

DOI: 10.26565/2075-5457-2025-44-4
УДК: 577.112:577.12:577.217

Вплив індуктора транскрипційного фактору Nrf2 на показники метаболізму в тканинах щурів при введенні геміну С.М. Охріменко, К.В. Сєдова, О.Б. Кіяшко, А.М. Сергєєва, О.В. Береза

Гем є важливим кофактором, що бере участь у багатьох біологічних процесах: перенесення і зберігання кисню, перенесення електронів, метаболізм ліків і стероїдів, трансдукції сигналу тощо. Однак, надлишок вільного гема є високотоксичним через його здатність стимулювати оксидативний стрес. Однією з основних реакцій організму на оксидативний стрес є утворення транскрипційного фактору Nrf2, що надходить в ядро і стимулює індукцію генів ключових білків – компонентів системи антиоксидантного захисту. Nrf2 – редокс-чутливий фактор транскрипції, що регулює експресію генів, які містять у своїх промоторах респонсивний елемент ARE. Зараз Nrf2 вважається головним регулятором окисно-відновного гомеостазу, який контролює експресію понад 100 генів, що беруть участь у захисті від активних форм кисню та електрофілів. Одним з індукторів транскрипційного фактору Nrf2 є диметилфумарат (ДМФ), який індуктує ендогенний антиоксидантний захист через шлях Nrf2. Недостатньо вивченим є вплив Nrf2 на азотний метаболізм і систему тіолів при оксидативному стресі. У зв'язку з цим мета цієї роботи – вивчення показників азотного обміну та вмісту небілкових тіолів при введенні геміну, індуктора фактору транскрипції Nrf2 диметилфумарату, а також при їх сумісному введенні. Об'єкт дослідження – безпородні білі самці-щери масою 180-260 г, які отримували ін'єкції розчину геміну в дозі 50 мг на кг маси тіла внутрішньочеревинно та диметилфумарат перорально. Через 24 години після введення речовин тварин брали в експеримент, дотримуючись вимог Конвенції поводження з тваринами. З крові отримували плазму. Печінку перфузували охолодженим фізіологічним розчином. З печінки, нирок та серця готували гомогенати, які використовували для визначення активності каталази, амінотрансфераз і аргінази, а також вмісту ТБК-реагуючих продуктів і відновлених SH-груп. В плазмі крові визначали вміст сечовини. Результати дослідження свідчать про наступне: введення геміну спричинює підвищення вмісту ТБК-реагуючих продуктів в серці, зниження вмісту відновлених тіолів в органах щурів і активацію каталази в нирках; введення диметилфумарату призводило до зниження вмісту ТБК-реагуючих продуктів у серці, збільшення кількості загальних тіолових груп у нирках, підвищення активності аргінази у печінці; комбіноване застосування геміну і ДМФ через 24 години призводило до збільшення вмісту ТБК-реагуючих продуктів у нирках та серці, небілкових SH-груп у печінці, вмісту сечовини у плазмі крові, підвищення активності амінотрансфераз і аргінази в досліджуваних органах. Встановлені зміни можуть відображувати активацію Nrf2 у присутності прооксидантного чинника і його вплив на експресію низки генів, продукти яких беруть участь в адаптаційних процесах при оксидативному стресі.

Ключові слова: гемін, Nrf2, диметилфумарат, ТБК-реагуючі продукти, каталаза, SH-групи, амінотрансферази, аргіназа, печінка, нирки, серце

Цитування: Охріменко С.М., Сєдова К.В., Кіяшко О.Б., Сергєєва А.М., Береза О.В. Вплив індуктора транскрипційного фактору Nrf2 на показники метаболізму в тканинах щурів при введенні геміну. Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія «Біологія», 2025, 44, с. 32-39. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2025-44-4>

Про авторів:

Охріменко С.М. – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, s.okhrimenko@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0002-7844-618X>

Сєдова К.В. – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, Kristina.sedova@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0001-6053-1100>

Кіяшко О.Б. – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, olgakiriver@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0009-9964-3615>

Сергєєва А.М. – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, anna.lionova.27@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0004-3783-2473>

Береза О.В. – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, lekaantonenko2000@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0006-2058-0817>

Подано до редакції: 01.04.2025 / Прорецензовано: 07.05.2025 / Прийнято до друку: 21.05.2025

Вступ

Гем (залізо-протопорфірин IX) є важливим кофактором, що бере участь у багатьох біологічних процесах: перенесення і зберігання кисню, перенесення електронів, метаболізм ліків і стероїдів, трансдукція сигналу тощо. Однак, надлишок вільного гема є високотоксичним через його здатність стимулювати оксидативний стрес (Chiabrando et al., 2014). При цьому активні форми кисню (АФК)

пошкоджують ліпідні мембрани, білки і нуклеїнові кислоти, активують клітинні сигнальні шляхи і чутливі до окислювача фактори транскрипції, змінюють експресію білків і порушують мембранні канали (Jeney. et al., 2002; Kumar, Bandyopadhyay, 2005; Gozzelino et al., 2010).

Однією з основних реакцій організму на окисдаивний стрес є утворення транскрипційного фактору Nrf2, що надходить в ядро і стимулює індукцію генів ключових білків - компонентів антиоксидантної системи (АОС) (Motohashi, Yamamoto, 2004). Nrf2 – редокс-чутливий фактор транскрипції, що регулює експресію генів, які містять у своїх промоторах респонсивний елемент ARE (antioxidant responsive element). Виявилося, що Nrf2 здатний зв'язуватися тільки з окисленою формою ARE (Tonelli et al., 2018). У нормі Nrf2 міститься в цитоплазмі клітини в комплексі з репресорним білком Keap1, який є своєрідним молекулярним «сенсором» зміни внутрішньоклітинного гомеостазу.(Mitsis et al., 2020). Нерозривний зв'язок цих молекулярних структур дозволяє об'єднати їх в єдину редокс-чутливу сигнальну систему Keap1 / Nrf2 / ARE, головним призначенням якої є підтримка внутрішнього гомеостазу при апоптоз-індукуючих, канцерогенних і стресових впливах. ARE контролює експресію понад 100 генів, серед яких можна виділити дві великі групи антиоксидантних ферментів (гемоксигеназа-1, глутатіонпероксидаза 2, глутаматцистеїнлігаза, глутатіонредуктаза, тіоредоксинредуктаза та ін.) і ферментів II фази детоксикації ксенобіотиків (глутатіон-S-трансферази, УДФ-глюкуронілтрансферази та ін.). Зараз Nrf2 вважається головним регулятором окисно-відновного гомеостазу, який контролює експресію понад 100 генів, що беруть участь у захисті від активних форм кисню та електрофілів (Tonelli et al., 2018). Нокаут Nrf2 у мишей істотно збільшує сприйнятливості мишей до широкого спектру хімічних токсичних пошкоджувачів і хворобливих станів, пов'язаних з окислювальними патологіями, а з іншого боку, фармакологічне посилення активності Nrf2 захищало тварин від окисного ушкодження (Sayin et al., 2017). Nrf2 є найбільш важливим фактором транскрипції, що забезпечує швидку адаптивну реакцію за допомогою стимуляції експресії генів ранньої стресової відповіді. При цьому в якості сигнальних молекул в процесі активації Nrf2 виступають ендogenous і екogenous речовини, асоційовані з окисдаивним стресом: H₂O₂, ROOH, ONOO-, оксоальдегіди, кетони, ізотіоціанати, дімеркаптани, деякі статини і важкі метали (Dalle-Donne et al., 2007). Ще однією важливою функцією Nrf2 у опосередкуванні антиоксидантних реакцій є сприяння утворенню NADPH. Nrf2 сприяє експресії ферментів, що генерують NADPH, включаючи фермент глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу в пентозофосфатному шляху; ізоцитратдегідрогеназу, яка перетворює ізоцитрат на α-кетоглутарат; і Nrf2 бере участь в контролі метаболізму ліпідів в печінці та інших органах і тканинах. Активація Nrf2 в клітинах печінки при дії 1,2-дитіол-3-тіона супроводжується зниженням експресії генів, що кодують ферменти біосинтезу і метаболізму ліпідів і холестерину, за допомогою регуляції експресії скевінджер-рецептора CD36 Nrf2 бере участь у формуванні пінистих клітин при атеросклерозі. Цим визначається біологічна важливість системи Keap1 / Nrf2 / ARE, що регулює внутрішньоклітинний редокс-баланс і активність цілої низки редокс чутливих факторів транскрипції, а також сигнальне фосфорилування / дефосфорилування (Лушак та ін., 2004).

Одним з індукторів транскрипційного фактору NRF2 є диметилфумарат (ДМФ), який індукує ендogenous антиоксидантний захист через шлях Nrf2. ДМФ і його основний метаболіт, монометилфумарат (ММФ), алкілюють критично активний тіол Cys151 на Keap1, спричинюючи вивільнення Nrf2, його ядерну локалізацію і активацію клітинних протизапальних реакцій (Linker et al., 2011). Диметилфумарат - препарат, що поєднує в собі виражену клінічну активність і сприятливий профіль безпеки. ДМФ грає важливу роль в окислювально-відновних процесах тканинного дихання. Диметилфумарат має виражену протизапальну, імуносупресивну, кардіопротекторну дію (Ishii et al., 2000; Milenkovic et al., 2008). Дослідження показали, що основну кардіопротекторну дію фумарат реалізує через активацію системи Keap1 / Nrf2 / ARE (Ashrafian et al., 2012).

Разом з тим, вплив Nrf2 на азотний метаболізм в умовах окисдаивного стресу не є достатньо вивченим. Азотний обмін є важливим для збереження гомеостазу при окисдаивному стресі, оскільки він пов'язаний з синтетичними процесами, процесами детоксикації та енергозабезпечення. Також відома важлива роль низькомолекулярних тіолових сполук у процесах антиоксидантного захисту (Zinellu et al., 2007). У зв'язку з цим метою роботи було вивчення показників азотного обміну та вмісту небілкових тіолів при введенні геміну, індуктора фактору транскрипції Nrf2 диметилфумарату, а також їх сумісного введення.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були безпородні білі самці-щури масою 180-260 г, які утримувались у стандартних умовах віварію Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Тварини були поділені на чотири групи: 1 - контрольна група – щури, яким за 24 год до дослідження вводили перорально 0,5% суспензію карбоксиметилцелюлози; 2 - дослідна група №1 – щури, яким за 24 години вводили внутрішньочеревинно розчин геміну у дозі 50 мкг на кг маси тіла (Song et al., 2014); 3 - дослідна група №2 – щури, яким за 24 години вводили розчин геміну та перорально вводили диметилфумарат; 4 - дослідна група №3 - щури, яким за 24 години перорально вводили диметилфумарат у вигляді суспензії у 0,5% карбоксиметилцелюлозі (Nour et al., 2017). Усі розчини вводили з розрахунку 0,5 мл на 100 г маси тіла. Через 24 години після введення речовин тварин брали в експеримент, дотримуючись вимог Конвенції поводження з тваринами, збирали кров, з неї отримували плазму для визначення показника сечовини. Печінку перфузували охолодженим фізіологічним розчином, з печінки, нирок та серця готували гомогенати на 0,1 М калій-фосфатному буфері (pH=7,6) та Na-гліциновому буфері (pH=9,36). Отримані гомогенати використовували для визначення активності каталази, амінотрансфераз і аргінази, а також вмісту ТБК-реагуючих продуктів і відновлених SH-груп. У плазмі крові визначали вміст сечовини. Вміст ТБК-реагуючих продуктів визначали за утворенням триметинового комплексу з максимумом поглинання 530-532 нм при реагуванні малонового діальдегіду з 2-тіобарбітуровою кислотою при температурі 100° С у кислому середовищі (Janero, 1990) і виражали в нМ МДА/мг білка. Активність каталази визначали за утворенням стійкого забарвленого комплексу перекису водню з молібдатом аммонію та виражали в мМ H₂O₂/мг білка (Koroliuk et al., 1988). Активність аланін- та аспартатамінотрансфераз визначали за допомогою стандартних тест-наборів. та виражали в мкмоль ПВК/хв на мг білка. Активність аргінази визначали за методом Брауна і Коена (Brown., Cohen, 1959) і виражали в мкмоль сечовини/хв на мг білка, вміст сечовини визначали за допомогою стандартних тест-наборів і виражали в ммоль/л. Визначення кількості білка проводилось за методом Лоурі в модифікації Міллера (Miller, 2003). Вміст загальних і небілкових SH-груп визначали за допомогою реактиву Еллмана і виражали в мкмоль/г тканини (Ellman, 1959). Статистичну обробку отриманих результатів у рядях з нормальним розподілом проводили за допомогою t-критерію Стюдента у відповідності до загальноприйнятої методики.

Результати та обговорення

Таблиця 1. Вплив геміну та ДМФ на показники про-антиоксидантного балансу в тканинах щурів (M±s, n=5-7)
 Table 1. Effect of hemin and DMF on pro-antioxidant balance in rat tissues (M±s, n=5-7)

Показники \ Indicators	контроль \ control	гемін \ hemin	ДМФ \ DMF	ДМФ + гемін \ DMF + hemin
вміст ТБК-реагуючих продуктів, нМ МДА/мг білка \ content of TBA-reactive products, nm MDA/mg protein	нирки \ kidneys			
	0,82 ± 0,15	0,77 ± 0,14	0,72 ± 0,13	1,07 ± 0,09**
	серце \ heart			
	0,77 ± 0,05	0,91 ± 0,06*	0,59 ± 0,05*	0,82 ± 0,09#
активність каталази, мМ H ₂ O ₂ /мг білка \ catalase activity, mM H ₂ O ₂ /mg protein	нирки \ kidneys			
	128,6 ± 28,8	181,6 ± 6,0**	154,9 ± 17,0	143,7 ± 13,4
	серце \ heart			
	36,4 ± 14,3	37,0 ± 18,5	41,3 ± 12,8	29,7 ± 5,0

*- p<0,05 відносно контролю

- p<0,05 відносно ДМФ

*- p<0.05 relative to control

#- p<0.05 relative to DMF

У таблиці 1 представлені результати впливу введення геміну та ДМФ на показники про-антиоксидантного балансу в нирках та серці щурів. При введенні геміну зростала концентрація ТБК-реагуючих продуктів у серці, але залишалася на рівні з контролем у нирках. Такі результати можна пояснити значним підвищенням каталазної активності в нирках за умов введення геміну (Табл.1) Каталаза є одним з ферментів антиоксидантного захисту, а її активність у людини більшою мірою

проявляється у нирках, печінці, еритроцитах та легенях (Луцак та ін., 2004). Введення ДМФ призводило до зниження вмісту ТБК-реагуючих продуктів в серці, що може свідчити про активацію цілої низки редоксчутливих факторів транскрипції та посилення *індукції генів ключових ферментів антиоксидантного захисту*. Комбіноване введення геміну та ДМФ призводило до підвищення вмісту ТБК-реагуючих продуктів у нирках через 24 години після введення, що може свідчити про повільніший розвиток стрес-реакції, бо Nrf2 є короткоживучим фактором транскрипції і впливає на рівень експресії відповідних генів у перші години впливу стрес-чинників (Ткачов та ін., 2011).

Таблиця 2. Вплив геміну та ДМФ на вміст відновлених SH-груп у тканинах щурів ($M \pm s$, $n=5-7$)
Table 2. Effect of hemin and DMF on the content of reduced SH-groups in rat tissues

показники \ indicators	контроль \ control	гемін \ hemin	ДМФ \ DMF	ДМФ + гемін \ DMF + hemin
загальні SH-групи, мкмоль/г тканини \ total SH-groups, $\mu\text{mol/g tissue}$	печінка \ liver			
	34,4 $\pm$ 3,7	38,3 $\pm$ 3,6	36,2 $\pm$ 6,6	38,7 $\pm$ 8,9
	нирки \ kidneys			
	15,5 $\pm$ 1,2	12,5 $\pm$ 1,3*	18,4 $\pm$ 1,4*	14,6 $\pm$ 1,6 [#]
небілкові SH-групи, мкмоль/г тканини \ non-protein SH-groups, $\mu\text{mol/g tissue}$	печінка \ liver			
	11,4 $\pm$ 1,1	8,0 $\pm$ 1,3*	10,1 $\pm$ 2,6	20,2 $\pm$ 2,9* ^{##}
	нирки \ kidneys			
	7,7 $\pm$ 1,6	7,3 $\pm$ 1,6	6,5 $\pm$ 1,7	7,2 $\pm$ 1,1

*- $p < 0,05$ відносно контролю

- $p < 0,05$ відносно ДМФ

- $p < 0,05$ відносно геміну

*- $p < 0,05$ relative to control

- $p < 0,05$ relative to DMF

- $p < 0,05$ relative to hemin

У таблиці 2 відображено вміст загальних та небілкових SH-груп у печінці та нирках щурів за введення геміну та ДМФ. У печінці не виявлено достовірних змін вмісту загальних SH-груп за усіх впливів. У наших попередніх дослідженнях було встановлено зниження рівня загальних і небілкових SH-груп у печінці щурів через 2 години після введення геміну (Охріменко, Гришкова, 2020). Вочевидь, пізніше, через 24 години після введення геміну, вже відбувається нормалізація вмісту загальних SH-груп у печінці, ймовірно, за рахунок адаптивного синтезу тіолових білків і небілкових тіолів. В цей же період (через 24 години) вміст небілкових SH-груп в печінці залишається зниженим після введення геміну, що може відображувати значне залучання небілкових тіолів у реакції антиоксидантного захисту в цьому органі. Введення ДМФ не впливало на вміст як загальних, так і небілкових SH-груп у печінці, а його комбіноване застосування з геміном призводило до значного підвищення вмісту небілкових SH-груп, що може свідчити про активацію *Nrf2* і посилення синтезу небілкових тіолів, зокрема *глутатіону*.

В нирках введення геміну спричинювало зниження вмісту загальних SH-груп, а введення ДМФ - підвищення їх вмісту. Раніше було встановлено, що через 2 години після введення геміну в нирках не було виявлено змін цього показника (Охріменко, Гришкова, 2020), а його зниження через добу в теперішньому дослідженні може свідчити про виснаження тіолової ланки системи антиоксидантного захисту в цьому органі. Оскільки показники вмісту загальних SH-груп у печінці щурів при введенні геміну не відрізнялись від групи контролю, на відміну від нирок, це може відображувати різну динаміку окисних процесів в печінці та нирках за цих умов. Збільшення вмісту загальних SH-груп у нирках при введенні ДМФ може бути пов'язаним з антиоксидантними ефектами *Nrf2*, а комбіноване застосування ДМФ і геміну свідчить про коригуючу дію індуктора при оксидативному стресі стосовно тіолових сполук.

Результати впливу геміну, ДМФ і сумісного введення геміну та ДМФ на активність АлАТ та АсАТ у печінці та нирках представлені в таблиці 3. Роль амінотрансфераз полягає як у постачанні амінокислот для синтезу білків, так і метаболітів для роботи ЦТК, а у печінці та нирках – ще й субстратів для глюконеогенезу. Підвищення активності амінотрансфераз у печінці та нирках щурів

Таблиця 3. Вплив геміну та ДМФ на активність амінотрансфераз у тканинах щурів (M±s, n=5-7)
Table 3. Effect of hemin and DMF on aminotransferase activity in rat tissues (M±s, n=5-7)

показники \ Indicators	контроль \ control	гемін \ hemin	ДМФ \ DMF	ДМФ + гемін \ DMF + hemin
Активність АлАТ, мкмоль ПВК/хв на мг білка \ ALT activity, μmol of PVA /min mg of protein	печінка \ liver			
	22,2 ± 5,7	13,0 ± 5,0	31,5 ± 6,4	19,6 ± 3,2
	нирки \ kidneys			
	1,9 ± 1,0	3,1 ± 1,1	2,4 ± 0,7	4,9 ± 1,1*#
Активність АсАТ, мкмоль ПВК/хв на мг білка \ AST activity, μmol of PVA /min mg of protein	печінка \ liver			
	6,8 ± 0,4	6,4 ± 2,9	8,3 ± 1,5	8,5 ± 0,8*
	нирки \ kidneys			
	3,6 ± 0,6	6,6 ± 3,6	4,8 ± 2,2	1,9 ± 0,02

* - $p \leq 0,05$ відносно контролю

- $p \leq 0,05$ відносно ДМФ

* - $p \leq 0,05$ relative to control

- $p \leq 0,05$ relative to DMF

при оксидативному стресі було показано нами раніше (Каліман, Охріменко, 2012), що відображає активацію азотного і енергетичного метаболізму в організмі. В теперішній роботі встановлено, що введення тваринам тільки геміну та тільки ДМФ не впливало на активність цих ферментів через 24 години, а у випадку їх сумісного застосування спостерігався ефект підсилення. У печінці було виявлено підвищення активності АсАТ, а у нирках - АлАТ при комбінованому введенні ДМФ і геміну, що може свідчити про індукцію синтезу ферментів за цих умов.

Таблиця 4. Вплив геміну та ДМФ на вміст сечовини в плазмі крові та активність аргінази в тканинах щурів (M±s, n=5-7)
Table 4. Effect of hemin and DMF on blood plasma urea content and arginase activity in rat tissues (M±s, n=5-7)

показники \ indicators	контроль \ control	гемін \ hemin	ДМФ \ DMF	ДМФ + гемін \ DMF + hemin
уміст сечовини, ммоль/л \ urea content, mmol/l	плазма крові \ blood plasma			
	4,2 ± 1,0	3,9 ± 0,4	6,2 ± 1,5	10,2 ± 2,0*#
активність аргінази, мкмоль/хв на мг білка \ arginase activity, $\mu\text{mol}/\text{min}$ mg of protein	печінка \ liver			
	0,13 ± 0,03	0,13 ± 0,04	0,24 ± 0,03*	0,31 ± 0,05*#
	нирки \ kidneys			
	0,010 ± 0,003	0,010 ± 0,003	0,013 ± 0,008	0,021 ± 0,006*#
	серце \ heart			
	0,005 ± 0,002	0,005 ± 0,003	0,011 ± 0,006	0,012 ± 0,003*#

* $p \leq 0,05$ відносно контролю

$p \leq 0,05$ відносно геміну

* - $p < 0,05$ relative to control

- $p < 0,05$ relative to hemin

Уміст сечовини в плазмі є важливим показником інтенсивності азотного метаболізму в організмі. Введення геміну не спричинювало змін вмісту сечовини через 24 години (табл. 4). Результати попередніх досліджень свідчать про підвищення вмісту сечовини в сироватці крові щурів у перші години розвитку оксидативного стресу, що є показником розвитку стрес-реакції (Каліман, Охріменко, 2012). Результати, наведені в таблиці 4, можуть свідчити про те, що початковий етап розвитку стрес – реакції, спричиненої введенням геміну, пройшов (фаза збудження) і настав період адаптації. Сумісне введення ДМФ та геміну підвищувало вміст сечовини у плазмі крові щурів, що може відображувати посилення в організмі реакцій азотного обміну.

Дослідження активності аргінази показало, що найвищий її рівень виявлений у печінці, де фермент бере участь у циклі сечовиноутворення, в той час як в інших органах регулює рівень аргініну. Введення геміну не спричинювало змін активності аргінази в усіх досліджуваних органах. Введення ДМФ призводило до підвищення активності аргінази в печінці, що може свідчити про участь

Nrf2 в контролі експресії цього ферменту (табл. 4). При сумісному введенні геміну та ДМФ було виявлено підвищення активності аргінази в усіх досліджуваних органах – печінці, нирках і серці щурів. Ці результати можуть свідчити про підвищення чутливості цього ферменту до прооксидантної дії геміну в присутності Nrf2 і відображувати посилення азотного метаболізму за цих умов.

В цілому, результати дослідження відображують стратегію адаптації метаболізму при оксидативному стресі, а застосування індуктора транскрипційного фактору Nrf2 за цих умов впливало на низку показників, що вивчались.

Висновки

1. Введення щурам геміну з експозицією 24 години спричинювало розвиток оксидативного стресу і активацію системи антиоксидантного захисту, про що свідчать підвищення вмісту ТБК-реагуючих продуктів, зниження вмісту відновлених тіолів і активація каталази в органах щурів.

2. Введення тваринам індуктора транскрипційного фактору *Nrf2* диметилфумарату (ДМФ) через 24 години спричинювало зниження вмісту ТБК-реагуючих продуктів у серці, збільшення кількості загальних тіолових груп у нирках, підвищення активності аргінази у печінці, що відображує вплив *Nrf2* на показники про-антиоксидантного балансу і на азотний метаболізм.

3. Комбіноване застосування геміну та ДМФ через 24 години спричинювало комплексний ефект щодо низки показників і призводило до збільшення вмісту ТБК-реагуючих продуктів у нирках, небілкових SH-груп у печінці, вмісту сечовини у плазмі крові, підвищення активності амінотрансфераз і аргінази в досліджуваних органах.

4. Збільшення кількісних показників метаболізму при комбінованому застосуванні геміну і ДМФ може свідчити про значну активацію *Nrf2* у присутності прооксидантного чинника геміну і експресію низки генів, продукти яких беруть участь в адаптації метаболізму при оксидативному стресі.

Список літератури / References

- Каліман, П.А., Охріменко, С.М. (2012). Стан вуглеводного та азотистого метаболізму в тканинах щурів за експериментального рабдоміолізу. *Український біохімічний журнал*, 84, 1, 79-84. [Kaliman, P.A., Okhrimenko, S.M. (2012) Carbohydrate and nitrogen metabolism in rat tissues under experimental rhabdomyolysis. *Ukrainian Biochemical Journal*, 84(1), 79–84 (in Ukrainian)]
- Лушчак, В.І., Багнюкова, Т.В., Лушчак, О.В. (2004). Показники оксидативного стресу. 1. Тіобарбітуративні продукти і карбонільні групи білків. *Український біохімічний журнал*, 76, 3, 136-141. [Lushchak V.I., Bahniukova T.V., Lushchak O.V. (2004) Indicators of oxidative stress. 1. Thiobarbituric acid reactive substances and protein carbonyl groups. *Ukrainian Biochemical Journal*, 76 (3), 136–141 (in Ukrainian)]
- Охріменко, С.М., Гришкова, А.Ю. (2020). Вплив геміну та глутатіону на деякі показники азотного та вуглеводного метаболізму в щурів. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Серія «Біологія»*, 34, 28-34. [Okhrimenko, S.M., Hryshkova, A.Yu. (2020). Effects of hemin and glutathione on some indices of nitrogen and carbohydrate metabolism in rats. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series "Biology"*, 34, 28–34 (in Ukrainian)]
- Ткачов, В.О., Менщикова, О.Б., Зенков, М.К. (2011). Механізм роботи сигнальної системи Keap1 / Nrf2 / ARE. *Біохімія*, 76, 4, 502-519. [Tkachov, V.O., Menshchikova, O.B., Zenkov, M.K. (2011) Mechanism of the Keap1 / Nrf2 / ARE signaling pathway. *Biochemistry*, 76 (4), 502–519 (in Ukrainian)]
- Ashrafiyan, H., Czibik, G., Bellahcene, M., Aksentijević, D., Smith, A.C., Mitchell, S.J., Dodd, M.S., Kirwan, J., Byrne, J.J., Ludwig, C., Isackson, H., Yavari, A., Støttrup, N.B., Contractor, H., Cahill, T.J., Sahgal, N., Ball, D.R., Birkler, R.I.D., Hargreaves, I., Tennant, D.A., Land, J., Lygate, C.A., Johannsen, M., Kharbanda, R.K., Neubauer, S., Redwood, C., de Cabo, R., Ahmet, I., Talan, M., Günther, U. L., Robinson, A.J., Viant, M.R., Pollard, P.J., Tyler, D.J., Watkins, H. (2012). Fumarate is cardioprotective via activation of the Nrf2 antioxidant pathway. *Cell Metabolism*, 15(3), 361–371. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.01.017>
- Brown, G., Cohen, P.P. (1959). Comparative biochemistry of urea synthesis. I. Methods for the quantitative assay of urea cycle enzymes in liver. *Journal of Biological Chemistry*, 234(7), 1769–1774.
- Chiabrando, D., Vinchi, F., Fiorito, V., Mercurio, S., Tolosano, E., Silengo, L. (2014). Heme in pathophysiology: A matter of scavenging, metabolism and trafficking across cell membranes. *Frontiers in Pharmacology*, 5, 61. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00061>
- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A., Colombo, R. (2007). S-glutathionylation in protein redox regulation. *Free Radical Biology and Medicine*, 43(6), 883–898. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.06.014>

- Ellman, G.L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82(1), 70–77. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
- Ema, M., Hirota, K., Mimura, J., Abe, M., Yodoi, J., Sogawa, K., Fujii-Kuriyama, Y. (1999). Molecular mechanisms of transcription activation by HLF and HIF-1 α in response to hypoxia: Their stabilization and redox signal-induced interaction with CBP/p300. *The EMBO Journal*, 18(7), 1905–1914. <https://doi.org/10.1093/emboj/18.7.1905>
- Gozzelino, R., Jeney, V., Soares, M.P. (2010). Mechanisms of cell protection by heme oxygenase-1. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 50, 323–354. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.010909.105600>
- Ishii, T., Itoh, K., Takahashi, S., Sato, H., Yanagawa, T., Katoh, Y., Bannai, S., Yamamoto, M. (2000). Transcription factor Nrf2 coordinately regulates a group of oxidative stress-inducible genes in macrophages. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(21), 16023–16029. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.21.16023>
- Janero, D.R. (1990). Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 9(6), 515–540. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(90\)90131-2](https://doi.org/10.1016/0891-5849(90)90131-2)
- Jeney, V., Balla, J., Yachie, A., Varga, Z., Vercellotti, G.M., Eaton, J.W., Balla, G. (2002). Pro-oxidant and cytotoxic effects of circulating heme. *Blood*, 100(3), 879–887. <https://doi.org/10.1182/blood.v100.3.879>
- Koroliuk, M.A., Ivanov, L.I., Maiorova, I.G., Tokarev, V.E. (1988). A method for determining catalase activity. *Laboratory Work*, 1, 16–19. PMID: 2451064
- Kumar, S., Bandyopadhyay, U. (2005). Free heme toxicity and its detoxification systems in human. *Toxicology Letters*, 157(3), 175–188. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2005.03.004>
- Linker, R.A., Lee, D.-H., Ryan, S., van Dam, A. M., Conrad, R., Bista, P., Zeng, W., Hronowsky, X., Buko, A., Chollate, S., Ellrichmann, G., Brück, W., Dawson, K., Goelz, S., Wiese, S., Scannevin, R.H., Lukashev, M., Gold, R. (2011). Fumaric acid esters exert neuroprotective effects in neuroinflammation via activation of the Nrf2 antioxidant pathway. *Brain*, 134(3), 678–692. <https://doi.org/10.1093/brain/awq386>
- Milenkovic, M., Arsenovic-Ranin, N., Vucicevic, D., Piperski, V., Jevtovic-Stoimenov, T., Petrovic, D. (2008). Beneficial effects of dimethyl fumarate on experimental autoimmune myocarditis. *Archives of Medical Research*, 39(7), 639–646. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2008.07.003>
- Miller, G.L. (2003). Protein determination for large numbers of samples. *Analytical Chemistry*, 31(5), 964–966. <https://doi.org/10.1021/ac60149a611>
- Mitsis, A., Papageorgiou, I., Bacopoulou, F., Chrousos, G.P., Doulgeri, M. (2020). Transcription factors and evolution: An integral part of heme expression. *World Academy of Sciences Journal*, 2, 3–8. <https://doi.org/10.3892/wasj.2020.32>
- Motohashi, H., Yamamoto, M. (2004). Nrf2–Keap1 defines a physiologically important stress response mechanism. *Trends in Molecular Medicine*, 10(11), 549–557. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2004.09.003>
- Nour, O.A., Shehatou, G.S.G., Raxim, M.A., Said, E. (2017). Antioxidant and anti-inflammatory effects of dimethyl fumarate in hypercholesterolemic rabbits. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(3), 153–159. <https://doi.org/10.1016/j.ejbas.2017.07.003>
- Sayin, V.I., LeBoeuf, S.E., Singh, S.X., Davidson, S.M., Biancur, D., Guzelhan, B.S., Alvarez, S.W., Wu W.L., Karakousi, T.R., Zavitsanou, A.M., Ubriaco, J., Muir, A., Karagiannis, D., Morris, P.J., Thomas, C.J., Possemato, R., Vander Heiden, M.G., Papagiannakopoulos, T. (2017). Activation of the NRF2 antioxidant program generates an imbalance in central carbon metabolism in cancer. *eLife*, 6, e28083. <https://doi.org/10.7554/eLife.28083>
- Song, X., Xu, R., Xie, F., Liu, J., Liu, L. (2014). Hemin offers neuroprotection through inducing exogenous neuroglobin in focal cerebral hypoxic-ischemia in rats. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 7(5), 2163–2171. PMID: 24966924
- Tonelli, C., Chio, I. I.C., Tuveson, D.A. (2018). Transcriptional regulation by Nrf2. *Antioxidants & Redox Signaling*, 29(17), 1727–1745. <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7342>
- Zinellu, A., Sotgia, S., Carru, C. (2007). Effect of acute exercise on low molecular weight thiols in plasma. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 17(4), 452–456.

The influence of the inducer of the transcription factor Nrf2 on metabolic parameters in rat tissues upon injection of hemin S.M. Okhrimenko, K.V. Sedova, O.B. Kiyashko, A.M. Sergeeva, O.V. Bereza

Heme is an essential cofactor involved in many biological processes: oxygen transport and storage, electron transfer, drug and steroid metabolism, signal transduction, etc. However, excess free heme is highly toxic due to its ability to stimulate oxidative stress. One of the main responses of the body to oxidative stress is the formation of the transcription factor Nrf2, which enters the nucleus and stimulates the induction of genes encoding key proteins of the antioxidant defense system. Nrf2 is a redox-sensitive transcription factor that regulates the expression of genes containing the responsive element ARE in their promoters. Nrf2 is currently considered the main regulator of redox homeostasis, controlling the expression of over 100 genes involved in protection against reactive oxygen species and electrophiles. One of the inducers of the Nrf2 transcription factor is dimethyl fumarate (DMF), which induces endogenous antioxidant defense via the Nrf2 pathway. The effect of Nrf2 on nitrogen metabolism and the thiol system under oxidative stress remains insufficiently studied. In this regard, the aim of this study was to investigate nitrogen metabolism parameters and the content of non-protein thiols under conditions of hemin administration, the introduction of the Nrf2 transcription factor inducer dimethyl fumarate, as well as their combined administration. The study subjects were outbred white male rats weighing 180–260 g, which received intraperitoneal injections of hemin solution at a dose of 50 µg per kg of body weight and oral administration of dimethyl fumarate. After 24 hours, the animals were used in the experiment in accordance with the Convention on the Treatment of Animals. Blood plasma was obtained from collected blood samples. The liver was perfused with cooled physiological saline. Homogenates were prepared from the liver, kidneys, and heart, which were used to determine catalase, aminotransferase, and arginase activity, as well as the content of TBARS (thiobarbituric acid-reactive substances) and reduced SH-groups. Urea levels were determined in blood plasma. The study results indicate the following: hemin administration caused an increase in TBARS content in the heart, a decrease in reduced thiol levels in the rat organs, and catalase activation in the kidneys; dimethyl fumarate administration led to a decrease in TBARS levels in the heart, an increase in total thiol groups in the kidneys, and an increase in arginase activity in the liver; combined administration of hemin and DMF after 24 hours resulted in an increase in TBARS content in the kidneys and heart, non-protein SH-groups in the liver, plasma urea levels, as well as an increase in aminotransferase and arginase activity in the studied organs. These observed changes may reflect the activation of Nrf2 in the presence of a pro-oxidant factor and its effect on the expression of a number of genes whose products participate in adaptive processes under oxidative stress.

Key words: hemin, Nrf2, dimethylfumarate, TBA-reacting products, catalase, SH-groups, aminotransferases, arginase, liver, kidneys, heart

Cite this article: Okhrimenko S.M., Sedova K.V., Kiyashko O.B., Sergeeva A.M., Bereza O.V. (2025). The influence of the inducer of the transcription factor Nrf2 on metabolic parameters in rat tissues upon injection of hemin. *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series Biology*, 44, p. 32-39. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2025-44-4> (in Ukrainian)

About the authors:

Okhrimenko S.M. – V. N. Karazin Kharkiv National University, Svobody Maidan, 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, s.okhrimenko@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0002-7844-618X>
Sedova K.V. – V. N. Karazin Kharkiv National University, Svobody Maidan, 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, Kristina.sedova@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0001-6053-1100>
Kiyashko O.B. – V. N. Karazin Kharkiv National University, Svobody Maidan, 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, olgakiriver@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0009-9964-3615>
Sergeeva A.M. – V. N. Karazin Kharkiv National University, Svobody Maidan, 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, anna.lionova.27@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0004-3783-2473>
Bereza O.V. – V. N. Karazin Kharkiv National University, Svobody Maidan, 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, lekaantonenko2000@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0006-2058-0817>

Внесок авторів: Усі автори зробили рівнозначний внесок у підготовку цієї роботи. / **Authors contribution:** All authors have contributed equally to this work.

Конфлікт інтересів: Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів. / **Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

Received: 01.04.2025 / Revised: 07.05.2025 / Accepted: 21.05.2025