAB.

Проведено реєстрацію електричної активності мозку 20-ти студентів чоловічої статі Київського національного університету імені Тараса Шевченка задля виявлення різниці в активації мозкових структур у ході експозиції портретів різної статі з позитивною й негативною емоційною модальністю.

Статистично достовірні відмінності пікової амплітуди було зафіксовано для компонентів N250, N400 та P300 за умови подання обстежуваним чоловічих і жіночих портретів з позитивною емоційною модальністю, тоді як при експозиції серій зображень з негативною емоційною модальністю статистичних відмінностей не було зареєстровано в жодному із компонентів.

Ключові слова: електроенцефалографія; викликані потенціали; потенціали, пов'язані з подією; зорові потенціали; емоції; статеві відмінності.

Вступ. Міміка обличчя – один із основних засобів соціальної комунікації, за допомогою якого в людей є можливість швидкого (менше секунди) аналізу великої кількості показників, що надходять від об'єкта уваги, як-от раси, статі, віку, емоцій, намірів тощо [1].

Незважаючи на розвиток нових методів нейровізуалізації, електроенцефалографія (ЕЕГ) залишається важливим компонентом діагностування окремих психічних розладів, захворювань і станів, а також активно використовується для нейрофізіологічних досліджень [2]. Потенціали, пов'язані з подією, або ППП, відображаються як ділянки ЕЕГ, що генеруються в різних відділах центральної нервової системи (ЦНС) у відповідь на певні події чи стимули. Оскільки ППП прив'язані за часом до сенсорних, моторних чи когнітивних подій, вони забезпечують безпечний неінвазивний підхід до вивчення психофізіологічних корелятивних психічних процесів [3]. У свою чергу, зорові потенціали – це електричні сигнали, що генеруються насамперед в зоровій корі у відповідь на зовнішню візуальну стимуляцію. До основних функцій зорової кори, що знаходиться в потиличному відділі мозку, належать інтеграція, сегментація й обробка візуальної інформації, а її активація відбувається через центральне поле зору [4]. Оскільки зорові потенціали модулюються в момент детекції певного подраزنня, їхнє реєстрування забезпечує неінвазивний метод дослідження функціональної зорової системи людини шляхом виявлення активності груп нейронів, що реагують на зорові подразники [5, 6].

У науковій літературі описано багато відмінностей у когнітивних здібностях чоловіків і жінок. До них відносять завдання на просторове мислення [7], вправи з фотографічною (зоровою) пам'яттю [8], вправи на концентрацію уваги, здатність розпізнавання міміки облич, визначення їхньої емоційної модальності тощо. Було показано, що за однаковий проміжок часу жінки здатні детальніше опрацювати візуальну інформацію, пов'язану з розпізнаванням людських облич [9]. Тому компонент N170, що в літературі традиційно пов'язаний із розпізнаванням облич, у жінок має вищу амплітуду [10]. Ба більше, серія досліджень із використанням функціональної магнітно-резонансної томографії (фМРТ) продемонстрували різницю активації мигдалеподібного тіла у чоловіків та жінок упродовж спостереження облич із позитивною емоційною модальністю. Позитивні стимули в чоловіків вик-

ликають активацію мигдалеподібного тіла в правій півкулі головного мозку, у той час як ті самі стимули в жінок викликають активацію лівої півкулі [11]. Крім того, було виявлено статеві відмінності, пов'язані з мигдалеподібним тілом, упродовж спостереження жіночих емоційно нейтральних облич: у чоловіків ця ділянка головного мозку активувалася сильніше [12]. Статеві відмінності було також зафіксовано в модуляції компоненту N200, що посилювався у жінок при сприйнятті негативних стимулів порівняно з чоловіками [13]. А компоненти P300 та LPP (Late Positive Potential), що відповідають за більш складні когнітивні процеси й розпізнавання емоцій, мали вищу амплітуду у жінок, ніж у чоловіків [14].

З огляду на те, що сучасні соціальні тенденції спрямовані на врегулювання та врівноваження ролі чоловіка й жінки в суспільстві, питання задоволення потреб будь-якої статі залишається відкритим. Механізми навчання, відтворення та аналізу інформації чоловіками й жінками сприймаються по-різному внаслідок морфологічно-функціональних, ендокринних і генетичних відмінностей самих організмів, що обумовлює особливу актуальність цієї роботи.

Матеріали та методи досліджень. У дослідженні взяли участь 20 студентів Київського національного університету імені Тараса Шевченка чоловічої статі віком 17–22 роки ($n = 20$). Експозиція зображень і реєстрація ППП у коркових відділах ЦНС проводилися з використанням програмно-апаратного комплексу "Нейроком" (ХАІ Медика, м. Харків, Україна) та спеціально створеної методики для проведення дослідження (шаблон). Накладання електродів на шкіру голови обстежуваним проводилося відповідно до міжнародної системи "10–20".

Шаблон експерименту включав запис електроенцефалограми з демонстрацією обстежуваним чотирьох серій зображень тривалістю 10 хв кожна. Перед експозицією зображень проводився запис ЕЕГ із закритими (3 хв) та відкритими (3 хв) очима. Для демонстрування позитивно й негативно емоційно забарвлених виразів обличчя була використана Міжнародна система афективних зображень (IAPS), що містить серію стандартизованих фотографій у вільному доступі. Параметрами оцінювання викликаних потенціалів (ВП) було визначено латентність та їхню пікову амплітуду з усіх відведень головного мозку.

Програма стимуляції містила часті стимули: позитивно забарвлені ($M = 4.11$, $SD 1,72$ до $M = 5.71$, $SD 1,70$) жіночі й чоловічі ($M = 4,81$, $SD 1,56$ до $M = 5,43$, $SD 1,50$). Рідкісними стимулами було визначено жіночі нейтральні ($M = 1,81$, $SD 0,67$) і чоловічі нейтральні ($M = 1,29$, $SD 1,31$). Стимули демонструвалися з довільним патерном протягом 500 мс незалежно від емоційної складової, а вірогідність появи рідкісного стимулу становила 30 %.

Обробка записів ЕЕГ, що були напрацьовані в ході дослідження, здійснювалася в програмному інструментарії EEGLAB програмного забезпечення MATLAB. Дані оброблялися шляхом проведення ICA-аналізу для видалення артефактних елементів (м'язові, очорухові та ін.). Для виявлення ділянок зі статистично достовірними відмінностями амплітуди ($p < 0.05$) було застосовано критерій fdr . У

ході візуалізації отриманих даних було використано пакет "ggplot2" у програмному середовищі RStudio.

Результати та їх обговорення. Аналіз зорових потенціалів у обстежуваних чоловічої статі упродовж експозиції серій чоловічих і жіночих облич із позитивною й негативною емоційною модальністю виявив наявність компоненту P100 в зонах фронтальних (F3-F4) і центральних (C3-C4) відведень. Пікова амплітуда даного компоненту була 0,5 мкВ для жіночих і 0,0 мкВ – для чоловічих облич із позитивною й негативною емоційною модальністю (рис. 1). Латентність становила 100–120 мс. Упродовж аналізу компоненту P100 статистичних відмінностей між вибірками з чоловічими та жіночими зображеннями не було виявлено.

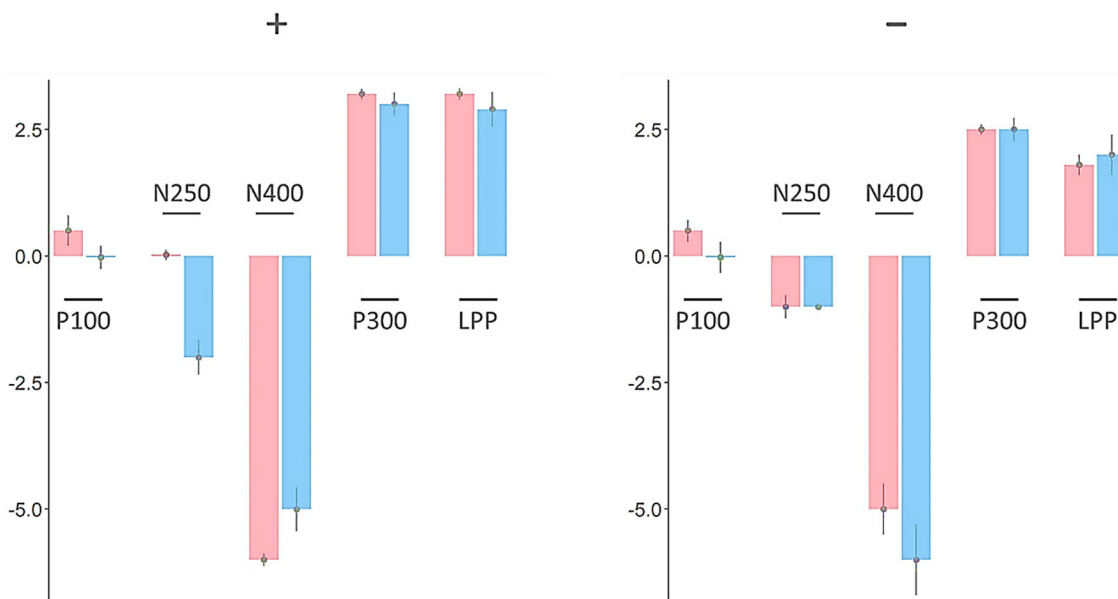


Рис. 1. Пікові амплітуди ВП (мкВ) у обстежуваних чоловічої статі упродовж експозиції серій чоловічих (блакитний колір) і жіночих (рожевий колір) облич з позитивною (+) та негативною (-) емоційною модальністю

Компонент P100 пов'язаний із ранніми стадіями обробки візуальної інформації, у тому числі людських облич. Було продемонстровано, що амплітуда компоненту P100 була вищою упродовж експозиції зображень із людськими обличчями порівняно з іншими візуальними стимулами [15]. Крім того, латентність компоненту P100 змінювалася залежно від того, який стимул (будівля, людський портрет, пейзаж тощо) було продемонстровано респондентам [16]. Компонент P100 може бути задіяний у визначенні кольору візуального подразника, його яскравості й залучений у процеси ранньої модуляції уваги, а також сприяє просторовому визначенню стимулів [17]. Компонент P100 не бере участі в диференціації емоцій та їхньої інтеграції в попередній контекст [18].

Компонент N250 було виявлено в зонах окципітальних (O1-O2), парієтальних (P3-P4) і темпоральних (T5-T6) електродів упродовж експозиції серій зображень чоловічих та жіночих облич із позитивною й негативною емоційною модальністю. Пікова амплітуда компоненту N250 у вибірці з позитивними стимулами становила 0,0 мкВ для жіночих облич та -2,0 мкВ – для чоловічих облич. Упродовж експозиції серій зображень з негативною емоційною модальністю пікова амплітуда потенціалу N250 становила -1,0 мкВ для обох серій зображень.

Латентність потенціалу N250 – 250–300 мс. Аналіз компоненту N250 виявив статистичні відмінності серед вибірок з позитивно забарвленими стимулами в зоні електродів O1-O2. Аналіз компоненту N250 упродовж експозиції негативно забарвлених чоловічих і жіночих облич статистичних відмінностей не виявив.

Компонент N250 виникає в проміжку 230–300 мс і традиційно сприймається як один із корелятивів візуальної обробки знайомих облич. Зокрема, було показано зростання амплітуди компоненту N250 упродовж демонстрації обстежуваним знайомих облич порівняно з незнайомими або персонально знайомих порівняно з портретами знаменитостей [19]. При цьому в деяких експериментах підтверджено, що амплітуда компоненту N250 підвищується при повторній експозиції не лише людських облич, але й інших об'єктів, зображення яких було подано вперше [20]. Підвищення амплітуди компоненту N250 упродовж повторної демонстрації облич або інших предметів пов'язують із активацією робочої пам'яті [21]. З огляду на це, компонент N250 бере участь у формуванні короткострокової пам'яті [22].

Компонент N400 виявлено в зоні електродів O1-O2 упродовж експозиції серій жіночих і чоловічих облич з позитивною й негативною емоційною модальністю.

Пікова амплітуда компоненту N400 становила -6,0 мкВ для зображень із жіночими та -5,0 мкВ для зображень із чоловічими позитивно забарвленими обличчями. Для вибірок з негативно забарвленими чоловічими й жіночими обличчями пікова амплітуда становила -5,0 мкВ для жіночих та -6,0 мкВ для чоловічих зображень. Латентність компоненту N400 – 380–500 мс. Компонент N400 також було виявлено в зонах центрально-парієтальних електродів Pz. Значущі відмінності під час аналізу компоненту N400 було знайдено в зоні електродів O1-O2 між серією чоловічих і жіночих позитивних зображень. Аналіз компоненту N400 упродовж експозиції негативно забарвлених чоловічих та жіночих обличчя статистичних відмінностей не виявив.

Компонент N400 традиційно розглядається як негативна хвилеподібна активність, пік якої становить близько 400 мс після пред'явлення стимулу. Характерною особливістю даного компоненту є зростання його амплітуди разом зі складністю інтеграції стимулу в попередній контекст. На нейрофізіологічному рівні це відбувається за рахунок того, що для обробки певного типу інформації утворюється більша кількість постсинаптичних потенціалів або залучається більша кількість нейронів. Отже, при наступній експозиції вже відомого стимулу амплітуда компоненту N400 може зменшуватися [23]. Дослідження показали, що амплітуда N400 посилюється при демонстрації рідкісних стимулів, а латентність може пролонгуватися до 600 мс за рахунок потреби більшої кількості часу для ідентифікації об'єкта [24]. У науковій літературі описано, що амплітуда компоненту N400 підвищується упродовж демонстрації незнайомих привабливих обличчя протилежної статі, що підтверджується в нашому дослідженні [25]

Компонент P300 було знайдено в обох групах вибірок у зоні лобних (Fp1-Fp2), фронтальних (F3-F4, F7-F8), центральних (C3-C4) і темпоральних електродів (T3-T4, T5-T6). Пікова амплітуда компоненту P300 у вибірці з позитивними зображеннями становила 3,2 мкВ для жіночих і 3,0 мкВ для чоловічих зображень у зоні електродів F3-F4. У вибірці із серіями негативно забарвлених чоловічих та жіночих обличчя пікова амплітуда компоненту P300 становила 2,5 мкВ у зонах електродів F4, F7. Упродовж аналізу компоненту P300 між серіями зображень чоловічих і жіночих позитивно забарвлених обличчя знайдено статистичні відмінності в зонах електродів T4, T6, C4. Аналіз компоненту P300 упродовж експозиції негативно забарвлених чоловічих та жіночих обличчя статистичних відмінностей не виявив.

Компонент P300 – це позитивне відхилення, що з'являється на записі між 250 і 500 мс після пред'явлення стимулу. Нейрогенератором потенціалу P300 є префронтальна кора головного мозку. На відміну від деяких ранніх потенціалів (P100, P200), компонент P300 більше залежить від контексту, у якому розміщується подразник, та кількості уваги, що вимагається для його обробки. Він пов'язаний з усвідомленими стадіями обробки емоційних виразів обличчя, а також вважається провідним компонентом у процесі прийняття рішення і категоризації емоцій. Амплітуда компоненту P300 здатна змінюватися залежно від типу представленого завдання (зорове, слухове тощо). Наприклад показано, що амплітуда компоненту P300 є вищою для візуальних стимулів порівняно зі слуховими [26]. Крім того, амплітуда компоненту P300 зростає у відповідь на експозицію зображень із негативними емоціями на обличчі. Зокрема, умовно "злі" вирази обличчя залучають більше уваги порівняно з позитивними обличчями, а

негативні вирази обличчя (сум, плач) викликають сильнішу емоційну відповідь, ніж позитивні [27].

Компонент LPP було виявлено в зонах центральних (C3, Cz), фронтальних (F3-F4, F7-F8), лобних (Fp1-Fp2), парієтальних (P3-P4) і темпоральних (T4-T5) електродів упродовж експозиції чоловічих та жіночих портретів з позитивною й негативною емоційною модальністю. Пікову амплітуду компоненту LPP у вибірці з позитивними зображеннями зафіксовано в зоні електроду F3. Вона становила 3,2 мкВ для зображень із жіночими портретами та 2,9 мкВ – для чоловічих портретів. У вибірці з негативними зображеннями пікову амплітуду компоненту LPP було зафіксовано в зоні електроду F4 (1,8 мкВ для жіночих та 2,0 мкВ – для чоловічих обличчя). Статистичних відмінностей упродовж аналізу компоненту LPP для вибірок з чоловічими й жіночими обличчями з різною емоційною модальністю не було зафіксовано.

LPP традиційно вважається позитивним відхиленням, що з'являється на записі в діапазоні 300–600 мс після пред'явлення стимулу. За інформацією з наукової літератури, LPP є чутливим до емоційної складової стимулу та стимулює мотиваційні процеси в мозку людини. Приміром, амплітуда компоненту LPP підвищується за пред'явлення стимулів, на яких зображено людські обличчя з певною емоційною модальністю порівняно з нейтральними стимулами [28]. Вища чутливість компоненту LPP до зображень з позитивною емоційною модальністю відображає прихильність мотиваційних і когнітивних ресурсів людини до такого типу стимулів [29]. Також важливим залишається аспект вищої інстинктивної цінності для портретів протилежної статі, що продемонстровано в нашому дослідженні [25].

Висновки. Таким чином, аналіз кривих ППП виявив статистичні відмінності компонентів N250, N400 та P300 за умови представлення обстежуваним чоловічих та жіночих портретів з позитивною емоційною модальністю. Зокрема, аналіз компоненту N400 виявив, що на фізіологічному рівні, сприйняття й оцінка емоційної модальності чоловіками жіночих обличчя вимагає більшої кількості залучених нейронів і постсинаптичних потенціалів порівняно з чоловічими портретами. На нейропсихологічному рівні це означає, що інтеграція інформації, пов'язаної з жіночими портретами, та її структурування є більш складним процесом, ніж для чоловічих обличчя [23]. Амплітуда компоненту P300 є найвищою за експозиції позитивних жіночих обличчя. Це може бути пов'язано з тим, що подання обстежуваним портретів іншої статі вимагає більшої кількості уваги порівняно з чоловічими портретами, оскільки жіночі портрети є більш мотиваційно-значущими [30]. Компонент N250 бере участь у формуванні короткострокової пам'яті [22]. У свою чергу, аналіз кривих ППП, що були отримані при експозиції серій зображень з негативними людськими портретами, не виявив статистичних відмінностей у жодному з компонентів. Це можна пояснити тим, що чоловіки більш чуттєво реагують на обличчя з позитивною емоційною модальністю, у той час коли жінки є більш сприйнятливими до негативних обличчя [10]. На основі цього можна зробити припущення, що чоловіки сприймають по-різному позитивно забарвлені чоловічі й жіночі обличчя, тоді як сприйняття зображень із негативною модальністю не відрізняється для портретів різної статі.

Список використаних джерел

1. Tsao D.Y. Mechanisms of face perception [Electronic resource] / Doris Y. Tsao, Margaret S. Livingstone // Annual review of neuroscience. – 2008. – Vol. 31, N. 1. – P. 411–437. Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.30.051606.094238>
2. Rayi A. Electroencephalogram [Electronic resource] / A. Rayi, N. Murr. – NCBI Bookshelf: Stat Pearls, 2022. – 111 p. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563295/>.
3. Brain processes while struggling with evidence accumulation during facial emotion recognition: an ERP study [Electronic resource] / Yu-Fang Yang [et al.] // Frontiers in human neuroscience. – 2020. – Vol. 14. Available from: <https://doi.org/10.3389/fnhum.2020.00340>
4. Trevor Huff N. Neuroanatomy, visual cortex [Electronic resource] / Trevor Huff, Tadi P. – NCBI Bookshelf : StatPearls, 2021. – 145 p. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482504/>.
5. Zeppieri C. Visual evoked potential (VEP) [Electronic resource] / C. Zeppieri. – Sydney North Neurology&Neuropsychology : Stat Pearls, 2022. – 167 p. Available from: [https://sydneynorthneurology.com.au/visual-evoked-potential-vep/#~:text=A%20visual%20evoked%20potential%20is,on%20an%20electroencephalogram%20\(EEG\).](https://sydneynorthneurology.com.au/visual-evoked-potential-vep/#~:text=A%20visual%20evoked%20potential%20is,on%20an%20electroencephalogram%20(EEG).)
6. Creel D. Visually evoked potentials [Electronic resource] / Donnell Creel, Minzhong Yu // Handbook of clinical electrophysiology of vision. – Cham, 2019. – P. 19–28. Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-030-30417-1_2
7. Maeda Y. A Meta-Analysis on Gender Differences in Mental Rotation Ability Measured by the Purdue Spatial Visualization Tests: Visualization of Rotations (PSVT:R) [Electronic resource] / Yukiko Maeda, So Yoon Yoon // Educational Psychology Review. – 2012. – Vol. 25, N. 1. – P. 69–94. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10648-012-9215-x>
8. Voyer D. Sex differences in visual-spatial working memory: A meta-analysis [Electronic resource] / Daniel Voyer, Susan D. Voyer, Jean Saint-Aubin // Psychonomic Bulletin & Review. – 2016. – Vol. 24, N. 2. – P. 307–334. Available from: <https://doi.org/10.3758/s13423-016-1085-7>
9. Hansen T. Are women always better able to recognize faces? The unveiling role of exposure time [Electronic resource] / Torben Hansen, Judith Zaichkowsky, Ad de Jong // PLOS ONE. – 2021. – Vol. 16, N. 10. – P. e0257741. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0257741>
10. Mapping the time course of nonconscious and conscious perception of fear: An integration of central and peripheral measures [Electronic resource] / Leanne M. Williams [et al.] // Human Brain Mapping. – 2004. – Vol. 21, N. 2. – P. 64–74. Available from: <https://doi.org/10.1002/hbm.10154>
11. Killgore W. D. S. Sex differences in amygdala activation during the perception of facial affect [Electronic resource] / William D. S. Killgore, Deborah A. Yurgelun-Todd // Neuroreport. – 2001. – Vol. 12, N. 11. – P. 2543–2547. Available from: <https://doi.org/10.1097/00001756-200108080-00050>
12. Brain activation while forming memories of fearful and neutral faces in women and men. [Electronic resource] / Håkan Fischer [et al.] // Emotion. – 2007. – Vol. 7, N. 4. – P. 767–773. Available from: <https://doi.org/10.1037/1528-3542.7.4.767>
13. Gender Differences in Neural Responses to Perceptually Invisible Fearful Face—An ERP Study [Electronic resource] / Seung A. Lee [et al.] // Frontiers in Behavioral Neuroscience. – 2017. – Vol. 11. Available from: <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00006>
14. Effects of facial affect recognition on the auditory P300 in healthy subjects [Electronic resource] / Yoshifumi Morita [et al.] // Neuroscience Research. – 2001. – Vol. 41, N. 1. – P. 89–95. Available from: [https://doi.org/10.1016/s0168-0102\(01\)00248-6](https://doi.org/10.1016/s0168-0102(01)00248-6)
15. Goffaux V. Spatial scale contribution to early visual differences between face and object processing [Electronic resource] / Valérie Goffaux, Isabel Gauthier, Bruno Rossion // Cognitive Brain Research. – 2003. – Vol. 16, N. 3. – P. 416–424. Available from: [https://doi.org/10.1016/s0926-6410\(03\)00056-9](https://doi.org/10.1016/s0926-6410(03)00056-9)
16. de Haan M. Development of face-sensitive event-related potentials during infancy: a review [Electronic resource] / Michelle de Haan, Mark H. Johnson, Hanife Halit // International Journal of Psychophysiology. – 2003. – Vol. 51, N. 1. – P. 45–58. Available from: [https://doi.org/10.1016/s0167-8760\(03\)00152-1](https://doi.org/10.1016/s0167-8760(03)00152-1)
17. The Neural Responses of Visual Complexity in the Oddball Paradigm: An ERP Study [Electronic resource] / Rui Hu [et al.] // Brain Sciences. – 2022. – Vol. 12, N. 4. – P. 447. Available from: <https://doi.org/10.3390/brainsci12040447>
18. Source Localization of Early Stages of Face Processing [Electronic resource] / Martin J. Herrmann [et al.] // Brain Topography. – 2005. – Vol. 18, N. 2. – P. 77–85. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10548-005-0277-7>
19. Gender Difference in Event Related Potentials to Masked Emotional Stimuli in the Oddball Task [Electronic resource] / Eun Young Kim [et al.] // Psychiatry Investigation. – 2013. – Vol. 10, N. 2. – P. 164. Available from: <https://doi.org/10.4306/pi.2013.10.2.164>
20. Activation of Preexisting and Acquired Face Representations: The N250 Event-related Potential as an Index of Face Familiarity [Electronic resource] / James W. Tanaka [et al.] // Journal of Cognitive Neuroscience. – 2006. – Vol. 18, N. 9. – P. 1488–1497. Available from: <https://doi.org/10.1162/jocn.2006.18.9.1488>
21. Herzmann G. Increased N250 amplitudes for other-race faces reflect more effortful processing at the individual level [Electronic resource] / Grit Herzmann // International Journal of Psychophysiology. – 2016. – Vol. 105. – P. 57–65. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2016.05.001>
22. Faces forming traces: neurophysiological correlates of learning naturally distinctive and caricatured faces [Electronic resource] / Claudia Schulz [et al.] // NeuroImage. – 2012. – Vol. 63, N. 1. – P. 491–500. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.06.080>
23. Kutas M. Thirty years and counting: finding meaning in the N400 component of the event-related brain potential (ERP) [Electronic resource] / Marta Kutas, Kara D. Federmeier // Annual Review of Psychology. – 2011. – Vol. 62, N. 1. – P. 621–647. Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.093008.131123>
24. Neumann M. F. N250r and N400 ERP correlates of immediate famous face repetition are independent of perceptual load [Electronic resource] / Markus F. Neumann, Stefan R. Schweinberger // Brain Research. – 2008. – Vol. 1239. – P. 181–190. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.08.039>
25. Proverbio A. Neural markers of opposite-sex bias in face processing [Electronic resource] / Alice Proverbio // Frontiers in Psychology. – 2010. – Vol. 1. Available from: <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2010.00169>
26. Effect of facial affect stimuli on auditory and visual P300 in healthy subjects [Electronic resource] / Masashi Yamamoto [et al.] // The Kurume Medical Journal. – 2000. – Vol. 47, N. 4. – P. 285–290. Available from: <https://doi.org/10.2739/ikumemedj.47.285>
27. Processing facial expressions that conflict with their meanings to an observer: an event related potential study [Electronic resource] / Qiwei Yang [et al.] // Frontiers in Psychology. – 2020. – Vol. 11. Available from: <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.01273>
28. Emotion and attention: event-related brain potential studies [Electronic resource] / Harald T. Schupp [et al.] // Understanding Emotions. – [S. l.], 2006. – P. 31–51. Available from: [https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(06\)56002-9](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(06)56002-9)
29. Affective picture processing: The late positive potential is modulated by motivational relevance [Electronic resource] / Harald T. Schupp [et al.] // Psychophysiology. – 2000. – Vol. 37, N. 2. – P. 257–261. Available from: <https://doi.org/10.1111/1469-8986.3720257>
30. Oliver-Rodriguez J. C. Gender differences in late positive components evoked by human faces [Electronic resource] / Juan C. Oliver-Rodriguez, Zhiqiang Guan, Victor S. Johnston // Psychophysiology. – 1999. – Vol. 36, N. 2. – P. 176–185. Available from: <https://doi.org/10.1111/1469-8986.3620176>

References

1. Tsao D.Y., Livingstone M.S. Mechanisms of face perception. Annu Rev Neurosci. 2008; 31(1):411–437. doi:10.1146/annurev.neuro.30.051606.094238
2. Rayi A., Murr N. Electroencephalogram. StatPearls; 2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563295/>
3. Yang Y.F., Brunet-Gouet E., Burca M., Kalunga E.K., Amorim M.A. Brain processes while struggling with evidence accumulation during facial emotion recognition: an ERP study. Front Hum Neurosci. 2020;14. doi:10.3389/fnhum.2020.00340
4. Trevor Huff N. Neuroanatomy, visual cortex. Stat Pearls; 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482504/>
5. Zeppieri C. Visual evoked potential (VEP). Stat Pearls; 2022. [https://sydneynorthneurology.com.au/visual-evoked-potential-vep/#~:text=A%20visual%20evoked%20potential%20is,on%20an%20electroencephalogram%20\(EEG\).](https://sydneynorthneurology.com.au/visual-evoked-potential-vep/#~:text=A%20visual%20evoked%20potential%20is,on%20an%20electroencephalogram%20(EEG).)
6. Creel D., Yu M. Visually evoked potentials. Y: Handbook of clinical electrophysiology of vision. Springer International Publishing; 2019:19–28. doi:10.1007/978-3-030-30417-1_2
7. Maeda Y., Yoon S.Y. A Meta-Analysis on Gender Differences in Mental Rotation Ability Measured by the Purdue Spatial Visualization Tests: Visualization of Rotations (PSVT:R). Educ Psychol Rev. 2012; 25(1):69–94. doi:10.1007/s10648-012-9215-x
8. Voyer D., Voyer S.D., Saint-Aubin J. Sex differences in visual-spatial working memory: A meta-analysis. Psychon Bull Amp Rev. 2016;24(2):307–334. doi:10.3758/s13423-016-1085-7
9. Hansen T., Zaichkowsky J., de Jong A. Are women always better able to recognize faces? The unveiling role of exposure time. PLOS ONE. 2021;16(10):e0257741. doi:10.1371/journal.pone.0257741
10. Williams L.M., Liddell B.J., Rathjen J. et al. Mapping the time course of nonconscious and conscious perception of fear: An integration of central and peripheral measures. Hum Brain Mapp. 2004;21(2):64–74. doi:10.1002/hbm.10154
11. Killgore W.D., Yurgelun-Todd D.A. Sex differences in amygdala activation during the perception of facial affect. Neuroreport. 2001;12(11):2543–2547. doi:10.1097/00001756-200108080-00050
12. Fischer H., Sandblom J., Nyberg L., Herlitz A., Bäckman L. Brain activation while forming memories of fearful and neutral faces in women and men. Emotion. 2007;7(4):767–773. doi:10.1037/1528-3542.7.4.767
13. Lee S.A., Kim C.Y., Shim M., Lee S.H. Gender Differences in Neural Responses to Perceptually Invisible Fearful Face – An ERP Study. Front Behav Neurosci. 2017;11. doi:10.3389/fnbeh.2017.00006
14. Morita Y., Morita K., Yamamoto M., Waseda Y., Maeda H. Effects of facial affect recognition on the auditory P300 in healthy subjects. Neurosci Res. 2001;41(1):89–95. doi:10.1016/s0168-0102(01)00248-6

15. Goffaux V., Gauthier I., Rossion B. Spatial scale contribution to early visual differences between face and object processing. *Cogn Brain Res.* 2003;16(3):416-424. doi:10.1016/s0926-6410(03)00056-9
16. de Haan M., Johnson M.H., Halit H. Development of face-sensitive event-related potentials during infancy: a review. *Int J Psychophysiol.* 2003;51(1):45-58. doi:10.1016/s0167-8760(03)00152-1
17. Hu R., Zhang L., Meng P., Meng X., Weng M. The Neural Responses of Visual Complexity in the Oddball Paradigm: An ERP Study. *Brain Sci.* 2022;12(4):447. doi:10.3390/brainsci12040447
18. Herrmann M.J., Ehlis A.C., Muehlberger A., Fallgatter A.J. Source Localization of Early Stages of Face Processing. *Brain Topogr.* 2005;18(2):77-85. doi:10.1007/s10548-005-0277-7
19. Kim E.Y., Lee S.H., Park G. [et al.] Gender Difference in Event Related Potentials to Masked Emotional Stimuli in the Oddball Task. *Psychiatry Investig.* 2013;10(2):164. doi:10.4306/pi.2013.10.2.164
20. Tanaka J.W., Curran T., Porterfield A.L., Collins D. Activation of Preexisting and Acquired Face Representations: The N250 Event-related Potential as an Index of Face Familiarity. *J Cogn Neurosci.* 2006; 18(9):1488-1497. doi:10.1162/jocn.2006.18.9.1488
21. Herzmann G. Increased N250 amplitudes for other-race faces reflect more effortful processing at the individual level. *Int J Psychophysiol.* 2016;105:57-65. doi:10.1016/j.ijpsycho.2016.05.001
22. Schulz C., Kaufmann J.M., Kurt A., Schweinberger S.R. Faces forming traces: neurophysiological correlates of learning naturally distinctive and caricatured faces. *NeuroImage.* 2012; 63(1):491-500. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.06.080
23. Kutas M., Federmeier K.D. Thirty years and counting: finding meaning in the N400 component of the event-related brain potential (ERP). *Annu Rev Psychol.* 2011; 62(1):621-647. doi:10.1146/annurev.psych.093008.131123
24. Neumann M.F., Schweinberger S.R. N250r and N400 ERP correlates of immediate famous face repetition are independent of perceptual load. *Brain Res.* 2008;1239:181-190. doi:10.1016/j.brainres.2008.08.039
25. Proverbio A. Neural markers of opposite-sex bias in face processing. *Front Psychol.* 2010;1. doi:10.3389/fpsyg.2010.00169
26. Yamamoto M., Morita K., Tomita Y., Tsuji K., Kawamura K., Maeda H. Effect of facial affect stimuli on auditory and visual P300 in healthy subjects. *Kurume Med J.* 2000;47(4):285-290. doi:10.2739/ikumemedj.47.285
27. Yang Q., Zhang Y., Wang J., Wu Y. Processing facial expressions that conflict with their meanings to an observer: an event related potential study. *Front Psychol.* 2020;11. doi:10.3389/fpsyg.2020.01273
28. Schupp H.T., Flaisch T., Stockburger J., Junghöfer M. Emotion and attention: event-related brain potential studies. *Y: Understanding Emotions.* Elsevier; 2006: 31-51. doi:10.1016/s0079-6123(06)56002-9
29. Schupp H.T., Cuthbert B.N., Bradley M.M., Cacioppo J.T., Ito T., Lang P.J. Affective picture processing: The late positive potential is modulated by motivational relevance. *Psychophysiology.* 2000;37(2):257-261. doi:10.1111/1469-8986.3720257
30. Oliver-Rodriguez J.C., Guan Z., Johnston V.S. Gender differences in late positive components evoked by human faces. *Psychophysiology.* 1999;36(2):176-185. doi:10.1111/1469-8986.3620176

Стаття надійшла: 02.03.23
 Статтю надіслано на рецензування: 03.03.23
 Статтю прийнято: 04.04.23

Ya. Myronenko, Student
 Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
 I. Zyma, Dr. Sci. (Biol.)
 NSC "Institute of Biology and Medicine", Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

COGNITIVE POTENTIALS OF THE MALE BRAIN EVOKED BY PERCEIVING HUMAN'S FACES WITH DIFFERENT EMOTIONAL MODALITIES

The calculation of the difference in peaks of the event-related potential in men during exposure to different-sex faces with differential emotional modality using the MATLAB and EEGLAB software packages.

The electrical activity of the brain of 20 male students of Taras Shevchenko Kyiv National University was recorded to identify the difference in the activation of brain structures during the demonstration of portraits of different sexes with positive and negative emotional modalities.

Statistically significant differences in peak amplitude were recorded for components N250, N400, and P300 when subjects were presented with male and female portraits with a positive emotional modality, while when exposed to a series of images with a negative emotional modality, no statistical differences were registered in any of the components. Statistically significant differences in the peak amplitude were recorded for the N250, N400, and P300 components when subjects were presented with male and female portraits with a positive emotional modality, while when exposed to a series of images with a negative emotional modality, no statistical differences were registered in any of the components.

Keywords: electroencephalography; evoked potentials, event-related potentials; visual potentials; emotions; gender differences.

УДК 591.1/5:599.323.4:547.262:577.115
DOI 10.17721/1728.2748.2023.92.38-42

О. Коваленко, асист.,
М. Макарчук, д-р біол. наук
ННЦ "Інститут біології та медицини",
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

МІЖПІВКУЛЬНА АСИМЕТРІЯ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТА МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ У ЩУРІВ З РІЗНОЮ АЛКОГОЛЬНОЮ МОТИВАЦІЄЮ

Проведено аналіз моторної міжпівкульної асиметрії у щурів, які відрізнялися ступенем алкогольної мотивації та здатністю до навчання на різних стадіях хронічної алкоголізації. Визначено якісний і кількісний склад ліпідів крові як інтегральний показник ступеня впливу етанолу на метаболічні процеси на різних стадіях хронічної алкоголізації. Отримані результати вказують на певною мірою правопівкульний характер латералізації "алкогольної домінанти", оскільки серед схильних до алкогольної залежності щурів частіше зустрічались тварини саме з лівобічною моторною асиметрією. У хронічно алкоголізованих тварин був виявлений вплив алкоголю на індивідуальні профілі функціональної асиметрії та зміну домінування півкуль, що виявлялось у модуляції лівих профілів моторної асиметрії та пригніченні процесів переробки інформації в правій півкулі. Окрім того, серед щурів, що мали високу здатність до навчання, було достовірно більше тварин із правобічною моторною асиметрією. Хронічна алкоголізація призводила до інтенсифікації каталітичних процесів в організмі, про що свідчить зростання концентрації тригліцеридів і вільних жирних кислот у крові щурів, що корелює з формуванням алкогольної залежності. Збільшення концентрації ліпідів корелювало зі стадією формування алкогольної залежності.

Ключові слова: асиметрія, ліпідний обмін, алкогольна мотивація.

Вступ. Значущість проблеми алкоголізму визначається як його великою розповсюдженістю, так і важкими соціально-медичними наслідками. За оцінюванням ВООЗ, хвороби, які спричиняються алкоголем, займають на світовому рівні п'яте місце в групі чинників, які призводять до важких захворювань зі смертельними наслідками [1–3]. Вплив етанолу на організм залежить від багатьох факторів і його дія має доволі різноспрямований характер. Відомо, що алкоголізація в першу чергу порушує вищі функції мозку і може спричинити поведінкові зміни, оскільки саме нервова тканина є найчутливішою до впливу етанолу [4–8]. Клінічні дослідження й тестування на моделях формування алкогольної залежності у тварин показали, що споживання алкоголю впливає на вираженість просторово-моторної асиметрії [9–10].

Окрім того, алкоголь як фактор негативного впливу на організм спричиняє метаболічні зміни [11–17]. На сьогодні існує серія експериментальних і клінічних спостережень, в яких показано, що неоднорідність нейрофізіологічних наслідків алкогольної інтоксикації обумовлюється особливостями індивідуальної реактивності систем неспецифічної активації мозку [18–22]. У той самий час досить обмеженими є дані щодо взаємозв'язку між споживанням етанолу, функціональним станом ЦНС і ліпідним обміном.

Оскільки справедливості різних концепцій розвитку й формування алкоголізму і досі залишається предметом дискусії, дати їм точну оцінку складно. Тому в останні роки все більшу увагу привертає комплексний аналіз взаємозв'язку між рівнем алкогольної мотивації та різними аспектами поведінки й біохімічних змін.

Мета дослідження. Установити закономірності змін моторної міжпівкульної асиметрії щурів з різним рівнем алкогольної мотивації та розкрити причинно-наслідкові взаємозв'язки між інтегральними показниками метаболізму, функціонального стану ЦНС і процесами виникнення алкогольної залежності.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження були білі щури вагою 180–220 г на початку експерименту. Дослідження проводили за загальними правилами й міжнародними біоетичними принципами Європейської конвенції про охорону хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей, а також за загально-етичними принципами, затвердженими Першим національним конгресом України з питань біоетики

та закону України [23–25]. Щурів розподіляли на збалансовані вибірки за здатністю до навчання в радіальному лабіринті (РЛ) [26], та залежно від схеми поєднання алкоголізації та навчання:

вибірка А – умовний рефлекс у радіальному лабіринті вироблявся у щурів до хронічної алкоголізації;

вибірка В – умовний рефлекс у радіальному лабіринті продукувався у щурів після хронічного зловживання алкоголем.

Після закінчення навчання й алкоголізації вибірки А та В були розділені на тих, що добре і погано навчалися, та схильних і несхильних до алкоголю:

I група – "контроль ДН" – інтактні тварини, які добре навчалися у лабіринті;

II група – "контроль ПН" – інтактні тварини, що погано навчалися у лабіринті;

III група – "Етанол + ДН" – тварини, які під час алкоголізації надавали перевагу етанолу і добре навчалися у лабіринті;

IV група – "Етанол + ПН" – тварини, що під час хронічної алкоголізації надавали перевагу етанолу і погано навчалися у лабіринті;

V група – "Вода + ДН" – тварини, які під час хронічної алкоголізації надавали перевагу воді й добре навчалися у лабіринті;

VI група – "Вода + ПН" – тварини, що під час хронічної алкоголізації надавали перевагу воді та погано навчалися у лабіринті.

Хронічна алкоголізація проводилася у два етапи: на першому визначали схильність ураження до етанолу методом "двох пляшок". Тварини, які раніше не мали контакту з етанолом, поміщали в окремі клітини із двома пляшками, одна з водою, а інша – з 15-відсотковим розчином етанолу. На цьому етапі впродовж 14-ти днів тварини мали вільний вибір між розчином етанолу та водою. Величина індивідуального обсягу спожитого алкоголю за одиницю часу (г / кг / добу) і відсоткового співвідношення спожитого алкоголю й обсягу цільної рідини розраховується один раз на добу. На другій стадії вимушена алкоголізація проводилася шляхом введення етанолу як єдиного джерела рідини протягом 30-ти днів. Після цього для оцінки індивідуального рівня споживання алкоголю протягом чотирьох днів клітки були знову обладнані двома пляшками (одна з водою, інша – з 15-відсотковим розчином етанолу) [27].

© Коваленко О., Макарчук М., 2023

Для дослідження моторної асиметрії та її стійкості до дії алкоголізації використовували метод Т-подібного лабіринту. У кожної особини обчислювали коефіцієнт асиметрії (Кас) – показник переваги напрямку руху, який являє собою відношення різниці правобічних (П) і лівобічних (Л) пробіжок до їхньої суми, виражений у відсотках: $Кас = (П - Л) / (П + Л) \times 100 \%$. За результатами тестування всі тварини були розділені на три групи: щури із правобічною моторною асиметрією – "правші" (Кас > 20), щури з лівобічною моторною асиметрією – "шульги" (Кас < -20) і щури, які не мають вираженої моторної асиметрії – "амбідекстри" (-20 < Кас < 20) [28]. Експеримент було записано за допомогою відеокамери. Уся поведінка реєструвалась й аналізувалась за допомогою програми Real Timer.

Визначення кількісного та якісного складу ліпідів у плазмі крові проводили методом тонкошарової хроматографії [9]. У частини щурів кров брали протягом періоду алкоголізації, а саме на 14 та 48 добу алкоголізації.

Статистичний аналіз даних проводили за допомогою програми Statistica 7.0. Згідно з критерієм Шапіро-Вілка виявилось, що вибірки даних активності поведінки належать до ненормально розподілених. Тому поведінкові показники обробляли за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні та представляли у вигляді медіани (25 % і 75 % квантилів). Для порівняння динаміки змін показника з часом при багаторазовому використанні одного тесту використовували критерій Вілкоксона. Нормально розподілені вибірки обробляли за допомогою параметричного t-критерію Ст'юдента.

Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймали $\leq 0,05$.

Результати та обговорення. Дослідження міжпівкульної асиметрії з використанням Т-подібного лабіринту показало, що за вихідним рівнем моторної асиметрії щурів експериментальних групи (вибіркі А і В) можна розподілити на три групи: 45 % із правобічною моторною асиметрією або "правші"; 33 % щурів, які не мали вираженої моторної асиметрії або "амбідекстри", і 22 % – з лівобічною моторною асиметрією або "шульги".

Інтактні тварини з різним профілем моторної асиметрії ("правші", "шульги" і "амбідекстри") розподілялись між експериментальними групами ДН і ПН та "схильних" і "несхильних" таким чином: у підгрупах ДН достовірна більшість щурів були з домінуванням лівої півкулі або "амбідекстри" ($p < 0,05$) (у вибірці А серед ДН 79 % – "правші", 13 % – "амбідекстри" і 8 % – "шульги"; у вибірці В серед ДН 80 % – "правші", 13 % – "амбідекстри" і 7 % – "шульги"), тоді як у ПН більшість тварин мали правобічну моторну асиметрією ($p < 0,05$) (у вибірці А серед ПН 20,3 % – "правші", 43,5 % – "амбідекстри" і 36,2 % – "шульги"; у вибірці В серед ПН 22,6 % – "правші", 50,4 % – "амбідекстри" і 27 % – "шульги") ($p < 0,05$). У групах "схильних" і "несхильних" теж спостерігалась певна нерівномірність розподілу. Зокрема, серед "схильних" тварин відсоток щурів з лівобічною моторною асиметрією був більший, ніж серед "несхильних" (у вибірці А 40 % – "шульги", 37,5 % – "правші" і 22,5 % – "амбідекстри"; у групі В 51 % – "правші", 34 % – "амбідекстри" і 15 % – "шульги").

Таблиця 1

Коефіцієнти моторної асиметрії (Кас) у щурів вибірки А під впливом алкоголізації й навчання на різних етапах експерименту (%; M ± SD)

ГРУПА А			
Група	коефіцієнт асиметрії (Кас)		
	До початку алкоголізації й навчання в РЛ	20-та доба алкоголізації	Після завершення алкоголізації й навчання в РЛ
I (A)	55,0 ± 3,2	53,0 ± 5,1	51,5 ± 7,7
II (A)	28,0 ± 7,1	28,9 ± 3,5	29,2 ± 8,6
III (A)	-6,3 ± 1,0 °°°°	22,6 ± 2,5**** °°°°	-15,6 ± 5,9 *** °°°°
IV (A)	-37,7 ± 4,4 °°°°	40,7 ± 7,4**** °°°°	-43,6 ± 0,00*** °°°°
V (A)	47,6 ± -1 °	60,6 ± 8,1 *** °°°°	-25,8 ± 6,8**** °°°°
VI (A)	19,7 ± 5,5 °	55,1 ± 11,5**** °°°°	-61,8 ± 1,1**** °°°°

Примітки: 1) * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,02$; *** – $p < 0,01$; **** – $p < 0,001$ – порівняно з вихідними показниками підгруп;

2) ° – $p < 0,05$; °° – $p < 0,02$; °°° – $p < 0,01$; °°°° – $p < 0,001$ – порівняно з контрольними показниками;

3) позитивний знак Кас характеризує правобічну, негативний – лівобічну моторну асиметрію, (Кас > 20) – щури з правобічною моторною асиметрією – "правші", (Кас < -20) – щури з лівобічною моторною асиметрією – "шульги" і (-20 < Кас < 20) – щури, які не мають вираженої моторної асиметрії – "амбідекстри".

У тварин контрольних груп з різним рівнем моторної латералізації коефіцієнт асиметрії (Кас) достовірно не змінювався протягом усього експерименту (I (A) $t = 3,52$; I (B) II (A) $t = 5,1$, II (B) $t = 6,2$). У тварин, які отримували розчин етанолу, були зареєстровані певні зміни Кас, проте вони мали різний ступінь вияву і залежали від вихідної моторної латералізації (табл. 1, 2). У вибірці А під впливом хронічної алкоголізації у тварин із груп III (A) і IV (A) вихідний Кас на 20-ту добу алкоголізації зростав на 52 і 78 % відповідно ($t = 0,32$, $p < 0,001$) ($t = 2,3$, $p < 0,001$). Схожа тенденція відбувалась і у несхильних до алкоголізму тварин. У групах V (A) і VI (A) Кас зростав на 35 і 45 % відповідно ($t = 5,7$, $p < 0,01$) ($t = 2,7$, $p < 0,001$). Ці зміни мають більш виражений характер саме в групах ПН щурів IV (A) і VI (A), що може вказувати на більшу чутливість індивідуального профілю моторної асиметрії до дії алкоголю у тварин з низькою силою

нервових процесів у ЦНС. Окрім того, у всіх алкоголізованих щурів після завершення алкоголізації Кас набував від'ємного значення. Приміром, у групах ПН алкоголізованих щурів VI (A) і VI (A) Кас знижувався: у групі VI (A) на 35 % порівняно з вихідним рівнем ($t = 3,1$, $p < 0,01$); у групі VI (A) на 34 % порівняно з вихідним рівнем ($t = 5,3$, $p < 0,002$). У групах ДН тварин рівень Кас також набував від'ємного значення після завершення алкоголізації, але таке зниження є не настільки вираженим, ніж у ПН тварин (табл. 1). У вибірці В зміни моторної асиметрії мали спільну з вибіркою А тенденцію (табл. 2). Таким чином, за результатами тестування на 20-ту добу алкоголізації незалежно від здатності до навчання й рівня алкогольної мотивації Кас у алкоголізованих щурів зростав і ставав позитивним, а на третю добу після завершення алкоголізації навпаки – набував від'ємного значення.

Таблиця 2

Коефіцієнти моторної асиметрії (Кас) у щурів вибірки В під впливом алкоголізації й навчання на різних етапах експерименту (%; M ± SD)

Група	ГРУПА В		
	коефіцієнт асиметрії (Кас)		
	До початку алкоголізації й навчання в РЛ	20-та доба алкоголізації	Після завершення алкоголізації й навчання в РЛ
I (B)	56,0 ± 8,44	56,7 ± 9,6	56,1 ± 11,7
II (B)	26,2 ± 5,3	25,5 ± 4,7	23,4 ± 4,6
III (B)	8,5 ± 1,1 °°°°	25,3 ± 3,0 *** °°°°	-19,1 ± 4,8 **** °°°°
IV (B)	-11,7 ± 1,4 °°°°	60,5 ± 7,4 **** °°°°	-56,0 ± 0,2 **** °°°°
V (B)	52,7 ± 12,3	71,3 ± 10,1 *** °°°°	-35,7 ± 5,2 **** °°°°
VI (B)	27,5 ± 6,4	59,0 ± 11,5 **** °°°°	-72,9 ± 3,0 **** °°°°

Примітки: 1) * – p < 0,05; ** – p < 0,02; *** – p < 0,01; **** – p < 0,001 – порівняно з вихідними показниками підгруп;

2) ° – p < 0,05; °° – p < 0,02; °°° – p < 0,01; °°°° – p < 0,001 – порівняно з контрольними показниками;

3) позитивний знак Кас характеризує правобічну, негативний – лівобічну моторну асиметрію, (Кас > 20) – щури з правобічною моторною асиметрією – "правши", (Кас < -20) – щури з лівобічною моторною асиметрією – "шульги" і (-20 < Кас < 20) – щури, які не мають вираженої моторної асиметрії – "амбідекстри".

Окрім того, у щурів з низькою алкогольною мотивацією V (A) (B) і VI (A) (B) на відміну від схильних до алкоголізму щурів III (A) (B) і IV (A) (B) коливання рівня Кас на різних етапах тестування мало більш виражений характер і це не зважаючи на те, що вихідний рівень Кас у групах V (A) і VI (A) достовірно не відрізнявся від рівня контрольних тварин. Можна сказати, що у вибірках В та А зміни Кас мали спільний характер, але спостерігались і певні відмінності. Приміром, у алкоголізованих тварин вибірки В вплив етанолу на ступінь і рівень латералізації мав більш виражений характер, ніж у вибірках А, особливо у несхильних до вживання алкоголю тварин. На 20-ту добу хронічної алкоголізації у вибірці В у несхильних до алкоголізму тварин V (B) і VI (B) Кас був на 9,6 і на 6 % (t = 4,0, p < 0,05) (t = 3,1, p < 0,02) більше, ніж у несхильних до алкоголізму тварин вибірки А. На третю добу після алкоголізації Кас у "несхильних" тварин вибірки В був більшим, ніж у "несхильних" тварин вибірки А на 10 % для підгрупи V і 18 % – для підгрупи VI (t = 2,6, p < 0,02) (t = 3,2, p < 0,01) (табл. 2, 3.). Певною мірою більш повільне відновлення показників латералізації після алкоголізації у "схильних" тварин групи В може бути пов'язано з більш вираженим негативним впливом алкоголю на нервову систему і рівень метаболічних процесів у цих тварин.

Виходячи з отриманих результатів, можна говорити, про правопівкульний певною мірою характер латералізації "алкогольної домінанти", оскільки серед схильних до алкогольної залежності щурів частіше зустрічались тварини саме з лівобічною моторною асиметрією. Окрім того, серед щурів, що мали високу здатність до навчання, достовірно більше було тварин із правобічною моторною асиметрією. У хронічно алкоголізованих

тварин збільшення вихідного рівня Кас під час алкоголізації вказує на наявність впливу алкоголю на індивідуальні профілі функціональної асиметрії та зміну домінування півкуль, що виявляється в модуляції лівих профілів моторної асиметрії й пригніченні процесів переробки інформації в правій півкулі. Оскільки моторна асиметрія може виступати як показник, що відображає функціональний стан нервових процесів, такі зміни є непрямим свідченням різноспрямованого впливу алкоголізації на тварин з різними поведінковими характеристиками.

Дослідження впливу етанолу на ліпідний обмін показало, що хронічна алкоголізація сприяла зростанню концентрації ліпідів у крові щурів, що свідчить про помірний дестабілізуючий вплив етанолу на жировий обмін. Хронічна алкоголізація призводить до інтенсифікації катаболічних процесів в організмі, наслідком чого є збільшення вмісту тригліцеридів (ТГ) і вільних жирних кислот (ВЖК) у крові алкоголізованих щурів на фоні незмінного рівня холестеролу (Хс). Звертає на себе увагу підвищення рівня фосфоліпідів (ФЛ) у крові щурів, що може бути наслідком руйнівного впливу на клітинні мембрани такої токсичної речовини, як етанол. Після припинення алкоголізації вищезазначені показники повертались до контрольних значень. Це ще раз підтверджує безпосередній вплив етанолу на ліпідний обмін у щурів. Після відміни етанолу у щурів спостерігалось зниження концентрації в крові фосфоліпідів (ФЛ), вільних жирних кислот (ВЖК) і тригліцеридів (ТГ) порівняно з контролем. Такі зміни були більш виражені у тварин вибірки А. У "схильних" тварин групи А рівень ліпідів після завершення алкоголізації був нижче, ніж у "несхильних" (табл. 3.).

Таблиця 3

Концентрація ліпідів у крові щурів вибірки А (M ± SD)

	ГРУПА А			
	Концентрація ліпідів у крові щурів під час алкоголізації (мг, %)			
	Фосфоліпіди (ФЛ)	Вільні жирні кислоти (ВЖК)	Тригліцериди (ТГ)	Холестерол (Хс)
Контроль алкоголю	327 [323; 332] °	36 [32; 38] °	58 [56; 61] °	51 [49; 53]
	Концентрація ліпідів у крові у щурів після закінчення алкоголізації			
Група	Фосфоліпіди (ФЛ)	Вільні жирні кислоти (ВЖК)	Тригліцериди (ТГ)	Холестерол (Хс)
I (A)	284 [278;293]	27 [26;28]	40 [35;43]	49 [49;53]
II (A)	281 [278;293]	26,3[25;27]	39 [38;42]	48 [47;51]
III (A)	285 [288;310]*	27 [24;29]*	41 [40;43]*	47 [45;49]
IV (A)	287 [295;318]*	26 [23;28]*	42 [40;44]*	46 [44;50]
V (A)	310 [315;320]*	31 [29;34]*	44 [41;45]*	48 [46;51]
VI (A)	289 [311;328]*	29 [26;32]*	46 [42;46]*	49 [50;52]

Примітки: 1) * – p < 0,05 – порівняно з показниками щурів під час алкоголізації;

2) ° – p < 0,05 – порівняно з неалкоголізованим контролем (групи I (A);II (A)).

Для тварин вибірки В ця тенденція зберігається, але рівні ліпідів більш низькі. ДН і ПН тварини (високо- і низькоактивні) не мали відмінностей за концентрацією ліпідів у крові, за винятком умісту ТГ, який був підвищений у ПН "несхильних" тварин у вибірці А на

14 % ($p < 0,04$) і у вибірці В на 21 % ($p < 0,03$), ніж у "схильних", а також умісту ФЛ, який у вибірці А у ДН "схильних" тварин був менший на 6 % ($p < 0,03$), ніж у ПН. Це може відображати більш високий рівень змін ліпідного складу крові під впливом етанолу у цих тварин (табл. 4).

Таблиця 4

Концентрація ліпідів у крові у щурів вибірки В (M ± SD)

ГРУПА В				
	Концентрація ліпідів у крові щурів під час алкоголізації (мг, %)			
	Фосфоліпіди (ФЛ)	Вільні жирні кислоти (ВЖК)	Тригліцериди (ТГ)	Холестерол (Хс)
Контроль алкоголю	329 [325; 336] [°]	37 [34; 40] [°]	57 [58; 60] [°]	49 [47; 54]
Концентрація ліпідів у крові у щурів після закінчення алкоголізації				
Підгрупа	Фосфоліпіди (ФЛ)	Вільні жирні кислоти (ВЖК)	Тригліцериди (ТГ)	Холестерол (Хс)
I (В)	282 [275; 290]	26 [24; 27]	41 [37; 45]	47 [45; 50]
II (В)	280 [276; 292]	25 [23; 26]	38 [36; 42]	46 [44; 51]
III (В)	283 [280; 295]*	27 [24; 29]*	41 [40; 43]*	41 [38; 46]
IV (В)	285 [282; 298]*	26 [23; 28]*	43 [41; 46]*	43 [39; 45]
V (В)	292 [290; 306]*	32 [28; 34]*	45 [40; 49]*	47 [45; 50]
VI (В)	289 [311; 328]*	30 [28; 33]*	50 [48; 53]*	49 [47; 52]

Примітки: 1) * – $p < 0,05$ – порівняно з показниками щурів під час алкоголізації;
2) ° – $p < 0,05$ – порівняно з неалкоголізованим контролем (групи I (А); II (А)).

Висновки. Зміни функціонального стану ЦНС у результаті хронічного вживання етанолу корелюють зі змінами моторної міжпівкульної асиметрії головного мозку й виявляються у пригніченні процесів переробки інформації в правій півкулі в період алкоголізації. Інверсія моторної асиметрії має більш виражений і стійкий характер у тварин з низькою здатністю до навчання в радіальному лабіринті. Схильність до алкогольної залежності корелює з рівнем моторної асиметрії, що виявляється у достовірному переважанні лівих профілів латералізації моторних ознак у щурів з високою алкогольною мотивацією. Хронічна алкоголізація призводить до інтенсифікації ліпідного обміну в організмі, про що свідчить зростання концентрації тригліцеридів і вільних жирних кислот у крові щурів, яке корелює з формуванням алкогольної залежності. Підвищення рівня фосфоліпідів у крові щурів у процесі алкоголізації може бути наслідком руйнівного впливу на клітинні мембрани такої токсичної речовини, як етанол.

Список використаних джерел

1. Global burden of disease and injury and economic cost attributable to alcohol use and alcohol-use disorders / J. Rehm, C. Mathers, S. Popova [et al.] // *Lancet*. – 2009. – Vol. 373, № 9682. – P. 2223–2233. doi: 10.1016/S0140-6736(09)60746-7.
2. Lifetime risk of mortality due to different levels of alcohol consumption in seven European countries: implications for low-risk drinking guidelines / K.D. Shield, G. Gmel, G.S. Gmel [et al.] // *Addiction*. – 2017. – 112: 1535–44. doi: 10.1111/add.13827.
3. Лінський І. В. Прогнозування епідемії залежності від психоактивних речовин в Україні засобами популяційної екології / І. В. Лінський, О. О. Мінко, Е. Б. Первомайський та ін. // *Новини української психіатрії*. – 2006. – С. 120–125.
4. Alan W. Jones Alcohol, its absorption, distribution, metabolism, and excretion in the body and pharmacokinetic calculations // *Wires Forensic Sci*. – 2019. – Vol. 1, Issue 5. doi.org/10.1002/wfs2.1340
5. López M., Olivares M. José, Berrios German E. Pellagra Encephalopathy in the Context of Alcoholism: Review and Case Report // *Alcohol and Alcoholism*. – 2014. – Vol. 49, Issue 1. – P. 38–41, doi.org/10.1093/alcal/agt070
6. Lopez M.F., Anderson R.I., Becker H.C. Effect of different stressors on voluntary ethanol intake in ethanol-dependent and nondependent C57BL/6J mice // *Alcohol*. – 2016. – 51: 17–23. doi.org/10.1016/j.alcohol.2015.11.010
7. Pervin Z. Effect of alcohol on the central nervous system to develop neurological disorder: pathophysiological and lifestyle modulation can be potential therapeutic options for alcohol-induced neurotoxication / Z. Pervin, J. M. Stephen // *AIMS Neurosci*. – 2021; 8(3): 390–413. doi: 10.3934/Neuroscience.2021021

8. Abnormal gray matter asymmetry in alcohol dependence / Jiajia Zhu, Yajun Wang, Haibao Wang // *Neuro Report*. – 2018. – Vol. 29, N. 9. – 13 June. – pp. 753–759 (7) doi.org/10.1097/WNR.0000000000001027
9. Egorov A. Yu. Profiles of brain functional asymmetry in patients with alcoholism and drug addiction / A. Yu. Egorov, T. V. Tikhomirov // *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. – 2004. – Vol. 40, No. 5. – pp. 557–562. DOI:10.1007/s10893-005-0012-8
10. Left-Right Asymmetry Defect in the Hippocampal Circuitry Impairs Spatial Learning and Working Memory in iv Mice *PLoS One* / K. Goto, R. Kurashima, H. Gokan. – 2010; 5(11): e15468. doi.org/10.1371/journal.pone.0015468
11. Alan W. Jones Alcohol, its absorption, distribution, metabolism, and excretion in the body and pharmacokinetic calculations / W. Alan // *Wires Forensic Sci*. – 2019. – Vol. 1, Issue 5 https://doi.org/10.1002/wfs2.1340
12. Andrew S. Bell. Lohoff Cholesterol and alcohol Cholesterol / S. Bell Andrew, Emma M. O'Connell, W. Falk. – 2022. – P. 747–767 doi.org/10.1016/B978-0-323-85857-1.00036-5
13. Alcohol Drinking and Blood Alcohol Concentration Revisited / J. E. Dilley, E. R. Nicholson, S. M. Fischer // *Alcohol Clin. Exp. Res*. – 2018. – Vol. 42. – pp. 260–269. DOI: 10.1111/acer.13549
14. Jeongeun Hyun Myunghee Yoon and Youngmi Jung Pathophysiological Aspects of Alcohol Metabolism in the Liver *Int. J. Jeongeun Hyun, Jinsol Han, Chanbin Lee // J. Mol. Sci*. – 2021. – 22(11), 5717; https://doi.org/10.3390/ijms22115717
15. Lieber C. S. Ethanol and Lipids *Alcohol / C. S. Lieber, M. D. Savolainen // Clinical and Experimental Research*. – 1984. – July. – Vol. 8, Issue 4, – pp. 409–423. DOI: 10.1111/j.1530-0277.1984.tb05689.x
16. Min You. Arteel Effect of ethanol on lipid metabolism / You Min, E. Gavin // *Journal of Hepatology*. – 2019. – February. – Vol. 70, Issue 2. – pp. 237–248. doi: 10.1016/j.jhep.2018.10.037.
17. Zimmerberg B. Neurochemical correlate of a spatial preference in rats- Science / B. Zimmerberg, S. D. Glick, T. P. Jerussi. – 1974. – Vol. 185, Issue 4151. – pp. 623–625 DOI: 10.1126/science.185.4151.623
18. Levin E. D. Learning about cognition risk with the radial-arm maze in the developmental neurotoxicology battery / E. D. Levin // *Neurotoxicol Teratol*. – 2015. – 52 (A): 88–92. doi: 10.1016/j.ntt.2015.05.007.
19. Lopez M. F. Effect of different stressors on voluntary ethanol intake in ethanol-dependent and nondependent C57BL/6J mice / M. F. Lopez, R. I. Anderson, H. C. Becker // *Alcohol*. – 2016. – 51: 17–23. doi: 10.1016/j.alcohol.2015.11.010
20. Steigrewald E. S. Performance by adult rats in sensory – mediated radial arm tasks is not impaired and may be transiently enhanced by chronic exposure to ethanol / E. S. Steigrewald, M. W. Miller // *Alcohol. Clin. Exp. Res*. – 1997. – V. 21. – № 9. – P. 1553–1559. PMID: 9438512
21. Stewart R. B. Comparison of alcohol-preferring (P) and nonpreferring (NP) rats on tests of anxiety and for the anxiolytic effects of ethanol / R. B. Stewart, G. J. Gatto, L. Lumeng // *Alcohol. Clin. Exp. Res*. – 1993. – № 10. – P. 1–10. DOI: 10.2165/00003088-199324060-00003
22. Thayanukulvat C., Harding T. Binge drinking and cognitive impairment in young people / C. Thayanukulvat, T. Harding // *Br. J. Nurs*. – 2015. – 24: 401–7. DOI: 10.12968/bjon.2015.24.7.401
23. European convention for protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe. – (18.03.1986). – Strasburg, 1986. – p. 2.

24. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2002. – № 1. – С. 142–145.

25. Закон України від 21.02.2006 № 3447-IV "Про захист тварин від жорстокого поводження" // Відомості Верховної Ради України. – 2006. – № 27. – С. 230.

26. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон. – М.: Медицина, 1991. – С. 45–68.

27. Characteristic metabolic disturbances in the rat tissues caused by long-term use of alcohol / Yu. M. Parkhomenko, G. V. Donchenko, S. Yu. Pylypchuk et al. // Ukr Biokhim Zh. – 2007. – 79(3): 61–9. Russian.

28. Чуян Е. Н. Изменение двигательной активности животных с разным профилем моторной асимметрии в условиях гипокинезии / Е. Н. Чуян, О. И. Горная // Физика живого. – 2009. – Т. 17, № 2. – С. 193–199.

29. Javadov A.K. Determination of the concentration of total phospholipids in extracts of animal biological material / A. K. Javadov, T. N. Afonina, N. N. Kreis // Agricultural biology. – 2006. – № 2. – P. 54. Russian.

References

1. J. Rehm, C. Mathers, S. Popova [et al.] Global burden of disease and injury and economic cost attributable to alcohol use and alcohol-use disorders // Lancet. – 2009. – Vol. 373, № 9682. – P. 2223–2233. doi: 10.1016/S0140-6736(09)60746-7.

2. K.D. Shield, G. Gmel, G.S. Gmel [et al.] Lifetime risk of mortality due to different levels of alcohol consumption in seven European countries: implications for low-risk drinking guidelines // Addiction. – 2017. – 112: 1535–44. doi: 10.1111/add.13827.

3. Linskyi I. V. Prohnozuvannya epidemii zalezhnosti vid psykhoaktyvnykh rechovyv v Ukraini zasobamy populatsiinoi ekolohii // Novyny ukrainoski psykiatrii. – 2006. – S. 120–125.

4. Alan W. Jones Alcohol, its absorption, distribution, metabolism, and excretion in the body and pharmacokinetic calculations // Wires Forensic Sci. – 2019. – Vol. 1, Issue 5. doi.org/10.1002/wfs2.1340

5. López M., Olivares M. José, Berrios German E. Pellagra Encephalopathy in the Context of Alcoholism: Review and Case Report // Alcohol and Alcoholism. – 2014. – Vol. 49, Issue 1. – P. 38–41. doi.org/10.1093/alcal/agt070

6. Lopez M.F., Anderson R.I., Becker H.C. Effect of different stressors on voluntary ethanol intake in ethanol-dependent and nondependent C57BL/6J mice // Alcohol. – 2016. – 51: 17–23. doi.org/10.1016/j.alcohol.2015.11.010

7. Pervin Z. Effect of alcohol on the central nervous system to develop neurological disorder: pathophysiological and lifestyle modulation can be potential therapeutic options for alcohol-induced neurotoxication // AIMS Neurosci. – 2021; 8(3): 390–413. doi: 10.3934/Neuroscience.2021021

8. Jiajia Zhu, Yajun Wang, Haibao Wang. Abnormal gray matter asymmetry in alcohol dependence // Neuro Report. – 2018. – Vol. 29, N. 9. – 13 June. – pp. 753–759 (7) doi.org/10.1097/WNR.0000000000001027

9. Egorov A. Yu. Profiles of brain functional asymmetry in patients with alcoholism and drug addiction // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. – 2004. – Vol. 40, No. 5. – pp. 557–562. DOI:10.1007/s10893-005-0012-8

10. K. Goto, R. Kurashima, H. Gokan. Left–Right Asymmetry Defect in the Hippocampal Circuitry Impairs Spatial Learning and Working Memory in iv Mice PLoS One. 2010; 5(11): e15468. doi.org/10.1371/journal.pone.0015468

11. Alan W. Jones Alcohol, its absorption, distribution, metabolism, and excretion in the body and pharmacokinetic calculations // Wires Forensic Sci. – 2019. – Vol. 1, Issue 5 https://doi.org/10.1002/wfs2.1340

12. Andrew S. Bell. Lohoff Cholesterol and alcohol Cholesterol // 2022. – P. 747–767 doi.org/10.1016/B978-0-323-85857-1.00036-5

13. J. E. Dilley, E. R. Nicholson, S. M. Fischer. Alcohol Drinking and Blood Alcohol Concentration Revisited // Alcohol Clin. Exp. Res. – 2018. – Vol. 42. – pp. 260–269. DOI: 10.1111/acer.13549

14. Jeongeun Hyun Myunghee Yoon and Youngmi Jung Pathophysiological Aspects of Alcohol Metabolism in the Liver Int. // J. Mol. Sci. – 2021. – 22 (11), 5717; https://doi.org/10.3390/ijms22115717

15. Lieber C. S. Ethanol and Lipids Alcohol // Clinical and Experimental Research. – 1984. – July. – Vol. 8, Issue 4, – pp. 409–423. DOI: 10.1111/j.1530-0277.1984.tb05689.x

16. Min You. Arteel Effect of ethanol on lipid metabolism // Journal of Hepatology. – 2019. – February. – Vol. 70, Issue 2. – pp. 237–248. doi: 10.1016/j.jhep.2018.10.037.

17. Zimmerberg B. Neurochemical correlate of a spatial preference in rats- Science. 1974. – Vol. 185, Issue 4151. – pp. 623–625 DOI: 10.1126/science.185.4151.623

18. Levin E. D. Learning about cognition risk with the radial-arm maze in the developmental neurotoxicology battery // Neurotoxicol Teratol. – 2015. – 52 (A): 88–92. doi: 10.1016/j.ntt.2015.05.007.

19. Lopez M. F. Effect of different stressors on voluntary ethanol intake in ethanol-dependent and nondependent C57BL/6J mice // Alcohol. – 2016. – 51: 17–23. doi: 10.1016/j.alcohol.2015.11.010

20. Steigrewald E. S. Performance by adult rats in sensory – mediated radial arm tasks is not impaired and may be transiently enhanced by chronic exposure to ethanol // Alcohol. Clin. Exp. Res. – 1997. – V. 21. – № 9. – P. 1553–1559. PMID: 9438512

21. Stewart R. B. Comparison of alcohol-preferring (P) and nonpreferring (NP) rats on tests of anxiety and for the anxiolytic effects of ethanol // Alcohol. Clin. Exp. Res. – 1993. – № 10. – P. 1–10. DOI: 10.2165/00003088-199324060-00003

22. Thayanukulvat C., Harding T. Binge drinking and cognitive impairment in young people // Br. J. Nurs. – 2015. – 24: 401–7. DOI: 10.12968/bjon.2015.24.7.401

23. European convention for protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe. – (18.03.1986). – Strasburg, 1986. – p. 2.

24. Reznikov O.H. Zahalni etychni pryntsyipy eksperymentiv na tvarynakh // Endokrynolohiia. – 2002. – № 1. – S. 142–145.

25. Zakon Ukrainy vid 21.02.2006 № 3447-IV "Pro zakhyt tvaryn vid zhorstokoho povodzhennia" // Vidomosti Verkhovnoi Rady Ukrainy. – 2006. – № 27. – S. 230.

26. Buresh Ya. Metodyky y osnovnye eksperymenty po yzucheniyu mozgha y povedeniya. – M.: Medytsyna, 1991. – S. 45–68.

27. Yu. M. Parkhomenko, G. V. Donchenko, S. Yu. Pylypchuk et al. Characteristic metabolic disturbances in the rat tissues caused by long-term use of alcohol // Ukr Biokhim Zh. – 2007. – 79(3): 61–9. Russian.

28. Chuian E. N. Yzmenenye dvyhatelnoi aktyvnosti zhyvotnykh s raznym profylem motornoj asymetriy y uslovyakh hypokynezy // Fyzyka zhyvoho. – 2009. – T. 17, № 2. – S. 193–199.

29. Javadov A.K. Determination of the concentration of total phospholipids in extracts of animal biological material // Agricultural biology. – 2006. – № 2. – P. 54. Russian.

Стаття надійшла: 02.03.23

Статтю надіслано на рецензування: 03.03.23

Статтю прийнято: 04.04.23

O. Kovalenko, Assist.,
M. Makarchuk, Dr. Sci. (Biol.)
ESC "Institute of Biology and Medicine",
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

INTERHEMISPHERIC BRAIN ASYMMETRY AND METABOLIC CHANGES IN RATS WITH DIFFERENT ALCOHOL MOTIVATION

The analysis of motor inter hemispheric asymmetry in rats differing in the degree of alcohol motivation and learnin gability at different stages of chronic alcoholization was performed. The qualitative and quantitative composition of blood lipids was determined as an integral indicator of the degree of ethanol influence on metabolic processes at different stages of chronic alcoholization. The obtained results indicate a certain right-hemispheric character of lateralization of the "alcohol dominant", since among alcohol-dependent rats, animals with left-sided motor a symme try were more common. In chronically alcoholic animals, the effect of alcohol on individual profiles of functional a symme try and changes in hemispheric dominance was found, which was manifested in the modulation of left motor a symme try profiles and inhibition of information processing in the righ the misp here. In addition, among rats with high learnin gability, there were significantly more animals with right-sided motor asymmetry. Chronic alcoholization led to an intensification of catabolic processes in the body, as evidenced by an increase in the concentration of triglycerides and free fatty acids in the blood of rats, which correlates with the formation of alcohol dependence. The increase in lipid concentration correlated with the stage of alcohol dependence formation.

Keywords: asymmetry, lipid metabolism, alcoholic motivation.

Наукове видання



ВІСНИК

КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

БІОЛОГІЯ

Випуск 1(92)

Редактор *І. Курницька*

Оригінал-макет виготовлено ВПЦ "Київський університет"

Автори опублікованих матеріалів несуть повну відповідальність за підбір, точність наведених фактів, цитат, статистичних даних, відповідної галузевої термінології, імен власних та інших відомостей. Редколегія залишає за собою право скорочувати та редагувати подані матеріали.



Формат 60x84^{1/8}. Ум. друк. арк. 5,0. Наклад 300. Зам. № 223-10628.
Гарнітура Arial. Папір офсетний. Друк офсетний. Вид. № Б1.
Підписано до друку 11.04.23

Видавець і виготовлювач
ВПЦ "Київський університет"

Б-р Тараса Шевченка, 14, м. Київ, 01601, Україна
☎ (38044) 239 32 22; (38044) 239 31 72; тел./факс (38044) 239 31 28
e-mail: vpc@knu.ua; vpc_div.chief@univ.net.ua; redaktor@univ.net.ua
http: vpc.univ.kiev.ua

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 1103 від 31.10.02