Республиканское научно-исследовательское
унитарное предприятие
«Институт биохимии биологически
активных соединений
Национальной академии наук Беларуси»

ISSN 2957-7349 (Print)
ISSN 2960-2327 (Online)

# БИОХИМИЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

# BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY

ТОМ / VOL. 5 1(8)2026

АКАДЕМФАРМ

# РАЦИУМ®

## СПОКОЙСТВИЕ, ТОЛЬКО СПОКОЙСТВИЕ

**натуральный состав**

**42 капсулы**

## УСПОКОИТЕЛЬНОЕ СРЕДСТВО

**с 12 лет**

## ЛЕКАРСТВЕННЫЙ ПРЕПАРАТ. ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ И ПРОКОНСУЛЬТИРУЙТЕСЬ С ВРАЧОМ

Реклама. Имеются противопоказания и нежелательные реакции. Не рекомендовано применение при беременности и лактации. Отпускается без рецепта. Регистрационное удостоверение ЛП-№007076-РГ-BY от 24.09.2024.

Предприятие производитель: Государственное предприятие «АКАДЕМФАРМ».
220141 г. Минск, ул. Академика Купревича, д.5, корп. 3, Республика Беларусь, тел/факс 8(017)268-63-64

# БИОХИМИЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

# БІЯХІМІЯ І МАЛЕКУЛЯРНАЯ БІЯЛОГІЯ

ISSN 2957-7349 (Print)
ISSN 2960-2327 (Online)

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

*Основан в 2022 году*

**Учредитель**

Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси»

**Журнал входит в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований**

*Издано при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований*

**Адрес редакции:**
пл. Антония Тызенгауза, 7,
230023, г. Гродно, Республика Беларусь,
Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси,
тел.: +375 152 55-87-78,
e-mail: journal@ibiochemistry.by

Официальный сайт журнала
https://ibiochemistry.by

**Подписные индексы:**
для индивидуальных подписчиков **00990**
для ведомственных подписчиков **009902**

Отпечатано в типографии УП «ИВЦ Минфина»
Подписано в печать 12.05.2026.
Формат 60×84/8. Бумага офсетная.
Гарнитура TimesNewRoman. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 17,21. Уч.-изд. л. 14,41.
Тираж 50 экз. Заказ 124.
ЛП № 02330/89 от 3 марта 2014 г.
Ул. Кальварийская, 17-1, 220004, г. Минск.

*В номере:*

**Экспериментальные и клинические исследования**

**Обзоры**

Том 5

1 (8)/2026

# Biochemistry and Molecular Biology

ISSN 2957-7349 (Print)
ISSN 2960-2327 (Online)

PEER-REVIEWED
SCIENTIFIC AND PRACTICAL
JOURNAL

*Founded in 2022*

**Founder**

Republican Scientific Research Unitary Enterprise "Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus"

**The Journal is included in The List of Journals for Publication of the Results of Dissertation Research in the Republic of Belarus**

*Published with the financial support from the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research*

**Address of the Editorial Office:**
230023 Grodno, 7 Antoni Tyzenhauz Square,
Belarus Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus,
phone: +375 152 55-87-78,
e-mail: journal@ibiochemistry.by
Website – https://ibiochemistry.by

**Subscription indexes**
For individuals **00990**
For legal entities **009902**

Printed at UE "IVC Minfina"
It is sent of the press 12.05.2026
Format 60x84/8. Offset paper.
TimesNewRoman. Offset printing.
Prinded pages 17,21.
Publisher's signatures 14,41.
Circulation 50 copies. Order 124.
LP № 02330/89 of 3 March 2014
17-1, Kalvaryiskaya str., Minsk 220004

*In this issue:*

**Experimental and Clinical Research**

**Reviews**

Vol. 5

1 (8)/2026

# РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ / EDITORIAL BOARD


**Кузнецов Олег Евгеньевич** (*главный редактор*) – кандидат биологических наук, доцент, директор Института биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Гродно, Беларусь

**Мойсеёнок Андрей Георгиевич** (*заместитель главного редактора*) – член-корреспондент Национальной академии наук Беларуси, доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом Института биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Гродно, Беларусь

**Павлюковец Анастасия Юрьевна** (*ответственный секретарь*) – кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник Института биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Гродно, Беларусь

**Гнедько Татьяна Васильевна** – доктор медицинских наук, заместитель академика-секретаря Отделения медицинских наук Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

**Державец Лилия Александровна** – доктор биологических наук, профессор, заведующий клинико-диагностической лабораторией Республиканского научно-практического центра онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова, Минская область, Беларусь

**Заводник Илья Борисович** – доктор биологических наук, профессор, профессор Гродненского государственного университета имени Янки Купалы, Гродно, Беларусь

**Ильич Татьяна Викторовна** – кандидат биологических наук, доцент, заместитель декана по научной работе факультета экологии и биологии УО «Гродненский государственный медицинский университет им. Я. Купалы», Гродно, Беларусь

**Канунникова Нина Павловна** – доктор биологических наук, профессор, профессор Гродненского государственного университета имени Янки Купалы, Гродно, Беларусь

**Кильчевский Александр Владимирович** – академик Национальной академии наук Беларуси, доктор биологических наук, профессор, заместитель Председателя Президиума Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

**Костюк Светлана Андреевна** – доктор медицинских наук, профессор, профессор Института повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения Белорусского государственного медицинского университета, Минск, Беларусь

**Курбат Михаил Николаевич** – кандидат медицинских наук, доцент, проректор по научной работе УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

**Макарчиков Александр Федорович** – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой Гродненского государственного аграрного университета имени Янки Купалы, Гродно, Беларусь

**Надольник Лилия Ивановна** – доктор биологических наук, доцент, заведующий отделом Института биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Гродно, Беларусь

**Нефедов Леонид Иванович** – доктор медицинских наук, профессор, профессор Гродненского государственного университета имени Янки Купалы, Гродно, Беларусь

**Резяпкин Виктор Ильич** – кандидат биологических наук, доцент, заведующий кафедрой биохимии УО «Гродненский государственный медицинский университет им. Я. Купалы», Гродно, Беларусь

**Хрусталёв Владислав Викторович** – доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой Белорусского государственного медицинского университета, Минск, Беларусь

**Чумак Анатолий Георгиевич** – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь

**Aleh Y. Kuzniatsou** (*Editor-in-Chief*) – Ph. D. (Biology), Associate Professor, Director of the Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Belarus

**Andrey G. Moiseenok** (*Associate Editor-in-Chief*) – Correspondent member of the National Academy of Sciences of Belarus, D. Sc. (Biology), Professor, Head of the Department of the Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Belarus

**Anastasiaya Y. Pauliukavets** (*Executive Editor*) – Ph. D. (Biology), Associate Professor, Senior Researcher of the Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Belarus

**Tatyana V. Gnedko** – D. Sc. (Medicine), Deputy Academic Secretary of the Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

**Liliya A. Derzhavets** – D. Sc. (Biology), Professor, Head of the Laboratory of N. N. Alexandrov National Cancer Center of Belarus, Minsk District, Belarus

**Ilya B. Zavodnik** – D. Sc. (Biology), Professor, Professor of the Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Belarus

**Tatsiana V. Ilyich** – Ph. D. (Biology), Associate Professor, Deputy Dean for Research, Faculty of Ecology and Biology, of the Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Belarus

**Nina P. Kanunnikava** – D. Sc. (Biology), Professor, Professor of the Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Belarus

**Alexander V. Kilchevskiy** – Academician of the National Academy of Sciences of Belarus, D. Sc. (Biology), Professor, Deputy Chairman of the Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

**Svetlana A. Kostiuk** – D. Sc. (Medicine), Professor, Professor of the Institute of Advanced Training and Retraining of Healthcare Personnel of the Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

**Mikhail N. Kurbat** – Ph. D. (Medicine), Associate Professor, Vice-rector for research, Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

**Alexander F. Makarchikov** – D. Sc. (Biology), Associate Professor, Head of the Department of the Grodno State Agrarian University, Grodno, Belarus

**Liliya I. Nadolnik** – D. Sc. (Biology), Associate Professor, Head of the Department of the Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Belarus

**Leonid I. Nefedov** – D. Sc. (Medicine), Professor, Professor of the Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Belarus

**Rezyapkin Viktor Ilyich** – Ph. D. (Biology), Associate Professor, Head of the Department of Biochemistry, Yanka. Kupala State University of Grodno, Grodno, Belarus

**Vladislav V. Khrustalev** – D. Sc. (Biology), Associate Professor, Head of the Department of the Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

**Anatoly G. Chumak** – D. Sc. (Biology), Professor, Head of the Department of the Belarusian State University, Minsk, Belarus

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
## EXPERIMENTAL AND CLINICAL RESEARCH


| | | |
|---|---|---|
| **К. И. Усов, А. Г. Мойсеенок**<br>БИОХИМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ТЕРАПИИ СОПРОВОЖДЕНИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ АДЕМЕТИОНИНА ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ПРОЯВЛЕНИЙ ГЕПАТОТОКСИЧЕКИХ РЕАКЦИЙ НА ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫЕ ПРЕПАРАТЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ | 6 | **K. I. Usov, A. G. Moiseyenok**<br>BIOCHEMICAL SUBSTANTIATION OF ADAMETIONINE-ACCOMPANIED THERAPY TO REDUCE HEPATOTOXIC REACTIONS TO ANTITUBERCULOSIS DRUGS IN EXPERIMENT |
| **Т. В. Гнедько**<br>НАРУШЕНИЕ ФОСФОРНО-КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕНА У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ, ПРОФИЛАКТИКА РЕФИДИНГ-СИНДРОМА И ОСТЕОПЕНИИ | 13 | **T. V. Hnedzko**<br>DISORDER OF PHOSPHORUS-CALCIUM METABOLISM IN PREMATURE INFANTS, PREVENTION OF REFEEDING SYNDROME AND OSTEOPENIA |
| **О. Е. Кузнецов, А. Ю. Павлюковец, О. А. Горустович**<br>ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДНК ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРР В ЭКЗОНАХ ГЕНОВ *hMLH1* И *hMSH2* | 20 | **O. E. Kuznetsov, A. Yu. Pavlyukovets, O. A. Gorustovich**<br>DETECTION OF EPSTEIN-BARR VIRUS DNA IN THE EXONS OF THE HMLH1 AND HMSH2 GENES |
| **Н. И. Нечипуренко, Т. А. Прокопенко, И. Д. Пашковская**<br>ОЦЕНКА МЕТАБОЛИКО-ГЕМОСТАЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И МОРФОЛОГИЯ ДЕГИДРАТИРУЮЩЕЙ КАПЛИ КРОВИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ЛАЗЕРНОЙ ГЕМОТЕРАПИИ | 27 | **N. I. Nechipurenko, T. A. Prakapenka, I. D. Pashkouskaya**<br>EVALUATION OF METABOLIC-HEMOSTASIOLOGICAL PARAMETERS AND MORPHOLOGY OF A DEHYDRATING DROP OF BLOOD IN CHRONIC CEREBRAL ISCHEMIA UNDER CONDITIONS OF LASER HEMOTHERAPY |
| **В. В. Хрусталёв, М. С. Тарасик, П. В. Матусевич, М. И. Потапович, Е. В. Малюшкова, Е. О. Корик, И. В. Семак, О. В. Хрусталёва**<br>ВТОРИЧНАЯ СТРУКТУРА ХИМЕРНЫХ АНТИГЕНОВ НА ОСНОВЕ КАПСИДНОГО БЕЛКА A29L ВИРУСА ОСПЫ ОБЕЗЬЯН С ВНЕДРЕННЫМИ ПЕПТИДАМИ ИЗ НЕЙРАМИНИДАЗЫ ВИРУСОВ ГРИППА H1N1 И H3N2 | 39 | **V. V. Khrustalev, M. S. Tarasik , P. V. Matusevich, M. I. Potapovich, E. V. Maliushkova, E. O. Korik, I. V. Semak, O. V. Khrustaleva**<br>SECONDARY STRUCTURE OF CHIMERIC ANTIGENS BASED ON CAPSID PROTEIN A29L FROM MONKEY POX VIRUS WITH INCORPORATED PEPTIDES FROM H1N1 AND H3N2 INFLUENZA VIRUS NEURAMINIDASE |
| **А. В. Заерко, В. Ф. Лазарев, С. М. Зиматкин, Н. А. Валько, Е. О. Антипина**<br>ФЕНОТИП-СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В НЕЙРОНАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ИНТРАЦЕРЕБРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ | 48 | **A. V. Zaerko, V. F. Lazarev, S. M. Zimatkin, N. A. Valko, E. O. Antipina**<br>PHENOTYPE-SPECIFIC CHANGES IN BRAIN NEURONS IN RATS AFTER INTRACEREBRAL ADMINISTRATION OF CSF FROM PATIENTS WITH NEURODEGENERATIVE PATHOLOGY |
| **Н. М. Тихон, С. А. Ляликов, Н. Ч. Вертинская**<br>АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ ФЕКАЛЬНОГО КАЛЬПРОТЕКТИНА У ДЕТЕЙ ГОДОВАЛОГО ВОЗРАСТА | 55 | **N. M. Tsikhan, S. A. Lialikau, N. Ch. Vertinskaya**<br>ANALYSIS OF FECAL CALPROTECTIN LEVEL IN ONE-YEAR-OLD CHILDREN |
| **С. Н. Авраменко, Г. Е. Лазаренко, С. Н. Шахаб, А. Л. Ермолинская, Ж. В. Игнатович, С. Н. Шиш, Е. В. Спиридович**<br>АНТИРАДИКАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 4-МЕТИЛПИПЕРАЗИНА, ПЕРСПЕКТИВНЫХ В ЛЕЧЕНИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ | 62 | **S. N. Avramenko, G. E. Lazarenko, S. N. Shahab, A. L. Ermoolinskaya, Zh. V. Ignatovich, S. N. Shish, E. V. Spiridovich**<br>ANTIRADICAL PROPERTIES OF NEW 4-METHYLPIPERAZINE DERIVATIVES SHOWING PROMISE IN THE TREATMENT OF NEURODEGENERATIVE DISEASES |

| | | |
|---|---|---|
| **Т. В. Климуть, А. В. Заерко, С. М. Зиматкин, Д. В. Климуть, С. В. Емельянчик** КАЛЬБИНДИН В НЕЙРОНАХ ГРУШЕВИДНОЙ КОРЫ МОЗГА КРЫСЫ ПРИ ХОЛЕСТАЗЕ | 68 | **T. V. Klimut, A. V. Zaerko, S. M. Zimatkin, D. V. Klimut, S. V. Emelyanchik** CALBINDIN IN NEURONS OF THE PIRISFORMA CORTEX OF THE RAT WITH CHOLESTASIS |
| **О. Е. Мискевич, В. В. Хрусталёв** ВЫЧИСЛИТЕЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ БЕЛКА ГЕМАГГЛЮТИНИНА В ЛИПИДНОЙ МЕМБРАНЕ С УЧЕТОМ S-АЦИЛИРОВАНИЯ | 73 | **O. E. Miskevich, V. V. Khrustalev** COMPUTATIONAL MODELING OF THE HEMAGGLUTININ PROTEIN IN A LIPID MEMBRANE CONSIDERING S-ACYLATION |
| **А. В. Лукша, О. В. Горчакова** ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНАЦИЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У ДЕТЕЙ: ПОЛИМОРФИЗМ G894T (RS1799983) ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА | 83 | **A. V. Luksha, V. U. Harchakova** GENETIC DETERMINATION OF ARTERIAL HYPERTENSION IN CHILDREN: ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE G894T (RS1799983) GENE POLYMORPHISM |
| **Д. Н. Велеменчук, А. В. Солнцева, Т. В. Савицкая** КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ MODY С ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫМИ МУТАЦИЯМИ У ДЕТЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ | 89 | **D. N. Velemianchuk, A. V. Solntsava, T. V. Savitskaya** CLINICAL AND LABORATORY CHARACTERISTICS OF MODY WITH NOVEL MUTATIONS IN PEDIATRIC PATIENTS IN THE REPUBLIC OF BELARUS |
| **П. Ю. Пинчук** ЗАВИСИМОСТЬ КАТАЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗЫ ОТ СТРУКТУРЫ АЛИФАТИЧЕСКИХ СПИРТОВ | 95 | **P. Yu. Pinchuk** DEPENDENCE OF THE CATALYTIC PROPERTIES OF ALCOHOL DEHYDROGENASE ON THE STRUCTURE OF ALIPHATIC ALCOHOLS |
| **M. V. Statsi, S. N. Shahab** COMPUTATIONAL EVALUATION OF KAEMPFEROL AND RELATED FLAVONOIDS: DOCKING, DFT, AND PHARMACOKINETIC INSIGHTS INTO NEUROPROTECTION IN PARKINSON'S DISEASE | 100 | **М. В. Стаці, С. Н. Шахаб** ВЫЛІЧАЛЬНАЯ АЦЭНКА КЭМПФЕРОЛА І РОДНАСНЫХ ФЛАВАНОІДАЎ: ДОКІНГ, DFT І ФАРМАКАКІНЕТЫЧНЫЯ АСПЕКТЫ НЕЎРАПРАТЭКЦЫІ ПРЫ ХВАРОБЕ ПАРКІНСАНА |


## ОБЗОРЫ / REVIEWS


| | | |
|---|---|---|
| **О. С. Полуян, С. А. Костюк** ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОФИЛЕЙ ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ: СОВРЕМЕННЫЙ МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ИНСТРУМЕНТ ВЫЯВЛЕНИЯ ПРЕДИКТОРОВ И СОЗДАНИЯ БАЗ ДАННЫХ | 109 | **O. S. Poluyan, S. A. Kostiuk** DETERMINATION OF GENE EXPRESSION PROFILES: A MODERN MOLECULAR TOOL FOR PREDICTORS IDENTIFICATION AND DATABASES CREATION |
| **Д. Ш. О. Аль-Джебур, В. В. Зинчук, Н. В. Глуткина, М. В. Подопригора** ЖИРОВАЯ ТКАНЬ И НАРУШЕНИЯ УГЛЕВОДНОГО МЕТАБОЛИЗМА | 118 | **J. S. O. Al-Jebur, V. V. Zinchuk, N. V. Glutkina, M. V. Podoprigora** ADIPOSE TISSUE AND CARBOHYDRATE METABOLISM DISORDERS |
| **И. П. Сутько** КАТАЛИТИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА – АБЗИМЫ | 125 | **I. P. Sutsko** CATALYTIC ANTIBODIES – ABZYMES |
| **В. В. Зинчук, А. Е. Луговцов, А. В. Приезжев, А. В. Муравьев, И. А. Тихомирова, Е. В. Узлова** РОЛЬ ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ В ИЗМЕНЕНИЯХ МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ И МЕХАНИЗМОВ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА КРОВЬЮ | 131 | **V. V. Zinchuk, A. E. Lugovtsov, A. V. Priezzhev, A. V. Muravyov, I. A. Tikhomirova, E. V. Uzlova** THE ROLE OF GASOTRANSMITTER IN CHANGES IN THE MICRORHEOLOGICAL PROPERTIES OF RED CYTES AND MECHANISMS OF OXYGEN TRANSPORT IN THE BLOOD |

УДК 615.06

# БИОХИМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ТЕРАПИИ СОПРОВОЖДЕНИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ АДЕМЕТИОНИНА ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ПРОЯВЛЕНИЙ ГЕПАТОТОКСИЧЕКИХ РЕАКЦИЙ НА ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫЕ ПРЕПАРАТЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*К. И. Усов[1], А. Г. Мойсеенок[2]*

*[1]Государственный университет просвещения, г. Москва, Российская Федерация;*

*[2]Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, г. Гродно, Республика Беларусь*

**Введение.** Лекарственное поражение печени, вызванное применением противотуберкулезных препаратов (ПТП), при химиотерапии туберкулеза, представляет собой весьма значительную и актуальную проблему для фармакологической биохимии, которая требует консолидации специалистов в направлении поиска и разработки новых подходов к обоснованию терапии сопровождения с применением оптимальных гепатопротекторов, основной целью которой является предупреждение подобного рода осложнений на фоне химиотерапии туберкулеза.

**Цель исследования.** биохимически обосновать использование адеметионина (АМ) в терапии сопровождения для предупреждения развития гепатотоксических реакций при введении лабораторным животным противотуберкулезных препаратов, обладающих гепатотоксичностью.

**Материалы и методы.** Исследования выполнены на экспериментально-биологических моделях (нелинейные белые крысы: самцы и самки). В экспериментах использовали ПТП: изониазид, рифампицин, пиразинамид и АМ – гепатопротектор.

**Результаты.** Статья содержит результаты экспериментальных биохимических исследований к обоснованию применения адеметионина в терапии сопровождения, с целью предупреждения токсических поражений печени при применении противотуберкулезных препаратов.

**Заключение.** Применение гепатопротектора (АМ), начиная с первого дня введения ПТП приводит к снижению гепатотоксичности последних, что было подтверждено биохимическими методами исследования.

**Ключевые слова:** биохимия, гепатотоксичность, побочные реакции, гепатопротектор, адеметионин, противотуберкулезные препараты, изониазид, рифампицин, пиразинамид, этамбутол, химиотерапия, терапия сопровождения.

**Для цитирования:** Усов, К. И. Биохимическое обоснование терапии сопровождения с применением адеметионина для снижения проявлений гепатотоксичеких реакций на противотуберкулезные препараты в эксперименте / К. И. Усов, А. Г. Мойсеенок // Биохимия и молекулярная биология. – 2026. – Т. 5, № 1(8). – С. 6–12.

## Введение

Одним из нежелательных эффектов в ряду осложнений при химиотерапии туберкулеза легких являются побочные реакции, обусловленные гепатотоксичностью многих противотуберкулезных препаратов (ПТП), частота, проявления которой варьирует от 6 до 86 % [1, 2]. Среди причин относительно нечастых летальных исходов, обусловленных применением ПТП, преобладают лекарственные поражения печени [2]. Это связано с тем, что в печени осуществляется метаболическая трансформация большинства ПТП, в частности, гепатотоксичностью обладают рифампицин, изониазид, пиразинамид, этионамид – препараты I ряда, протионамид, аминосалициловая кислота, применяемая в Российской Федерации под названием ПАСК [2, 3].

Проявление гепатотоксичности при поликомпонентной химиотерапии ПТП является одной из главных причин низкой эффективности и плохой переносимости лечения, наряду с нарастающей устойчивостью возбудителя к ПТП и низкой комплаентностью больных. Отмена ПТП в связи с проявлением нежелательных побочных реакций производится у 20–91 % больных туберкулезом, в результате чего возрастает риск сохранения активной популяции возбудителя, быстрее формируется его устойчивость к проводимой терапии [2].

Таким образом, лекарственное поражение печени, вызванное применением ПТП, при поликомпонентной химиотерапии туберкулеза, представляет собой весьма значительную и актуальную проблему для фармакологической биохимии, лекарственной токсикологии, рациональной фармакотерапии, фтизиатрии, которая требует консолидации в направлении поиска и разработки новых подходов к обоснованию терапии сопровождения с применением оптимальных гепатопротекторов, основной целью которой является предупреждение подобного рода осложнений на фоне химиотерапии туберкулеза.

Сегодня одним из наиболее эффективных и безопасных по клиническим данным гепатопротекторов является – адеметионин (АМ). По химической природе АМ относится к аминокислотам и их производным, АМ выполняет важнейшую роль в реакциях трансметилирования, транссульфирования и аминопропилирования, участвует в метаболизме ряда ксенобиотиков, в биосинтезе фосфолипидов, глутатиона, таурина и других биологически активных соединений.

**Цель исследования.** Биохимически обосновать использование АМ в терапии сопровождения для предупреждения развития гепатотоксических реакций при введении лабораторным животным противотуберкулезных препаратов, обладающих гепатотоксичностью.

## Материалы и методы

Исследования проведены на белых нелинейных крысах-самцах 4-месячного возраста, массой 180–200 г. Все животные содержались в условиях специализированной экспериментально-биологической клиники (вивария), ветеринарное удостоверение 238 № 0019817. Эксперименты были проведены в соответствии с этическими требованиями [4, 5] по работе с экспериментальными животными и разрешены локальным этическим комитетом.

В экспериментах использовали ПТП: изониазид®, рифампицин® пиразинамид® и АМ – гепатопротектор Гептор® (МНН – адеметионин). Препараты вводили в желудок с помощью металлического атравматичного зонда. Содержимое капсул и таблетки растирали в ступке и вводили в виде суспензии в дистиллированной воде. Однократный объем вводимой суспензии для крыс не превышал 5 мл, максимальная продолжительность ежедневного введения не более 60 суток, в зависимости от схемы введения.

Дозу вводимого препарата определяли для каждого животного в мг/кг массы тела по действующему веществу. Все животные были разделены на 4 группы. Первой группе животных ПТП вводили до появления признаков гепатотоксичности, после чего ПТП отменяли и на следующие сутки вводили гепатопротектор. Второй группе гепатопротектор вводили вместе с ПТП с начала эксперимента. Третья группа крыс получала только АМ. Четвертой группе крыс ежедневно вводили только питьевую воду, предварительно прокипяченную и охлажденную в течение 30 мин.

ПТП вводили животным ежедневно в утренние часы в дозах, значительно превышающих максимальные суточные дозы (МСД) для человека. Изониазид вводили в дозе 120 мг/кг (1/10 от DL50), что в 21 раз превышает МСД, пиразинамид – в дозе 190 мг/кг (1/20 от DL50), что в 7 раз превышает МСД, рифампицин – в дозе 634 мг/кг (1/30 от DL50), что в 60 раз превышает МСД. Токсические дозы ПТП использованы с целью моделирования процесса развития гепатотоксических реакций (лекарственного осложнения) у подопытных крыс. Токсические дозы ПТП использованы с целью моделирования гепатотоксических реакций (лекарственного осложнения) у подопытных крыс.

Гепатопротекторное средство – АМ во всех подопытных группах применяли в дозе 120 мг/кг. Выбор дозы АМ 120 мг/кг был обоснован ранние проведенным исследованием эффективности АМ [2], в дозах 105 мг/кг и 161 мг/кг при поражении печени крыс ПТП. Введение АМ осуществляли за 2 часа до введения ПТП. В контрольной группе животные ежедневно получали только дистиллированную воду в объеме 12,5 мл/кг.

Диагностика гепатотоксических реакций, после введения ПТП, включала следующие приемы – ежедневный учет общего состояния животного: внешний вид, особенности поведения, мониторинг группового потребления корма и потребления воды (в % по отношению к группе динамического контроля), консистенции каловых масс и их цвет, цвет и прозрачность мочи [4]. Определяли температуру тела животного, с использованием инфракрасного, бесконтактного, цифрового ветеринарного термометра «Termoscan» (Китай), путем наведения сканирующего лазерного луча на анальное отверстие крыс, на расстоянии 5 см от него, каждое измерение повторяли 3 раза с временным интервалом между измерениями 1 мин. В сыворотке крови, полученной при декапитации подопытного животного, определяли содержание ферментов: аланинаминотрансферазу (АЛТ), аспортатаминотрансферазу (АСТ), гаммаглутамилтранспептидазу, уроканиназу, щелочную фосфатазу, фосфолипазу А [2, 5]; из клинически значимых биохимических показателей определяли: общий белок, общий холестерин, общий и прямой билирубин, глюкозу; 3) активность АЛТ и АСТ [2, 4], содержание гликогена определяли микрометодом [2] в гомогенизированной ткани печени с последующим определением оптической плотности

на спектрофотометре СФ-26 (Россия) и расчетом концентрации в мкмоль/л. Величины биохимических показателей определяли с использованием биохимического анализатора FP-901M (Labsystems, Финляндия) и стандартных наборов реактивов, согласно приложенным к ним инструкциям.

В параллельных группах животных – опыта и динамического контроля, осуществляли нагрузочные диагностические пробы – гексобарбиталовую, путем внутрибрюшинного введения 2 % раствора гексенала в дозе 60 мг/кг и бромсульфалеиновую, путем внутривенного введения 5 % раствора бромсульфалеина в дозе 20 мг/кг в боковую хвостовую вену крыс. Эти группы были созданы для исключения влияния вводимого, с диагностической целью, бромсульфалеина и гексенала на оцениваемые лабораторные, биохимические.

Статистический анализ полученных результатов проводили в соответствии с руководствами по математической статистике для медико-биологических исследований [6]. Вычисляли среднее арифметическое значение (M), стандартную ошибку среднего арифметического значения (m).

## Результаты и их обсуждение

К концу 1-х суток после первого введения ПТП у подопытных крыс наблюдались признаки развития диареи: консистенция кала была мягкая и влажная, размер фекалий уменьшен в 2 раза, при этом форма кала была сформирована, плавучесть отсутствовала, у животных фекалии и моча были окрашены в краснокирпичный цвет (цвет обусловлен введением рифампицина). Через 3–4 дня от начала введения препаратов окрашивались и выступающие части тела животных: ушные раковины, лапки, хвост, что свидетельствовало о признаках развития материальной кумуляции [25, 26], это подтверждалось и окраской внутренних органов при аутопсии подопытных крыс на 30-е и 60-е сутки эксперимента. У 20 % крыс, получавших ПТП с АМ, признаки диареи проявлялись на 2–4-е сутки введения препаратов, а у 35 % животных в группе – на 53–60-е сутки. Только для крыс, получавших ПТП без АМ, начиная с 11 суток эксперимента, наблюдался альтернанс фрагментарного проявления признаков диареи и обстипации, характеризующийся сменой признаков проявления каждые 2–4 дня. На 22-е сутки применения препаратов групповое суточное потребление корма снижалось на 74 % по сравнению с группой динамического контроля и на 52 % по сравнению с подопытной группой крыс, получавшей ПТП с АМ. Отмечено снижение группового потребления питьевой воды, к 30-м суткам оно составило 81 % (только ПТП) и на 12 % (ПТП + АМ). К 30 суткам на фоне снижения потребления воды и корма наблюдалось достоверное снижение массы тела на 47 % у крыс, получавших ПТП и 21 % у крыс, получавших ПТП с АМ. На фоне вышеперечисленных реакций на вводимые ПТП наблюдалось повышение уровня глюкозы в крови на 3-и сутки эксперимента и понижение содержание гликогена в печени крыс на 30-е и 60-е сутки эксперимента (таблица 1). На фоне снижения гликогена в печени при оценке неврологического статуса у крыс из первой и второй подопытной групп визуально, при пальпаторном обследовании, установлена мышечная гипотония, животные были вялые, малоподвижные, но при этом синкинезии и защитные рефлексы у крыс соответствовали норме.

Таблица 1 – Содержание гликогена в гомогенизированных тканях печени и уровень глюкозы в сыворотке крови крыс, получавших ПТП с АМ и без него ($n$ = 120)

Table 1 – Glycogen content in homogenized liver tissue and glucose level in blood serum of rats receiving PTP with and without AM ($n$ = 120)

| Препараты и продолжительность их ежедневного введения | Сроки регистрации показателя | Глюкоза в сыворотке крови, ммоль/л | Гликоген в гомогенизированных тканях печени мкмоль/г |
|---|---|---|---|
| ПТП без АМ (1–30-е сутки) АМ после отмены ПТП (31–60-е сутки) | 3-и сутки | 9,2 ± 2,1* | 93,1 ± 1,9* |
| | 30-е сутки | 2,1 ± 0,7* | 40,4 ± 2,6* |
| | 60-е сутки | 3,9 ± 2,2 | 89,2 ± 2,8* |
| ПТП с АМ (1–60-е сутки) | 3-и сутки | 6,6 ± 1,2 | 98,6 ± 2,8 |
| | 30-е сутки | 3,7 ± 0,5 | 79,7 ± 3,1* |
| | 60-е сутки | 2,6 ± 0,5 | 72,8 ± 3,8* |
| АМ (1–60-е сутки) | 3-и сутки | 4,2 ± 0,8 | 104,2 ± 3,4 |
| | 30-е сутки | 4,5 ± 1,1 | 110,8 ± 4,2 |
| | 60-е сутки | 4,8 ± 1,1 | 131,1 ± 6,0* |
| Динамический контроль | 3-и сутки | 3,8 ± 1,1 | 102,1 ± 2,9 |
| | 30-е сутки | 4,6 ± 1,0 | 105,5 ± 1,8 |
| | 60-е сутки | 4,4 ± 1,3 | 108,9 ± 3,6 |

* Уровень значимости различий по отношению к величинам динамического контроля, при $p < 0,05$.

* The level of significance of differences in relation to the dynamic control values, at $p < 0.05$.

Проявление диспепсической медикаментозной диареи у 70 % подопытных крыс, получавших только ПТП, без АМ, по времени проявления совпадало с эпизодическим проявлением субфебрилитета. В период с 28–33сутки введения препаратов у 40 % крыс было выявлено развитие гипертермии (38,8 ± 0,2 – опыт; 36,3 ± 0,1 – динамический контроль, 30 сутки эксперимента, при $p < 0,05$). Для крыс получавших ПТП с АМ, субфебрилитет наблюдался последовательно только у 20 % подопытных животных на 54–60-е сутки.

Наряду с гипертермией у подопытных крыс, регистрировали повышение степени ретенции бромсульфалеина и увеличение продолжительности гексеналового сна на 30-е и 60-е сутки эксперимента, что свидетельствовало о нарушении детоксицирующей функции печени (таблица 2).

Таблица 2 – Бромсульфалеиновая и гексобарбиталовая проба при лекарственном поражении печении крыс ПТП с АМ и без него ($n = 160$)

Table 2 – Bromsulfalein and hexobarbital test for drug-induced liver damage in rats with and without AM ($n = 160$)

| Препараты и продолжительность их ежедневного введения | Сроки регистрации показателей | Бромсульфалеиновая проба, мкг/мл (M±m) | Продолжительность гексеналового сна, минуты (M±m) |
|---|---|---|---|
| ПТП без АМ (1–30-е сутки) АМ после отмены ПТП (31–60-е сутки) | 30-е сутки | 22,5 ± 0,92* | 69,2 ± 0,9* |
| | 60-е сутки | 19,5 ± 0,84* | 54,2 ± 0,8* |
| ПТП с АМ (1–60-е сутки) | 30-е сутки | 16,2 ± 0,61 | 42,8 ± 1,9* |
| | 60-е сутки | 17,8 ± 0,57 | 43,0 ± 0,7* |
| АМ (1–60-е сутки) | 30-е сутки | 14,5 ± 0,83 | 37,9 ± 0,7 |
| | 60-е сутки | 15,0 ± 0,76 | 38,2 ± 0,6 |
| Динамический контроль | 30-е сутки | 14,8 ± 0,84 | 38,0 ± 0,5 |
| | 60-е сутки | 14,2 ± 0,72 | 38,4 ± 0,8 |

*Примечание* – Уровень значимости различий по отношению к величинам динамического контроля, при $*p < 0,05$.

*Note* – The level of significance of differences in relation to the dynamic control values, at $*p < 0.05$.

Определение содержания АЛТ, АСТ в сыворотке крови показало, что к 30-м суткам у подопытных крыс, получавших ПТП без гепатопротектора, содержание этих ферментов повышалась в 3 раза, при этом их активность в гомогенатах печени была снижена на 85 % и 63 %, соответственно, по сравнению с контрольной группой (таблица 3). В соответствии с Национальными клиническими рекомендациями для лечения туберкулеза в России определяемое повышение содержания трансфераз крови (АЛТ, АСТ) в три и более раз по результатам клинического биохимического анализа крови больного является основанием для отмены гепатотоксичных ПТП, или полного прекращения химиотерапии туберкулеза с отменой всех применяемых ПТП. У крыс, получавших гепатопротектор вместе с ПТП в течение всего эксперимента, содержание АЛТ, АСТ в сыворотке крови повышалось лишь на 15 % и 18 % соответственно, по сравнению с группой динамического контроля, что позволило продолжить введение ПТП с применением АМ, до 60 суток. Для подопытных крыс, получавших только ПТП с 1–30 сутки, было приятно решение с 31-х суток эксперимента отменить введение ПТП из-за высокой вероятности наступления биологической смерти подопытных крыс, как следствия развития тяжелого и необратимого лекарственного осложнения.

Таблица 3 – Динамика АЛТ и АСТ у крыс при лекарственном поражении печении крыс ПТП с АМ и без него ($n = 120$)

Table 3 – Dynamics of ALT and AST in rats with drug-induced liver damage with PTP with and without AM ($n = 120$)

| Определяемые показатели | Препараты и продолжительность их приема | Сроки регистрации показателей | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 3-и сутки | 30-е сутки | 60-е сутки |
| АЛТ, содержание в сыворотке крови, Ед/л | ПТП с 1–30 сутки, АМ с 31–60 сутки после прекращения приема ПТП | 87,6 ± 0,5* | 191,2 ± 6,6* | 136,0 ± 5,2* |
| | ПТП с АМ, с 1–60 сутки | 67,2 ± 2,1* | 71,2 ± 4,1* | 79,6 ± 3,9* |
| | АМ, с 1–60 сутки | 60,9 ± 0,7 | 59,2 ± 1,8 | 62,2 ± 3,4 |
| | Динамический контроль | 61,2 ± 1,5 | 61,8 ± 2,0 | 66,2 ± 1,9 |

*Окончание табл. 3*

| Определяемые показатели | Препараты и продолжительность их приема | Сроки регистрации показателей | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 3-и сутки | 30-е сутки | 60-е сутки |
| АЛТ, активность в печени, мкмоль/мл на 1 мг белка в час | ПТП с 1–30 сутки, АМ с 31–60 сутки после прекращения приема ПТП | 7,2 ± 1,3 | 5,3 ± 0,4* | 6,2 ± 0,8* |
| | ПТП с АМ, с 1–60 сутки | 9,0 ± 0,4 | 8,4 ± 0,5 | 7,1 ± 0,7* |
| | АМ, с 1–60 сутки | 9,7 ± 0,7 | 9,6 ± 0,9 | 10,1 ± 1,2 |
| | Динамический контроль | 9,5 ± 1,1 | 9,8 ± 0,7 | 9,1 ± 0,5 |
| АСТ, содержание в сыворотке крови, Ед/л | ПТП с 1–30 сутки, АМ с 31–60 сутки после прекращения приема ПТП | 68,2 ± 2,2* | 172,4 ± 13,2* | 129,2 ± 7,3* |
| | ПТП с АМ, с 1–60 сутки | 56,7 ± 6,0 | 64,9 ± 4,1 | 71,2 ± 3,7* |
| | АМ, с 1–60 сутки | 55,2 ± 2,9 | 52,8 ± 2,7 | 57,1 ± 5,1 |
| | Динамический контроль | 57,2 ± 4,2 | 55,0 ± 3,3 | 58,4 ± 3,2 |
| АСТ, активность в печени мкмоль/мл на 1 мг белка в час | ПТП с 1–30 сутки, АМ с 31–60 сутки после прекращения приема ПТП | 4,7 ± 0,3 | 3,8 ± 0,2* | 1,7± 0,2* |
| | ПТП с АМ, с 1–60 сутки | 4,9 ± 0,4 | 5,1 ± 0,3* | 3,8 ± 0,4* |
| | АМ, с 1–60 сутки | 5,9 ± 0,3 | 5,4 ± 0,4 | 6,6 ± 0,2 |
| | Динамический контроль | 5,2 ± 0,2 | 6,2 ± 0,3 | 5,9 ± 0,6 |

* Уровень значимости различий по отношению к величинам динамического контроля, при $p < 0,05$.

* The level of significance of differences in relation to the dynamic control values, at $p < 0.05$.

Изучение динамики других определяемых биохимических показателей в сыворотке крови (таблица 4), свидетельствовало, что совместное применение ПТП с АМ снижает гепатотоксичность ПТП. Так как к 30-м суткам эксперимента из определяемых показателей достоверные отличия по отношению к группе динамического контроля были получены только по показателю: уроканиназа, общий и прямой билирубин, общий белок. При этом процент понижения показателей по отношению к данным, полученным у подопытной группы, получавшей только ПТП с 1–30 сутки составил: 68 % по показателю уроканиназа, 21 % – общий билирубин, 27 % – прямой билирубин, 14 % – общий белок по сравнению.

Таблица 4 – Биохимические показатели при лекарственном поражении печении крыс ПТП с АМ и без него, в сыворотке крови ($n = 120$)

Table 4 – Biochemical parameters in drug-induced liver damage in rats with and without AM, in blood serum ($n = 120$)

| Определяемые показатели | Препараты и продолжительность их приема | Сроки регистрации показателей | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 3-и сутки | 30-е сутки | 60-е сутки |
| Гамма-глутамил-транспептидаза, Ед/л | ПТП с 1–30 сутки, АМ с 31–60 сутки после прекращения приема ПТП | 143,2 ± 21,8* | 42,2 ± 9,8* | 48,3 ± 6,2* |
| | ПТП с АМ, с 1–60 сутки | 92,2 ± 9,2 | 65,2 ± 8,6 | 56,9 ± 4,8* |
| | АМ, с 1–60 сутки | 77,1 ± 12,6 | 78,5 ± 8,2 | 80,1 ± 12,0 |
| | Динамический контроль | 80,8 ± 14,2 | 82,8 ± 13,9 | 79,7 ± 10,3 |
| Уроканиназа, мкмоль/мл на 100 мл | ПТП с 1–30 сутки, АМ с 31–60 сутки после прекращения приема ПТП | 3,2 ± 0,64* | 8,7 ± 1,33* | 4,2 ± 0,71* |
| | ПТП с АМ, с 1–60 сутки | 1,8 ± 0,24* | 2,8 ± 0,34* | 3,2 ± 0,77* |
| | АМ, с 1–60 сутки | 1,1 ± 0,08 | 1,1 ± 0,18 | 1,3 ± 0,12 |
| | Динамический контроль | 1,0 ± 0,16 | 0,9 ± 0,14 | 1,2 ± 0,21 |
| Фосфолипаза А, мкг/мл | ПТП с 1–30 сутки, АМ с 31–60 сутки после прекращения приема ПТП | 0,83 ± 0,25 | 3,10 ± 0,17* | 2,04 ± 0,14* |
| | ПТП с АМ, с 1–60 сутки | 0,88 ± 0,11 | 1,26 ± 0,21 | 1,71 ± 0,18* |
| | АМ, с 1–60 сутки | 0,74 ± 0,16 | 0,79 ±0,23 | 0,80 ± 0,15 |
| | Динамический контроль | 0,91 ± 0,19 | 0,86 ± 0,17 | 0,83 ± 0,31 |

*Окончание табл. 4*

| Определяемые показатели | Препараты и продолжительность их приема | Сроки регистрации показателей | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 3-и сутки | 30-е сутки | 60-е сутки |
| Щелочная фосфатаза, Ед/л | ПТП с 1–30 сутки, АМ с 31–60 сутки после прекращения приема ПТП | 346 ± 13,1 | 424 ± 16,2* | 391 ± 7,2* |
| | ПТП с АМ, с 1–60 сутки | 333 ± 10,2 | 348 ± 9,4 | 377 ± 11,1* |
| | АМ, с 1–60 сутки | 311 ± 12,7 | 305 ± 10,0 | 314 ± 11,9 |
| | Динамический контроль | 322 ± 12,2 | 330 ± 14,5 | 326 ± 9,1 |
| Билирубин общий, ммоль/л | ПТП с 1–30 сутки, АМ с 31–60 сутки после прекращения приема ПТП | 8,7 ± 0,06* | 11,1 ± 0,09* | 9,1 ± 0,11* |
| | ПТП с АМ, с 1–60 сутки | 8,3 ± 0,08* | 8,8 ± 0,07* | 9,3 ± 0,03* |
| | АМ, с 1–60 сутки | 8,0 ± 0,04 | 8,2 ± 0,03* | 8,2 ± 0,09 |
| | Динамический контроль | 8,1 ± 0,04 | 8,1 ± 0,03 | 8,2 ± 0,05 |
| Билирубин прямой, ммоль/л | ПТП с 1–30 сутки, АМ с 31–60 сутки после прекращения приема ПТП | 2,90 ± 0,07 | 4,21 ± 0,12* | 3,21 ± 0,07* |
| | ПТП с АМ, с 1–60 сутки | 2,74 ± 0,11 | 3,06 ± 0,08* | 3,40 ± 0,09* |
| | АМ, с 1–60 сутки | 2,64 ± 0,05 | 2,74 ± 0,14 | 2,76 ± 0,03 |
| | Динамический контроль | 2,71 ± 0,12 | 2,78 ± 0,09 | 2,80 ± 0,15 |
| Холестерин общий, ммоль/л | ПТП с 1–30 сутки, АМ с 31–60 сутки после прекращения приема ПТП | 2,07 ± 0,15 | 4,31 ± 0,31* | 2,82 ± 0,38* |
| | ПТП с АМ, с 1–60 сутки | 2,09 ± 0,28 | 2,12 ± 0,16 | 2,41 ± 0,22 |
| | АМ, с 1–60 сутки | 1,72 ± 0,19 | 1,81 ± 0,23 | 1,76 ± 0,18 |
| | Динамический контроль | 1,68 ± 0,21 | 1,72 ± 0,16 | 1,94 ± 0,19 |
| Общий белок, г/л | ПТП с 1–30 сутки, АМ с 31–60 сутки после прекращения приема ПТП | 74,2 ± 0,6* | 95,2 ± 0,5* | 88,2 ± 0,5* |
| | ПТП с АМ, с 1–60 сутки | 75,8 ± 1,1 | 82,2 ± 0,6* | 83,0 ± 0,8 |
| | АМ, с 1–60 сутки | 78,2 ± 0,8 | 77,0 ± 1,0 | 79,2 ± 0,4 |
| | Динамический контроль | 77,8 ± 0,9 | 79,1 ± 0,5 | 81,2 ± 1,0 |

* Уровень значимости различий по отношению к величинам динамического контроля, при $p < 0,05$.

* The level of significance of differences in relation to the dynamic control values, at $p < 0.05$.

Применение АМ с 31–60 сутки эксперимента уже на фоне яркого проявления гепатотоксического осложнения, развившегося на 30-е сутки введения ПТП, не приводило к полному восстановлению оцениваемых биохимических показателей на 60-е сутки эксперимента. В частности, процент снижения показателей – содержание АЛТ, АСТ в сыворотке крови на 60-е сутки по сравнению с полученными данными на 30-е сутки эксперимента составил лишь 41 % и 33 %, соответственно (таблица 3).

## Заключение

1. Применение гепатопротектора (АМ), начиная с первого дня введения противотуберкулезных препаратов (ПТП) приводит к снижению гепатотоксичности последних, что было подтверждено биохимическими методами исследования.

2. Применение АМ, в качестве гепатопротектора позволило в 2 раза увеличить продолжительность применения ПТП животным без развития тяжелого медикаментозного осложнения.

3. Полученные результаты дают основание рекомендовать включение гепатопротекторов в стандартную схему химиотерапии туберкулеза для улучшения переносимости ПТП.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список использованных источников

1. Усов, К. И. Острая токсичность противотуберкулезных препаратов, содержащих и не содержащих пиридоксина гидрохлорид (экспериментальное исследование) / К. И. Усов, Г. Г. Юшков, А. В. Машанов // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 12. – С. 76–82.

2. Усов, К. И. Фармакология и токсикология современных противотуберкулёзных препаратов / К. И. Усов, Г. Г. Юшков. – М.: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Государственный университет просвещения», 2024. – 436 с.

3. Усов, К. И. Биохимический контроль действия противотуберкулезных препаратов, содержащих и не содержащих витамин В6 / К. И. Усов, А. Г. Мойсеенок, М. М. Расулов // Биохимия и молекулярная биология. – 2025. – Т. 4, № 1(6). – С. 19–26.
4. РД 64-126-91 «Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP)». – М., 1991.
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
6. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц; пер. с англ. – М.: Практика, 1999. – 459 с.

**References**

1 Ussov KI, Yushkov GG, Mashanov AV. Ostriaia toksichnost' protivotuberkuleznykh preparatov, soderzhashchikh i ne soderzhashchikh piridoksina (eksperimental'noe issledovanie). *Tuberkulez Bolezni Legkikh*. 2014;(12):76-82. (In Russian)
2 Ussov KI, Yushkov GG. Farmakologiia i toksikologiia sovremennykh protivotuberkuleznykh preparatov. Moscow: Federal'noe Gosudarstvennoe Avtonomnoe Obrazovatel'noe Uchebnoe Zakryatie Vysshego Obrazovaniia "Gosudarstvennyi universitet prosveshcheniia"; 2024:436 p. (In Russian)
3 Ussov KI, Moiseienok AG, Rasulov MM. Biokhimicheskii kontrol' deistviia protivotuberkuleznykh preparatov, soderzhashchikh i ne soderzhashchikh vitamin B6. *Biokhimiia i Molekuliarnaia Biologiia*. 2025;4(1(6)):19-26. (In Russian)
4 RD 64-126-91 «Pravila doklinicheskoi otsenki bezopasnosti farmakologicheskikh sredstv (GLP)». Moscow; 1991. (In Russian)
5 Rukovodstvo po provedeniiu doklinicheskikh issledovanii lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaiia. Moscow: Grip i K; 2012:944 p. (In Russian)
6 Glantz S. Mediko-biologicheskaia statistika. Moscow: Praktika; 1999:459 p. In Russian.

# BIOCHEMICAL SUBSTANTIATION OF ADAMETIONINE-ACCOMPANIED THERAPY TO REDUCE HEPATOTOXIC REACTIONS TO ANTITUBERCULOSIS DRUGS IN EXPERIMENT

*K. I. Usov[1], A. G. Moiseyenok[2]*

*[1]State University of Education, Moscow, Russian Federation;*

*[2]Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds, National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus*

**Background.** Drug-induced liver damage caused by the use of anti-tuberculosis drugs (ATDs) during chemotherapy for tuberculosis is a significant and relevant problem in pharmacological biochemistry that requires the consolidation of specialists in the search for and development of new approaches to the justification of supportive therapy using optimal hepatoprotectors, with the primary goal of preventing such complications during chemotherapy for tuberculosis.

**Objective.** To biochemically substantiate the use of ademetionine (AM) in support therapy to prevent the development of hepatotoxic reactions when laboratory animals are administered antituberculosis drugs that are hepatotoxic.

**Materials and Methods.** The studies were conducted on experimental biological models (non-linear white rats: males and females). The experiments used PTP: isoniazid, rifampicin, pyrazinamide, and AM, a hepatoprotector.

**Results.** The article contains the results of experimental biochemical studies to justify the use of ademetionine in supportive therapy to prevent toxic liver damage caused by anti-tuberculosis drugs.

**Conclusion.** The use of a hepatoprotector (AM) from the first day of administration of PTP leads to a decrease in the latter's hepatotoxicity, which was confirmed by biochemical research methods.

**Keywords:** biochemistry, hepatotoxicity, adverse reactions, hepatoprotector, ademetionine, antituberculosis drugs, isoniazid, rifampicin, pyrazinamide, ethambutol, chemotherapy, support therapy.

**For citation:** Usov KI, Moiseyenok AG. Biochemical substantiation of adametionine-accompanied therapy to reduce hepatotoxic reactions to antituberculosis drugs in experiment. *Biochemistry and molecular biology.* 2026, vol. 5, no. 1(8), pp. 6–12 (in Russian).

*Поступила17.04.2026*

УДК 616-053.32:612.015.31

# НАРУШЕНИЕ ФОСФОРНО-КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕНА У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ, ПРОФИЛАКТИКА РЕФИДИНГ-СИНДРОМА И ОСТЕОПЕНИИ

*Т. В. Гнедько*

*Национальная академия наук Беларуси,*
*г. Минск, Республика Беларусь*

**Введение.** Недоношенные дети относятся к группе высокого риска развития остеопении (метаболической болезни костей) вследствие незрелости органов-мишеней, дефицита нутриентов и высоких темпов постнатального роста.

**Цель исследования.** Изучить особенности фосфорно-кальциевого обмена у недоношенных детей с нарушением формирования тазобедренных суставов, оценить фактическое потребление кальция и фосфора, а также обосновать необходимость ранней коррекции дефицита фосфатов для профилактики рефидинг-синдрома.

**Материалы и методы.** Обследовано 60 недоношенных новорожденных с нарушением формирования тазобедренных суставов. Всем детям проводили определение биохимических маркеров костного метаболизма (ионизированный кальций, паратиреоидный гормон, щелочная фосфатаза, кальцитонин, остеокальцин), анализ фактического потребления кальция и фосфора на 6, 9 и 15-е сутки жизни.

**Результаты.** У недоношенных с нарушением формирования тазобедренных суставов выявлены риски развития дисфункции остеогенеза, что определяет необходимость расширенного биохимического мониторинга с включением остеокальцина, ПТГ и кальцитонина для раннего выявления нарушений костного метаболизма. Фактическое потребление фосфора на 15-е сутки оставалось ниже физиологической потребности ($p < 0{,}001$). Соотношение Ca:P составляло 1,95±0,09. На основании обзора современных данных показано, что раннее увеличенное поступление фосфатов позволяет снизить частоту рефидинг-синдрома с 11,9 % до 2,9 %, а остеопении – с 82,8 % до 47,3 %.

**Заключение.** У недоношенных детей с нарушением формирования тазобедренных суставов отмечался хронический дефицит фосфора, несмотря на приближение соотношения Ca:P к оптимальному. Раннее целенаправленное восполнение фосфатов является патогенетически обоснованной стратегией профилактики остеопении и рефидинг-синдрома.

**Ключевые слова**: недоношенные дети, остеопения, метаболическая болезнь костей, кальций, фосфор, рефидинг-синдром, витамин D, витаминно-минеральный комплекс.

**Для цитирования:** Гнедько, Т. В. Нарушение фосфорно-кальциевого обмена у недоношенных детей, профилактика рефидинг-синдрома и остеопении / Т. В. Гнедько // Биохимия и молекулярная биология – 2026. – Т. 5, № 1(8). – С. 13–19.

## Введение

Современные успехи неонатологии обеспечили повышение выживаемости детей с очень низкой (ОНМТ) и экстремально низкой массой тела (ЭНМТ). Однако одновременно возросла частота метаболических заболеваний костей – остеопении недоношенных, которая, по данным разных авторов, встречается у 40–70 % детей с массой тела менее 1500 г и практически у 100 % новорожденных с ЭНМТ [1, 2]. По результатам крупного ретроспективного когортного исследования (487 недоношенных детей, 2017–2024 гг.), метаболическая болезнь костей (МБК) была диагностирована у 41,5 % детей, рожденных на сроке менее 28 недель гестации, а рентгенологические признаки остеопении отмечались у 17,3 % пациентов с МБК [3].

Остеопения недоношенных (син. метаболическая болезнь костей, рахит недоношенных) характеризуется снижением минерализации костной ткани, нарушением линейного роста и, в тяжелых случаях, развитием переломов [4, 5]. При этом МБК является независимым фактором риска развития переломов (скорректированное отношение шансов 8,3), длительной госпитализации и задержки постнатального роста [3].

Современные представления о патофизиологии фосфорно-кальциевого обмена у недоношенных основаны на результатах научных исследований, увеличение числа которых связано с успехами выхаживания глубоко недоношенных детей.

Наиболее интенсивное накопление кальция (Ca) и фосфора (P) в костной ткани плода происходит в III триместре гестации: суточная потребность составляет 120–150 мг/кг Ca и 60–85 мг/кг P [4, 5]. Прерывание беременности на сроке 28–32 недели приводит к врожденному дефициту этих

элементов, достигающему 70 % по сравнению с доношенными детьми [1, 4]. Метаболическая болезнь костей недоношенных определяется как снижение минерализации скелета, возникающее вследствие недостаточного пренатального и постнатального накопления кальция и фосфатов [8].

После рождения ключевыми факторами риска остеопении являются:

1. Недостаточное энтеральное поступление Ca и P. Необогащенное грудное молоко содержит лишь 25–28 мг% Ca и 13–15 мг% P, что покрывает менее 40 % физиологической потребности недоношенного [2, 9]. Даже при использовании стандартного обогащения грудного молока не всегда отмечается улучшение маркеров МБК [9].
2. Незрелость почечных канальцев и кишечника. У недоношенных снижена реабсорбция фосфатов и повышена кальциурия. Всасывание Ca в кишечнике ограничено из-за относительной резистентности к $1,25(OH)_2D$.
3. Особенности гормональной регуляции. Выявлен высокий уровень паратиреоидного гормона (ПТГ) и кальцитонина при сниженной способности почек к гидроксилированию 25(OH)D в активный $1,25(OH)_2D$. Уровень 25(OH)D может оставаться в пределах нормы, что подчеркивает вторичный характер дефицита витамина D [5].
4. Ятрогенные факторы. Длительное парентеральное питание, применение глюкокортикостероидов, фуросемида, метилксантинов (кофеин) усугубляют деминерализацию костей [4, 5].

Таким образом, остеопения недоношенных является прежде всего следствием дефицита Ca и P, а не изолированной недостаточности витамина D [1, 9].

Особую клиническую значимость проблема приобретает у недоношенных детей с сопутствующими нарушениями формирования опорно-двигательного аппарата. В основе значительной части нарушений развития костно-суставного аппарата лежат расстройства эмбриогенеза в период закладки костно-мышечной системы [6, 7]. При поздней диагностике и неадекватном лечении дисплазии тазобедренных суставов развиваются тяжелые прогрессирующие заболевания, занимающие значительный удельный вес в структуре инвалидности [6].

Несмотря на улучшение нутритивной поддержки, существующие стандарты питания не всегда позволяют восполнить дефицит ключевых макро- и микроэлементов, что диктует необходимость поиска новых подходов к коррекции, в том числе раннего восполнения фосфатов и профилактики рефидинг-синдрома.

**Цель исследования.** Изучить особенности фосфорно-кальциевого обмена у недоношенных детей с нарушением формирования тазобедренных суставов, оценить фактическое потребление кальция и фосфора, а также обосновать необходимость ранней коррекции дефицита фосфатов для профилактики рефидинг-синдрома и метаболической болезни костей.

## Материалы и методы

Дизайн исследования. Проспективное когортное наблюдательное исследование. Критерии включения: недоношенные новорожденные с нарушением формирования тазобедренных суставов (по данным УЗИ), гестационный возраст при рождении ≤37 недель, информированное согласие родителей. Критерии исключения: врожденные пороки развития костно-мышечной системы, тяжелые наследственные заболевания, хромосомные аномалии, отказ от участия.

Характеристика пациентов. Под наблюдением находилось 60 недоношенных новорожденных с нарушением формирования тазобедренных суставов [10]. Дети родились в сроке гестации 34,72±2,30 недель. Масса тела при рождении составила 2246,67±455,11 г, длина тела – 45,32±3,21 см. Большинство (60,0 %) детей родилось в сроке 37–36 недель. Мальчиков было 27 (45,0 %), девочек – 33 (55,0 %). Оценка по шкале Апгар на первой минуте жизни составила 7,60±0,82 балла, на пятой – 8,09±0,29 балла.

Методы исследования. Всем детям на 37,20±1,54 неделе постконцептуального возраста проводилось ультразвуковое исследование тазобедренных суставов по методике Graf R. (1989). Биохимические маркеры остеогенеза (ионизированный кальций, паратиреоидный гормон (ПТГ), щелочная фосфатаза (ЩФ), кальцитонин, остеокальцин) определяли на 5–7-е сутки жизни турбидиметрическим методом на аппарате «HITACHI-911». Проведен анализ потребности и фактического энтерального потребления Ca и P в динамике на 6, 9 и 15-е сутки жизни.

Статистическая обработка выполнена с использованием пакета STATISTICA 6.0. Данные представлены как M±SD. Сравнение групп проводилось с помощью *t*-критерия Стьюдента для связанных выборок, корреляционный анализ – по Пирсону. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

## Результаты и их обсуждение

На основании УЗИ незрелые тазобедренные суставы регистрировались у 31 (52 %) младенца, зрелые – у 15 (25 %), недифференцированные – у 14 (28 %).

У всех обследованных детей комплекс биохимических маркеров определялся на 5–7-е сутки жизни (таблица 1). Концентрация ионизированного кальция (1,07±0,14 ммоль/л), активность щелочной фосфатазы (237,67±108,1 МЕ/л), уровень остеокальцина (36,29±19,17 нг/мл), паратиреоидного гормона (36,50±22,61 пг/мл) и кальцитонина (16,37±14,62 пг/мл) находились в пределах референтных диапазонов, принятых для новорожденных и детей раннего возраста. Это свидетельствовало об отсутствии грубых нарушений минерального гомеостаза и костной резорбции на момент обследования.

Таблица 1 – Биохимические показатели у недоношенных детей с нарушением формирования тазобедренных суставов (M±SD)

Table 1 – Biochemical parameters in preterm infants with impaired hip joint formation (M±SD)

| Показатель / Parameter | Обследованная группа (n = 60) / Study group (n = 60) | Референтные значения / Reference values |
|---|---|---|
| Кальций ионизированный, ммоль/л / Ionized calcium, mmol/L | 1,07±0,14 | 1,10–1,35* |
| Паратиреоидный гормон, пг/мл / Parathyroid hormone, pg/mL | 36,50±22,61 | 7–59* |
| Щелочная фосфатаза, МЕ/л / Alkaline phosphatase, IU/L | 237,67±108,1 | 122-469* |
| Кальцитонин, пг/мл / Calcitonin, pg/mL | 16,37±14,62 | ≤34* |
| Остеокальцин, нг/мл / Osteocalcin, ng/mL | 36,29±19,17 | 40,8 для мальчиков<br>38,1 для девочек* |

* Данные литературы [11–15].

* Literature data [11–15].

При изучении корреляционных связей между изученными показателями (таблица 2) выявлена сильная прямая корреляция между содержанием остеокальцина и ионизированного кальция ($r$ = 0,82), что указывает на тесную взаимосвязь между уровнем минерализации и активностью костеобразования. Доля вариабельности одного признака, зависящего от другого, составила 67 %. Также отмечена сильная прямая корреляция между кальцитонином и щелочной фосфатазой ($r$ = 0,83), что может отражать компенсаторную реакцию на снижение минерализации.

Таблица 2 – Корреляционные связи между изученными показателями

Table 2 – Correlations between the studied parameters

| Пары показателей / Parameter pairs | Коэффициент корреляции (r) / Correlation coefficient (r) | Сила связи / Strength of relationship |
|---|---|---|
| Остеокальцин ↔ $Ca^{2+}$ ионизированный / Osteocalcin ↔ Ionized $Ca^{2+}$ | 0,82 | Сильная / strong |
| Кальцитонин ↔ Щелочная фосфатаза / Calcitonin ↔ Alkaline phosphatase | 0,83 | Сильная / strong |
| Кальцитонин ↔ $Ca^{2+}$ ионизированный / Calcitonin ↔ Ionized $Ca^{2+}$ | 0,36 | Умеренная / moderate |

При проведении анализа потребности и фактического потребления Ca и P в динамике наблюдения (таблица 3) установлено, что на 6-е и 9-е сутки жизни потребность в кальции достоверно превышала его фактическое поступление ($p$ < 0,001). Лишь к 15-м суткам младенцы полностью удовлетворяли потребность в кальции. В отношении фосфора отмечалось достоверное снижение фактического употребления по сравнению с потребностью на 9-е и 15-е сутки ($p$ < 0,001), что свидетельствует о хроническом дефиците фосфора даже при наращивании объема энтерального питания.

Фактическое соотношение Ca:P (1,95±0,09) приближалось к оптимальному (1,7–2:1), однако абсолютное поступление фосфора оставалось недостаточным для обеспечения адекватной минерализации костной ткани.

Таблица 3 – Потребность и фактическое потребление кальция и фосфора в динамике (M±SD)

Table 3 – Requirement and actual intake of calcium and phosphorus over time (M±SD)

| Показатель / Parameter | 6-е сутки / Day 6 | 9-е сутки / Day 9 | 15-е сутки / Day 15 |
|---|---|---|---|
| Масса тела, г / Body weight, g | 2214,55±393,80 | 2268,22±402,12 | 2411,54±431,13 |
| Объем смеси, мл / Formula volume, mL | 227,51±86,15 | 330,42±96,79* | 417,63±109,05* |
| Потребность / Requirement: | | | |
| в Ca, мг/кг / Ca, mg/kg | 398,62±70,88 | 408,28±72,38 | 434,08±77,60 |
| в P, мг/кг / P, mg/kg | 143,95±25,60 | 147,43±26,14 | 156,75±28,02 |
| Фактически / Actual intake: | | | |
| Ca, мг/кг / Ca, mg/kg | 228,34±84,71 | 323,57±97,80* | 405,08±106,51* |
| P, мг/кг / P, mg/kg | 115,90±40,91 | 164,52±48,51 | 206,96±52,50 |
| Соотношение Ca:P (факт.) / Ca:P ratio (actual) | 1,95±0,10 | 1,96±0,09 | 1,95±0,09 |

* $p < 0,05$ по сравнению с предыдущим показателем / compared with the previous time point.

* $p < 0,05$ compared with the previous time point.

Полученные данные подтверждают, что у недоношенных детей с нарушением формирования тазобедренных суставов имеется риск развития дисбаланса в системе регуляции костного ремоделирования. Снижение остеокальцина – маркера костеобразования – может отражать относительную недостаточность функции остеобластов, что особенно значимо в период активного постнатального роста скелета у недоношенных детей. Повышение ПТГ при нормальном уровне ионизированного кальция, может быть компенсаторной реакцией на субклинические нарушения фосфорно-кальциевого обмена или свидетельствовать о транзиторной резистентности тканей к действию ПТГ, характерной для незрелых детей. Повышенный уровень кальцитонина отмечался при физиологической гиперкальцитонемии недоношенных, которая может усугублять задержку кальция в костном депо и способствовать развитию остеопении при длительном сохранении.

Установленные сильные корреляционные связи между остеокальцином и ионизированным кальцием ($r = 0,82$), а также между кальцитонином и щелочной фосфатазой ($r = 0,83$) подтверждают тесную взаимозависимость изученных показателей и свидетельствуют о том, что даже при нормальных уровнях кальция и ЩФ у недоношенных детей с риском развития ортопедической патологии имелись ранние метаболические нарушения костной ткани, требующие своевременной диагностики и коррекции.

Ключевым выводом анализа питания является хронический дефицит фосфора, сохраняющийся даже к 15 суткам жизни. При том, что соотношение Ca:P (1,95) близко к оптимальному, абсолютное поступление фосфора (206,96±52,50 мг/кг/сут на 15 сутки) не достигает рекомендуемых 75–140 мг/кг/сут для детей с массой тела <1500 г [4], а для части пациентов с ЭНМТ требуется до 85 мг/кг/сут. Этот дефицит усугубляется незрелостью почечных канальцев и кишечника.

Одним из наиболее значимых открытий последних лет является понимание роли рефидинг-синдрома (синдрома возобновленного питания) в патогенезе остеопении недоношенных. Данный синдром характеризуется развитием электролитных расстройств на фоне увеличения питания у пациента с предшествующим нутритивным дефицитом, причем наиболее существенно снижается концентрация фосфора в крови, что ведет к нарушению энергообмена клетки и мультиорганной дисфункции.

В ретроспективном когортном исследовании, проведенном в отделениях интенсивной терапии новорожденных Окленда (Новая Зеландия), сравнивались две когорты детей с массой тела при рождении <1000 г. Частота рефидинг-синдрома снизилась с 11,9 % до 2,9 %, гипофосфатемии – с 53,5 % до 21,2 % после внедрения протокола раннего увеличенного поступления фосфатов с внутривенным питанием [16].

Сравнительное исследование форм фосфатов для парентерального питания показало, что глицерофосфат натрия ассоциируется с более высоким уровнем сывороточного фосфата, более низким уровнем ЩФ и меньшей частотой судорог по сравнению с неорганическим фосфатом [17]. В исследовании по внедрению парентеральных формул с повышенными концентрациями Ca и P у детей ≤28 недель гестации частота МБК снизилась с 82,8 % до 47,3 % [18].

В отношении витамина D мета-анализ 2025 года показал, что дополнительное введение витамина D в дозе 800 МЕ/сут ассоциировалось с повышением уровня 25(OH) и снижением риска дефицита по сравнению с низкими дозами

(<800 МЕ/сут) [19]. Доза 800 МЕ/сут значительно повышала уровень 25(OH)D (средняя разница 13,99 нг/мл) и снижала риск дефицита (разница рисков –0,21) без увеличения риска гипервитаминоза D [18]. Согласно обзору 2025 года, раннее начало дополнительного приема витамина D внутрь необходимо для коррекции дефицита [21].

Долгосрочное наблюдение за детьми с остеопенией в анамнезе показало, что они имеют повышенный риск низкой костной плотности в более старшем возрасте, а также более высокую частоту нарушений осанки и сколиоза [2, 7]. В нашем исследовании у 52 % недоношенных детей с нарушением формирования тазобедренных суставов регистрировались незрелые суставы, что может быть отчасти обусловлено метаболическими нарушениями костной ткани. Физическая активность признана важным компонентом профилактики и лечения остеопении [22].

Таким образом, полученные данные и обзор литературы обосновывают необходимость раннего целенаправленного восполнения фосфатов как энтерально (специализированные витаминно-минеральные комплексы с оптимальным соотношением Ca:P 1,7–2:1, содержащие витамин $D_3$ 800 МЕ/сут, магний, цинк и витамин К), так и парентерально (с использованием глицерофосфата натрия) для предотвращения рефидинг-синдрома и метаболической болезни костей.

## Заключение

У недоношенных детей с нарушением формирования тазобедренных суставов нормальные значения ионизированного кальция, щелочной фосфатазы, остеокальцина, ПТГ и кальцитонина на 5–7-е сутки жизни не исключали риска развития дисфункции остеогенеза, что определяет необходимость проведения расширенного биохимического мониторинга для раннего выявления нарушений костного метаболизма и обоснования профилактических вмешательств.

Установлена сильная прямая корреляция между остеокальцином и ионизированным кальцием ($r$ = 0,82) и между кальцитонином и щелочной фосфатазой ($r$ = 0,83), что подтверждало тесную взаимосвязь минерального обмена и костеобразования.

Фактическое потребление фосфора даже к 15-м суткам жизни сохранялось ниже физиологической потребности ($p$ < 0,001), что указывало на хронический дефицит фосфора, несмотря на оптимальное соотношение Ca:P (1,95).

Раннее целенаправленное восполнение фосфатов (энтеральное и парентеральное) позволит значительно снизить частоту рефидинг-синдрома и метаболической болезни костей, что подтверждено данными современных когортных исследований.

Разработка и внедрение специализированных витаминно-минеральных комплексов в жидкой форме с оптимальным соотношением Ca:P (1,7–2:1), содержащих витамин $D_3$ (800 МЕ/сут), магний, цинк и витамин К, является патогенетически обоснованным подходом к профилактике и лечению остеопении у недоношенных детей.

**Благодарности.** Автор выражает благодарность сотрудникам лаборатории клинической неонатологии и реабилитации новорожденных и детей 1-го года жизни Республиканского научно-практического центра «Мать и дитя» за помощь в проведении исследования. Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

### Список использованных источников

1. Сафина, А. И. Остеопения недоношенных / А. И. Сафина // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – Т. 6, вып. 6. – С. 113–118.
2. Нароган, М. В. Остеопения (метаболическая болезнь костей) у недоношенных: возможности диагностики, лечения и профилактики / М. В. Нароган, И. И. Рюмина, А. В. Степанов // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2014. – № 3. – С. 77–83.
3. Metabolic bone disease in extremely preterm infants: incidence, risk factors, and outcomes from a structured bone health program / S. S. Alsaif, M. M. Alrahili, T. Aljarbou [et al.] // Front. Pediatr. – 2025. – DOI: 10.3389/fped.2025.1676540.
4. Особенности фосфатно-кальциевого обмена у новорожденных и недоношенных детей / С. В. Мальцев, Н. Н. Архипова, Э. М. Шакирова, Т. В. Колесниченко // Практическая медицина. – 2009. – № 39. – С. 9–12.
5. Яцык, Г. В. Применение витамина D при рахите у недоношенных детей / Г. В. Яцык, И. А. Беляева, С. Ю. Шатская // Российский педиатрический журнал. – 2013. – № 5. – С. 45–49.
6. Щеплягина, Л. А. Снижение минеральной плотности кости у детей: взгляд педиатра / Л. А. Щеплягина, Т. Ю. Моисеева // Лечащий врач. – 2002. – № 9. – С. 26–30.
7. Щеплягина, Л. А. Проблемы остеопороза в педиатрии: возможности профилактики / Л. А. Щеплягина, Т. Ю. Моисеева // Русский медицинский журнал. – 2003. – Т. 11, № 27. – С. 1554–1556.
8. Metabolic Bone Disease of Prematurity: Overview and Practice Recommendations / M. Grover, A. P. Ashraf, S. A. Bowden [et al.] // Horm. Res. Paediatr. – 2025. – Vol. 98. – P. 40–50. DOI: 10.1159/000540123.
9. Practical approach to managing metabolic bone disease of prematurity in the neonatal unit / C. Forster, S. Davis, T. Flanagan [et al.] // Arch. Dis. Child. Educ. Pract. Ed. – 2024. – Vol. 09. – P. 143–146. DOI: 10.1136/archdischild-2023-326226.
10. Содержание основных регуляторов остеогенеза у недоношенных детей с нарушением формирования тазо-

бедренных суставов / Т. В. Гнедько, С. А. Берестень, Ю. В. Рожко [и др.] // Современные перинатальные медицинские технологии в решении проблем демографической безопасности: сб. науч. тр. – Минск: Медисонт, 2015. – Вып. 8. – С. 213–218.
11. Anastasopoulou, C. Calcium, Ionized. – Medscape, 2025. – URL: https://emedicine.medscape.com/article/2087469-overview (дата обращения: 18.04.2026).
12. Calcitonin, Serum (CATN). – Mayo Clinic Laboratories. – URL: https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/overview/9160 (дата обращения: 18.04.2026).
13. Alkaline Phosphatase, Serum (ALKP). – Mayo Clinic Laboratories. – URL: https://cardiology.testcatalog.org/show/ALKP (дата обращения: 18.04.2026).
14. Van Leeuwen, A. M. Parathyroid Hormone / A. M. Van Leeuwen, M. L. Bladh // Davis's Lab & Diagnostic Tests. – 10th ed. – F. A. Davis Company, 2023. – URL: https://nursing.unboundmedicine.com/nursingcentral/view/Davis-Lab-and-Diagnostic-Tests/425422/all/Parathyroid_Hormone (дата обращения: 18.04.2026).
15. Reference limits for osteocalcin in infancy and early childhood: A longitudinal birth cohort study / S. S. Berggren, J. Dahlgren, O. Andersson [et al.] // Clin. Endocrinol. – 2024. – Vol. 100, № 4. – P. 399–407. DOI: 10.1111/cen.15036.
16. Association between early phosphate intake and refeeding syndrome in extremely low-birth-weight infants / T. B. Wright, C. T. Collins, M. Makrides [et al.] // JPEN J. Parenter. Enteral Nutr. – 2025. – Vol. 49, № 4. – P. 460–467. DOI: 10.1002/jpen.2710.
17. Sodium Glycerophosphate vs. Inorganic Phosphate Use in Parenteral Nutrition for Preterm Infants / J. T. Chang, H. C. Lee, H. S. Kim [et al.] // Children (Basel). – 2025. – Vol.12. – P. 2–29 DOI: 10.3390/children12030218.
18. Implementation of Parenteral Nutrition Formulations with Increased Calcium and Phosphate Concentrations and Its Impact on Metabolic Bone Disease in Preterm Infants / S. Sureshchandra, S. Desai, S. Patil [et al.] // Children (Basel). – 2025. – Vol. 12(2). – P. 1–14. DOI: 10.3390/children12020256.
19. Short-term and long-term effects of vitamin D supplementation for preterm infants: a systematic review and meta-analysis / S. H. Shin, E. K. Kim, Y. Y. Choi [et al.] // J Perinatol. – 2025. – Vol. 46(3). – P. 425–436. DOI: 10.1038/s41372-025-02440-9.
20. Improving Vitamin D Status in Preterm Newborns: A Randomized Trial of 800 vs. 400 IU/Day // J Perinatol. – 2025. – Vol.30. – P.18-88. DOI: 10.1038/s41372-025-02440-9.
21. Vitamin D: What We Know and What We Still Do Not Know About Vitamin D in Preterm Infants – A Literature Review / I. A. Radu, I. Munteanu, C. Popescu, S. M. Stoicescu // Children (Basel). – 2025. – Vol. 12. – P. 392. DOI: 10.3390/children12030392.
22. Palma, H. M. Physical exercise in the prevention and rehabilitation of Osteopenia in premature infants and children with Down Syndrome: a systematic review / H. M. Palma, L. M. R. Siveira, J. Dionisio // ABCS Health Sci. – 2025. – Vol. 50. – P. 25–31. DOI: 10.7322/abcshs.2023114.2387.

## References

1 Safina AI. Osteopeniia nedonoshennikh [Osteopenia in premature infants]. *Vestn Sovrem Klin Med*. 2013; 6(6): 113-118. (In Russian)
2 Narogan MV, Ryumina II, Stepanov AV. Osteopeniia (mezabolicheskaiia bolez' kostei) u nedonoshennykh: vozmozhnosti diagnostiki, lecheniia i profilaktiki [Osteopenia (metabolic bone disease) in preterm infants: possibilities of diagnostics, treatment and prevention]. *Neonatologiya: novosti, mneniya, obuchenie*. 2014;(3):77–83. (In Russian)
3 Alsaif SS, Alrahili MM, Aljarbou T, Alshareef H, Alqahtani S, Alahmadi M, Alghamdi A, Aljabri M. Metabolic bone disease in extremely preterm infants: incidence, risk factors, and outcomes from a structured bone health program. *Front Pediatr*. 2025. DOI: 10.3389/fped.2025.1676540.
4 Maltsev SV, Arkhipova NN, Shakirova EM, Kolesnichenko TV. Osobennosti fosfatno-kaltsievogo obmena u novorozhdennykh i nedonoshennykh detei. [Features of phosphate-calcium metabolism in newborns and premature newborns]. *Prakticheskaya meditsina*. 2009;(39):9–12. (In Russian)
5 Yatsyk GV, Belyaeva IA, Shatskaya SYu. Primenenie vitamina D pri rakhte u nedonoshennykh detei. Rossiiskii pediatriicheskii zhurnal. [Exchange of vitamin D and features rickets in premature infants]. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal*. 2013;(5):45–49. (In Russian)
6 Shcheplyagina LA, Moiseeva TYu. Snizhenie mineralnoi plotnosti kosti u detei: vzglyad pediatra. Lechashchii vrach. [Decreased bone mineral density in children: a pediatrician's view]. *Lechashchiy vrach*. 2002;(9):26–30. (In Russ.) Shopliagina LA, Moiseeva TYu. 2002;(9):26-30. (In Russian)
7 Shcheplyagina LA, Moiseeva TYu. Problemy osteoporoza v pediatrii: vozmozhnosti profilaktiki. Russkii meditsinskii zhurnal. [Problems of osteoporosis in pediatrics: possibilities of prevention]. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. 2003;11(27):1554–1556. (In Russian)
8 Grover M, Ashraf AP, Bowden SA, Kaushal T, Mullen B. Metabolic Bone Disease of Prematurity: Overview and Practice Recommendations. *Horm Res Paediatr*. 2025;98(1):40–50. DOI: 10.1159/000540123.
9 Forster C, Davis S, Flanagan T, Wright T. Practical approach to managing metabolic bone disease of prematurity in the neonatal unit. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2024. DOI: 10.1136/archdischild-2023-326226.
10 Gnedko TV, Beresten SA, Rozhko YuV, Kapura NG, Mezyan SM. Problemy osteoporoza v pediatrii: vozmozhnosti profilaktiki. Russkii meditsinskii zhurnal. [Content of the main regulators of osteogenesis in premature infants with impaired formation of the hip joints]. In: *Sovremennye perinatal'nye meditsinskie tekhnologii v reshenii problem demograficheskoy bezopasnosti*. Minsk: Medisont; 2015;8:213–218. (In Russian)
11 Anastasopoulou C., Teruya J. Calcium, Ionized. *Medscape*. Updated July 24, 2025. Accessed April 18, 2026 https://emedicine.medscape.com/article/2087469-overview
12 Calcitonin, Serum (CATN). *Mayo Clinic Laboratories*. Accessed April 18, 2026. https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/overview/9160
13 Alkaline Phosphatase, Serum (ALKP). *Mayo Clinic Laboratories*. Accessed April 18, 2026 https://cardiology.testcatalog.org/show/ALKP
14 Van Leeuwen A.M., Bladh M.L. Parathyroid Hormone. In: *Davis's Lab & Diagnostic Tests*. 10th ed. F.A. Davis Company; 2023. Accessed April 18, 2026 https://nursing.unboundmedicine.com/nursingcentral/view/Davis-Lab-and-Diagnostic-Tests/425422/all/Parathyroid_Hormone
15 Berggren SS, Dahlgren J, Andersson O, Bergman S, Roswall J. Reference limits for osteocalcin in infancy and early childhood: A longitudinal birth cohort study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2024;100(4):399–407. DOI: 10.1111/cen.15036.
16 Wright TB, Collins CT, Makrides M, Gibson RA, McPhee AJ. Association between early phosphate intake and refeeding syndrome in extremely low-birth-weight infants. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2025;49(4):460–467. DOI: 10.1002/jpen.2710.

17 Chang JT, Lee HC, Kim HS, Park JH. Sodium Glycerophosphate vs. Inorganic Phosphate Use in Parenteral Nutrition for Preterm Infants. *Children (Basel)*. 2025. DOI: 10.3390/children12030218.
18 Sureshchandra S, Desai S, Patil S, Kulkarni R. Implementation of Parenteral Nutrition Formulations with Increased Calcium and Phosphate Concentrations and Its Impact on Metabolic Bone Disease in Preterm Infants. *Children (Basel)*. 2025. DOI: 10.3390/children12020256.
19 Shin SH, Kim EK, Choi YY, Lee JA, Kim MJ. Short-term and long-term effects of vitamin D supplementation for preterm infants: a systematic review and meta-analysis. *J Perinatol*. 2025. DOI: 10.1038/s41372-025-02440-9.
20 Improving Vitamin D Status in Preterm Newborns: A Randomized Trial of 800 vs. 400 IU/Day. *J Perinatol*. 2025. DOI: 10.1038/s41372-025-02440-9.
21 Radu IA, Munteanu I, Popescu C, Stoicescu SM. Vitamin D: What We Know and What We Still Do Not Know About Vitamin D in Preterm Infants – A Literature Review. *Children (Basel)*. 2025;12(3):392. DOI: 10.3390/children12030392.
22 Palma HM, Siveira LMR, Dionisio J. Physical exercise in the prevention and rehabilitation of Osteopenia in premature infants and children with Down Syndrome: a systematic review. ABCS Health Sci. 2025;50:e025301. doi: 10.7322/abcshs.2023114.2387.

# DISORDER OF PHOSPHORUS-CALCIUM METABOLISM IN PREMATURE INFANTS, PREVENTION OF REFEEDING SYNDROME AND OSTEOPENIA

*T. V. Hnedzko*

*National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

**Background.** Preterm infants are at high risk of developing osteopenia (metabolic bone disease) due to organ immaturity, nutrient deficiency, and high postnatal growth rates.

**Objective.** To study the features of phosphorus-calcium metabolism in preterm infants with impaired hip joint formation, to assess actual calcium and phosphorus intake, and to substantiate the need for early phosphate correction in the context of refeeding syndrome prevention.

**Material and Methods.** 60 preterm newborns with impaired hip joint formation were examined. All children underwent determination of biochemical markers of bone metabolism (ionized calcium, parathyroid hormone, alkaline phosphatase, calcitonin, osteocalcin), and analysis of actual calcium and phosphorus intake on days 6, 9 and 15 of life.

**Results.** Preterm infants with impaired hip joint formation have been found to be at risk for osteogenesis dysfunction. This necessitates expanded biochemical monitoring, including osteocalcin, PTH, and calcitonin, for the early detection of bone metabolism disorders. The actual phosphorus intake by day 15 of life remained below the physiological requirement ($p < 0.001$). The Ca:P ratio was 1.95±0.09. Based on a review of current data, early increased phosphate intake reduces the incidence of refeeding syndrome from 11.9 % to 2.9 % and metabolic bone disease from 82.8 % to 47.3 %.

**Conclusion.** Preterm infants with impaired hip joint formation have a chronic phosphorus deficiency despite the Ca:P ratio approaching the optimal range. Early targeted phosphate repletion is a pathogenetically justified strategy for the prevention of osteopenia and refeeding syndrome.

**Keywords:** preterm infants, osteopenia, metabolic bone disease, calcium, phosphorus, refeeding syndrome, vitamin D, vitamin-mineral complex.

**For citation:** Hnedzko TV. Disorder of phosphorus-calcium metabolism in premature infants, prevention of refeeding syndrome and osteopenia. *Biochemistry and molecular biology.* 2026, vol. 5, no. 1(8), pp. 13–19. (In Russian)

*Поступила 17.04.2026*

УДК 578.23:575.224.4:547.96:616.345-006.6

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДНК ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРР В ЭКЗОНАХ ГЕНОВ *hMLH1* И *hMSH2*

*О. Е. Кузнецов[1], А. Ю. Павлюковец[2], О. А. Горустович[2]*

*[1]Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, г. Гродно, Республика Беларусь*

*[2]Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь*

**Введение.** Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) и рак толстой кишки (РТК) являются значимыми причинами смерти от рака во всем мире, по оценкам Международного агентства по исследованию рака (IARC). Возбудители инфекционных болезней играют важную роль в этиологии многих заболеваний, в том числе и злокачественных опухолей. Канцерогенез характеризуется фенотипически различными стадиями.

**Цель исследования.** Разработать способ и набор для определения ДНК вируса Эпштейна-Барр в экзонах генов *hMLH1* и *hMSH2.*

**Материалы и методы.** Молекулярно-генетическое исследование образцов на наличие мутаций в гене *hMLH1* / *hMSH2* и ДНК VEB, проведено методом ПЦР-анализа в сравнении с методом прямого секвенирования. Исследованы образцы тканей опухолевой природы пациентов ($n$ = 19, их них 47,4 % принадлежали лицам мужского пола) с диагностированным и морфологически подтвержденным РТК ($n$ = 16) и ГЦК ($n$ = 3). Синтез праймеров для выявления ДНК вируса и мутаций по разработанной последовательности нуклеотидов осуществлен отечественным производителем. Статистическая обработка данных выполнена с применением пакета прикладных статистических программ.

**Результаты.** Результаты исследования генетических изменений (мутаций) генов *hMLH1/hMSH2* (рак верхнеампулярного отдела прямой кишки) выполненные предложенным способом, позволили установить наличие генетических изменений в искомой последовательности гена *hMLH1* (экзон 11, экзон 8). В детектируемых фрагментах ДНК гена проведено определение ДНК вируса Эпштейн-Барр, по результатам которого установлено, что в ДНК мутаций гена *hMLH1* детектирован генетический материал вируса. Таким образом, на основании разработанных праймеров возможно получение достаточного количества искомой ДНК детектируемой мутации генов *hMLH1/hMSH2* и выявление встроенного в генетический материал ДНК VEB, что позволяет расценивать геном вируса как онкогенный (причинно-следственная связь развития мутации).

**Заключение.** Предлагаемый способ определения ДНК VEB в экзонах генов *hMLH1*/*hMSH2* человека и набор для его осуществления на основе разработанных последовательностей нуклеотидных оснований дает возможность получить ДНК и детектировать генетический материал вируса в экзонах генов при наличии мутаций, что позволяет на основании причинно-следственной связи развития мутации спрогнозировать возможный риск развития злокачественного новообразования.

**Ключевые слова:** гепатоцеллюлярная карцинома, рак толстой кишки, мутации, вирус.

**Для цитирования:** Кузнецов, О. Е. Определение ДНК вируса Эпштейна-Барр в экзонах генов hMLH1 и hMSH2 / О. Е. Кузнецов, А. Ю. Павлюковец, О. А. Горустович // Биохимия и молекулярная биология. – 2026. – Т. 5, № 1(8). – С. 20–26.

## Введение

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) и рак толстой кишки (РТК) являются значимыми причинами смерти от рака во всем мире, по оценкам Международного агентства по исследованию рака (IARC) [1]. Их распространенность значительно различается в зависимости от этнической принадлежности или региона [2, 3], что зависит от распространенности вирусных инфекций.

Наиболее важным этиологическим фактором является вирусная инфекция, (ДНК/РНК вирусов), а также алкогольное поражение печени, в основном в западных странах. Вирусная инфекция и метаболический стресс вызывают повреждение тканей (печень: жировая дистрофия, гепатит, цирроз; толстый кишечник: высокоонкогенные типы вируса паппиломы человека и др.), что создает предраковые условия для развития рака посредством регенерации или обновления клеточного цикла и воспалительной среды. Сообщается, что хроническое воспаление, вирусная инфекция и регенерация вызывают генетические и эпигенетиче-

ские повреждения генома [4]. Большинство случаев рака постепенно развиваются из предраковых стадий путем накопления генетических изменений. Соответственно, сильно поврежденная ткань чрезвычайно восприимчива к множественным опухолям.

Несмотря на недавний прогресс в диагностических и терапевтических методах, пятилетняя выживаемость при РТК и ГЦК по-прежнему составляет невысокой – 21–61 % [5]. Характерной чертой рака является высокая частота рецидивов или множественных очагов на фоне сильного канцерогенного воздействия, например, хронических вирусных инфекций. Поэтому активно ведется поиск новых методов лечения, включая молекулярную терапию для неоперабельных случаев, и профилактических стратегий, основанных на биологических особенностях и молекулярном профиле каждого пациента.

Возбудители инфекционных болезней играют важную роль в этиологии многих заболеваний, в том числе и злокачественных опухолей. Канцерогенез характеризуется фенотипически различными стадиями. Этот ступенчатый процесс сопровождается активацией транскрипции ряда онкогенов, а также уменьшением или полной потерей транскрипционной активности, так называемых, генов-супрессоров опухолевого роста. Это изменение может быть определено с помощью обратной транскрипции с последующей стандартной полимеразной цепной реакцией (стандартный, полуколичественный метод ОТ-ПЦР) или полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) – способ количественной оценки активности генов, определяемой по количеству мРНК, транскрибируемой с ДНК этих генов на клетку опухоли.

Известно, что вирус Аппштейна-Барра является онкогенным. В зависимости от набора экспрессируемых вирусных генов в пораженных клетках выделяют три типа латентности (I, II, III), характерные для различных видов лимфом: I тип – экспрессия EBNA-1 при VEB-положительной лимфоме Беркитта; II тип – экспрессия EBNA-1, LMP-1 и LMP-2 и является признаком VEB-положительной ходжкинской лимфомы, III тип – экспрессия всего набора белков VEB, наблюдается при лимфопролиферативных поражениях, возникающих у пациентов с тяжёлым иммунодефицитом. Индуцированные VEB злокачественные новообразования связаны с экспрессией латентных генов. Новообразования развиваются при комплексном взаимодействии VEB, иммуногенетических факторов, внешней среды и иммунодефицита [6, 7].

Инновации в технологиях секвенирования ДНК (NGS) и вычислительный анализ этих огромных массивов данных позволили нам анализировать комплексный профиль генома и транскриптома рака в больших масштабах. Такой подход позволяет быстро выявлять потенциальные генетические события, особенно потенциальные молекулярные терапевтические мишени при раке. Наряду с применением технологий NGS в исследованиях рака, были созданы международные или национальные сети исследований генома рака для эффективного продвижения секвенирования генома рака и обмена высококачественными данными между учеными, такие как Международный консорциум генома рака (ICGC) и Атлас генома рака (TCGA) в США. В рамках этих проектов были собраны образцы с различным эпидемиологическим (вирусы и алкоголь) и этническим (японцы, китайцы, американцы и французы) фоном, и интеграция этих огромных массивов данных обеспечивает гораздо более четкое понимание связи между молекулярными или генетическими особенностями и эпидемиологическими, экологическими и этническими факторами при раке печени. Кроме того, в настоящее время технология NGS используется для клинического секвенирования или в клинической практике в качестве прецизионной медицины при лечении рака, которая анализирует и идентифицирует гены или мутации в перечисленных генах, поддающиеся лечению, и включает пациентов с определенными мутациями в клинические испытания.

Не все варианты молекулярно-биологических исследований ДНК и мутаций генов, включенные в базы данных общего доступа, тщательно валидированы. Функциональный анализ доступен не во всех лабораториях и не является поточным, имеются отличия при его проведении: такие как различные модельные системы или оценка по разным параметрам функционирования системы, что приводит зачастую к трудностям в трактовке и читаемости результатов [8, 9].

Учитывая многообразие населения Беларуси, любопытным фактом является наличие в нашей стране выраженного «эффекта основателя». В частности, анализ генов с признаками наследственного рака, в различных, удаленных друг от друга регионах страны, мог бы раскрыть данный «эффект» и показать, какие мутации преобладают в генах притом или ином раке. Ожидается, что и для пациентов с раком толстой кишки (РТК) и гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК) удастся обнаружить повторяющиеся варианты нуклеотидных последовательностей.

**Цель исследования.** Разработать способ и набор для определения ДНК вируса Эпштейна-Барр в экзонах генов *hMLH1* и *hMSH2*.

## Материалы и методы

Молекулярно-генетическое исследование образцов на наличие мутаций в гене *hMLH1* / *hMSH2* и ДНК вируса Эпштейн-Барр (VEB), проведено методом ПЦР-анализа в сравнении с методом прямого секвенирования. Выделение и амплификация выделенной ДНК из тканей опухолей проводилось посредством разработанного протокола в полу- и автоматическом режиме на амплификаторе-термоциклере Rotor-Geen (QIAGEN, Германия), CFX96 (BIO-RAD, США) и секвенаторе (Illumina, Inc., США) с последующей детекцией.

Оригинальность метода заключалась в новой оценке последовательностей нуклеотидных оснований генов *hMLH1*/*hMSH2* и VEB, позволившей выделить новые варианты последовательностей на основе праймеров (первичной и обратной транскрипции) для всех описанных и клинически оцененных экзонов гена и вирусного генома.

В исследование, с целью оценки метода, включены образцы тканей опухолевой природы от пациентов: $n = 19$; их них 47,4 % принадлежали лицам мужского пола) с диагностированным и морфологически подтвержденным РТК ($n = 16$) и ГЦК ($n = 3$); этническая принадлежность – 9 русских, 8 белорусов, 2 поляка. Для выбора образцов была использована информация, содержащаяся в историях и эпикризах болезни пациентов: наличие у них основных клинических факторов риска развития онкологического заболевания [10, 11]. Средний возраст пациентов составил 60,07±11,5 лет (31,0–77,0). Большинство пациентов находились в возрастной группе старше 50 лет (88,4 %), доля лиц, возраст, которых был менее 50 лет, составила 11,6 %. Количество мужчин – 37 %, женщин – 63 %. Для оценки значимости обнаруживаемых мутаций использовалась информация, специализированных баз данных: InSiGHT (International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumors) http://www.insightgroup.org/mutations/ и Mismatch Repair Genes Variant Database http://www.med.mun.ca/mmrvariants/.

Синтез праймеров для выявления ДНК вируса и мутаций в генах по разработанной последовательности нуклеотидов осуществлен отечественным производителем. Для статистической обработки данных использовали стандартный пакет прикладных статистических программ STATISTICA и методы доказательной медицины.

## Результаты и их обсуждение

Разработан оригинальный способ определения ДНК VEB в экзонах гена *hMLH1* и *hMSH2* методом ПЦР в образце биологического материала, относящийся к области биологии, а именно к молекулярной биологии, и может быть использован для обнаружения ДНК вируса в мутантных экзонах генов *hMLH1* и *hMSH2* в нормальных и опухолевых клетках и тканях, а также образцах плазмы крови.

Известны способы определения мутаций в экзонах гена *hMLH1 / hMSH2*, включающие получение образца биологического материала от пациентов, выделение ДНК из указанного образца и проведение ПЦР с использованием набора праймеров. Однако нет известных способов определения вирусной ДНК в генах, со специфическими изменениями в ДНК, являющимися генами-супрессорами опухолей, участвующим в репарации ДНК, и неправильная работа которых может привести к раку.

Разработанный способ определения ДНК вируса Эпштейна-Барр в экзонах гена *hMLH1 / hMSH2* в образце биологического материала, разработан с целью подтверждения специфических изменений в ДНК гена *hMLH1* и *hMSH2* посредством возможного встраивания в структура мутантного гена ДНК вируса Эпштейна-Барр.

Для проведения анализа использовали биоптатный материал нормальной или пораженной опухолью ткани, полученный при оперативных вмешательствах, образцы плазмы крови. Выделение геномной ДНК из образцов ткани, а также плазмы крови пациентов выполняли стандартными методами с использованием коммерчески доступных тест-систем. Проводили стандартный ПЦР анализ, в котором детектировали амплифицируемый фрагмент экзона (метод гель-электорофореза). Молекулярно-генетическое исследование образцов ДНК на наличие мутаций в генах *hMLH1/hMSH2* проводили методом ПЦР-анализа: амплификацию ДНК выполняли по протоколу в автоматическом режиме на амплификаторе с применением последовательностей нуклеотидных оснований – праймеров, специфические транскрипты которых расположены в экзонах исследуемого гена [12]. Новизной является то, что при помощи ПЦР проводят амплификацию образцов детектированных экзонов генов *hMLH1/hMSH2* по разработанному протоколу в автоматическом режиме с применением разработанных последовательностей нуклеотидных оснований вируса Эпштейн-Барр.

Специфичность разработанных праймеров сравнивали с нормальной последовательностью ДНК гена VEB и генов *hMLH1/hMSH2* с имеющимися мутациями и с последовательностью ДНК вирусов с использованием международной базы данных генома BLAST Assembled Genomes http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi# – праймер (последовательность, прямой – «F», обратный – «R») – размер фрагмента, пары нуклеотидов (п.н.).

Нуклеатидные последовательности ДНК вируса Эпштейн-Барр:

- первичный праймер -1 (Forward-1, F): AGTCAGACCTGAAGGAAGTCG;
- первичный праймер – 2 (Forward-2, F): TGTAAAACGACGGCCAGTAGTCAGACCTGAAGGAAGTCG;
- обратный праймер -1 (Reverse-1, R): TGACTCAAATTCGCATGTCTGTGTA;
- обратный праймер – 2 (Reverse-2, R): CAGGAAACAGCTATGACCTGACTCAAATTCGCATGTCTGTGTA.

Разработанный оригтнальный протокол исследования:

- 10 мкл выделенного и тестируемого ДНК экзона гена *hMLH1/hMSH2* добавляли в реакционную смесь, состоящую из 10 мкл ПЦР-смеси-1 FL вируса, 5 мкл ПЦР- смеси-2-FRT, 0,3 мкл полимеразы TaqF и праймеры;
- на амплификаторе проводили амплификацию ДНК экзонов генов в следующем режиме: 1 цикл амплификации при температуре 95 °С в течение 15 мин, 5 последовательных циклов при 95 °С по 5 с, 1 цикл при 60 °С – 20 с, 1 цикл при 72 °С – 15 с, 40 последовательных циклов при 95 °С по 5 с, 1 цикл при 60 °С – 20 с, 1 цикл при 72 °С – 15 с;
- осуществляли гибридизационно-флуоресцентную детекцию продуктов амплификации в режиме рального времени и, если указанные праймеры специфически гибридизировались с ДНК экзонов генов, образуя с амплифицируемой ДНК устойчивое соединение, детектируемое в процессе ПЦР-реакции (выполняли измерение флюоресценции по каналам FAM, JOE, ROX, осуществляли положительный и отрицательный контроль).

Если праймеры вируса специфически гибридизировались с ДНК детектированных экзонов гена *hMLH1/hMSH2* и образовывали с амплифицируемой ДНК устойчивое соединение, детектируемое в процессе ПЦР-реакции, констатировали факт присутствия в мутации экзона гена вирусной ДНК VEB. При отсутствии детектируемого фрагмента образца ДНК вируса (и/или несоответствии искомому молекулярному весу пар оснований при детекции результата реакции), констатировали отсутствие вируса (врусной ДНК) в образцах ДНК генов *hMLH1/hMSH2*.

Разработка праймеров осуществлялась таким образом, чтобы они специфически гибридизовались с кДНК, которая образует с амплифицируемой ДНК устойчивое соединение, (УФ-излучение, длина волны 230–300 нм). Для подбора праймеров и температур отжига реакции использовали коммерчески доступные программы: Oligo, версия 6.42; PrimerSelect из пакета Lasergene; Primer5, Primers3, EasyExonPrimer (Wu X., Munroe D.J. 2006, EasyExonPrimer: Automated Primer Design for Exon Sequences. Appl Biomformatics. 5, 119-120), ExPrimer (Sandhu K.S., Acharya K.K. 2005. ExPrimer: to design primers from exon-exon junctions. Bioinformatics. 21, 2091-2092), PerlPrimer, FastPCR (www.biocenter.helsinki.fi/bi/Programs./fastpcr.htm), PrimerQuest (www.scitools.idtdna.com/Primerquest). Длина праймеров выбрана в диапазоне 12–28 пар нуклеотидов (п.н.).

Процесс амплификации и детекции вирусной ДНК выполняют с использованием комплекта реагентов для амплификации и количественного определения ДНК/РНК вируса человека с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

Технология постановки реакции ПЦР (выявление и определение ДНК/РНК вируса в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией):

тестируемое ДНК экзона гена *hMLH1/hMSH2* – 10 мкл

ПЦР смесь (для 1 реакции):

1. ПЦР-смесь-1-FL вируса – 6,0 мкл
2. ПЦР-смесь-2-FRT – 0,3 мкл
3. TaqF полимераза – 0,3мкл
4. 10Х ТБЕ буфер – 2,5 мкл
5. 25mM MgCl2 – 1,5 мкл
6. 10mM dNTP – 0,25 мкл
7. Вода для молекулярно-биологических исследований, свободная от ДНКаз и РНКаз – 10,45 мкл
8. Праймеры вируса: «прямой» – 1,0 мкл, «обратный» – 1,0 мкл
9. Отрицательный контрольный образец (ОКО) – 10,0 мкл
10. Положительный контрольный образец (ПКО) – 1,0 мкл.

Общий объем реакционной смеси – 25 мкл, включая объем пробы ДНК – 10 мкл.

Аналитическая чувствительность предлагаемого способа: 5 копий ДНК вируса на $10^5$ клеток.

Приготовление рабочего реагента: смешать ПЦР-смесь-1 FL вируса и смесь ПЦР-смеси-2-FRT и полимеразы (TaqF): 10 мкл ПЦР-смеси-1-FL, 5 мкл смеси ПЦР-смеси-2-FRT и полимеразы (TaqF). К реакционной смеси рабочего реагента добавляют 10 мкл тестируемого ДНК экзона гена *hMLH1/hMSH2*, полученной в результате амплификации образцов.

Выполняют программирование амплификатора (термоциклера) и проведение амплификации осуществляется по следующему протоколу: 1 цикл (hold / удержание температуры) – 95 °С – 15 мин; 5 последовательных циклов в 95 °С – 5 с, 60 °С – 20 с, 72 °С – 15 с; 40 последовательных циклов в 95 °С – 5 с, 60 °С – 20 с, 72 °С – 15 с. Разделение продуктов амплификации производят в режиме реального времени. Измерение флюоресценции выполняют по каналам FAM, JOE, ROX. Для тестирования даже одного исследуемого образца ДНК необходимо проводить постановку двух контрольных проб амплификации ПЦР: положительный и отрицательный контроль.

Полученные данные (наличие или отсутствие ДНК/РНК вирусного агента) – кривые накопления флуоресцентного сигнала по двум каналам – анализируются с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». По каналу – FAM/ROX регистрируется накопление продукта амплификации участка ДНК внутреннего контрольного образца (ВКО), по каналу JOE – ДНК/РНК вируса (ПКО вируса и ДНК человека). При экстракции тотальной ДНК из суспензии клеток (цельная кровь, лейкоциты крови, биоптаты) учитываются результаты по двум каналам: по каналу – FAM – регистрируется накопление продукта амплификации участка ДНК ВКО, по каналу JOE – ДНК/РНК вируса (ПКО вируса и ДНК человека).

Для доказательства возможности осуществления способа определения ДНК вируса в экзонах генов *hMLH1* и *hMSH2* проведены молекулярно-генетические исследования биологического материала in vitro. В ходе проведения реакции выделения ДНК получено достаточное количество генетического материала для проведения исследования с молекулярным весом, достаточным для проведения реакций детекции мутаций в генах и вирусного генома по предложенному способу.

Результаты полученной детекции методом ПЦР в режиме реального времени представлены на рисунке 1.

*а* *б*

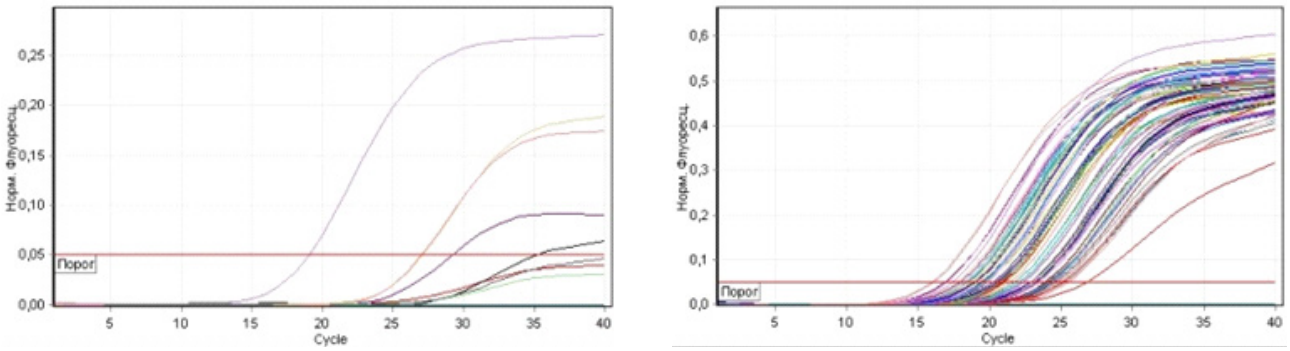



Рисунок 1 – Детекция ДНК вируса Эпштейн-Барр в ДНК экзонов гена *hMLH1/hMSH2*:
*а* – детекция ДНК VEB в ДНК экзонов гена *hMLH1/hMSH2* – Cycling A.Green; *б* – детекция ДНК VEB в ДНК экзонов гена *hMLH1/hMSH2* (Cycling A.Yellow, конроль)

Figure 1 – Detection of Epstein-Barr virus DNA in the DNA of the hMLH1/hMSH2 gene exons:
*a* – detection of VEB DNA in the DNA of the hMLH1/hMSH2 gene exons – Cycling A.Green; *b* – detection of VEB DNA in the DNA of the hMLH1/hMSH2 gene exons (Cycling A.Yellow, control)

Как видно на рисунке, в результате проведенного исследования установлено, что на основании разработанных праймеров возможно получение достаточного количества искомой ДНК детектируемой мутации генов *hMLH1/hMSH2* и выявлен встроенный в нее генетический материал вируса VEB, что позволяет расценивать геном вируса как онкогенный (причинно-следственная связь развития мутации).

Результаты исследования генетических изменений (мутаций) генов *hMLH1/hMSH2* (женщина, рак верхнеампулярного отдела прямой кишки) выполненные предложенным способом, позволили установить наличие генетических изменений в искомой последовательности гена *hMLH1* (экзон 11, экзон 8). В детектируемых фрагментах ДНК гена проведено определение ДНК вируса Эпштейн-Барр, по результатам которого установлено, что в

ДНК мутаций гена *hMLH1* детектирован генетический материал вируса (рисунок 1, таблица 1).

Таблица 1 – Результаты детекции ДНК VEB в ДНК экзонов гена *hMLH1*

Table 1 – Results of VEB DNA detection in DNA of hMLH1 gene exons

| Данные | | Для Cycling A.Green | для Cycling A.Yellow (конроль) |
|---|---|---|---|
| 4 | Образец | 29,19 | 16,90 |
| 43 | Образец | 35,17 | 23,24 |
| 45 | Образец | 27,15 | 19,82 |
| 50 | Образец | 19,09 | 17,43 |
| 72 | K+ | 27,06 | 25,51 |

Как видно из таблицы 1, полученные результаты удовлетворяют требованиям качества детекции: выделена ДНК, детектированы изменения гена *hMLH1*, выполнен поиск мутаций экзонов, оценен молекулярный вес детектируемых фрагментов гена, определено ДНК вирусного происхождения.

## Заключение

Предлагаемый и апробированный способ способ определения ДНК вируса Эпштейн-Барр в экзонах генов *hMLH1* и *hMSH2* человека и набор для его осуществления на основе разработанных последовательностей нуклеотидных оснований (праймеров) дает возможность получить достаточное количество ДНК и детектировать генетический материал вируса в экзонах генов при наличии мутаций, что позволяет на основании причинно-следственной связи развития мутации спрогнозировать возможный риск развития злокачественного новообразования. Способ применим для образцов тканей опухолевой и неопухолевой природы, а также образцов плазмы крови при подозрении на наличие опухоли.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список использованных источников


1. ARID2 modulates DNA damage response in human hepatocellular carcinoma cells / A. Oba, S. Shimada, Y. Akiyama [et al.] // Journal of Hepatology. – 2017. – Vol. 66, N 5. – P. 942–951, https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.12.026.
2. Functional outcomes of surgery for colon cancer: A systematic review and meta-analysis / S. J. Verkuijl, J. E. Jonker, M. Trzpis [et al.] // Eur J Surg Oncol. – 2021 – Vol.47, N5. – P.960-969. doi:10.1016/j.ejso.2020.11.136.
3. Global prevalence of metabolic dysfunction-associated fatty liver disease-related hepatocellular carcinoma: A systematic review and meta-analysis / H. Crane, G. D. Eslick, C. Gofton [et al.] // Clin Mol Hepatol. – 2024. – Vol. 30, N3. – P. 436–448. doi: 10.3350/cmh.2024.0109.
4. Viral-Human Chimeric Transcript Predisposes Risk to Liver Cancer Development and Progression / C. C. Lau, T. Sun, A. K. K. Ching [et al.]// Cancer Cell. – 2014. – Vol. 25. – P. 335–349. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.01.030
5. Итоги работы онкологической службы в республике Беларусь в 2022 году / С. Л. Поляков, П. И. Моисеев, А. Е. Океанов [и др.] // Вопросы онкологии. – 2023. – Т. 69, № 3. – С. 265–266.
6. Delecluse, H. Epstein-Barr virus-associated tumors: an update for the attention of the working pathologist / H. Delecluse // J Clin Pathol. – 2007. – Vol. 60. – P. 1358–1364.
7. Saha, A. Robertson E.S. Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphomas: pathogenesis and clini cal outcomes / A. Saha, E. S. Robertson // Clin Cancer Res. – 2011. – Vol. 17. – P. 3056–3063.
8. Nakagawa, H. Genome sequencing analysis of liver cancer for precision medicine / H. Nakagawa, M. Fujita, A. Fujimoto // Semin Cancer Biol. – 2019. – Vol. 55. – P. 120–127. doi:10.1016/j.semcancer.2018.03.004.
9. Single-cell exome sequencing reveals polyclonal seeding and TRPS1 mutations in colon cancer metastasis / J. Cai, W. Zhang, Y. Lu [et al.] // Signal Transduct Target Ther. – 2024. – Vol. 9, N 1. – P. 24–47. doi: 10.1038/s41392-024-01960-8.
10. Preoperative Microvascular Invasion Prediction to Assist in Surgical Plan for Single Hepatocellular Carcinoma: Better Together with Radiomics / X. P. Xeng, T. Y. Tang, Z. M. Ding [et al.] // Ann Surg Oncol. – 2022. – Vol. 29, N 5. – P. 2960–2970. doi:10.1245/s10434-022-11346-1.
11. The rising tide of early-onset colorectal cancer: a comprehensive review of epidemiology, clinical features, biology, risk factors, prevention, and early detection / S. G. Patel, J. J. Karlitz, T. Yen [et al.] // Lancet Gastroenterol Hepatol. – 2022. – Vol. 7, N3. – P. 262–274. doi:10.1016/S2468-1253(21)00426-X. PMID: 35090605.
12. Горчакова, О. В. Метод выявления мутаций в гене hMLH1 при опухолях кишечника / О. В. Горчакова, О. Е. Кузнецов // Медицинские новости. – 2019. – № 2(293). – С. 76–79.


### References


1 Atsushi O, Shimada S, Yoshimitsu A, Taketo N, Kaoru M, Hiromitsu I, Satoshi M, Arihiro A, Yusuke M, Daisuke B, Takanori O, Atsushi K, Hiroshi A, Atsushi K, Masahiko M, Minoru T, Shinji T. ARID2 modulates DNA damage response in human hepatocellular carcinoma cells. *Journal of Hepatology*. 2017;66(5):942-951, https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.12.026

2 Verkuijl SJ, Jonker JE, Trzpis M, Burgerhof JGM, Broens PMA, Furnée EJB. Functional outcomes of surgery for colon cancer: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol*. 2021;47(5):960-969. doi: 10.1016/j.ejso.2020.11.136.

3 Crane H, Eslick GD, Gofton C, Shaikh A, Cholankeril G, Cheah M, Zhong JH, Svegliati-Baroni G, Vitale A, Kim BK, Ahn SH, Kim MN, Strasser SI, George J. Global prevalence of metabolic dysfunction-associated fatty liver disease-related hepatocellular carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Clin Mol Hepatol.* 2024;30(3):436-448. doi: 10.3350/cmh.2024.0109.

4 Lau CC, Sun T, Ching AKK, He M, Li JW, Wong AM, Co NN, Chan AWH, Li PS, Lung RWM, Tong JHM, Lai PBS, Chan HLY, To KF, Chan TF, Wong N. Viral-Human Chimeric Transcript Predisposes Risk to Liver Cancer Development

and Progression. *Cancer Cell*. 2014;25(3):335-349, https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.01.030
5 Polyakov SL, Moiseev PI, Okeanov AE, Mashevskij AA, Evmenenko AA. Itogi raboty onkologicheskoj sluzhby v respublike Belarus' v 2022 godu. *Voprosy onkologii.* 2023;69(3):265-266.
6 Delecluse H Epstein-Barr virus-associated tumors: an update for the attention of the working pathologist. *J Clin Pathol*. 2007. – Vol. 60. – P. 1358-1364.
7 Saha A, Robertson ES. Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphomas: pathogenesis and clini cal outcomes. *Clin Cancer Res.* 2011;17(10):3056-3063.
8 Nakagawa H, Fujita M, Fujimoto A. Genome sequencing analysis of liver cancer for precision medicine. *Semin Cancer Biol*. 2019;55:120-127. doi: 10.1016/j.semcancer.2018.03.004. Epub 2018 Mar 29. PMID: 29605648.
9 Cai J, Zhang W, Lu Y, Liu W, Zhou H, Liu M, Bi X, Liu J, Chen J, Yin Y, Deng Y, Luo Z, Yang Y, Chen Q, Chen X, Xu Z, Zhang Y, Wu C, Long Q, Huang C, Yan C, Liu Y, Guo L, Li W, Yuan P, Jiao Y, Song W, Wang X, Huang Z, Ying J, Zhao H. Single-cell exome sequencing reveals polyclonal seeding and TRPS1 mutations in colon cancer metastasis. *Signal Transduct Target Ther*. 2024;23;9(1):247. doi: 10.1038/s41392-024-01960-8. PMID: 39307879; PMCID: PMC11417107.
10 Xeng XP, Tang TY, Ding ZM, Wang J, Lu CQ, Yu Q, Xia C, Zhang T, Long X, Xiao W, Wang YC, Ju S. Preoperative Microvascular Invasion Prediction to Assist in Surgical Plan for Single Hepatocellular Carcinoma: Better Together with Radiomics. *Ann Surg Oncol.* 2022; May;29(5):2960-2970. doi: 10.1245/s10434-022-11346-1. Epub 2022 Jan 31. PMID: 35102453.
11 Patel SG, Karlitz JJ, Yen T, Lieu CH, Boland CR. The rising tide of early-onset colorectal cancer: a comprehensive review of epidemiology, clinical features, biology, risk factors, prevention, and early detection. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2022;7(3):262-274. doi: 10.1016/S2468-1253(21)00426-X. Epub 2022 Jan 26. PMID: 35090605.
12 Gorchakova OV, Kuznecov OE. Metod vyyavleniya mutacij v gene hMLH1 pri opuholyah kishechnika. *Medicinskie novosti*.2019;293(2):76-79.

# DETECTION OF EPSTEIN-BARR VIRUS DNA IN THE EXONS OF THE HMLH1 AND HMSH2 GENES

*O. E. Kuznetsov[1], A. Yu. Pavlyukovets[2], O. A. Gorustovich[2]*

*[1]Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds, National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus*

*[2]Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus*

**Background.** Hepatocellular carcinoma (HCC) and colorectal cancer (CCC) are significant causes of cancer death worldwide, according to the International Agency for Research on Cancer (IARC). Infectious agents play a significant role in the etiology of many diseases, including malignant tumors. Carcinogenesis is characterized by phenotypically different stages.

**Objective.** The develop a method and a kit for the detection of Epstein-Barr virus DNA in the exons of the *hMLH1* and *hMSH2* genes.

**Materials and Methods.** Molecular genetic testing of samples for mutations in the hMLH1/hMSH2 gene and VEB DNA was performed using PCR analysis and direct sequencing. Tumor tissue samples from patients (n=19, 47.4% of whom were male) with diagnosed and morphologically confirmed rectal cancer (n=16) and hematogenous colon cancer (n=3) were analyzed. Primers for detecting viral DNA and mutations using the developed nucleotide sequence were synthesized by a domestic manufacturer. Statistical data processing was performed using a statistical software package.

**Results.** The results of a study of genetic changes (mutations) in the hMLH1/hMSH2 genes (upper rectal cancer) performed using the proposed method revealed the presence of genetic changes in the desired hMLH1 gene sequence (exon 11, exon 8). Epstein-Barr virus DNA was determined in the detected DNA fragments of the gene, which revealed that viral genetic material was detected in the DNA of the hMLH1 gene mutations. Thus, using the developed primers, it is possible to obtain a sufficient amount of the desired DNA for the detectable mutation of the hMLH1/hMSH2 genes and identify VEB DNA embedded in the genetic material, which allows the viral genome to be classified as oncogenic (causal relationship of mutation development).

**Conclusion.** The proposed method for detecting VEB DNA in the exons of the human hMLH1/hMSH2 genes and the kit for implementing it, based on the developed nucleotide base sequences, enables DNA extraction and detection of viral genetic material in gene exons in the presence of mutations. This allows for predicting the potential risk of malignancy based on the causal relationship of mutation development.

**Keywords:** hepatocellular carcinoma, colon cancer, mutations, virus.

**For citation:** Kuznetsov OE, Pavlyukovets AYu, Gorustovich OA. Detection of Epstein-Barr virus DNA in the exons of the hMLH1 and hMSH2 genes. *Biochemistry and molecular biology.* 2026, vol. 5, no. 1(8), pp. 20–26. (in Russian)

*Поступила 09.04.2026*

УДК [616.831-005.4-036.12:616.151]:615.849.19

# ОЦЕНКА МЕТАБОЛИКО-ГЕМОСТАЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И МОРФОЛОГИЯ ДЕГИДРАТИРУЮЩЕЙ КАПЛИ КРОВИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ЛАЗЕРНОЙ ГЕМОТЕРАПИИ

*Н. И. Нечипуренко, Т. А. Прокопенко, И. Д. Пашковская*

*Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, г. Минск, Республика Беларусь*

**Введение.** Хроническая ишемия мозга (ХИМ) является основным фактором развития сосудистых когнитивных нарушений, причиной примерно 40 % деменций, 20 % инсультов, которые случаются в мире, что обусловливает актуальность исследований данной проблемы.

**Цель.** Изучить влияние лазерной гемотерапии на показатели про-, антиоксидантной системы, первичного гемостаза и фибринолиза, а также исследовать морфоструктуру и распределение интенсивности линий кальция в дегидратирующих каплях плазмы крови у пациентов с ХИМ.

**Материалы и методы.** В исследовании включены 55 пациентов с ХИМ, разделенные на 3 группы в зависимости от полученного лечения. В момент поступления в стационар и при выписке изучали ряд показателей перекисного окисления липидов, гемостаза и фибринолиза; проводили оценку морфоструктуры и распределения интенсивности линий кальция в дегидратирующих каплях плазмы крови.

**Результаты.** У пациентов с ХИМ выявлен дисбаланс в антиоксидантной системе, повышение концентрации PAI-1, изменение морфоструктуры и распределения интенсивностей линий кальция в дегидратирующих каплях плазмы до лечения. У пациентов основных групп с включением лазерной терапии установлена более эффективная нормализация изучаемых показателей.

**Заключение.** Включение в комплексное лечение лазерной гемотерапии различных длин волн приводит к нормализации показателей антиоксидантной системы, что способствует сохранению мембранных структур эндотелиальных и нервных клеток, улучшению морфоструктуры дегидратирующих капель крови при ХИМ и может способствовать замедлению темпов прогрессирования данного заболевания.

**Ключевые слова:** хроническая ишемия мозга, перекисное окисление липидов, гемостаз, морфология дегидратирующих капель плазмы крови, кальций, лазерная гемотерапия.

**Для цитирования:** Нечипуренко, Н. И. Оценка метаболико-гемостазиологических показателей и морфология дегидратирующей капли крови при хронической ишемии головного мозга в условиях применения лазерной гемотерапии / Н. И. Нечипуренко, Т. А. Прокопенко, И.Д. Пашковская // Биохимия и молекулярная биология. – 2026. – Т. 5, № 1(8). – С. 27–38.

## Введение

Хроническая ишемия мозга (ХИМ) – это заболевание с прогрессирующим многоочаговым диффузным поражением головного мозга, проявляющееся неврологическими нарушениями различной степени, обусловленными редукцией мозгового кровотока, повторными транзиторными ишемическими атаками или перенесенными инфарктами мозга [1]. Основными этиологическими факторами ХИМ являются гипертоническая болезнь, атеросклероз, заболевания миокарда, сахарный диабет, приводящие к нарушению мозгового кровообращения с развитием гипоксии и каскада биохимических изменений, что обусловливает диффузные многоочаговые изменения в веществе головного мозга [2]. Одним из ключевых факторов ХИМ является церебральная микроангиопатия (ЦМА) [3], первые радиологические признаки которой выявляются преимущественно в области подкорковых ганглиев и глубинных отделов белого вещества головного мозга.

Отличительными чертами ХИМ по сравнению с острым нарушением мозгового кровообращения является постепенное развитие, часто с длительным клинически скрытым периодом, и мультифокальность. Прогрессирование симптомов при ХИМ связано с постепенным нарастанием ишемических и вторичных дегенеративных изменений в мозге [4].

В работах *Bonetti P.O. et al., Landmesser U. et al.* показано, что эндотелиальная дисфункция имеет большое значение в развитии гиперхолестеринемии, артериальной гипертензии (АГ), сахарного диабета, гипергомоцистеинемии [5, 6], при этом данные патологии нередко усугубляют повреждение эндотелия, что ведет к формированию пороч-

ных замкнутых кругов. При гиперхолестеринемии происходит отложение холестерина, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), подвергающихся окислению, на сосудистой стенке. В результате образующиеся радикалы взаимодействуют с ЛПНП с еще большим высвобождением кислородных радикалов. Это приводит к уменьшению вазодилатации вследствие активации процессов окислительного стресса в клетках эндотелия.

Хроническая церебральная ишемия характеризуется нарастающим ухудшением перфузии головного мозга, чаще всего в области перивентрикулярного белого вещества и подкорковых ганглиев. При прогрессировании ХИМ скорость перфузии снижается до 20–30 мл/100 г/мин при нормальном значении 50 мл/100 г/мин. Хроническая мозговая гипоперфузия приводит к истощению механизмов компенсации, недостаточности энергетического обеспечения мозга, глутаматной эксайтотоксичности, что обусловливает гипоксию тканей мозга. Из-за лактатацидоза происходит истощение энергетических ресурсов, нарушение ионного гомеостаза, избыточное накопление возбуждающих аминокислот и гиперпродукция АФК, которые вызывают развитие окислительного стресса. Активация ПОЛ способствует нарушению метаболизма нервных клеток с последующим уменьшением ферментативных активностей и неферментативных метаболитов антиоксидантных систем, стимуляцией апоптоза. Происходит нарушение ГАМК-зависимых процессов, нарушения функционирования центральных нейротрансмиттерных систем: нарушается ацетилхолинергическая трансмиссия, норадренергическая и дофаминергическая медиация. Наблюдается активация микроглии, которая вырабатывает нейротоксины, что вызывает гибель клеток [1–4].

Лазерное излучение (ЛИ) – это электромагнитное излучение оптического диапазона, которое обладает свойствами когерентности, монохроматичности, поляризованности и направленности, что позволяет создавать высокую концентрацию энергии в нужном месте [7].

До настоящего времени нет единого мнения о механизмах действия низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ), однако выдвинуто множество гипотез в зависимости от акцептора ЛИ.

Несмотря на то, что нет единого мнения о первичном механизме действия НИЛИ на организм, установлен ряд физиологических процессов, доказывающих его высокую эффективность. На клеточном уровне происходит активация метаболизма ионов кальция, генерация свободных радикалов и АФК, структурное изменение мембран, повышение синтеза макроэргов и митотической активности клеток. Под действием НИЛИ на органном уровне увеличивается поглощение кислорода тканями, скорость кровотока, количество новых сосудистых коллатералей, уменьшается интенсивность отека и длительность фаз воспаления. Вышеперечисленные процессы приводят к изменениям на уровне целостного организма [7, 8].

Изучение твердых (дегидратированных) состояний различных биологических жидкостей (БЖ) обусловлено поиском новых методик диагностики ряда патологических состояний организма. Одним из таких методов является клиновидная дегидратация биожидкостей [9]. Метод клиновидной дегидратации БЖ позволяет зафиксировать высокодинамические химические связи между растворенными в них элементами и создать устойчивую морфологическую картину. Сухая пленка БЖ, полученная при дегидратации, называется фацией. Для данного метода чаще всего применяют плазму/сыворотку крови [10]. Основными компонентами БЖ являются белки, липиды, вода, минеральные соли.

Для оценки изменений морфологии дегидратирующих капель плазмы крови при различных патологических состояниях в научной литературе используют визуальную оценку имеющихся нарушений с описанием различных типов трещин, «дендритного рисунка», токсических включений, симметричности фации, наиболее часто употребляемых терминологически [9–11]. При дегидратации капли у здоровых лиц белковая часть плазмы находится по периферии капли, в центральной зоне определяются соли. При патологических состояниях в БЖ происходят высокоскоростные изменения молекулярного состава и характера взаимодействия различных структур, отличные от нормы. Такое исследование молекулярного гомеостаза может стать основой диагностики начальных стадий заболевания.

При ХИМ происходят изменения концентрации кальция, который принимает участие в регуляции множества внутриклеточных процессов, проницаемости клеточных мембран, регуляции нервной проводимости, участвует в процессах свертывания крови, а изменения его концентрации в организме при церебральной ишемии может быть связано с нарушением трансмембранного транспорта при развитии глутамат-кальциевой эксайтотоксичности, снижением функциональной активности митохондрий при данной патологии. Для изучения пространственного распределения кальция при ХИМ мы применяли метод лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии (ЛАЭС) – один из методов атомно-эмиссионного спектрального анализа, в котором используют спектры плаз-

мы лазерного пробоя (лазерной искры) для полуколичественного анализа твердых образцов, жидкостей, газовых сред, взвешенной пыли и аэрозолей. Лазерный пробой формируют при фокусировке импульсного лазерного излучения на поверхности образца или в объеме пара испаренного вещества [10, 11].

Таким образом, до настоящего времени в научной литературе недостаточно данных о морфологии дегидратирующих капель плазмы крови при ХИМ, отсутствуют результаты исследований влияния внутривенного лазерного облучения крови (ВЛОК) и надвенного лазерного облучения крови (НЛОК) на эти процессы, а также характер распределения интенсивности линий кальция по диаметру дегидратирующих капель плазмы крови при использовании этих методов лечения.

**Цель исследования.** Изучить влияние лазерной гемотерапии на показатели про-, антиоксидантной системы, первичного гемостаза и фибринолиза, а также исследовать морфоструктуру и распределение интенсивности линий кальция в дегидратирующих каплях плазмы крови у пациентов с ХИМ.

## Материал и методы

В исследование вошли 55 пациентов с ХИМ, из них 34 (62 %) женщины и 21 (38 %) мужчин, средний возраст которых составил 69,9±8,8 лет, госпитализированных в неврологические отделения РНПЦ неврологии и нейрохирургии.

Пациенты были разделены на три группы в зависимости от получаемого лечения. Во 1-ю основную группу вошли 12 пациентов (7 (58 %) женщин и 5 (42 %) мужчин), средний возраст 75,5±9,9 лет, которые дополнительно к стандартной терапии получали 7–10 процедур ВЛОК. Вторую основную группу составили 25 пациентов (15 (60 %) женщин и 10 (40 %) мужчин), средний возраст 69,4±7,6 лет, получавших 7–10 процедур НЛОК дополнительно к стандартной терапии. Контрольную группу составили 18 пациентов, из них 12 (67 %) женщин и 6 (33 %) мужчин, средний возраст – 69,3±10,2 лет, получавших стандартную терапию.

Процедура ВЛОК осуществлялась с помощью полупроводникового лазера «Люзар МП» с длиной волны 0,67 мкм и выходной мощностью 3мВт, продолжительностью лечения 20 мин в количестве 7–10 процедур.

Надвенное лазерное облучение крови (НЛОК) выполняли ежедневно в количестве 8–10 сеансов с помощью аппарата квантовой терапии «Витязь» с длиной волны 0,81–0,88 мкм, выходной мощностью 16±4 мВт, магнитной индукцией 35±10 мТл. Продолжительность сеанса составляла 20 мин.

В стандартной терапии (СТ) пациентов с ХИМ использовались антиагреганты, антиоксиданты, симптоматическая терапия.

Исследовалась венозная кровь, забор которой осуществлялся в 1–2-е сутки госпитализации и после проведенного стационарного лечения.

Активность супероксиддисмутазы (СОД) в цельной крови определяли методом, основанном на реакции супероксидзависимого окисления кверцетина [12]. Активность каталазы в плазме крови исследовали методом, основанном на способности перекиси водорода образовывать окрашенный комплекс при взаимодействии с солями молибдена [13]. Интенсивность ПОЛ в плазме крови определяли по содержанию вторичных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), по методу В. А. Костюка [14]. Количественное определение антиоксидантной активности (АОА) в плазме крови проводили с помощью набора реагентов «Оксистат» производства ИБОХ НАНБ (РБ) спектрофотометрически. АОА характеризует неферментативную АОС в крови и выражается в размерной молярной концентрации тролокса (водорастворимый аналог витамина Е).

Состояние функциональной активности тромбоцитов определяли с помощью импедансной агрегометрии на автоматическом тромбоагрегометре Multeplate («Roche Diagnostics», Германия). Принцип метода импедансной агрегометрии тромбоцитов в цельной крови заключается в графическом отражении изменения импеданса (сопротивления) после формирования монослоя тромбоцитов на электроде и стимуляции агрегации тромбоцитов при добавлении индуктора агрегации арахидоновой кислоты (ASPItest).

Концентрацию PAI-1 – ингибитора активатора плазминогена 1 типа (англ. plasminogen activator inhibitor Type 1 (Serpine 1)) в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа ELISA тест-наборами «Fine Test» (Китай) на иммуноферментном анализаторе «BioTek» (США).

Для изучения морфологии плазмы крови использовали метод клиновидной дегидратации. Для этого каплю плазмы наносили на поверхность тщательно промытой подложки из полиметилметакрилата с помощью микропипетки (10 мкл). Процесс сушки проходил при температуре 20–25 °С и относительной влажности воздуха 60–65 % в течение 90–120 мин. Для получения снимков использовали оптический микроскоп Биолам (Россия) со светодиодной подсветкой и веб-камерой (окуляр ×9, объектив ×15). Все исследования по изучению морфологии плазмы крови проводили в идентичных условиях при использовании од-

ного и того же материала подложки и режима высушивания капель плазмы [9–11].

Для изучения распределения кальция по диаметру дегидратирующей капли плазмы использовали лазерный многоканальный атомно-эмиссионный спектрометр LSS-1, который включает в себя в качестве источника возбуждения плазмы двухимпульсный неодимовый лазер с регулируемыми энергией и интервалом между импульсами (модель LS2131 DM). Лазер работает с частотой повторения импульсов до 10 Гц и максимальной энергией излучения каждого из сдвоенных импульсов до 80 мДж на длине волны 1064 нм. Длительность импульсов ≈ 15 нс. Лазерное излучение фокусировали на образец с помощью ахроматического конденсора с фокусным расстоянием 100 мм. Размер пятна фокусировки примерно 50 мкм. Свечение плазмы собирали с помощью аналогичного конденсора на переднюю поверхность двух кварцевых волокон диаметром 200 мкм и направляли на входную щель двух спектрометров типа SDH-1. Запуск системы регистрации спектра осуществляли синхронно с приходом второго импульса [10,11].

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы Statistica 10.0.

## Результаты и их обсуждение

Представлены результаты про-, антиоксидантных показателей в образцах крови у 12 пациентов с ХИМ 1-й основной группы на момент госпитализации и после применения СТ в сочетании с ВЛОК в сравнении с данными здоровых лиц (таблица 1).

Таблица 1 – Про- антиоксидантное состояние у пациентов с ХИМ 1-й основной группы на момент госпитализации и после терапии и у здоровых лиц, Me ($Q_{25}$-$Q_{75}$)

Table 1 – Pro-antioxidant status in patients with chronic cerebral ischemia of the 1st main group at the time of hospitalization and after therapy and in healthy individuals, Me (Q25-Q75)

| Показатель | 1-я основная группа, *n* = 12 | | Здоровые лица, *n* = 20 |
|---|---|---|---|
| | До лечения | После лечения | |
| ТБК-П, мкмоль/л | 2,2 (1,9–2,7) | 1,7 (1,2–2,0) | 2,08 (1,8–2,7) |
| СОД, Е/мл | 76,0 (67,3–121,5)<br>*U* = 65,0; *p* = 0,07 | 90,9 (56,1–121,6) | 106,3 (92,9–117,6) |
| Каталаза, усл. ед./с·мл | 12,6 (8,1–19,8) | 22,2 (9,6–32,1) | 18,6 (13,2 –28,8) |
| АОА, ммоль/л | 2,41 (1,64–2,80) | 2,43 (1,92–2,94) | 2,11 (1,87–2,56) |

*Примечание* – Здесь и в таблицах 2, 3 *p* – достоверность различий относительно данных здоровых лиц (*U*-критерий Манна–Уитини); *p** – достоверность различий относительно данных до лечения (*T*-критерий Уилкоксона)

*Note* – Here and in Tables 2 and 3, *p* is the significance of differences relative to healthy individuals (Mann–Whitney *U*-test); *p** is the significance of differences relative to pre-treatment data (Wilcoxon *T*-test)

У пациентов 1-й основной группы на момент госпитализации наблюдается тенденция к снижению активности СОД на 29 % относительно здоровых лиц, при этом не происходит изменений активности каталазы, содержания ТБК-П и АОА. После проведенного лечения СТ в сочетании с ВЛОК отмечается тенденция к увеличению активности СОД.

В таблице 2 представлены данные пациентов 2-й основной группы до и после применения НЛОК на фоне СТ.

Таблица 2 – Про- антиоксидантное состояние у пациентов с ХИМ 2-й основной группы на момент госпитализации и после терапии и у здоровых лиц, Me ($Q_{25}$–$Q_{75}$)

Table 2 – Pro-antioxidant status in patients with chronic cerebral ischemia of the 2nd main group at the time of hospitalization and after therapy and in healthy individuals, Me (Q25–Q75)

| Показатель | 2-я основная группа, *n* = 25 | | Здоровые лица, *n* = 20 |
|---|---|---|---|
| | До лечения | После лечения | |
| ТБК-П, мкмоль/л | 2,4 (1,96–2,64) | 2,0 (1,77–2,31) | 2,08 (1,8–2,7) |
| СОД, Е/мл | 81,8 (70,2–97,8)<br>*U* = 87,0; *p* = 0,0001 | 100,8 (77,8–129,9)<br>*T* = 42,0; *p** = 0,002 | 106,3 (92,9–117,6) |
| Каталаза, усл. ед./с·мл | 12,0 (6,6–15,6)<br>*U* = 105,5; *p* = 0,006 | 20,4 (11,4–28,2)<br>*T* = 55,0; *p** = 0,004 | 18,6 (13,2 –28,8) |
| АОА, ммоль/л | 1,74 (1,3–2,14)<br>*U* = 133,0; *p* = 0,02 | 2,09 (1,65–2,35)<br>*T* = 57,0; *p** = 0,01 | 2,11 (1,87–2,56) |

До лечения в крови пациентов 2-й основной группы выявлено нарушение в работе ферментативного звена АОС, проявляющееся снижением активности СОД ($p$ = 0,0001), каталазы ($p$ = 0,006) и АОА ($p$ = 0,02) по сравнению со здоровыми лицами. Достоверного изменения концентрации ТБК-П не выявлено. После лечения, включающего НЛОК и СТ, произошла нормализация показателей ферментативного звена АОС, в частности повышение активности СОД наряду с возрастанием активности каталазы и АОА относительно исходных значений.

В таблице 3 представлены показатели у пациентов контрольной группы на момент госпитализации и после применения СТ в сравнении с данными здоровых лиц.

Таблица 3 – Про- антиоксидантное состояние у пациентов контрольной группы на момент госпитализации и после СТ и у здоровых лиц, Me ($Q_{25}$–$Q_{75}$)

Table 3 – Pro-antioxidant status in patients of the control group at the time of hospitalization and after ST and in healthy individuals, Me (Q25–Q75)

| Показатель | 2-я контрольная группа, $n$ = 18 | | Здоровые лица, $n$ = 20 |
|---|---|---|---|
| | До лечения | После лечения | |
| ТБК-П, мкмоль/л | 2,6 (1,8–3,3) | 2,1 (1,62–2,6)<br>$T$ = 24,5; $p$* = 0,01 | 2,08 (1,8–2,7) |
| СОД, Е/мл | 100,6 (70,5–114,3) | 114,3 (106,0–130,0)<br>$T$ = 32,0; $p$* = 0,04 | 106,3 (92,9–117,6) |
| Каталаза, усл. ед./с·мл | 16,8 (9,6–25,2) | 13,5 (10,8–26,4) | 18,6 (13,2 –28,8) |
| АОА, ммоль/л | 1,9 (1,58–2,06) | 1,92 (1,53–2,28) | 2,11 (1,87–2,56) |

У пациентов контрольной группы на момент госпитализации не установлено значительных изменений в про-, антиоксидантном состоянии. После курса СТ происходит уменьшение содержания ТБК-П и увеличение активности СОД относительно данных до лечения (таблица 3).

Проведен сравнительный анализ показателей про- антиоксидантной системы у пациентов с ХИМ после СТ и комплексного лечения, включающего ВЛОК или НЛОК (таблица 4). Как видно из таблицы 4, курсовое лечение, включающее ВЛОК или НЛОК, способствует более эффективному повышению АОА, характеризующему неферментативное звено АОС, у пациентов основных групп по сравнению с контрольной ($p$ = 0,05).

Таблица 4 – Про- антиоксидантное состояние у пациентов с ХИМ 1-й, 2-й основных и контрольной групп в зависимости от вида лечения, Me ($Q_{25}$-$Q_{75}$)

Table 4 – Pro-antioxidant status in patients with chronic cerebral ischemia of the 1st, 2nd main and control groups depending on the type of treatment, Me (Q25-Q75)

| Показатель | 1-я основная группа | 2-я основная группа | Контрольная группа | Статистические различия ($H$-тест Крускела–Уоллиса) |
|---|---|---|---|---|
| ТБК-П, мкмоль/л | 1,7 (1,2–2,0) | 2,0 (1,77–2,31) | 2,1 (1,62-2,6) | НЗ |
| СОД, Е/мл | 90,9 (56,1–121,6) | 100,8 (77,8–129,9) | 114,3 (106,0–130,0) | НЗ |
| Каталаза, усл. ед./с·мл | 22,2 (9,6–32,1) | 20,4 (11,4–28,2) | 13,5 (10,8–26,4) | НЗ |
| АОА, ммоль/л | 2,43 1,92–2,94) | 2,09 (1,65–2,35) | 1,92 (1,53–2,28) | $H$ = 5,97; $p$ = 0,05 |

Таким образом, в крови у пациентов 1-й и 2-й основных групп выявлены нарушения в работе ферментативного звена АОС, проявляющиеся дисбалансом активностей СОД и каталазы на фоне сниженного содержания АОА. Данные изменения являются существенными факторами, указывающими на определенную напряженность АОС в организме.

Важнейшим патогенетическим звеном развития и прогрессирования церебрального атеросклероза является дисбаланс показателей гемостаза, провоцирующий и повышающий проатерогенную направленность. Для оценки функциональной активности тромбоцитов было проведено изучение агрегатограмм с индуктором арахидоновой кислотой (ASPItest) у пациентов с ХИМ до лечения.

Установлено, что параметры агрегатограммы – скорость и степень агрегации, площадь под кривой агрегатограммы сопоставимы с таковыми у здоровых лиц, что может быть обусловлено длительным приемом антиагрегантных средств данными пациентами.

Результаты исследования концентрации ингибитора активатора плазминогена 1 типа (PAI-1) у пациентов с ХИМ продемонстрировали его увеличение до 38,7 (23,9; 57,7) нг/мл относительно здоровых лиц – 24,4 (16,4; 29,0) нг/мл, $p$ = 0,01, что может приводить к снижению фибринолиза и, соответ-

ственно, к повышению риска тромбоза. Фибринолитическая система играет важную роль в развитии заболеваний сосудов, расщепляя внутрисосудистый фибрин, регулируя оборот внеклеточного матрикса и контролируя миграцию, пролиферацию и апоптоз эндотелиальных клеток. Центральной реакцией фибринолитической системы является превращение плазминогена в плазмин с помощью tPA (тканевого активатора плазминогена) и uPA (мочевого активатора плазминогена) соответственно, поэтому PAI-1 – основной ингибитор tPA и uPA, является ключевым регулятором фибринолиза и клеточной функции. Сосудистые эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки, тромбоциты, адипоциты и другие типы клеток секретируют PAI-1, экспрессия которого повышается при ряде патологических состояний, включая диабет и ожирение, которые являются сопутствующими заболеваниями при ХИМ.

Полученные нами данные подтверждают атерогенную роль повышенного содержания PAI-1 и этот параметр может применяться для оценки эффективности проводимого лечения с использованием лазерной гемотерапии. Как было показано в нашей предыдущей работе, у пациентов с транзиторной ишемической атакой на фоне ХИМ установлено значительное повышение концентрации PAI-1, которая после курса ВЛОК нормализовывалась [15].

Морфологическая структура и пространственное распределение кальция в дегидратирующих каплях плазмы были изучены у 12 пациентов 1-й основной группы. У 11 пациентов этой группы до лечения наблюдалось изменение морфологической структуры дегидратирующих капель плазмы крови: у 9 пациентов имелись широкие и трехлучевые трещины; у 1– морщины; у 1 – дендритный рисунок; токсические включения обнаружены у 6 пациентов.

На рисунке 1 показаны дегидратирующие капли плазмы крови пациента С. 1-й основной группы с ХИМ сложного генеза (атеросклероз+АГ).

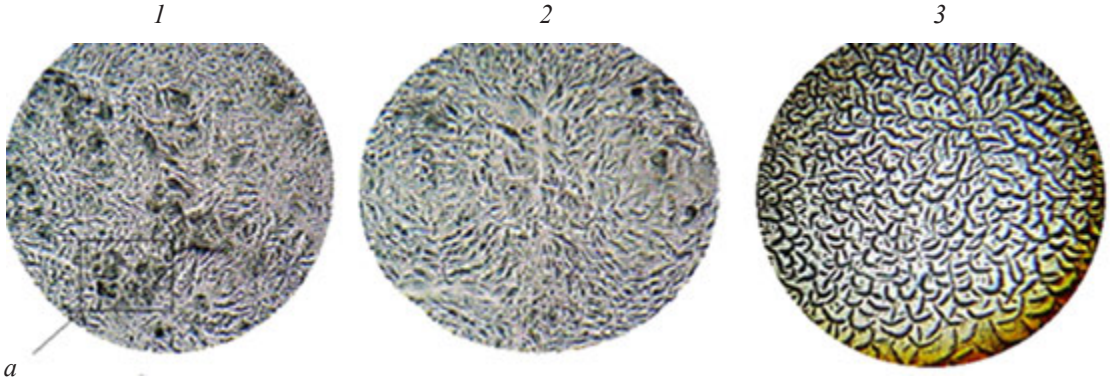



Рисунок 1 – Морфологическая структура фаций дегидратирующих капель плазмы крови пациента С. до (*1*) и после (*2*) применения ВЛОК в сочетании со СТ и здорового донора (*3*) (увеличение ×135) (*а* – токсические включения)

Figure 1 – Morphological structure of the facies of dehydrating drops from patient S. before (*1*) and after (*2*) the use of ILBI in combination with ST, and from a healthy donor (3) (magnification ×x135) (*a* – toxic inclusions)

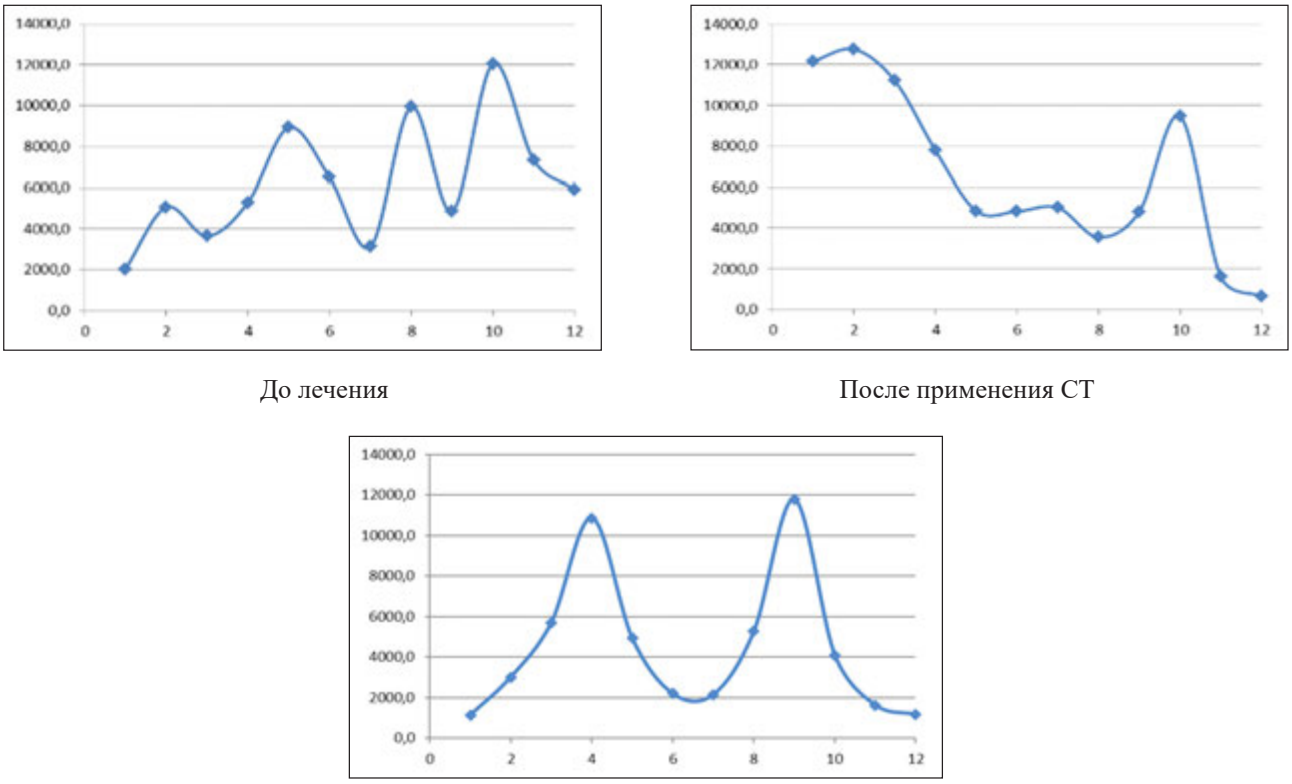
Фация сыворотки крови здорового человека характеризуется наличием радиальных трещин по периферии, образующих арки, которые сходятся в центре фации. Центральная зона отмечается равномерным растрескиванием. При ХИМ характер растрескиваний меняется как в центральной, так и в периферической частях капли БЖ.

При включении ВЛОК дополнительно к СТ наблюдалось уменьшение количества трещин, токсических включений у 90 % пациентов данной группы. У пациента С. происходило значительное снижение количества токсических включений на фоне симметричного расстрескивания.

На рисунке 2 показано пространственное распределение интенсивности линий кальция пациента С., у которого до лечения определялись три пика высоких значений, располагающихся как в центре, так и на периферии капли. После проведенного курса лечения с включением ВЛОК распределение кальция характеризуется асимметричными пиками преимущественно по периферии, что свидетельствует о тенденции к нормализации распределения кальция в дегидратирующих каплях плазмы крови.

Морфоструктура и пространственное распределение кальция в дегидратирующих каплях плазмы изучены у 15 пациентов с ХИМ 2-й основной группы. До лечения во 2-й основной группе у 7 пациентов структура фаций не отличалась от структуры здоровых лиц, у 3 пациентов выявлены фации с дендритным рисунком, у 5 – широкие трещины и токсические включения.

На рисунке 3 показана морфоструктура дегидратирующих капель плазмы крови пациента Ш. с ХИМ на фоне церебрального атеросклероза.




До лечения

После применения СТ

Здоровый донор

Рисунок 2 – Интенсивность линий $Ca^{2+}$ (393,239 нм) в атомно-эмиссионных спектрах плазмы крови пациента С. до и после лечения, здорового донора. *Примечание*. Здесь и на рисунках 4, 6 по вертикальной оси отображена интенсивность линий кальция в отн.ед., по горизонтальной – номера точек: точка 6 соответствует центру капли, точки 1 и 12 – ее периферической зоне

Figure 2 – Ca2+ line intensity (393.239 nm) in the atomic emission spectra of blood plasma from patient S. before and after treatment, and from a healthy donor. *Note*. Here and in figures 4 and 6, the vertical axis shows the calcium line intensity in relative units, and the horizontal axis shows the point numbers: point 6 corresponds to the center of the droplet, points 1 and 12 to its peripheral zone

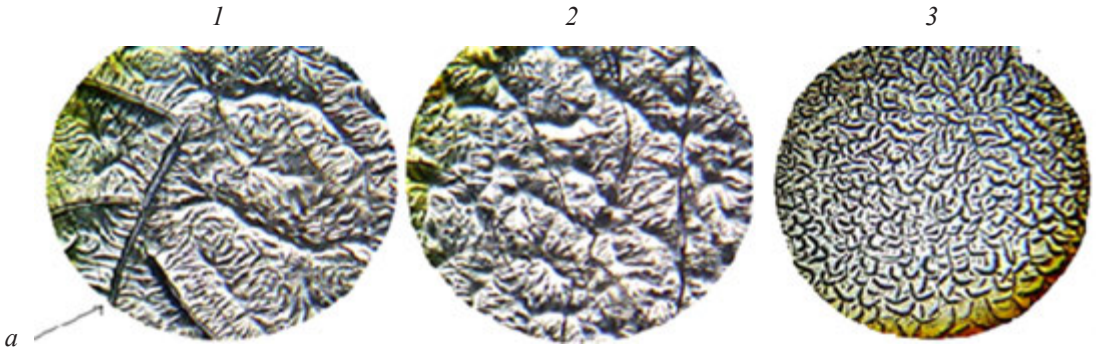



Рисунок 3 – Морфологическая структура фаций дегидратирующих капель плазмы крови пациента Ш. до (*1*) и после (*2*) применения НЛОК в сочетании со СТ и здорового донора (*3*) (увеличение ×135) (*а* – широкая трещина)

Figure 3 – Morphological structure of dehydrating drops facies from patient Sh. before (*1*) and after (*2*) the use of NLBI in combination with ST, and from a healthy donor (*3*) (magnification ×135) (*a* – wide crack)

После курса НЛОК в сочетании со СТ происходит упорядочивание морфологической структуры капель плазмы, проявляющееся исчезновением широких трещин.

При изучении пространственного распределения кальция по диаметру дегидратирующей капли плазмы у пациентов с ХИМ наблюдается его хаотичное распределение. Так у пациента Ш. до лечения выявляется пик высокого значения в 9 точке, помимо этого имеется еще три пика средне-высоких значений, распределение не является симметричным. После терапии с включением НЛОК пики высоких интенсивностей расположены в краевых зонах капли плазмы (рисунок 4).

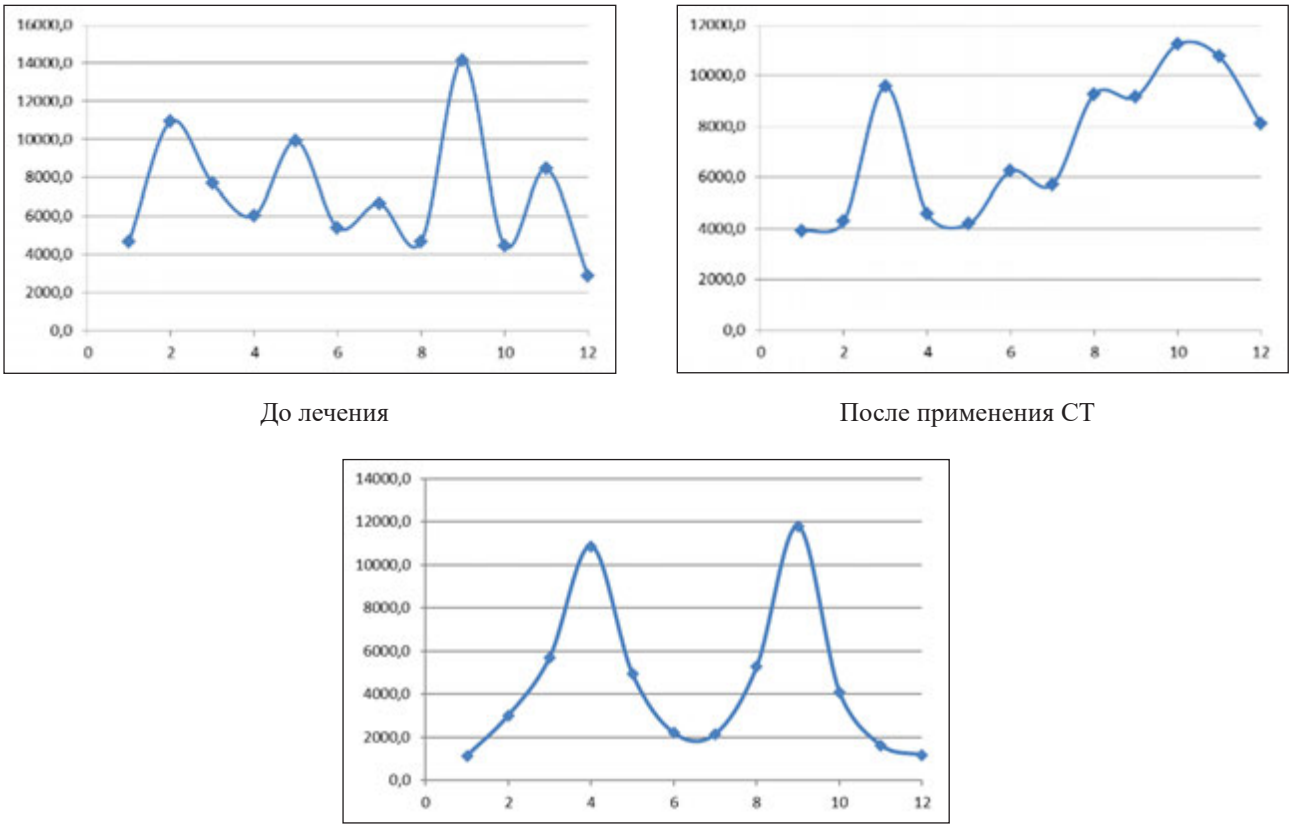



Рисунок 4 – Интенсивность линий $Ca^{2+}$ (393,239 нм) в атомно-эмиссионных спектрах плазмы крови пациента Ш. до и после лечения, здорового донора

Figure 4 – Intensity of Ca2+ lines (393.239 nm) in the atomic emission spectra of blood plasma of patient Sh. before and after treatment, healthy donor

Была проведена оценка морфологической структуры и распределения кальция по диаметру дегидратирующей капли у 14 пациентов контрольной группы. В данной группе обследованных лиц у двух из них был выявлен дендритный рисунок морфоструктуры, у 12 наблюдались широкие трещины и токсические включения.

В качестве примера представлены фации пациента М. с ХИМ до и после лечения стандартной терапией (рисунок 5).

При поступлении в стационар у пациента М. обнаружены широкие трещины в фации, которые также наблюдаются и после проведенной терапии.

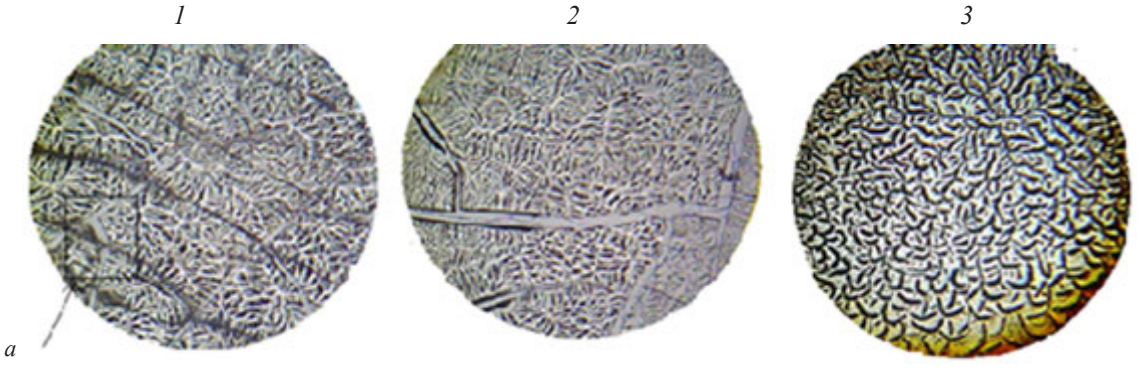


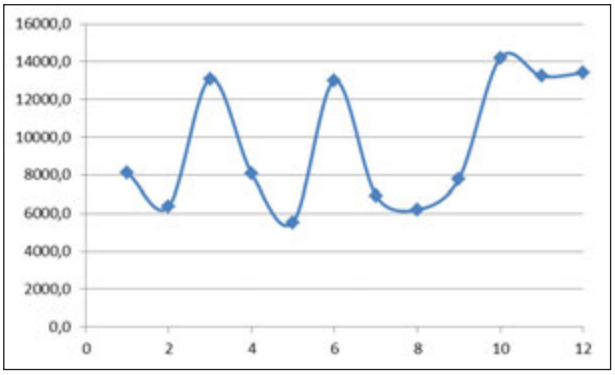

Рисунок 5 – Морфологическая структура фаций дегидратирующих капель плазмы крови пациента М. до (*1*) и после (*2*) СТ и здорового донора (*3*) (увеличение х 135) (*а* – широкая трещина)

Figure 5 – Morphological structure of the facies of dehydrating drops of blood plasma from patient M. before (*1*) and after (*2*) ST and a healthy donor (*3*) (magnification x 135) (*a* – wide crack)

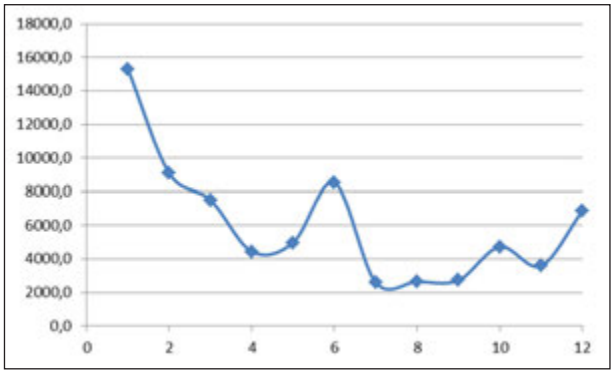
При анализе характера распределения интенсивности спектральных линий кальция у пациентов контрольной группы выявлено хаотичное асимметричное распределение данного химического элемента.

На рисунке 6 изображена интенсивность линий кальция пациента М. До проводимой терапии пики интенсивности линий кальция находились по всему диаметру капли, после лечения интенсивность линий кальция была выше преимущественно на периферии с асимметричными пиками.

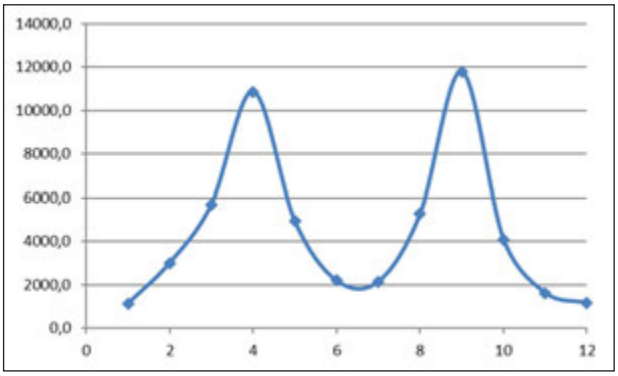
При отсутствии унифицированных методов обработки морфологической структуры дегидратирующих капель плазмы крови, нами была предложена собственная классификация патологических изменений с целью объективизации полученных изменений. Результаты наших исследований позволили классифицировать нарушения морфоструктуры дегидратирующих капель плазмы крови у пациентов с нарушениями мозгового кровообращения по следующим патологическим признакам, представленным в таблице 5.




До лечения




После применения СТ




Здоровый донор

Рисунок 6 – Интенсивность линий $Ca^{2+}$ (393,239 нм) в атомно-эмиссионных спектрах плазмы крови пациента М. до и после лечения, здорового донора

Figure 6 — Intensity of Ca2+ lines (393.239 nm) in the atomic emission spectra of blood plasma of patient Sh. before and after treatment, healthy donor

Таблица 5 – Классификация патологических изменений, возникающих в дегидратирующих каплях плазмы крови

Table 5 – Classification of pathological changes occurring in dehydrating drops of blood plasma

| № п/п | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|
| Признак | Трещины:<br>А. широкие;<br>Б. жгутовые;<br>В. трехлучевые. | Дендритный рисунок | Складчатости («морщины») | Токсические включения |

У 12 пациентов 1-й основной группы до лечения наблюдалось наличие различных типов трещин, общее количество которых составило 56 (100 %). После применения ВЛОК в сочетании со СТ общее их количество снизилось до 18 (32 %) ($\chi^2$ = 0,51; $p$ = 0,0000). Токсические включения определялись

до лечения у 4 пациентов, общее количество составило 52 (100 %). После лечения данный признак был выявлен у 5 пациентов, общее количество – 20 (38 %) ($\chi^2$ = 0,45; $p$ = 0,0000) (таблица 6).

В дегидратирующих каплях плазмы пациентов 2-й основной группы до лечения общее количество трещин составило 27 (100 %), после применения НЛОК дополнительно к СТ их количество снизилось до 16 (60 %) ($\chi^2$ = 0,25; $p$ = 0,0000). Количество токсических включений до лечения было 15 (100 %), после терапии с включением НЛОК – 11 (73 %) ($\chi^2$ = 0,15; $p$ = 0,0000) (таблица 6).

Таблица 6 – Анализ (общее количество) качественных признаков до и после лечения у пациентов всех групп

Table 6 – Analysis (total number) of qualitative features before and after treatment in patients of all groups

| Показатель | До лечения | После лечения | Статистическая значимость |
|---|---|---|---|
| 1-я основная группа | | | |
| Общее число патологических признаков 1–3 (см. табл. 5), % | 100 | 32 | $\chi^2$ = 0,51 $p$ = 0,0000 |
| Токсические включения, % | 100 | 38 | $\chi^2$ = 0,45 $p$ = 0,0000 |
| 2-я основная группа | | | |
| Общее число патологических признаков 1–3 (см. табл. 5), % | 100 | 60 | $\chi^2$ = 0,25 $p$ = 0,0000 |
| Токсические включения, % | 100 | 73 | $\chi^2$ = 0,15 $p$ = 0,0000 |
| Контрольная группа | | | |
| Общее число патологических признаков 1–3 (см. табл. 5), % | 100 | 176 | $\chi^2$ = 0,27 $p$ = 0,0000 |
| Токсические включения, % | 100 | 80 | $\chi^2$ = 0,11 $p$ = 0,0000 |

В дегидратирующих каплях плазмы пациентов контрольной группы общее количество трещин различного происхождения равнялось 21 (100 %), после лечения – 37 (176 %) ($\chi^2$ = 0,27; $p$ = 0,0000). Общее количество токсических включений снизилось на 20 % после СТ ($\chi^2$ = 0,22; $p$ = 0,0000).

Таким образом, после проводимой терапии, включающей ВЛОК или НЛОК, общее количество трещин в образцах капли плазмы крови в 1-й основной группе снизилось на 68 %, во 2-й основной группе – на 40 %, а в контрольной повысилось на 76 %. Также более эффективным воздействием на устранение токсических включений в дегидратирующих каплях плазмы крови у пациентов с ХИМ обладают ВЛОК и НЛОК, что обусловлено, скорее всего, воздействием НИЛИ на молекулярную структуру белка в плазме крови.

## Заключение

Включение в комплексное лечение лазерной гемотерапии различных длин волн приводит к нормализации показателей антиоксидантной системы, что способствует сохранению мембранных структур эндотелиальных и нервных клеток при ХИМ и может приводить к замедлению темпов прогрессирования патологического процесса. Установленное повышение содержания PAI-1 в плазме крови до лечения демонстрирует возрастание риска развития тромбоза у пациентов с ХИМ.

Впервые показано существенное улучшение морфологической структуры фаций дегидратирующих капель плазмы крови у пациентов с ХИМ после комплексного лечения, включающего курс ВЛОК или НЛОК на фоне СТ. Использование ЛАЭС для изучения распределения кальция по диаметру дегидратирующей капли плазмы крови у пациентов основных и контрольной групп до и после лечения позволило проиллюстрировать характер интенсивности спектральных линий кальция по оценке расположения пиков его значений в центральных и периферических зонах капли и установить тенденцию к нормализации распределения кальция, играющего значительную роль в развитии эксайтотоксичности при острых и хронических формах цереброваскулярных болезней.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список использованных источников

1. Чуканова, Е. И. Хроническая ишемия мозга – междисциплинарная проблема / Е. И. Чуканова, А. С. Чуканова, С. Д. Багманян // Терапия.– 2021. – № 5. – С.149–156. doi: 10.18565/therapy.2021.5.149-156
2. Ковальчук, В. В. Хроническая ишемия головного мозга. Современные представления об этиопатогенезе, диагностике и терапии / В. В. Ковальчук, Е. Р. Баранцевич // Эффективная фармакотерапия. – 2017. – № 19. – С. 26–32.
3. Соловьева, Э. Ю. Церебральная микроангиопатия в развитии хронической ишемии мозга: подходы к лечению / Э. Ю. Соловьева, И.П. Амелина // Медицинский совет. – 2020. – № 2. – С. 16–24. doi: 10.21518/2079-701X-2020-2-16-24
4. Костенко, Е.В. Патофизиологические особенности хронических цереброваскулярных заболеваний / Е. В. Костенко, Л. В. Петрова // Мед. совет. – 2019. – № 1. – С. 24–30. doi: https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-1-24-30

5. Bonetti, P. O. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk / P. O. Bonetti, L. O. Lerman, A. Lerman // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2003. – Vol. 23. – P. 168–175. doi: 10.1161/01.atv.0000051384.43104.fc.
6. Landmesser, U. Endothelial function: a critical determinant in atherosclerosis? / U. Landmesser, B. Hornig, H.Drexler // Circulation.– 2004.– Vol. 109, № 21. Suppl. 1. – P. II27–33. doi: 10.1161/01.CIR.0000129501.88485.1f.
7. Поддубная, О. А. Низкоинтенсивная лазеротерапия в клинической практике (часть 1) / О. А. Поддубная // Вестник восстановительной медицины. – 2020. – №6. – С. 92-99. doi:10.38025/2078-1962-2020-100-6-92-99
8. Лазерная гемотерапия при ишемических цереброваскулярных заболеваниях (экспериментальные и клинические аспекты) / Н. И. Нечипуренко, Ю. И. Степанова, Л. А. Василевская [и др.]; под ред. Н. И. Нечипуренко // Минск: Бизнесофсет, 2010. – 192 с.
9. Шабалин, В. Н. Морфология биологических жидкостей человека / В. Н. Шабалин, С. Н.Шатохина. – М.: Хризостом, 2001. – 302 с.
10. Морфологическое и спектрофотометрическое исследование плазмы крови пациентов с аневризмой сосудов головного мозга / Ж. И. Булойчик, А. П. Зажогин, Н. И. Нечипуренко [и др.] // Журнал БГУ. Физика. – 2018. – № 1. – С. 9–17.
11. Использование морфоструктурного анализа и лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии для диагностики рака простаты / Г. Т. Маслова [и др.] // Доклады БГУИР. – 2016. – № 7. – С. 192–196.
12. Костюк, В. А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В. А. Костюк, А. И. Потапович, Ж. В. Ковалева // Вопр. мед. химии. – 1990. – Т. 36, № 2. – С. 88–91.
13. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, Л. Г. Майорова и др. // Лабораторное дело. – 1988. – № 1.– С. 16–19.
14. Костюк, В. А. Определение продуктов перекисного окисления липидов с помощью тиобарбитуровой кислоты в анаэробных условиях / В. А. Костюк, А. И. Потапович // Вопр. мед. химии. – 1987. – № 3. – С. 115–118.
15. Прокопенко, Т. А. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на состояние про- антиоксидантного баланса, систему первичного гемостаза и морфологию крови при транзиторной ишемической атаке / Т. А. Прокопенко, Н. И. Нечипуренко, И. Д. Пашковская // Новости медико-биологических наук. – 2025. – Т. 25, №3. – С. 194–206.

## References

1 Chukanova EI, Chukanova AS, Bagmanyan SD. Hronicheskaja ishemija mozga – mezhdisciplinarnaja problema [Chronic cerebral ischemia – an interdisciplinary problem]. *Terapija* [*Therapy*]. 2021;(5):149-56. (in Russian) doi: 10.18565/ therapy.2021.5.149-156
2 Kovalchuk VV, Barantsevich YeR. Hronicheskaya ishemija golovnogo mozga. Sovremennye predstavleniya ob etiopatogeneze, diagnostike i terapii [Chronic Cerebral Ischemia. Current Understanding of Etiopathogenesis, Diagnostics and Therapy]. *Effectivnaija farmakoterapija* [Effective Pharmacotherapy]. 2017; (19):26-32. (in Russian)
3 Soloveva EYu., Amelina IP. Cerebral'naja mikroangiopathija v razvitii hronicheskoj ishemii mozga [Cerebral small vessel disease's impact on the development of chronic cerebral ischemia: paradigms of the treatment]. *Meditsinskiy sovet* [Medical Council]. 2020;(2):16–24. (in Russian) doi: 10.21518/2079-701X-2020-2-16-24
4 Kostenko EV, Petrova LV. Pathofiziologicheskije osobennosti hronicheskich cerebrovasculiarnych zabolevanij[Pathophysiological features of chronic cerebrovascular diseases and possibilities of complex neuroprotective therapy]. *Meditsinsky Sovet* [Medical Council]. 2019; (1): 24-30. (in Russian) doi: https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-1-24-30
5 Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. Arterioscler. *Thromb. Vasc. Biol*. 2003; (23): 168-175. doi: 10.1161/01.atv.0000051384.43104.fc.
6 Landmesser U., Hornig B., Drexler H. Endothelial function: a critical determinant in atherosclerosis? *Circulation*. 2004; (21): 27-33. doi: 10.1161/01.CIR.0000129501.88485.1f.
7 Poddubnaya OA. Nizkointensivnaija lazeroterapija v clinicheskoj praktike (chast'1) [Low-Intensity Laser Therapy in Clinical Practice (Part 1)]. [*Bulletin of Rehabilitation Medicine*]. 2020; 6 (100): 92–99. (in Russian) https://doi.org/10.38025/2078-1962-2020-100-6-92-99
8 Nechipurenko NI, Stepanova YuI, Vasilevskaya LA et al. Lasernaja gemoterapija pri cerebrovascularnyh zabolevanijach (experimentalnyje I clinicheskije aspecty). Pod redakciej N.I. Nechipurenko [Laser hemotherapy for cerebrovascular diseases (experimental and clinical Aspects). Edited by N.I. Nechipurenko]. Minsk, Bisnesofset: 2010:192. (in Russian)
9 Shabalin VN, Shatohina SN. Morphologija biologicheskich zhidkostej cheloveka [Morphology of human biological fluids]. Moscow. 2001: 302. (in Russian)
10 Buloichik ZhI, Zagogin AP, Nechipurenko NI et al. Morphologicheskoe I spectrofotometricheskoe issledovanie plasmy krovi pacientov s anevrismoj sosudov golovnogo mozga [Morphological and spectrophotometric analysis of blood plasma in patients with cerebral aneurysms]. *Zhurnal BGU. Fizika* [Journal of the BSU. Physics]. 2018; (1): 9-17. (in Russian)
11 Maslova GT et al. Ispol'zovaniye morfostrukturnogo analiza i lazernoy atomno-emissionnoy spektrometrii dlya diagnostiki raka prostaty [Use of morphostructural analysis and laser atomic emission spectrometry for prostate cancer diagnosis]. *Doklady BGUIR* [Doklady BSUIR]. 2016; (7): 192-196. (in Russian)
12 Kostyuk VA, Potapovich AI, Kovaleva ZhV. Prostoy i chuvstvitel'nyy metod opredeleniya aktivnosti superoksiddismutazy, osnovannyy na reaktsii okisleniya kvertsetina [A simple and sensitive method for determining superoxide dismutase activity based on the oxidation reaction of quercetin]. *Voprosy medicinskoij himii*. 1990; (2): 88-91. (in Russian)
13 Korolyuk MA, Ivanova LN, Mayorova IG, Tokarev VE. Metod opredeleniya aktivnosti katalazy [Method for Determining Catalase Activity]. *Lobaratornoe delo*. 1988; (1):16-19. (in Russian)
14 Kostyuk VA, Potapovich AI. Opredeleniye produktov perekisnogo okisleniya lipidov s pomoshch'yu tiobarbiturovoy kisloty v anaerobnykh usloviyakh. *Voprosy medicinskoij himii*. 1987; (3): 115-118. (in Russian)
15 Prakapenka TA, Nechipurenko NI, Pashkouskaya ID. Vlijanie nizkointensivnogo lasernogo izluchenija na sostojanie pro- antioxidantnogo balansa, sistemy pervichnogo gemostasa I morfologiju krovi pri transitornoj ishemicheskoj atake [Influence of low-intensity laser radiation on the state of pro-antioxidant balance, primary hemostasis system and blood morphology in transient ischemic attack]. *Novosti mediko-biologicheskich nauk* [News of biomedical sciences]. 2025; (3): 194-206. (in Russian)

# EVALUATION OF METABOLIC-HEMOSTASIOLOGICAL PARAMETERS AND MORPHOLOGY OF A DEHYDRATING DROP OF BLOOD IN CHRONIC CEREBRAL ISCHEMIA UNDER CONDITIONS OF LASER HEMOTHERAPY

*N. I. Nechipurenko, T. A. Prakapenka, I. D. Pashkouskaya*

*Republican Scientific and Practical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Republic of Belarus*

**Background.** Chronic cerebral ischemia (CCI) is the main factor in the development of vascular cognitive impairment, the cause of approximately 40% of dementias, 20% of strokes that occur in the world, which determines the relevance of research on this problem.

**Objective.** To study the effect of laser hemotherapy on the indicators of the pro-, antioxidant system, primary hemostasis and fibrinolysis, as well as to study the morphostructure and intensity distribution of calcium lines in dehydrating plasma droplets in patients with CCI.

**Materials and methods.** The study included 55 patients with CCI, divided into 3 groups depending on the treatment received. At the time of admission to the hospital and at discharge, a number of indicators of lipid peroxidation, hemostasis and fibrinolysis were studied; morphostructure and intensity distribution of calcium lines in dehydrating plasma droplets were evaluated.

**Results.** An imbalance in the antioxidant system, an increase in the concentration of PAI-1, a change in the morphostructure and distribution of the intensities of calcium lines in dehydrating plasma droplets before treatment were revealed in patients with CCI. In patients of the main groups with the inclusion of laser therapy, a more effective normalization of the studied parameters was established.

**Conclusion.** Inclusion in the complex treatment of laser hemotherapy of different wavelengths leads to the normalization of the antioxidant system, which helps to preserve the membrane structures of endothelial and nerve cells, improve the morphostructure of dehydrating blood drops in PIM and can help slow down the progression of this disease.

**Keywords:** chronic brain ischemia, lipid peroxidation, hemostasis, morphology of dehydrating plasma droplets, calcium, laser hemotherapy.

**For citation:** Nechipurenko NI, Prakapenka TA, Pashkovskaya ID. Assessment of metabolic and hemostasiological parameters and morphology of the dehydrating blood drop in chronic cerebral ischemia in conditions of laser hemotherapy. *Biochemistry and molecular biology.* 2026, vol. 5, no. 1(8). pp. 27–38. (in Russian)

*Поступила 26.02.2026*

УДК 578.821.52:578578.832.1:578.324

# ВТОРИЧНАЯ СТРУКТУРА ХИМЕРНЫХ АНТИГЕНОВ НА ОСНОВЕ КАПСИДНОГО БЕЛКА A29L ВИРУСА ОСПЫ ОБЕЗЬЯН С ВНЕДРЕННЫМИ ПЕПТИДАМИ ИЗ НЕЙРАМИНИДАЗЫ ВИРУСОВ ГРИППА H1N1 И H3N2

*В. В. Хрусталёв[1], М. С. Тарасик[2], П. В. Матусевич[1], М. И. Потапович[1], Е. В. Малюшкова[1], Е. О. Корик[1], И. В. Семак[1], О. В. Хрусталёва[2]*

*[1]Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь*

*[2]Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь*

**Введение.** Использование синтетических пептидов с целью иммунизации считается одним из наиболее перспективных направлений развития иммунологии и вакцинологии, а иммуногенность самой вакцины можно повысить за счет создания химерных антигенов.

**Цель исследования.** Экспериментально доказать идентичность структуры фрагмента нейраминидазы N1 и фрагмента нейраминидазы N2 в составе химерных антигенов.

**Материалы и методы.** Модели пептидов получены с помощью сервера trRosetta. Для получения целевых белков использовали NEBExpress Cell-free E.Coli Protein Synthesis System (E5360S). Очистку целевого белка проводили при помощи QIAexpress Ni-NTA Spin Columns. Эффективность синтеза и очистки целевых белков анализировали методом SDS-электрофореза. Для доказательства идентичности использовали спектрофотометрию и спектрофлуориметрию, для анализа вторичной структуры полученных целевых белков использовали спектроскопию кругового дихроизма (КД) и инфракрасную спектроскопию (ИК).

**Результаты.** Два химерных антигена получены путём бесклеточного синтеза, выделены и очищены. Спектры поглощения и флуоресценции подтверждают идентичность выделенных белков, спектры КД и ИК показали наличие бета-структуры.

**Заключение.** Полученные данные говорят о целесообразности дальнейших этапов создания двухвалентной вакцины против вируса гриппа и вируса оспы обезьян с использованием химерных антигенов.

**Ключевые слова:** нейраминидаза N1, нейраминидаза N2, капсидный белок A29L вируса оспы обезьян, химерные антигены.

**Для цитирования:** Вторичная структура химерных антигенов на основе капсидного белка A29L вируса оспы обезьян с внедренными пептидами из нейраминидазы вирусов гриппа H1N1 и H3N2 / В. В. Хрусталёв, М. С. Тарасик, П. В. Матусевич [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2026. – Т. 5, № 1(8). – С. 39–47.

## Введение

Создание новых вакцинных антигенов – одно из современных направлений развития вакцинологии и биотехнологии [10]. Однако успех в подобных проектах напрямую зависит от того, насколько хорошо учтены авторами аспекты структурной биохимии белка [9]. Вакцинный антиген должен обладать достаточно устойчивой структурой, чтобы антитела, выработанные к нему, смогли распознать соответствующий белок патогенного микроорганизма [8]. Проверить факт воспроизведения структуры белка или пептида в водном растворе можно с помощью таких спектральных методов, как спектроскопия кругового дихроизма и инфракрасная спектроскопия нарушенного полного внутреннего отражения [3]. Только в случае соответствия вторичной структуры вакцинного антигена строению соответствующего белка или его фрагмента можно переходить к последующим этапам работы – в частности, к проверке иммуногенных свойств на лабораторных животных [2]. Саму по себе иммуногенность вакцины можно повысить за счёт создания химерных антигенов или конъюгатов с высокоиммуногенными белками других возбудителей [14].

В данной работе в качестве «усилителя» иммунного ответа был использован белок капсида вируса оспы обезьян A29L [4], а в качестве перспективного антигена – фрагмент нейраминидазы вируса гриппа. Поскольку в настоящее время в популяции циркулируют вирусы гриппа H1N1 и H3N2, были созданы два химерных антигена: с фрагментом нейраминидазы первого типа (N1) и с фрагментом нейраминидазы второго типа (N2).

Фрагмент нейраминидазы, использованный в данной работе, был ранее предложен нами в каче-

стве вакцинного антигена по причине относительной стабильности его структуры [1]. Более того, известны структуры комплексов нейтрализирующих антител с нейраминидазой, в которых антитела непосредственно взаимодействуют с аминокислотными остатками из использованного нами фрагмента [12]. Немаловажным фактором, усиливающим иммунный ответ, является увеличение размеров антигена. Однако при создании химерных белков возможно образование такой вторичной и третичной структуры, которая не характерна ни для белка-носителя, ни для внедренного антигена.

**Цель исследования.** Относительно новый способ получения вакцинного антигена с использованием системы бесклеточного синтеза позволяет синтезировать небольшое количество продукта за короткий промежуток времени в условиях, близких к физиологическим [5]. Если для масштабирования технологии получения белка этот способ на данный момент времени не подходит, то для нужд структурной биологии получаемые количества продукта вполне достаточны. Собственно, целью настоящего скринингового структурного исследования явился ответ на вопрос, следует ли использовать предложенные нами химерные антигены на дальнейших этапах работы.

## Материалы и методы

1. *Наработка белка с помощью системы бесклеточного синтеза*

Для получения целевых белков на основании соответствующих плазмид была использована NEBExpress Cell-free E.Coli Protein Synthesis System (E5360S). Все последующие действия проводили под ламинар-боксом в стерильных условиях. По 10 мг лиофилизированного препарата плазмиды (GenScript) растворяли в 10 мкл стерильного ТЕ-буфера составом 10 ммоль/л Tris-HCl, 1 ммоль/л ЭДТА, pH 8. Далее, в две стерильные пробирки типа эппендорф объёмом 2 мл вносили по 120 мкл NEBExpress S30 Synthesis Extract, 250 мкл Protein Synthesis Buffer, 10 мкл T7 RNA Polymerase, 10 мкл RNase Inhibitor, Murine и по 2,5 мкл соответствующей плазмиды, после чего объём полученной суспензии доводили до 500 мкл деионизованной водой и аккуратно перемешали пипетированием. После этого образец в закрытой пробирке выносили из-под ламинар-бокса и ставили на инкубацию в водяную баню с перемешиванием при 37 °C в течение 4 часов. Перед последующими этапами от образцов отбирали по 20 мкл для дальнейшего электрофоретического анализа.

2. *Очистка целевого белка с помощью металл-хелатной аффинной хроматографии и центрифужной ультрафильтрации*

После наработки целевого белка системой бесклеточного синтеза он был подвергнут очистке при помощи QIAexpress Ni-NTA Spin Columns. Для уравновешивания колонок на них вносили по 600 мкл буфера следующего состава: 20 ммоль/л Tris-HCl, 300 ммоль/л NaCl, 10 ммоль/л имидазола, pH 7,5. Затем колонки центрифугировали в пробирках типа эппендорф объемом 2 мл в течение 2 мин при 2900 rpm (890 × g). После нанесения по 480 мкл растворов, содержащих наработанные целевые химерные белки, и центрифугирования в течение 5 мин при 1600 rpm (270 × g) отбирали фракцию, не задержавшуюся на колонке, для дальнейшего анализа. Колонки дважды промывали буфером, аналогичным уравновешивающему, с центрифугированием по 2 мин при 2900 rpm (890 × g). Элюцию целевого белка проводили в 300 мкл буфера составом 20 ммоль/л Tris-HCl, 300 ммоль/л NaCl, 300 ммоль/л имидазола, pH 7,5 в режиме центрифугирования: 2 мин, 2900 rpm (890 × g). Сразу после очистки образец переводили в 0,01 моль/л фосфатный буфер с pH 7,4 на фильтрационных пробирках Elabscience 3 KD (E-LK-001A). Для этого образцы вносили на фильтры, установленные во входящие в комплект с ними пробирки типа эппендорф, и центрифугировали в течение 10 мин при 10000 rpm (9503 × g). Далее на фильтры вносили по 500 мкл фосфатного буфера и центрифугирование повторяли в том же режиме. После этого на фильтры вносили еще по 500 мкл фосфатного буфера, фильтры в перевернутом виде устанавливали в новые пробирки и центрифугировали при тех же условиях. Таким образом, целевые белки находились в данных пробирках в 500 мкл фосфатного буфера.

От всех полученных при очистке методом металл-хелатной аффинной хроматографии фракций отбирали по 20 мкл для анализа методом SDS-PAGE.

Для удаления остатков примесей после очистки целевого белка на никелевом сорбенте был вновь использован метод центрифужной ультрафильтрации, но на этот раз – через мембрану с порогом отсечения 30 кДа. При этом примеси, обладающие более высокой молекулярной массой, задерживались на мембране, в то время как целевой белок проходил через нее. На центрифужные фильтры Merck Millipore Amicon Ultra 30 kDa наносили по 500 мкл образцов, после чего их центрифугировали в режиме 20 мин, 2500 × g, 20 °C. К оставшимся над мембраной 150 мкл белка добавляли по

600 мкл и центрифугировали в том же режиме, после чего данный этап повторяли еще раз. Суммарно объем образца, содержащего очищенные целевые белки, составил 1,5 мл.

3. *SDS-электрофорез в полиакриламидном геле*

Эффективность синтеза и очистки целевых белков анализировали методом SDS-электрофореза в 15 % акриламидном геле в соответствии со стандартными протоколами [15]. Окраску геля проводили по методу Wang et al. [13].

4. *Анализ полученных белков*

Анализ структуры полученных целевых белков проводился следующими методами.

• Спектроскопия кругового дихроизма (CD-спектроскопия)

Для получения CD спектров целевых белков использовался спектрограф Jasco J-1500. Перед использованием прибора в течение 10 мин CD-спектрометр переводился в инертную среду азота с помощью подключенного к нему $N_2$-генератора. Измерения проводились в кювете с длиной пути в 1 см, при 20 °C и при длинах волн от 180 нм до 380 нм. Сначала в кювету вносили 1,5 мл соответствующего фосфатного буфера в качестве контроля, после чего снимали спектры образцов, внося их в том же объеме. При каждом измерении после установки кюветы и непосредственно перед снятием спектра система прочищалась азотом еще в течение 5 мин.

• Инфракрасная спектроскопия (ИК-спектроскопия)

Поскольку чувствительность FT-IR анализатора белков Biotools PROTA-3S ниже, чем у CD-спектрографа, перед применением данного метода белок был сконцентрирован на фильтрах Elabscience 3 KD (E-LK-001A) до объема 300 мкл. Измерение на анализаторе начинали со снятия спектра по воздуху в промежутке от 1400 $см^{-1}$ до 1800 $см^{-1}$ с разрешением 4 $см^{-1}$ и 200 повторами, предварительно накрыв окошко прибора не пропускающей свет крышечкой. Далее, после выставления спектра по воздуху в качестве бэкграунда, на окошко (алмаз) наносили 5 мкл фосфатного буфера, аналогичного тому, в котором находился образец, и так же накрывали крышечкой. Сняв спектр буфера при тех же параметрах, что и спектр воздуха, и аккуратно удалив буфер с окошка, процедуру повторяли для образцов. Затем спектры образцов обрабатывали с помощью программы ProtaCal во вкладке FTIR. В данной программе проводили вычитание буфера, нормализацию и сглаживание спектров.

• Наноспектрометрия

Спектры поглощения записывали с помощью наноспектрометра Implen NanoPhotometer. При этом использовали по 2 мкл буфера и каждого из двух растворов очищенных химерных белков.

• Флуориметрия

Для снятия спектров флуоресценции образцов на спектрофлуориметре Agilent Cary Eclipse использовали кварцевую кювету с узким каналом, объём пробы составлял 100 мкл. Измерения спектров флуоресценции буфера и образцов проводили при ширине щелей возбуждения и эмиссии в 10 нм. Снимали спектр эмиссии 300–400 нм при длине волны возбуждения 270 нм.

• Моделирование структуры пептидов

Модели пептидов были получены с помощью сервера trRosetta (https://yanglab.qd.sdu.edu.cn/trRosetta/).

## Результаты и их обсуждение

Конструкция химерных антигенов заключалась в том, что последовательность, кодирующую пептид из нейраминидазы вируса гриппа (FW VELIRGRPEENTIWTSGSSISF – для пандемического вируса гриппа H1N1; FYVELIRGRKEETEV LWTSNSIVVF – для вируса гриппа H3N2), дважды поместили в последовательность, кодирующую капсидный белок A29L вируса оспы обезьян (MRELIRLTIGLKYKEENMHHHHHHENLYFQG MDGTLFPGDDDLAIPATEFFSTKAAKNPETKRE AIVKAYGD**[петид]**DNEETLKQRLTNLEKKITNI TTKFEQIEKCCKHN **[пептид]**DEVLFRLENHAE TLRAAMISLAKKIDVQTGRRPYE). Важно отметить, что две вставки были сделаны именно в тех местах последовательности, в которых алгоритм PentaFOLD 3.1 [2] предсказал петли (участки, лишенные вторичной структуры) как по альфа-спиральному, так и по бета-структурному паттерну, так же как и сервер NPS@Consensus – по результатам предсказания вторичной структуры с помощью девяти методов. К N-концу последовательности капсидного белка A29L был присоединён тег, содержащий сигнальный пептид и полигистидиновый тракт (последовательность подчеркнута). Таким образом были сконструированы кодирующие участки векторов для получения двух химерных антигенов: A29L-dN1 и A29L-dN2.

Трехмерная структура белка A29L вируса оспы обезьян до сих пор не определена. Структура фрагмента, соответствующего пептидам из нейраминидазы, хорошо известна: бета-шпилька с длинной петлей, нависающей над активным центром этого фермента [12]. Целью данного исследования как раз и был ответ на вопрос о том, воспроизвелась ли эта бета-шпилька в составе химерного антигена.

Как видно на Рисунке 1, на моделях пептидов как из нейраминидазы N1, так и из нейраминидазы N2 присутствует остаток триптофана, доступный водному микроокружению, расположенный у вершины петли. Однако у пептида из нейраминидазы N1 имеется ещё один остаток триптофана, который расположен в первом бета-тяже (рисунок 1, *а*). Этот остаток триптофана должен быть в гораздо меньшей степени экспонирован водному микроокружению в составе полноразмерного белка. Заметно, что остатки триптофана пространственно отдалены друг от друга на модели пептида из нейраминидазы N1 (рисунок 1, *а*), так же как остаток триптофана из петли и остаток тирозина из первого бета-тяжа на модели пептида из нейраминидазы N2 (рисунок 1, *б*).

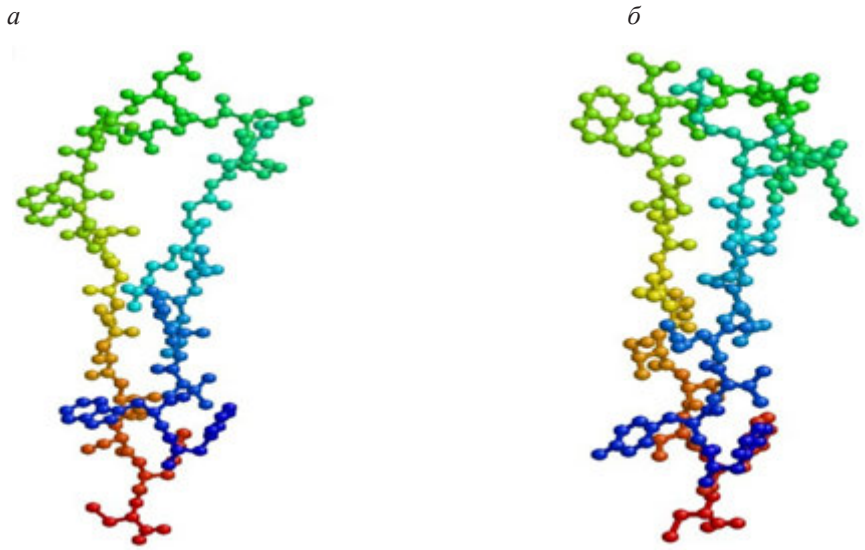



Рисунок 1 – Модель пептидов нейраминидазы N1(*а*) и нейраминидазы N2 (*б*)

Figure 1 – Model of neuraminidase N1 (*a*) and neuraminidase N2 peptides (*b*)

Как видно из результатов денатурирующего электрофореза (рисунок 2), фракции элюции после очистки на Ni-NTA Spin Columns содержат белок с молекулярной массой около 25 кДа, что соответствует исследуемым химерным формам антигенов (22 кДа). В то же время в этих же фракциях присутствует значительное количество белковых примесей с молекулярной массой в районе 40 кДа и выше, из-за чего была проведена дополнительная очистка с помощью центрифужных фильтров на 30 кДа, как было указано в разделе «Материалы и методы».

Спектры кругового дихроизма как для химерного белка с N1 (рисунок 3, *а*), так и для химерного белка с N2 (рисунок 3, *б*) имеют весьма характерную форму: имеется как минимум в районе 196 нм, свидетельствующий о существовании значительной доли аминокислотных остатков в форме петли, так и минимумы в районе 210 и 222 нм, характерные для белков с определенной вторичной структурой. Интересно отметить, что эти минимумы на спектрах кругового дихроизма соизмеримы друг с другом. Деконволюция приведенных на рисунке 3 спектров с помощью сервера BeStSel [6] в диапазоне 180–250 нм показала, что белки формируют антипараллельную бета-структуру (47,4 % для химерного белка с N1, 46,2 % для химерного белка с N2), а признаков формирования ими альфа-спиралей не обнаружено. Более

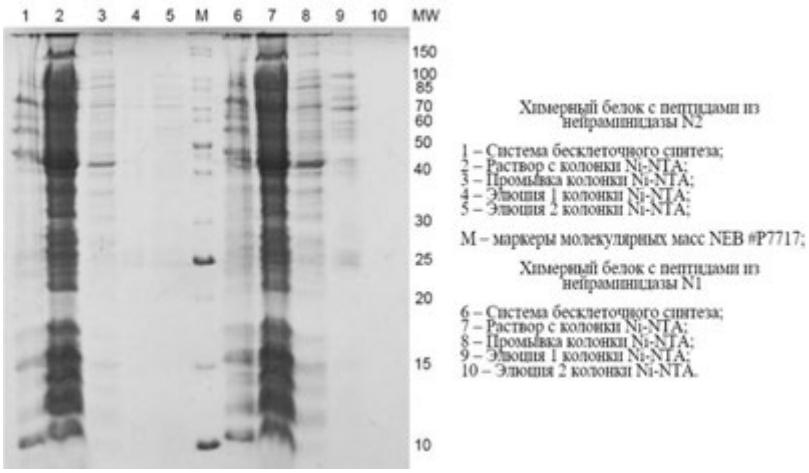



Рисунок 2 – Белковые фракции химерного белка с пептидами из нейраминидазы N1 и N2

Figure 2 – Protein fractions of the chimeric protein with peptides from neuraminidase N1 and N2

детальный анализ антипараллельной бета-структуры показал, что в белках присутствует как правозакрученный ее вариант (21,9 % и 21,7 %, соответственно), так и планарный (21,0 % и 20,7 %). Вероятнее всего, правозакрученный вариант антипараллельной бета-структуры, характерный для структуры нейраминидазы вируса гриппа, характерен именно для внедрённых пептидов, а планарный – для фрагментов белка A29L вируса оспы обезьян, в который они были внедрены.

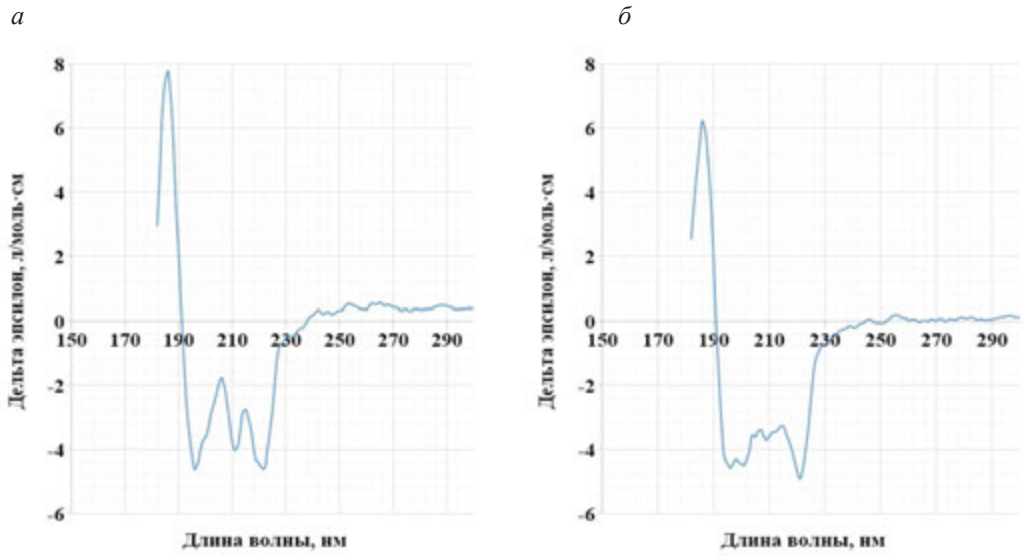



Рисунок 3 – Спектры кругового дихроизма химерного белка с N1 (*а*) и с N2 (*б*)

Figure 3 – Circular dichroism spectra of the chimeric protein with N1(*a*) and N2 (*b*)

Нельзя не отметить, что сам по себе белок A29L, судя по результатам молекулярного моделирования с помощью SwissModel, формирует длинную альфа-спираль и существует в форме тримера. Такая структура, действительно, характерна для родственных ему белков из вируса оспы и вируса гриппа (для ствола гемагглютинина). Однако степень сходства между ними по аминокислотным последовательностям не высока. Вполне вероятно, что A29L действительно находится в альфа-спиральном состоянии, формируя капсид вируса оспы обезьян – за счет множества контактов с другими полипептидными цепями. Возможно, что этот же белок в мономерном состоянии теряет альфа-спиральную конформацию и образует бета-структуру не только с внедренными в него фрагментами нейраминидазы, но и сам по себе.

Данные ИК-НПВО (рисунок 4) подтверждают тот факт, что выделенные нами белки формируют бета-структуру. Положение максимума полосы поглощения амид I на спектрах, записанных в водном растворе, указывает на это: 1635 см$^{-1}$ для химерного белка с N1 и 1634 см$^{-1}$ для химерного белка с N2 [11]. Повторение эксперимента с образцами после заморозки показало схожие результаты. По мере высыхания образца на алмазном кристалле положение максимума полосы поглощения амид I не выходило за пределы, характерные для бета-структуры (1637 – 1641 см$^{-1}$ для химерного белка с N1, 1636 см$^{-1}$ – для белка с N2).

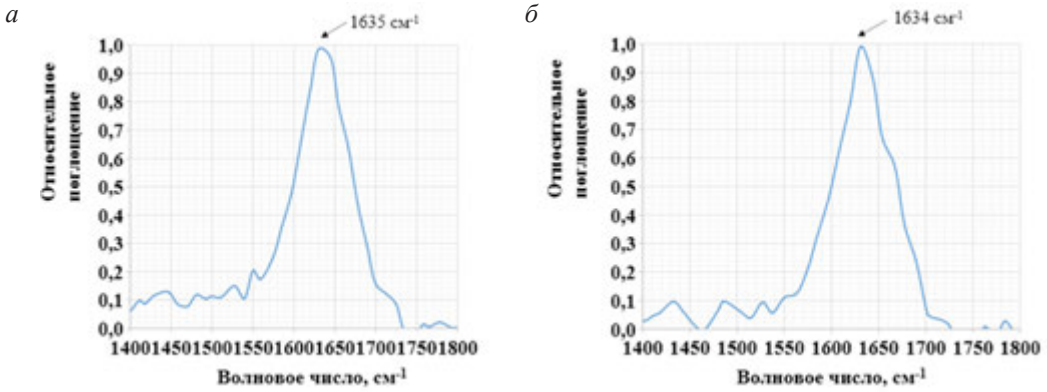



Рисунок 4 – Спектры ИК-НПВО химерного белка с N1 (*а*) и с N2 (*b*)

Figure 4 – Spectra ATR-IR of chimeric protein with N1(*a*) and N2 (*b*)

Возвращаясь к рисунку 3, нельзя не отметить, что у химерного белка с N1 на спектре имеются гораздо более выраженные положительные пики в районе 250–300 нм, чем у химерного белка с N2. Известно, что подобные пики дают остатки триптофана в том случае, если они не полностью экспонированы водному микроокружению, а формируют разнообразные контакты с другими аминокислотными остатками [7]. Так как в антигене N1 присутствуют два остатка триптофана, а в антигене N2 – только один, логично предположить, что дополнительный остаток триптофана из антигена N1 взаимодействует с другими остатками (судя по всему – из белка-носителя), а другой остаток экспонирован водному окружению.

Различия в спектрах поглощения для растворов химерных белков согласуются с их аминокислотным составом: для белка с N1 максимум поглощения находится при 272 (рисунок 5, *а*), а для белка с N2 – при 263 нм (рисунок 5, *б*). Спектры поглощения в этой области являются интегральными для всех ароматических остатков. В каждом из двух белков имеются 10 остатков фенилаланина (максимум поглощения 258 нм). В белке с N1 есть 4 остатка тирозина (276 нм) и 4 остатка триптофана (280 нм), а в белке с N2 – только два остатка триптофана и 6 остатков тирозина, чем и обусловлен «сдвиг» его максимума поглощения в коротковолновую сторону с учетом того, что остатки триптофана поглощают значительно сильнее, чем остатки тирозина.

*а* *б*

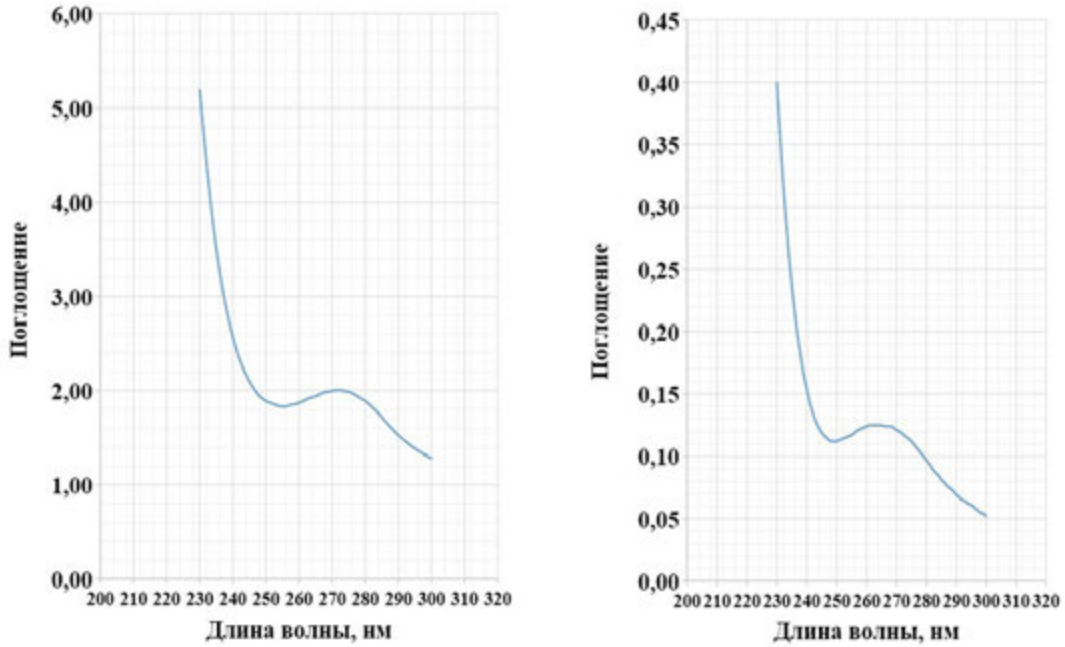



Рисунок 5 – спектр поглощения для растворов химерных белков с N1 (*а*) и с N2 (*б*)

Figure 5 – absorption spectrum for solutions of chimeric proteins with N1(*a*) and N2 (*b*)

Максимум испускания для химерного белка с пептидами из нейраминидазы N1 находится при 336 нм (рисунок 6, *а*), что свидетельствует о том, что остатки триптофана не являются полностью скрытыми от водного микроокружения, но и не являются полностью ему экспонированными. С учетом того, что этот показатель интегральный, можно предположить, что некоторые остатки триптофана (расположенные у подножья бета-шпилек пептидов N1) в большей степени скрыты от сольвента, а остатки триптофана на вершинах этих шпилек – открыты ему. В связи с отсутствием на спектре максимумов в районе 302 нм можно сделать вывод о том, что перенос энергии от остатков тирозина к остаткам триптофана для этого химерного белка не затруднён – они расположены относительно близко друг к другу. Такие условия действительно возможны, как минимум, во фрагменте химерного белка с N1 с последовательностью “YGDFW”. У химерного белка с N2, наоборот, остатки тирозина далеки от остатков триптофана, так как на спектре имеются максимумы и при 304 нм, и при 349 нм (рисунок 6, *б*). Остатки триптофана, при этом, экспонированы водному микроокружению, чем обусловлен «сдвиг» максимума эмиссии в длинноволновую сторону. Получается, что пептиды из N2 расположены на белке A29L в виде двух «шипов», а не распластаны по его поверхности.

*а* *б*

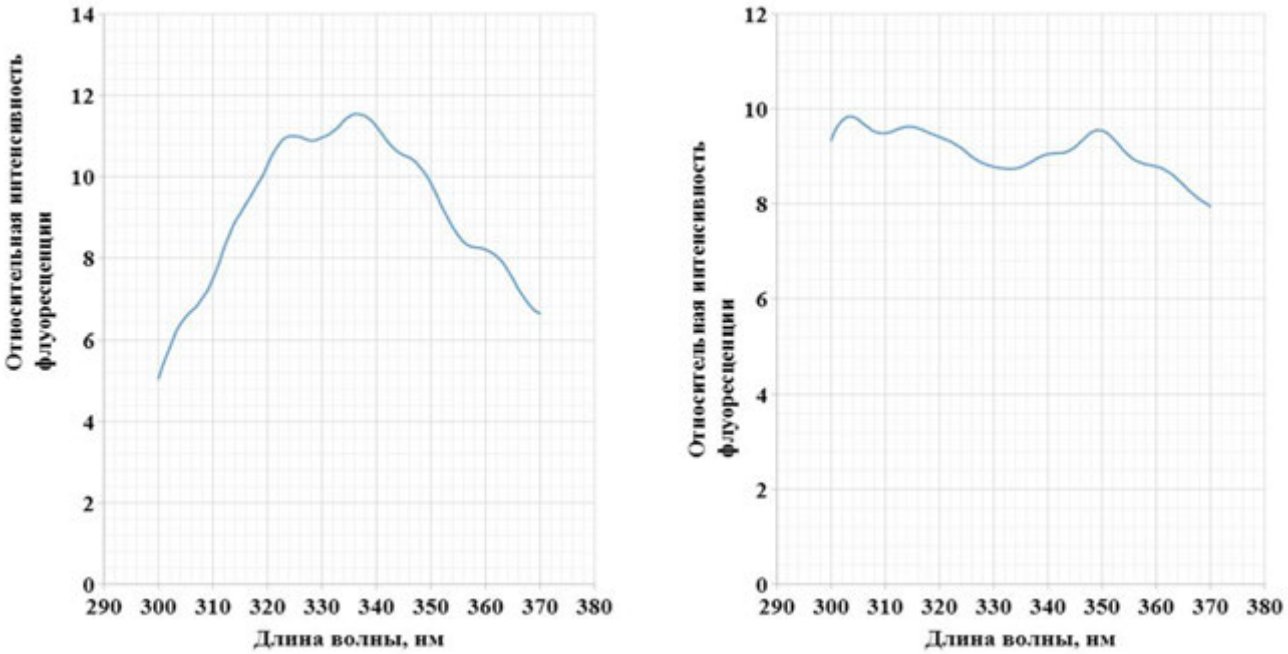



Рисунок 6 – спектр флуоресценции для растворов химерных белков с N1 (*а*) и с N2 (*б*)

Figure 6 – fluorescence spectrum for solutions of chimeric proteins with N1(*a*) and N2 (*b*)

## Заключение

С помощью системы бесклеточного синтеза белков были получены два химерных антигена: белок капсида вируса оспы обезьян A29L с дважды внедренным фрагментом нейраминидазы вируса гриппа H1N1 и тот же белок-носитель с дважды внедренным фрагментом нейраминидазы вируса гриппа H3N2. По данным спектроскопии кругового дихроизма и инфракрасной спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения оба белка образуют антипараллельную бета-структуру: как правозакрученную, так и планарную. Эти данные свидетельствуют о воспроизведении структуры фрагмента нейраминидазы N1 и фрагмента нейраминидазы N2 в составе химерных антигенов, в связи с чем исследование иммуногенных свойств полученных химерных антигенов является целесообразным.

**Благодарности.** Работа выполнена при поддержке гранта БРФФИ-НФЕНК Б25КИ-46.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список использованных источников

1. Хрусталёв, В. В. Дизайн вакцинного пептида из нейраминидазы вируса птичьего гриппа H5N6 / В. В. Хрусталёв, Т. А. Хрусталёва // Современные проблемы медицинской биохимии: сборник статей участников Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию профессора В.К. Кухты, Минск, 25 января 2022 г. / под ред. А. Д. Тагановича, Н. Н. Ковганко, В. В. Хрусталева. – Минск, 2022. – С. 306–311.
2. Khrustalev, V. V. The PentaFOLD 3.0 Algorithm for the Selection of Stable Elements of Secondary Structure to be Included in Vaccine Peptides / V. V. Khrustalev // Protein and Peptide Letters. – 2021. – Vol. 28 (5). – P. 573–588. – DOI: 10.2174/0929866527666201110123851.
3. Conjugation with the Carrier Helped to Reveal acidification-Induced Structural Shift in the Peptide from Phospholipase Domain of Parvovirus B19 / V. V. Khrustalev, O. V. Khrustaleva, A. N. Stojarov [et. al] // The Protein Journal. – 2024. – Vol. 43 (4). – P. 805–818. – DOI: 10.1007/s10930-024-10209-w.
4. Three neutralizing mAbs induced by MPXV A29L protein recognizing different epitopes act synergistically against orthopoxvirus / M. Li, Z. Ren, Y. Wang [et. al] // Emerging Microbes & Infections. – 2023. – Vol. 12 (2). – P. 2223669. – DOI: 10.1080/22221751.2023.2223669.
5. Maharjan, A. Cell-free protein synthesis system: A new frontier for sustainable biotechnology-based products / A. Maharjan, J. H. Park // Biotechnology and Applied Biochemistry. – 2023. – Vol. 70., (6). – P. 2136–2149. – DOI: 10.1002/bab.2514.
6. BeStSel: webserver for secondary structure and fold prediction for protein CD spectroscopy / A. Micsonai, É. Moussong, F. Wien [et. al] // Nucleic Acids Research. – 2022. – Vol. 50. – P. W90–W98. – DOI: 10.1093/nar/gkac345.
7. Near-UV circular dichroism and UV resonance Raman spectra of tryptophan residues as a structural marker of proteins / S. Nagatomo, M. Nagai, T. Ogura, T. Kitagawa // The Journal of Physical Chemistry B. – 2013. – Vol. 117(32). – P. 9343–9353. – DOI: 10.1021/jp404685x.

8. Strategies of rational and structure-driven vaccine design for Arenaviruses / A. S. Peter, D. S. Hoffmann, J. Klier [et. al] // Infection, Genetics and Evolution. – 2024. – Vol. 123. – P. 105626. – DOI: 10.1016/j.meegid.2024.105626.
9. In Silico Structure-Based Vaccine Design / S. Piplani, D. Winkler, Y. Honda-Okubo [et. al] // Methods in Molecular Biology. – 2023. – Vol. 2673. – P. 371–399. – DOI: 10.1007/978-1-0716-3239-0_26.
10. Vaccine development: Current trends and technologies / R. Poria, D. Kala, R. Nagraik [et. al] // Life Sciences. – 2024. – Vol. 336. – P. 122331. – DOI: 10.1016/j.lfs.2023.122331.
11. Sadat, A. Peak Fitting Applied to Fourier Transform Infrared and Raman Spectroscopic Analysis of Proteins/ A. Sadat, I. J. Joye // Applied Sciences. – 2020. – Vol. 10, (17). – P. 5918. – DOI: 10.3390/app10175918.
12. Broadly protective human antibodies that target the active site of influenza virus neuraminidase / D. Stadlbauer, X. Zhu, M. McMahon [et. al] // Science. – 2019. – Vol. 366. – P. 499–504. – DOI: 10.1126/science.aay0678.
13. Microwave-assisted and methanol/acetic acid-free method for rapid staining of proteins in SDS-PAGE gels/ J. Wang, Z. Wang, W. Zhao, Y. Wang // Analytical Biochemistry. – 2024. – Vol. 691. – P. 115553. – DOI: 10.1016/j.ab.2024.115553.
14. A conjugate vaccine strategy that induces protective immunity against arecoline/ X. G Yin., X. Z. Chen, J. L. Qiu [et. al] // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2024. – Vol. 268. – P. 116229. – DOI: 10.1016/j.ejmech.2024.116229.
15. Protein electrophoresis: applications guide. – [Б.м.]: Hoefer scientific instruments, 1994. – P. 17–25.

## References

1 Khrustalev VV, Khrustaleva TA. Design of a vaccine peptide from neuraminidase of avian influenza virus H5N6 [Dizayn vaktsinnogo peptida iz neyraminidazy virusa ptich'yego grippa H5N6]. In: Taganovich A.D., Kovganko N.N., Khrustalev V.V. (eds.) *Sovremennye problemy meditsinskoy biokhimii: sbornik statey uchastnikov Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 85-letiyu professora V.K. Kukhty [Modern problems of medical biochemistry: collection of articles of participants of the International scientific-practical conference dedicated to the 85th anniversary of Professor V.K. Kukhta]. Minsk, 2022, pp. 306–311. (In Russian)
2 Khrustalev VV. The PentaFOLD 3.0 Algorithm for the Selection of Stable Elements of Secondary Structure to be Included in Vaccine Peptides. *Protein and Peptide Letters*. 2021;28(5):573–588. DOI: 10.2174/0929866527666201110123851
3 Khrustalev V.V., Khrustaleva O.V., Stojarov A.N., Akunevich A.A., Baranov O.E., Popinako A.V., Samoilovich E.O., Yermolovich M.A., Semeiko G.V., Cheprasova V.I., Sapon E.G., Shalygo N.V., Poboinev V.V., Khrustaleva T.A., Ranishenka B.V., Kharytonova U.V., Bush D. Conjugation with the Carrier Helped to Reveal acidification-Induced Structural Shift in the Peptide from Phospholipase Domain of Parvovirus B19. *The Protein Journal*. 2024;43(4):805–818. DOI: 10.1007/s10930-024-10209-w
4 Li M, Ren Z, Wang Y, Jiang Y, Yang M, Li D, Chen J, Liang Z, Lin Y, Zeng Z, Xu R, Wang Y, Zhu L, Xiao W, Wu Q, Zhang B, Wan C, Yang Y, Wu B, Peng J, Zhao W, Shen C. Three neutralizing mAbs induced by MPXV A29L protein recognizing different epitopes act synergistically against orthopoxvirus. *Emerging Microbes & Infections*. 2023;12(2):2223669. DOI: 10.1080/22221751.2023.2223669
5 Maharjan A, Park JH. Cell-free protein synthesis system: A new frontier for sustainable biotechnology-based products. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2023;70(6):2136–2149. DOI: 10.1002/bab.2514
6 Micsonai A, Moussong É, Wien F, Boros E, Vadászi H, Murvai N, Lee YH, Molnár T, Réfrégiers M, Goto Y, Tantos Á, Kardos J. BeStSel: webserver for secondary structure and fold prediction for protein CD spectroscopy. *Nucleic Acids Research*. 2022;50: 90–98. DOI: 10.1093/nar/gkac345
7 Nagatomo S, Nagai M, Ogura T, Kitagawa T. Near-UV circular dichroism and UV resonance Raman spectra of tryptophan residues as a structural marker of proteins. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2013;117(32):9343–9353. DOI: 10.1021/jp404685x
8 Peter AS, Hoffmann DS, Klier J, Lange CM, Moeller J, Most V, Wüst CK, Beining M, Gülesen S, Junker H, Brumme B, Schiffner T, Meiler J, Schoeder CT. Strategies of rational and structure-driven vaccine design for Arenaviruses. *Infection, Genetics and Evolution*. 2024;123:105626. DOI: 10.1016/j.meegid.2024.105626
9 Piplani S, Winkler D, Honda-Okubo Y, Khanna V, Petrovsky N. In Silico Structure-Based Vaccine Design. *Methods in Molecular Biology*. 2023;2673:371–399. DOI: 10.1007/978-1-0716-3239-0_26
10 Poria R, Kala D, Nagraik R, Dhir Y, Dhir S, Singh B, Kaushik NK, Noorani MS, Kaushal A, Gupta S. Vaccine development: Current trends and technologies. *Life Sciences*. 2024;336:22-33. DOI: 10.1016/j.lfs.2023.122331
11 Sadat A, Joye IJ. Peak Fitting Applied to Fourier Transform Infrared and Raman Spectroscopic Analysis of Proteins. *Applied Sciences*. 2020;10(17):5918. DOI: 10.3390/app10175918
12 Stadlbauer D, Zhu X, McMahon M, Turner JS, Wohlbold TJ, Schmitz AJ, Strohmeier S, Yu W, Nachbagauer R, Mudd PA, Wilson IA, Ellebedy AH, Krammer F. Broadly protective human antibodies that target the active site of influenza virus neuraminidase. *Science*. 2019;366(6464):499–504. DOI: 10.1126/science.aay0678
13 Wang J, Wang Z, Zhao W, Wang Y. Microwave-assisted and methanol/acetic acid-free method for rapid staining of proteins in SDS-PAGE gels. *Analytical Biochemistry*. 2024;691:115553. DOI: 10.1016/j.ab.2024.115553
14 Yin XG, Chen XZ, Qiu JL, Yu ZK, Chen LY, Huang SQ, Huang WN, Luo X, Zhu KW. A conjugate vaccine strategy that induces protective immunity against arecoline. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2024;268:116229. DOI: 10.1016/j.ejmech.2024.116229
15 Protein electrophoresis: applications guide. Hoefer scientific instruments, 1994, pp. 17–25.

# SECONDARY STRUCTURE OF CHIMERIC ANTIGENS BASED ON CAPSID PROTEIN A29L FROM MONKEY POX VIRUS WITH INCORPORATED PEPTIDES FROM H1N1 AND H3N2 INFLUENZA VIRUS NEURAMINIDASE

*V. V. Khrustalev[1], M. S. Tarasik[2] , P. V. Matusevich[1], M. I. Potapovich[1], E. V. Maliushkova[1], E. O. Korik[1], I. V. Semak[1], O. V. Khrustaleva[2]*

*[1]Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*

*[2]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

**Background.** The use of synthetic peptides for immunization is considered one of the most promising areas of development in immunology and vaccinology, and the immunogenicity of the vaccine itself can be enhanced by creating chimeric antigens.

**Objective.** To experimentally demonstrate the structural identity of the N1 and N2 neuraminidase fragments within chimeric antigens.

**Materials and Method.** Peptide models were generated using the trRosetta server. The NEBExpress Cell-free E. coli Protein Synthesis System (E5360S) was used to obtain target proteins. Purification of the target protein was performed using QIAexpress Ni-NTA Spin Columns. The efficiency of synthesis and purification of the target proteins was analyzed by SDS-electrophoresis. Absorption and fluorescence spectra were used to check the identity of proteins, circular dichroism (CD) spectroscopy and infrared (IR) spectroscopy were used to analyze the secondary structure of the resulting target proteins.

**Result.** Two chimeric antigens were obtained by cell-free synthesis, isolated, and purified. Absorption and fluorescence spectra confirmed the identity of the isolated proteins. CD and IR spectra confirmed formation of beta structure.

**Conclusions.** The obtained data support the feasibility of further development of a bivalent vaccine against influenza and monkeypox viruses using chimeric antigens.

**Keywords:** N1 neuraminidase, N2 neuraminidase, monkeypox virus capsid protein A29L, chimeric antigens.

**For citation:** Khrustalev VV, Tarasik MS, Matusevich PV, Potapovich MI, Maliushkova EV, Korik EO, Semak IV, Khrustaleva OV. Secondary structure of chimeric antigens based on capsid protein A29L from monkey pox virus with incorporated peptides from H1N1 and H3N2 influenza virus neuraminidase. *Biochemistry and molecular biology.* 2026, vol. 5, no. 1(8). pp. 39–47. (in Russian)

*Поступила 09.03.2026*

УДК 575.21:611.81.018.82:616.8

# ФЕНОТИП-СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В НЕЙРОНАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ИНТРАЦЕРЕБРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

*А. В. Заерко[1], В. Ф. Лазарев[2], С. М. Зиматкин[1], Н. А. Валько[1], Е. О. Антипина[1]*

*[1]Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь*

*[2]Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация*

**Введение.** Нейродегенеративные заболевания представляют собой одну из наиболее значимых проблем современного здравоохранения, поскольку являются ведущей причиной инвалидизации и смертности среди пожилого населения. Несмотря на прогресс в изучении патогенеза, молекулярные механизмы нейродегенерации остаются недостаточно раскрытыми, что усиливает интерес к исследованию повреждающего действия белковых комплексов, присутствующих в спинномозговой жидкости (СМЖ) пациентов с нейродегенеративными заболеваниями, на нейроны различных фенотипов головного мозга крыс.

**Цель исследования.** Оценить влияние СМЖ пациентов с Болезнью Паркинсона на нейроны различного фенотипа головного мозга крыс.

**Материалы и методы.** Исследовали гистаминергические нейроны ядра Е2 заднего гипоталамуса, пирамидные нейроны поля СА1 гиппокампа (глутаматэргические), ГАМК-ергические нейроны ретикулярного ядра таламуса. Использовали гистологический, морфометрический, статистический методы.

**Результаты.** Установлено, что введение СМЖ пациентов с Болезнью Паркинсона приводит к достоверному увеличению минимального диаметра, периметра и площади перикарионов гистаминергических нейронов ядра Е2 гипоталамуса по сравнению с контролем. Глутаматергические нейроны поля СА1 гиппокампа демонстрируют выраженную гипертрофию и округление перикарионов. При анализе показателей размеров и формы перикарионов ГАМК-ергических нейронов ретикулярного ядра таламуса крыс после введения СМЖ пациентов с Болезнью Паркинсона достоверных изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено.

**Заключение.** Полученные результаты расширяют представления о патогенетических механизмах нейродегенерации и подтверждают важность изучения влияния СМЖ пациентов на различные типы нейронов. Дифференцированная реакция клеток разных фенотипов может служить основой для поиска новых биомаркеров и терапевтических мишеней при такой нейродегенеративной патологии как Болезнь Паркинсона.

**Ключевые слова:** крысы, головной мозг, спинномозговая жидкость, нейроны, нейродегенеративные заболевания.

**Для цитирования:** Фенотип-специфические изменения в нейронах головного мозга крыс при интрацеребральном введении СМЖ пациентов с нейродегенеративной патологией / А. В. Заерко, В. Ф. Лазарев, С. М. Зиматкин [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2026. – Т. 5, № 1(8). – С. 48–54.

## Введение

Нейродегенеративные заболевания представляют собой одну из наиболее острых глобальных проблем здравоохранения, с которой сталкивается современное общество, поскольку являются ведущей причиной инвалидизации и смертности среди пожилого населения. По прогнозам, к 2050 году число людей с деменцией превысит 150 миллионов, что обусловлено глобальным старением населения и увеличением продолжительности жизни [1]. Несмотря на значительный прогресс в нейробиологических исследованиях, молекулярные механизмы, лежащие в основе нейродегенерации, остаются недостаточно изученными. Особый интерес представляет изучение белковых агрегатов в спинномозговой жидкости (СМЖ), которая отражает биохимическое состояние центральной нервной системы. Такие белки, как глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (GAPDH), HSP70, HSF1, HMGB1 и β-амилоид, склонны к агрегации в условиях окислительного стресса и нарушений в системах деградации. В результате они могут формировать устойчивые токсические комплексы, нарушающие гомеостаз и запускающие каскады воспаления и клеточной гибели [2, 3]. Перечисленные выше белки или комплексы способны выходить из поврежденных или жизнеспособных клеток во внеклеточное пространство и накапливаться в СМЖ и, как следствие, начинают влиять на омываемую ею ткань мозга. В связи с чем пред-

ставляло интерес оценить токсическое действие белковых агрегатов, находящихся в СМЖ пациентов с нейродегенеративными патологиями, на нейроны различного фенотипа головного мозга крыс.

**Цель исследования.** Оценить влияние СМЖ пациентов с Болезнью Паркинсона на нейроны различного фенотипа головного мозга крыс.

## Методы исследования

***Объекты исследования.*** Исследование выполнено на 12 беспородных белых крысах самцах (по 6 в контрольной и опытной группах).

***Этические нормы.*** Контрольных и опытных животных содержали в стандартных условиях вивария Гродненского государственного медицинского университета, в индивидуальных клетках со свободным доступом к воде и полноценной пище. Исследование проведено в соответствии с принципами биоэтики и требованиями Директивы Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, использующихся для научных целей [4].

***Описание эксперимента.*** Под общим наркозом (Тиопентал Натрия 40-50 мг/кг) лабораторных крыс массой 220-270 г. помещали в стереотаксический аппарат, делали надрез мягких тканей головы, с помощью портативной бормашины просверливали черепную коробку. СМЖ пациента вводили через иглу в боковой желудочек головного мозга согласно координатам стереотаксического атласа головного мозга крысы [5]: – 0,9 мм дистальнее брегмы в лобно-затылочном направлении и 1,5 мм латеральнее срединной линии черепа. Глубина введения – 3,5 мм. Спустя 30 мин, крыс, продолжающих находиться под наркозом, декапитировали и забирали головной мозг для исследования. Образцы мозга фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде [6] при +4 ºС (20 ч), затем заключали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм готовили с помощью микротома (Leica RM 2125 RTS, Германия), монтировали на предметные стекла и окрашивали по методу Ниссля (0,1%-м водным раствором тионина). Для морфометрического анализа были выбраны следующие области: задний гипоталамус (место залегания гистаминергических нейронов мозга), пирамидные нейроны поля CA1 гиппокампа (глутаматэргические), ретикулярное ядро таламуса (ГАМК-ергические). Для идентификации участков головного мозга использовали схемы стереотаксического атласа [5].

***Обоснование выбора областей мозга для исследования повреждающего действия СМЖ при нейродегенеративной патологии.*** Гистаминергическая система участвует в регуляции бодрствования, энергетического обмена, мотивации и стресс-ответа – функций, нарушенных при нейродегенеративной патологии. Гистаминергические нейроны гипоталамуса демонстрируют высокую метаболическую активность, что делает их чувствительными к воспалительным и оксидативным факторам, присутствующим в патологическом СМЖ [7].

Поле CA1 гиппокампа – глутаматергические пирамидные нейроны – одна из наиболее уязвимых структур мозга к оксидативному стрессу, эксайтотоксичности и нарушениям кальциевого гомеостаза. Глутаматергические нейроны – ключевые элементы когнитивных функций, а когнитивный дефицит является частым осложнением нейродегенеративных заболеваний [8].

Ретикулярное ядро таламуса (РЯТ) – ключевой регулятор тормозного контроля таламокортикальных сетей, участвующих в моторной регуляции. При нейродегенеративных заболеваниях таламокортикальные ритмы нарушаются, что связано с моторными симптомами [9].

***Оборудование и ПО.*** Гистологические препараты изучали, фотографировали и анализировали с помощью микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), встроенной цифровой видеокамеры Leica (DFC 320, Германия), а также программы компьютерного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США).

***Статистическая обработка данных.*** В результате морфометрических исследований получены количественные непрерывные данные. Их обрабатывали с помощью лицензионной компьютерной программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США, серийный номер AXAR207F394425FA-Q) с применением описательной статистики. Так как в эксперименте нами использовались малые выборки, которые не всегда имели нормальное распределение, анализ проводили методами непараметрической статистики [10]. Для каждого показателя определяли значение медианы (Me), значение нижнего квартиля (LQ), значение верхнего квартиля (UQ) и интерквартильного диапазона (IQR). Объекты исследования набирали в группы независимо друг от друга, поэтому сравнение групп по одному признаку проводили с помощью критерия Манна-Уитни для независимых выборок (Mann-Whitney *U*-test). Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5 % ($p < 0,05$; где $p$ – критическое значение уровня значимости) [11].

## Результаты и их обсуждение

Установлено, что введение СМЖ пациентов с Болезнью Паркинсона приводит к достоверному увеличению минимального диаметра на 35 %, периметра на 10 % и площади на 44 % перикарионов гистаминергических нейронов ядра E2 гипотала-

муса по сравнению с контролем. Форм-фактор не изменяется достоверно, что указывает на сохранение общей формы клеток при увеличении их размеров. Тем самым, СМЖ пациентов с нейродегенеративной патологией индуцирует гипертрофию гистаминергических нейронов (табл. 1, рис. 1).

Таблица 1 – Показатели размеров и формы перикарионов ***гистаминергических*** нейронов ядра Е2 гипоталамуса крыс после внутрижелудочкового введения (ВВ) и в контрольной группе (К) СМЖ пациентов, окраска по методу Ниссля (Me (LQ; UQ))

Table 1 – Size and shape indices of perikarya of ***histaminergic*** neurons of the E2 nucleus of the hypothalamus of rats after intraventricular administration (IV) and in the control group (C) of CSF of patients, stained using the Nissl method (Me (LQ; UQ))

| Показатель | К | ВВ |
|---|---|---|
| Минимальный диаметр, мкм | 8,47 (7,57; 9,57) | 11,40 (9,66; 12,12)* |
| Максимальный диаметр, мкм | 14,16 (12,27; 15,96) | 15,06 (13,79; 18,41) |
| Периметр, мкм | 38,68 (34,06; 44,07) | 45,03 (39,74; 49,01)* |
| Площадь, мкм$^2$ | 93,96 (77,47; 114,53) | 135,57 (105,08; 162,29)* |
| Форм-фактор | 0,82 (0,81; 0,87) | 0,85 (0,83; 0,89) |

* $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля.

* $p < 0.05$ compared to the control group.

*а* *б*

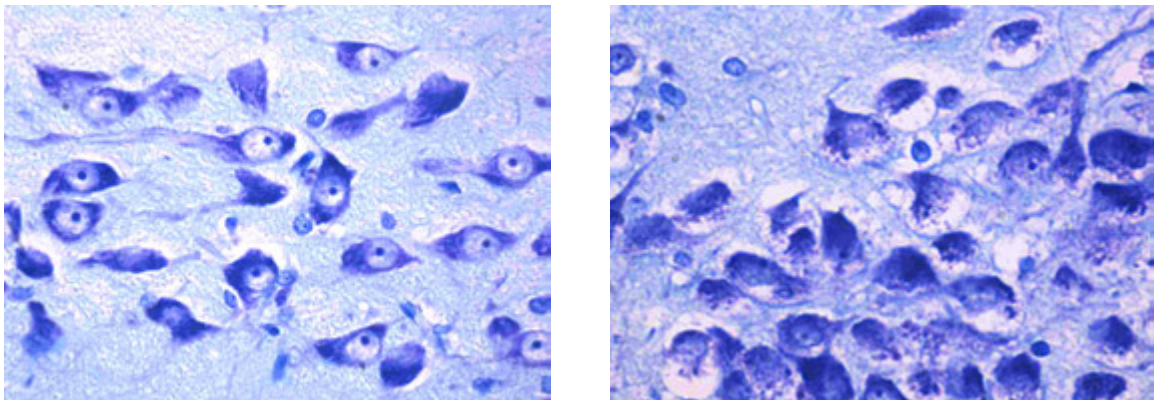


Рисунок 1 – Гистаминергические нейроны ядра Е2 гипоталамуса крыс в контрольной группе (*а*) и после внутрижелудочкового введения (*б*) ксеногенной СМЖ пациентов, окраска по методу Ниссля

Figure 1 – Histaminergic neurons of the E2 nucleus of the hypothalamus of rats in the control group (*a*) and after intraventricular administration (*b*) of xenogeneic CSF from patients, stained using the Nissl method

Глутаматергические нейроны поля СА1 гиппокампа реагируют на введение СМЖ пациентов с Болезнью Паркинсона увеличением площади перикарионов на 13 %, минимального диаметра на 8 % и форм-фактора на 8 % по сравнению с нейронами контрольной группы животных (табл. 2, рис. 2).

Таблица 2 – Показатели размеров и формы перикарионов ***глутаматергических*** пирамидных нейронов поля СА1 гиппокампа крыс после внутрижелудочкового введения (ВВ) и в контрольной группе (К) СМЖ пациентов, окраска по методу Ниссля (Me (LQ; UQ))

Table 2 – Size and shape indices of perikarya of ***glutamatergic*** pyramidal neurons in the CA1 field of the hippocampus of rats after intraventricular administration (IV) and in the control group (C) of CSF of patients, stained using the Nissl method (Me (LQ; UQ))

| Показатель | К | ВВ |
|---|---|---|
| Минимальный диаметр, мкм | 8,82 (8,01; 9,04) | 9,52 (8,88; 10,75)* |
| Максимальный диаметр, мкм | 14,71 (14,09; 15,36) | 14,20 (13,50; 14,45) |
| Периметр, мкм | 38,95 (36,94; 41,33) | 39,88 (37,12; 41,96) |
| Площадь, мкм$^2$ | 93,12 (85,59; 102,74) | 105,50 (95,39; 119,21)* |
| Форм-фактор | 0,79 (0,74; 0,83) | 0,85 (0,81; 0,88)* |

* $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля.

* $p < 0.05$ compared to the control group.

*а* *б*

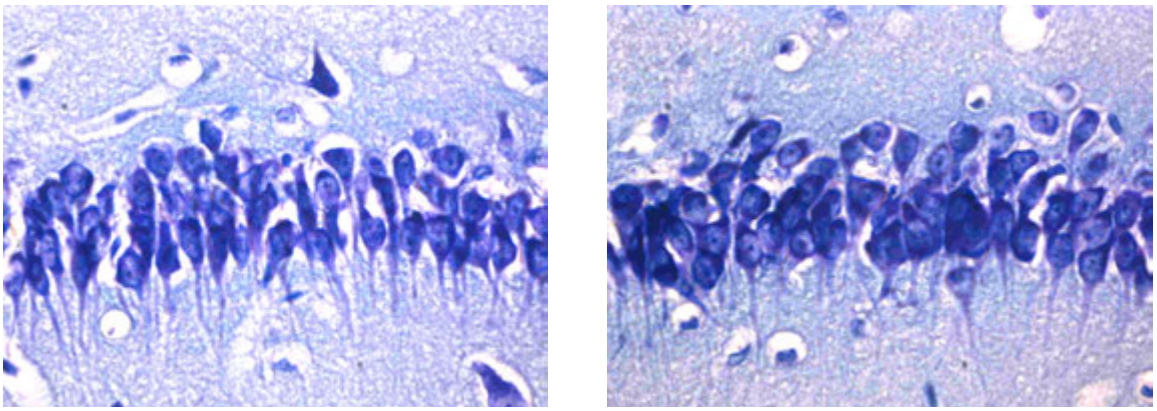


Рисунок 2 – Глутаматергические нейроны поля CA1 гиппокампа крыс в контрольной группе (*а*) и после внутрижелудочкового введения (*б*) ксеногенной СМЖ пациентов, окраска по методу Ниссля

Figure 2 – Glutamatergic neurons of the CA1 field of the hippocampus of rats in the control group (*a*) and after intraventricular administration (*b*) of xenogeneic CSF of patients, stained using the Nissl method

При анализе показателей размеров и формы перикарионов ГАМК-ергических нейронов ретикулярного ядра таламуса крыс после введения СМЖ пациентов с Болезнью Паркинсона достоверных изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено (табл. 3, рис. 3).

Таблица 3 – Показатели размеров и формы перикарионов ***ГАМК-ергических*** нейронов ретикулярного ядра таламуса крыс после внутрижелудочкового введения (ВВ) и в контрольной группе (К) СМЖ пациентов, окраска по методу Ниссля (Me (LQ; UQ))

Table 3 – Indicators of the size and shape of the perikarya of ***GABA-ergic*** neurons of the reticular nucleus of the thalamus of rats after intraventricular administration (IV) and in the control group (C) of CSF of patients, stained using the Nissl method (Me (LQ; UQ))

| Показатель | К | ВВ |
|---|---|---|
| Минимальный диаметр, мкм | 9,52 (8,54; 10,01) | 10,08 (8,64; 11,28) |
| Максимальный диаметр, мкм | 16,39 (14,16; 17,86) | 17,01 (14,41; 18,02) |
| Периметр, мкм | 42,90 (39,20; 49,47) | 44,30 (37,65; 47,88) |
| Площадь, мкм$^2$ | 113,86 (98,17; 138,07) | 120,91 (96,96; 160,40) |
| Форм-фактор | 0,78 (0,73; 0,84) | 0,83 (0,78; 0,88) |

* $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля.

* $p < 0.05$ compared to the control group.

*а* *б*

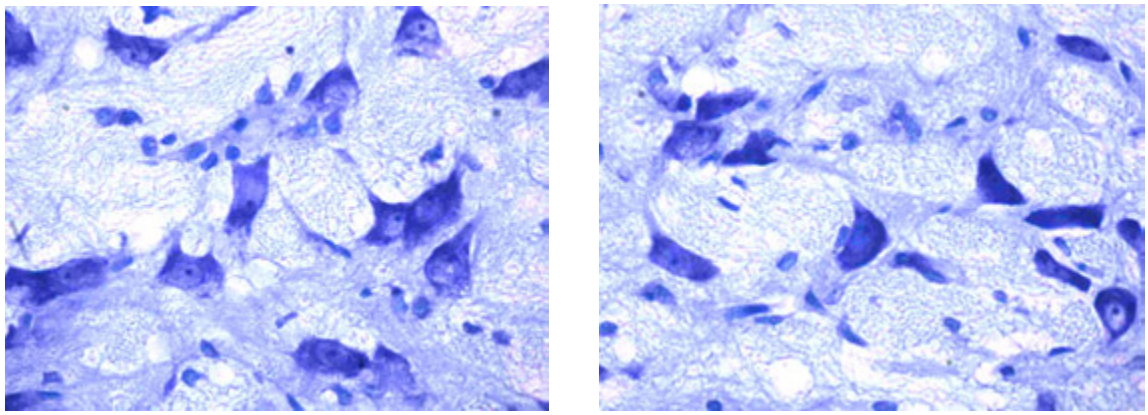


Рисунок 3 – ГАМК-ергические нейроны ретикулярного ядра таламуса крыс в контрольной группе (*а*) и после внутрижелудочкового введения (*б*) ксеногенной СМЖ пациентов, окраска по методу Ниссля

Figure 3 – GABA-ergic neurons of the reticular nucleus of the thalamus of rats in the control group (*a*) and after intraventricular administration (*b*) of xenogeneic CSF of patients, stained using the Nissl method

Полученные результаты демонстрируют дифференцированное влияние спинномозговой жидкости пациентов с болезнью Паркинсона на нейроны различных фенотипов головного мозга крыс. Наиболее выраженные изменения выявлены в гистаминергических нейронах заднего гипоталамуса, где наблюдается значительное увеличение площади, периметра и минимального диаметра перикарионов. Эти данные свидетельствуют о развитии гипертрофии клеток, что может рассматриваться как компенсаторная реакция на токсическое воздействие белковых агрегатов, присутствующих в СМЖ. Эти результаты согласуются с наблюдениями Zhou и соавт., которые описали, что микроструктурные изменения в гипоталамусе становятся значительными уже на ранней стадии нейродегенеративных заболеваний [12]. Раннюю уязвимость гипоталамуса при болезни Паркинсона описали более 30 лет назад. Предполагается, что первичное повреждение гипоталамуса приводит к последующей вторичной дегенерации структур, получающих прямые проекции от гипоталамуса, в частности, могут быть повреждены и дофаминергические системы, лежащие в основе патогенеза данного заболевания [13].

Глутаматергические нейроны поля CA1 гиппокампа также демонстрируют признаки гипертрофии, хотя выраженность изменений менее значительна. Увеличение площади перикарионов и форм-фактора может отражать активацию метаболических процессов и усиление синтетической активности клеток. В литературе описано, что гиппокамп является одной из наиболее уязвимых структур при нейродегенерации, а его нейроны чувствительны к воздействию патологических белковых комплексов, включая β-амилоид и α-синуклеин [14]. Таким образом, выявленные изменения подтверждают роль гиппокампа как мишени для токсических факторов, циркулирующих в СМЖ пациентов с болезнью Паркинсона. Как известно, глутамат участвует в процессах нервной проводимости, регулирует синаптическую пластичность и влияет на силу связей между нейронами [16]. Исследования показали, что дисбаланс уровней глутамата, связанная с ним дисфункция рецепторов и аномальная активность транспортеров тесно связаны с патологическим процессом болезни Паркинсона. При болезни Паркинсона значительно снижается экспрессия и функция транспортеров глутамата, что приводит к накоплению глутамата в синаптической щели, что еще больше усугубляет эксайтотоксическое повреждение и непрерывно способствует прогрессированию болезни Паркинсона[18]. Наблюдаемую нами гипертрофию перикарионов глутаматергических нейронов также можно интерпретировать как морфологический маркер эксайтотоксического повреждения.

В отличие от вышеописанных структур, ГАМК-ергические нейроны ретикулярного ядра таламуса не продемонстрировали достоверных морфометрических изменений. Это может свидетельствовать о большей устойчивости данной популяции клеток к воздействию патологических белковых агрегатов или о том, что функциональные нарушения в этой системе проявляются преимущественно на уровне синаптической передачи, а не морфологии перикарионов. В литературе отмечается, что ретикулярное ядро таламуса играет ключевую роль в генерации таламокортикальных ритмов и регуляции сенсорной фильтрации, а при болезни Паркинсона его дисфункция связана с изменением активности нейронных сетей, но не с морфологической перестройкой клеток [19, 20].

## Заключение

Полученные данные подтверждают гипотезу о селективной уязвимости нейронов различных фенотипов к патогенным факторам, циркулирующим в СМЖ при болезни Паркинсона, и подчеркивают значимость дальнейших исследований в направлении нейрохимической специфичности и механизмов межклеточной передачи патологии.

**Финансирование.** Работа выполнена при поддержке совместного гранта БРФФИ (№ 20240141) и РНФ (№ 24-45-10013).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список использованных источников

1. Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050 // The Lancet Public Health. – 2022. – Vol. 7. – № 2. – P. e105–e125. doi: 10.1016/S2468–2667(21)00249–8.
2. GADD34 Induces Cell Death through Inactivation of Akt Following Traumatic Brain Injury / J. M. Farook, J. Shields, A. Tawfik [et al.] // Cell Death Dis. – 2013. – Vol. 4. – № 8. – e 754. doi:10.1038/cddis.2013.280.
3. Sanders, L. H. Oxidative Damage to Macromolecules in Human Parkinson Disease and the Rotenone Model / L. H. Sanders, J. T. Greenamyren // Free Radic Biol Med. – 2013. – Vol. 62. – P. 111–120. doi:10.1016/J.FREERADBIOMED.2013.01.003.
4. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes: text with EEA relevance 20.10.2010 // Strasbourg: Official Journal of the European Union, 2010. – 46 p.

5. Paxinos, G. The rat brain in stereotaxic coordinates / G. Paxinos, C. Watson // London: Academic Press, 2007. – 448 p.
6. Коржевский, Д. Э. Применение обезвоживающих фиксаторов, содержащих соли цинка, в нейрогистологических исследованиях / Д. Э. Коржевский, И. П. Григорьев, В. А. Отеллин // Морфология. – 2006. – Т. 129, № 1. – С. 85–86.
7. Szukiewicz, D. Histaminergic System Activity in the Central Nervous System: The Role in Neurodevelopmental and Neurodegenerative Disorders / D. Szukiewicz // Int J Mol Sci. – 2024. – Vol. 25. – № 18. – P. 85-89. doi: 10.3390/ijms25189859.
8. A pathophysiological framework of hippocampal dysfunction in ageing and disease / S. A. Small, S. A. Schobel, R. B. Buxton [et al.] // Nat Rev Neurosci. – 2011. – Vol. 12. – № 10. – P. 585–601. doi: 10.1038/nrn3085.
9. Halassa, M. M. Thalamic Inhibition: Diverse Sources, Diverse Scales / M. M. Halassa, L. Acsády // Trends Neurosci. – 2016. – Vol. 39. – № 10. – P. 680–693. doi: 10.1016/j.tins.2016.08.001.
10. Батин, Н. В. Компьютерный статистический анализ данных / Н. В. Батин. – Минск: Ин-т подготовка научных кадров НАН Беларуси, 2008. – 160 с.
11. Омельченко, В. П. Информатика, медицинская информатика, статистика / В. П. Омельченко, А. А. Демидова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021. – 608 с.
12. Microstructural alterations of the hypothalamus in Parkinson's disease and probable REM sleep behavior disorder / C. Zhou, J. You, X. Guan [et al.] // Neurobiol Dis. –2024. – Vol. 194. – P. 64–72. doi: 10.1016/j.nbd.2024.106472.
13. Sandyk, R. The hypothalamus in Parkinson disease / R. Sandyk, R. P. Iacono, C. R. Bamford // Ital J Neurol Sci. – 1987. – Vol. 8. – № 3. – P. 227–234. doi: 10.1007/BF02337479.
14. A review of proposed mechanisms for neurodegenerative disease / B. M. Kelser, E. M. Teichner, R. C. Subtirelu, K. N. Hoss // Front Aging Neurosci. – 2024. – Vol. 16. – P. 37–58. doi: 10.3389/fnagi.2024.1370580.
15. Hippocampal subfields: volume, neuropathological vulnerability and cognitive decline in Alzheimer's and Parkinson's disease / M M. A. Bouwman, I. Frigerio, C. P. Lin [et al.] // Alzheimers Res Ther. – 2025. – Vol. 17. – № 1. – 121. doi: 10.1186/s13195-025-01768-w.
16. Alix, J. J. White matter synapses: form, function, and dysfunction / J. J. Alix, A. M. Domingues // Neurology. – 2011. – Vol. 76. – № 4. – P. 397–404. doi: 10.1212/WNL.0b013e3182088273.
17. Glutamate and NMDA receptors activation leads to cerebellar dysfunction and impaired motor coordination in unilateral 6-hydroxydopamine lesioned Parkinson's rat: functional recovery with bone marrow cells, serotonin and GABA / M. S. Nandhu, J. Paul, K. P. Kuruvila [et al.] // Mol. Cell. Biochem. – 2011. – Vol. 353. – № 1–2. – P. 47–57. doi: 10.1007/s11010-011-0773-x.
18. Roles of glutamate receptors in Parkinson's disease / Z. Zhang, S. Zhang, P. Fu [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2019. – Vol. 20. – № 18. – P. 43–91. doi: 10.3390/ijms20184391.
19. Structural and functional differences of the thalamus between drug-naïve Parkinson's disease motor subtypes / Y. Chen, Z. Guo, Y. Wang [et al.] // Front Neurol. – 2023. – Vol. 14. – P. 10–27. doi: 10.3389/fneur.2023.1102927.
20. Blesa, J. Parkinson's disease and thalamus: facts and fancy / J. Blesa, I. Trigo-Damas, J. A. Obeso // Lancet Neurol. – 2016. – Vol. 15. – № 7. – P. 2. doi: 10.1016/S1474-4422(16)30048-5.

## References

1 GBD 2019 Dementia Forecasting Collaborators. Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Public Health*. 2022 Feb;7(2):e105–e125. doi: 10.1016/S2468-2667(21)00249-8.
2 Farook JM, Shields J, Tawfik A, Markand S, Sen T, Smith SB, Brann D, Dhandapani KM, Sen N. GADD34 induces cell death through inactivation of Akt following traumatic brain injury. *Cell Death Dis*. 2013 Aug 1;4(8):e754. doi: 10.1038/cddis.2013.280.
3 Sanders LH, Greenamyre JT. Oxidative damage to macromolecules in human Parkinson disease and the rotenone model. *Free Radic Biol Med*. 2013 Sep;62:111–120. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.01.003.
4 Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes : text with EEA relevance 20.10.2010. *Strasbourg : Official Journal of the European Union*. 2010. 46 p.
5 Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. G. Paxinos,. *London: Academic Press*. 2007.448 p.
6 Korzhevskij DJe, Grigor'ev IP, Otellin VA. Primenenie obezvozhivajushhih fiksatorov, soderzhashhih soli cinka, v nejrogistologicheskih issledovanijah. Morfologija. 2006;129(1):85–86.
7 Szukiewicz D. Histaminergic System Activity in the Central Nervous System: The Role in Neurodevelopmental and Neurodegenerative Disorders. Int J Mol Sci. 2024 Sep 12;25(18):9859. doi: 10.3390/ijms25189859.
8 Small SA, Schobel SA, Buxton RB, Witter MP, Barnes CA. A pathophysiological framework of hippocampal dysfunction in ageing and disease. *Nat Rev Neurosci.* 2011 Sep 7;12(10):585–601. doi: 10.1038/nrn3085.
9 Halassa MM, Acsády L. Thalamic Inhibition: Diverse Sources, Diverse Scales. *Trends Neurosci.* 2016 Oct;39(10):680–693. doi: 10.1016/j.tins.2016.08.001.
10 Batin NV. Komp'juternyj statisticheskij analiz dannyh. Minsk : In-t podgotovka nauchnyh kadrov NAN Belarusi. 2008. 160 p.
11 Omel'chenko VP, Demidova AA. Informatika, medicinskaja informatika, statistika. Moskva: GJeOTAR-Media. 2021. 608 p.
12 Zhou C, You J, Guan X, Guo T, Wu J, Wu H, Wu C, Chen J, Wen J, Tan S, Duanmu X, Qin J, Huang P, Zhang B, Cheng W, Feng J, Xu X, Wang L, Zhang M. Microstructural alterations of the hypothalamus in Parkinson's disease and probable REM sleep behavior disorder. *Neurobiol Dis.* 2024 May;194:106472. doi: 10.1016/j.nbd.2024.106472.
13 Sandyk R, Iacono RP, Bamford CR. The hypothalamus in Parkinson disease. *Ital J Neurol Sci.* 1987 Jun;8(3):227–34. doi: 10.1007/BF02337479.
14 Kelser BM, Teichner EM, Subtirelu RC, Hoss KN. A review of proposed mechanisms for neurodegenerative disease. *Front Aging Neurosci*. 2024 Oct 8;16:1370580. doi: 10.3389/fnagi.2024.1370580.
15 Bouwman MMA, Frigerio I, Lin CP, Reijner N, van de Berg WDJ, Jonkman LE. Hippocampal subfields: volume, neuropathological vulnerability and cognitive decline in Alzheimer's and Parkinson's disease. *Alzheimers Res Ther.* 2025 May 30;17(1):121. doi: 10.1186/s13195-025-01768-w.
16 Alix JJ, Domingues AM. White matter synapses: form, function, and dysfunction. *Neurology.* 2011 Jan 25;76(4):397–404. doi: 10.1212/WNL.0b013e3182088273.
17 Nandhu MS, Paul J, Kuruvila KP, Abraham PM, Antony S, Paulose CS. Glutamate and NMDA receptors activation leads to cerebellar dysfunction and impaired motor coordination in unilateral 6-hydroxydopamine lesioned Parkinson's rat: functional recovery with bone marrow cells, serotonin and GABA. *Mol Cell Biochem*. 2011 Jul;353(1-2):47–57. doi: 10.1007/s11010-011-0773-x.

18 Zhang Z, Zhang S, Fu P, Zhang Z, Lin K, Ko JK, Yung KK. Roles of Glutamate Receptors in Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci.* 2019 Sep 6;20(18):4391. doi: 10.3390/ijms20184391.
19 Chen Y, Guo Z, Wang Y, Yin H, Zhang S, Liu W. Structural and functional differences of the thalamus between drug-naïve Parkinson's disease motor subtypes. *Front Neurol.* 2023 May 17;14:1102927. doi: 10.3389/fneur.2023.1102927.
20 Blesa J, Trigo-Damas I, Obeso JA. Parkinson's disease and thalamus: facts and fancy. *Lancet Neurol.* 2016 Jun;15(7):e2. doi: 10.1016/S1474-4422(16)30048-5.

# PHENOTYPE-SPECIFIC CHANGES IN BRAIN NEURONS IN RATS AFTER INTRACEREBRAL ADMINISTRATION OF CSF FROM PATIENTS WITH NEURODEGENERATIVE PATHOLOGY

*A. V. Zaerko[1], V. F. Lazarev[2], S. M. Zimatkin[1], N. A. Valko[1], E. O. Antipina[1]*

*[1] Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus*

*[2] Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation*

**Introduction.** Neurodegenerative diseases represent one of the most significant challenges in modern healthcare, as they are the leading cause of disability and mortality in the elderly population. Despite advances in understanding their pathogenesis, the molecular mechanisms of neurodegeneration remain poorly understood, increasing interest in investigating the damaging effects of protein complexes present in the cerebrospinal fluid (CSF) of patients with neurodegenerative diseases on neurons of various rat brain phenotypes.

**Objective.** To evaluate the effects of CSF from patients with Parkinson's disease on neurons of various rat brain phenotypes.

**Materials and Methods**. We examined histaminergic neurons of the E2 nucleus of the posterior hypothalamus, pyramidal neurons of the CA1 field of the hippocampus (glutamatergic), and GABAergic neurons of the reticular nucleus of the thalamus. Histological, morphometric, and statistical methods were used.

**Results.** It was found that administration of CSF from patients with Parkinson's disease resulted in a significant increase in the minimum diameter, perimeter, and area of the perikarya of histaminergic neurons in the E2 nucleus of the hypothalamus compared to controls. Glutamatergic neurons in the CA1 field of the hippocampus exhibited marked hypertrophy and rounding of the perikarya. Analysis of the size and shape of the perikarya of GABAergic neurons in the thalamic reticular nucleus after administration of CSF from patients with Parkinson's disease compared to controls revealed no significant changes.

**Conclusions.** These results expand our understanding of the pathogenetic mechanisms of neurodegeneration and confirm the importance of studying the effects of CSF on various types of neurons. The differential response of cells of different phenotypes can serve as a basis for the search for new biomarkers and therapeutic targets for a neurodegenerative pathology such as Parkinson's disease.

**Keywords:** rats, brain, cerebrospinal fluid, neurons, neurodegenerative diseases.

**For citation:** Zaerko AV, Lazarev VF, Zimatkin SM, Valko NA, Antipina EO. phenotype-specific changes in brain neurons in rats after intracerebral administration of CSF from patients with neurodegenerative pathology. *Biochemistry and molecular biology.* 2026, vol. 5, no. 1(8). pp. 48–54. (in Russian)

*Поступила 25.03.2026*

УДК 616-008.843.5-074:577.122]-053.2

# АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ ФЕКАЛЬНОГО КАЛЬПРОТЕКТИНА У ДЕТЕЙ ГОДОВАЛОГО ВОЗРАСТА

*Н. М. Тихон[1], С. А. Ляликов[1], Н. Ч. Вертинская[2]*

*[1]Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь*

*[2] Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, г. Гродно, Республика Беларусь*

**Введение.** Уровни фекального кальпротектина (ФКП) у детей первых лет жизни, представленные разными авторами, имеют существенные различия и до настоящего времени не существует рекомендованных референсных величин у детей до 5 лет.

**Цель исследования.** Изучить содержание кальпротектина в стуле детей годовалого возраста, проанализировать связь с клинико-анамнестическими данными.

**Материалы и методы.** В исследование включены 135 детей (наблюдались с 6 месяцев до 2 лет). ФКП в возрасте 1 год определяли методом ИФА.

**Результаты.** Содержание ФКП не различалось у детей с пищевой аллергией (26,4 нг/мл [24,8; 29,3]), атопическим дерматитом (28,3 нг/мл [21,9;29,8]), ксерозом кожи (25,0 нг/мл [21,7; 28,9]) и у здоровых детей (28,1 нг/мл [23,7; 30,9]). Уровень ФКП положительно коррелировал с относительной прибавкой массы тела на 1-ом году жизни (r=0,25, p=0,017). Содержание ФКП у детей, находящихся на естественном вскармливании до возраста 1 год было ниже, чем у детей с меньшей длительностью грудного вскармливания (25,6 нг/мл [21,2; 28,7] и 28,2 [24,4; 31,3], p=0,0027). У детей с отягощенным аллергоанамнезом со стороны отца ребенка определялись более высокие уровни ФКП, чем у детей с неотягощенным аллергоанамнезом ($p$ = 0,039).

**Заключение.** На содержание ФКП у детей годовалого возраста влияют физическое развитие ребенка на первом году жизни, длительность грудного вскармливания, аллергоанамнез со стороны отца.

**Ключевые слова:** фекальный биомаркер, акушерский анамнез, семейный аллергоанамнез, аллергия.

**Для цитирования:** Тихон, Н. М. Анализ содержания фекального кальпротектина у детей годовалого возраста / Н. М. Тихон, С. А. Ляликов, Н. Ч. Вертинская // Биохимия и молекулярная биология. – 2026. – Т. 5, № 1(8). – С. 55–61.

## Введение

Кальпротектин представляет собой кальций и цинк-связывающий протеин. Наибольшее количество этого белка содержится в нейтрофилах и составляет до 60% всех цитозольных белков этих клеток [1, 2]. Также этот белок обнаруживается в моноцитах и макрофагах. Концентрация кальпротектина может быть измерена в фекалиях, плазме и других биологических жидкостях. В стуле кальпротектин распределен равномерно, стабилен и не подвергается энзимной деградации при комнатной температуре до 7 дней, что делает этот маркер весьма удобным для практического использования [2]. Кальпротектин высвобождается из лейкоцитов при их повреждении и попадает в каловые массы, поэтому содержание ФК пропорционально велечине лейкоцитарной миграции. Фекальный кальпротектин (ФКП) является неинвазивным маркером, используемым для оценки активности воспаления в желудочно-кишечном тракте различной этиологии [1]. Чаще всего его используют для дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний кишечника с функциональными заболеваниями гастроинтестинального тракта у взрослых и у детей старшего возраста. Появились также данные о связи концентрации кальпротектина в стуле с уровнем аллергического воспаления при пищевой аллергии у детей раннего возраста. Было показано, что концентрация ФКП уменьшается после назначения элиминационной диеты детям с аллергией к белкам коровьего молока, но не достигает уровня, имеющегося у здоровых детей. Более высокие концентрации фекального кальпротектина отмечались у детей с не IgE-опосредованной пищевой аллергией в сравнении с IgE-опосредованной, что особенно актуально в связи со сложностью диагностики первой [3, 4, 5].

У здоровых младенцев уровень ФКП может достигать существенно более высоких значений, чем в другие возрастные периоды, что как предполагается, обусловлено повышенной проницаемостью

кишечного барьера и ответом мукозальной иммунной системы на быстрое увеличение количества и разнообразия интестинальной микробиоты после рождения [1, 6, 7, 8]. В связи с этим кальпротектин предлагают рассматривать в качестве биомаркера, характеризующего процесс становления кишечного микробиома у младенцев. Однако уровни ФКП у младенцев и детей первых лет жизни, представленные в научной литературе разными авторами, имеют существенные различия и до настоящего времени не существует рекомендованных референсных величин для оценки этого показателя у детей до 5 лет [1, 2]. Различия обусловлены отсутствием стандартизированного протокола и методологическими различиями в определении кальпротектина у детей первых лет жизни, а также влиянием на показатели ФКП ряда внешних факторов, таких как недоношенность, вид вскармливания, использование антибиотиков в период становления паттерна кишечного микробиома, вид родоразрешения и др. [1, 8]. Это создает определенные сложности для использования этого маркера в клинической практике и поэтому требует дополнительного изучения.

**Цель исследования.** Изучить содержание кальпротектина в стуле детей годовалого возраста, проанализировать связь с клинико-анамнестическими данными.

## Материалы и методы

Набор детей в группы осуществляется на базе ГУЗ «Детская центральная городская клиническая поликлиника г.Гродно». Для участия в проспективном когортном исследовании были включены 135 детей в соответствии с разработанными критериями.

*Группа исследования*: дети с атопическим дерматитом и/или клиническими симптомами пищевой аллергии.

Критерии включения: возраст 6–12 месяцев, наличие атопического дерматита и/или клинических симптомов пищевой аллергии; информированное согласие родителей ребенка на участие в исследовании.

Критерии исключения: тяжелое течение сопутствующей соматической патологии, отказ родителей от участия в исследовании, отсутствие комплаентности.

Критерии невключения: недоношенность, ребенок, родившийся в результате ЭКО.

*Группа сравнения:* дети с ксерозом кожи или без изменений со стороны кожных покровов.

Критерии включения: возраст 6–12 месяцев, сухие кожные покровы или без патологических изменений со стороны кожи; информированное согласие родителей ребенка на участие в исследовании.

Критерии исключения: наличие аллергического заболевания, тяжелое течение сопутствующей соматической патологии, отказ родителей от участия в исследовании, отсутствие комплаентности.

Критерии невключения: недоношенность, ребенок, родившийся в результате ЭКО.

В рамках проспективного когортного исследования дети, включенные в исследование, наблюдались в динамике с 6 месяцев до 2 лет врачом педиатром и аллергологом-иммунологом. Специалист проводил клиническое обследование детей в установленные сроки: 6–12 месяцев, 18 месяцев, 24 месяца, а также дополнительно по показаниям.

С помощью специально разработанной анкеты у родителей детей, включенных в исследование, выяснялся акушерский анамнез (количество беременностей и особенности их течения, путь родоразрешения, количество прерываний беременности в анамнезе, гестационная прибавка массы тела), а также семейный аллергологический анамнез, особенности быта семьи (курение родителей, наличие домашних питомцев).

Материалы для исследования – стул. Забор образцов проводился в возрасте ребенка 12 месяцев. В стуле определяли кальпротектин методом иммуноферментного анализа согласно инструкции изготовителя ИФА-наборов (Fine test, *Wuhan Fine Biotech Co,* Cat.No. E4010Hu). Результаты согласно инструкции к используемым наборам представлены в нг/мл.

Статистический анализ выполнен с использованием программы Statistica 10.0, лицензионный номер AXXAR207F394425FA-Q. Учитывая, что распределение большинства изученных признаков было отличным от нормального, применяли методы непараметрической статистики. Количественные переменные представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей (Me [$Q_1$; $Q_3$]). Качественные переменные описывали абсолютными значениями и относительными частотами (абс. (%)). Различия считались статистически значимыми при значении $p < 0,05$. Межгрупповые различия для количественных показателей оценивали с помощью непараметрического *U*-критерия Манна-Уитни и ANOVA Краскела-Уоллиса. Проводился непараметрический корреляционный анализ по Спирмену. Нулевая гипотеза отвергалась при $p \leq 0,05$, для промежуточных значений $0,05 < p \leq 0,10$ обсуждали тенденцию к достоверности.

Проводимое исследование соответствовало этическим принципам и одобрено Комиссией по

вопросам биомедицинской этики и деонтологии УО «Гродненский государственный медицинский университет» (протокол № 2 от 28 марта 2024 г.).

## Результаты и их обсуждение

Содержание фекального кальпротектина в стуле ребенка в возрасте 1 год представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Содержание фекального кальпротектина (нг/мл) в стуле детей в возрасте 1 год

Table 1 – Fecal calprotectin content (ng/ml) in the stool of children aged 1 year

| Показатель | *n* | Me | Q1; Q3 | Min–Max |
|---|---|---|---|---|
| ФКП | 135 | 26,9 | 22,3; 29,8 | 10,4–37,3 |

В группу исследования согласно критериям отбора были включены 62 ребенка, в группу сравнения – 73. Содержание ФКП в группе исследования и сравнения статистически значимо не различалось (таблица 2).

Таблица 2 – Содержание фекального кальпротектина (нг/мл) в стуле детей групп наблюдения

Table 2 – Content of fecal calprotectin (ng/ml) in the stool of children in the observation groups

| Показатель | Группа исследования | | | Группа сравнения | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | *n* | Me | Q1; Q3 | *n* | Me | Q1; Q3 |
| ФКП | 62 | 27,6 | 22,5; 29,8 | 73 | 26,6 | 22,1; 29,8 |

Группа сравнения включала 45 детей с ксерозом кожи (61,6 %) и 28 здоровых детей (38,4 %). В группе исследования было 20 детей с атопическим дерматитом (32,3 %), 16 – с различными проявлениями пищевой аллергии (25,8 %), 26 – с сочетанием атопического дерматита и пищевой аллергии (41,9 %). Всего было 42 ребенка с клинически подтвержденной пищевой аллергией. Среди всех детей с пищевой аллергией у 80,9 % (34/42) отмечались реакции на коровье молоко, у 69,1 % (29/42) на яйцо, только у 7,1 % (3/42) на пшеницу. Аллергическая реакция на молоко у 58,8 % (20/34) детей проявлялась в виде кожных симптомов, у 20,6 % (7/34) – симптомами со стороны желудочно-кишечного тракта (запор, аллергический проктоколит, послабление со слизью в стуле и абдоминальные спазмы), у 2,9 % (1/34) – в виде респираторных симптомов, у 18,8 % детей (6/32) – отмечались кожные проявления в сочетании с симптомами со стороны желудочно-кишечного и/или респираторного тракта. Аллергическая реакция на яйцо у большинства (75,9 % (22/29)) детей манифестировала в виде кожных симптомов, у 17,2 % (5/29) были сочетанные кожно-интестинальные или кожно-респираторные симптомы и только у двух детей (6,9 % (2/29)) – желудочно-кишечные проявления. Пищевая аллергия на пшеницу отмечалась значительно реже, только у 3 детей, и манифестировала на втором году жизни в виде симптомов со стороны кожи или желудочно-кишечного тракта.

В зависимости от нозологии в группе исследования и сравнения результаты анализа содержания ФКП представлены в таблице 3. Достоверных различий в содержании фекальных маркеров в подгруппах по нозологии также выявлено не было.

Таблица 3 – Содержание фекального кальпротектина (нг/мл) в стуле детей в зависимости от нозологии в группе исследования и группе сравнения

Table 3 – Content of fecal calprotectin (ng/ml) in the stool of children depending on the nosology in the study group and the comparison group

| Подгруппы по нозологии | ФКП | | |
|---|---|---|---|
| | *n* | Me | Q1; Q3 |
| Здоровые | 28 | 28,1 | 23,7; 30,9 |
| Ксероз кожи | 45 | 25,0 | 21,7; 28,9 |
| Атопический дерматит (АД) | 20 | 28,3 | 21,9; 29,8 |
| Пищевая аллергия (ПА) | 16 | 26,4 | 24,8; 29,3 |
| АД + ПА | 26 | 27,6 | 22,1; 30,7 |

Содержание в стуле ФКП у детей годовалого возраста достоверно отрицательно коррелировало с массой и длиной тела при рождении ($r = –0,2$, $p = 0,02$ и $r = –0,18$, $p = 0,04$ соответственно). Более высокие относительные прибавки массы тела на первом году (отношение прибавки тела за 1-й год к массе при рождении) были ассоциированы с более высоким уровнем ФКП в возрасте 1 год ($r = 0,25$, $p = 0,017$). Пол ребенка не оказывал существенного влияния на содержание ФКП [4].

Одним из факторов, существенно влияющих как на формирование паттерна кишечной микробиоты у детей в первого года жизни, так и на формирование иммунного ответа на антигены пищи и комменсальных бактерий является вид вскармливания в этот возрастной период. Хорошо известно, что грудное молоко является источником не только первых комменсальных бактерий, но и множества иммунных факторов, напрямую или косвенно участвующих в иммунных реакциях.

Установлена достоверная связь между характером вскармливания в 3 и 6 месяцев и содержанием

Таблица 4 – Содержание кальпротектина в стуле (нг/мл) в возрасте 1 год в зависимости от характера вскармливания ребенка в возрасте 3 и 6 месяцев

Table 4 – Calprotectin content in stool (ng/ml) at 1 year of age depending on the type of feeding of the child at 3 and 6 months of age

| Возраст | Вид вскармливания | | | *p* |
|---|---|---|---|---|
| | Гр. 1 Естественное | Гр. 2 Смешанное | Гр. 3 Искусственное | |
| 3 месяца | 26,20 [21,7; 29,30] | 25,1 [20,2; 30,7] | 29,3 #1 [26,6, 33,5] | 0,011* |
| 6 месяцев | 25,8 [21,5; 28,9] | 26,9 [22,2; 30,3] | 28,2 #2 [24,9; 33,1] | 0,028* |

* Kruskal-Wallis test (H); #1 – при сравнении с Гр. 1 $p = 0{,}010$; #2 – при сравнении с Гр. 1 $p = 0{,}023$.

* Kruskal-Wallis test (H); #1 – when compared with Group 1, $p = 0.010$; #2 – when compared with Group 1, $p = 0.023$.

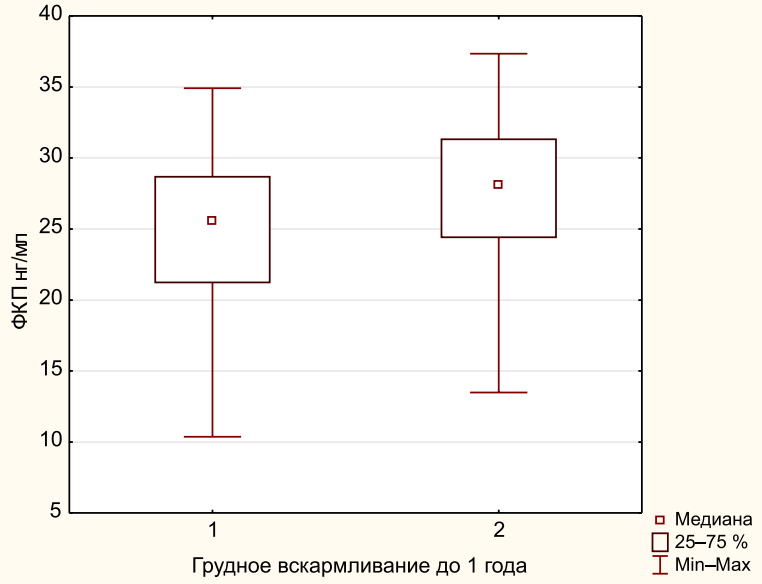



Рисунок 1 – Содержание ФКП в стуле детей в возрасте 1 год в зависимости от длительности грудного вскармливания (1 – продолжали до годовалого возраста, 2 – закончили ранее)

Figure 1 – Content of FCP in the stool of children aged 1 year depending on the duration of breastfeeding (1 – continued until the age of one year, 2 – stopped earlier)

Таблица 5 – Содержание ФКП (нг/мл) в стуле ребенка в зависимости от отягощенной наследственности по респираторной аллергии со стороны отца ребенка

Table 5 – Content of FCP (ng/ml) in a child's stool depending on the burdened heredity of respiratory allergy on the part of the child's father

| Показатель | Респираторные аллергические заболевания у отца ребенка | | | | | | *p* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Нет | | | Есть | | | |
| | *n* | Me | Q1; Q3 | *n* | Me | Q1; Q3 | |
| ФКП | 118 | 26,6 | 21,9; 29,6 | 17 | 28,9 | 28,2; 29,9 | 0,039 |

ФКП в стуле детей годовалого возраста. У детей, находящихся на естественном вскармливании, концентрация этого биомаркера была статистически значимо ниже, чем у детей на искусственном вскармливании (таблица 4).

Представленные результаты согласуются данными других авторов о влиянии вида вскармливания на уровень кишечного воспаления, однако в ряде работ результаты были не так однозначны, что обусловлено, вероятно, возрастом ребенка и длительностью грудного вскармливания [9, 10, 11].

В возрасте 1 год на грудном вскармливании оставалось 69 детей (69/135), у них содержание в стуле фекального кальпротектина было ниже, чем в группе детей, у которых длительность естественного вскармливания была меньшей (ФКП – 25,6 нг/мл [21,2; 28,7] и 28,2 [24,4; 31,3] соответственно, $p = 0{,}0027$; рисунок 1).

Наличие отягощенного семейного аллергоанамнеза со стороны родственников первой степени родства не влияло на уровень ФКП у детей годовалого возраста. Однако наличие отягощенного анамнеза у отца ребенка по респираторным аллергическим заболеваниям (астма, аллергический ринит) было ассоциировано с более высокими уровнями фекального кальпротектина в стуле ребенка в возрасте 1 год (таблица 5; рисунок 2).

В работах других авторов, опубликованных ранее была показано влияние на уровень фекального кальпротектина гестационного возраста новорожденного ребенка, постнатального возраста ребенка, вида родоразрешения, использования антибиотиков на первом году жизни, полиморфизма гена интерлейкина 10, иммунного профиля грудного молока и др. [8, 9, 12, 13, 14].

Согласно нашим данным не оказывали статистически значимого влияния на уровень ФКП в возрасте 1 год такие факторы как характер стула в 6 и 12 месяцев, состояние кожных покровов во все возрастные периоды, количество сибсов, возраст матери, вид родоразрешения и паритет родов, гестационная прибавка массы тела во

время беременности у матери, курение родителей, наличие домашних животных.

## Заключение

Содержание фекального кальпротектина (ФКП) в годовалом возрасте ребенка статистически значимо не различалось у детей с пищевой аллергией (26,4 нг/мл [24,8; 29,3]), атопическим дерматитом (28,3 нг/мл [21,9;29,8]), ксерозом кожи (25,0 нг/мл [21,7; 28,9]) и у здоровых детей (28,1 нг/мл [23,7; 30,9]).

Концентрация ФКП в возрасте 1 год зависела от физического развития ребенка: уровень ФКП отрицательно коррелировал с массой и длиной тела при рождении ($r = –0,2$, $p = 0,02$ и $r = –0,18$, $p = 0,04$ соответственно), положительно – с относительной прибавкой массы тела на первом году жизни (отношение прибавки тела за 1-й год к массе при рождении ($r = 0,25$, $p = 0,017$).

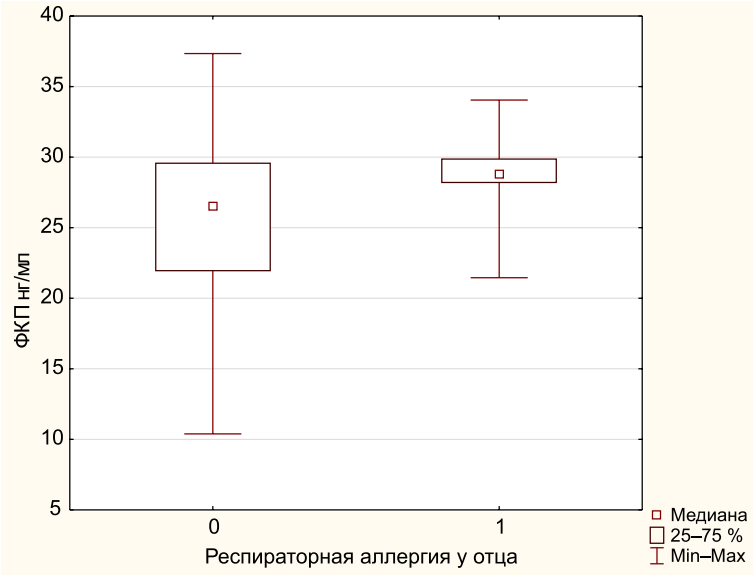



Рисунок 2 – Содержание ФКП в стуле детей в возрасте 1 год в зависимости от анамнеза по респираторной аллергии у отца (0 – не отягощен, 1 – отягощен)

Figure 2 – Content of FCP in the stool of children aged 1 year depending on the history of respiratory allergies in the father (0 – not burdened, 1 – burdened)

У детей, находящихся на естественном вскармливании до годовалого возраста, содержание в стуле ФКП ниже, чем у детей с меньшей длительностью грудного вскармливания (25,6 нг/мл [21,2; 28,7] и 28,2 [24,4; 31,3] соответственно, $p = 0,0027$).

У детей чьи отцы страдали респираторными аллергическими заболеваниями (астма, аллергический ринит) определялись существенно более высокие уровни фекального кальпротектина в возрасте 1 год, чем у детей с неотягощенным аллергологическим анамнезом по отцовской линии (26,6 нг/мл [21,9; 29,6] и 28,9 нг/мл [28,2; 29,9] соответственно, $p = 0,039$).

Содержание фекального кальпротектина в стуле годовалого ребенка не зависело от пола ребенка, характера стула и состояния кожных покровов в возрасте 6 и 12 месяцев, количества сибсов, возраста матери на момент наступления беременности, вида родоразрешения и паритета родов, гестационной прибавки массы тела во время беременности у матери, курения родителей, наличия домашних животных.

**Благодарности.** Исследование выполнено в рамках государственной программы научных исследований ГПНИ «Биотехнологии-2», подпрограмма «Молекулярные и клеточные биотехнологии-2» на 2024-2025гг (задание 1.24; №госрегистрации 20240831).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список использованных источников

1. Use of fecal calprotectin testing in paediatric disorders: a position paper of the European Society for Paediatric Gastroenterology And Nutrition gastroenterology committee / C.R. Koninckx, E. Donat, M. A. Benninga [et al.] // J Pediatr Gastroenterol Nutr. – 2021. – Vol.72, № 4. – P.617-640. DOI:10.1097/MPG.0000000000003046.
2. Normal values for calprotectin in stool samples of infants from the population-based longitudinal born into life study / S. Peura, T. Fall, C. Almqvist [et al.] // Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. – 2018. – Vol. 78, № 1. – P. 120–124. DOI: 10.1080/00365513.2017.1420216.
3. Can fecal calprotectin levels be used to monitor infant milk protein allergies? / L. Qiu, J. Wang, F. Ren, L. Shen, F. Li // Allergy, Asthma & Clinical Immunology. – 2021. – Vol. 17, № 1. – P. 132. DOI:10.1186/s13223-021-00636-0.
4. Fecal Calprotectin Determination in a Cohort of Children with Cow's Milk Allergy / C. Anania, F. Mondì, G. Brindisi [et al.] // Nutrients. – 2025. – Vol. 17, № 1. – P. 194. DOI:10.3390/nu17010194.
5. Jeong, S. J. The role of fecal calprotectin in pediatric disease / S. J. Jeong // Korean J. Pediatr. – 2019. – Vol. 62, № 8. – P. 287–291. DOI:10.3345/kjp.2019.00059.
6. The potential role of preventive and therapeutic immunonutrition strategies for pediatric food allergy: a mini-review / S. Coppola, L. Carucci, R. De Michele, R. Berni Canani // Front Nutr. – 2022. – Vol. 9. – P. 1050554. DOI:10.3389/fnut.2022.1050554.
7. A comprehensive understanding of the gut mucosal immune system in allergic inflammation / F. Tokuhara, Y. Kurashima, M. Kamioka [et al.] // Allergology International. – 2019. – Vol. 68, № 1. – P. 17–25.

8. Establishing reference values for age-related fecal calprotectin in healthy children aged 0–4 years: a systematic review and meta-analysis / J. Zeng, W. Yu, X. Gao [et al.] // Peer J. – 2025. – Vol. 13:e19572. DOI 10.7717 /peerj.19572.
9. Fecal secretory immunoglobulin A, human ß defensin-2, and calprotectin levels in preterm neonates who consumes breast milk only, formula milk only, and combination / E. Sulistijono, P. Promawardani, R.N Ningsih, B.P.A. Pradipta // Pediatrics Sciences Journal. – 2020. – Vol. 1, №2. – P. 57–65.
10. Rugtveit, J. Age-dependent variations in fecal calprotektin concentrations in children / J. Rugtveit, M.K. Fagerhol // J Pediatr Gastroenterol Nutr. – 2002. – Vol. 34, № 3. – P. 323–324.
11. Fecal calprotektin in term and preterm neonates / N. Kapel, F. Campeotto, N. Kalach [et al.] // Journal of Gastroenterology Hepatology and Nutrition. – 2010. – Vol. 51, № 5. – P. 542–547. DOI:10.1097/MPG.0b013e3181e2ad72.
12. Тихон, Н. М. Содержание кальпротектина в стуле и эозинофильного протеина Х в моче у младенцев в зависимости от полиморфизма генов интерлейкина-10 (G1082A, C592A) и толл-подобного рецептора 4 (ASP299GLY) / Н. М. Тихон, С. А. Ляликов, О. В. Горчакова // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2023. – Т. 21, №1. – С. 58–63. DOI:10.25298/2221-8785-2023-21-1-58-63.
13. Содержание иммунных факторов в грудном молоке и концентрация кальпротектина в стуле младенцев / Н. М. Тихон, С. А. Ляликов, М. В. Белевцев [и др] // Актуальные проблемы медицины: сб. материалов итоговой науч.-практ. конф. (26 января 2023г.) / отв. ред. И. Г. Жук. – Гродно: ГрГМУ, 2023.- С.387-389.
14. Тихон, Н. М. Содержание кальпротектина и иммуноглобулина А в стуле у младенцев. Влияние антибактериальной терапии, связь с младенческими коликами / Н. М. Тихон, С. А. Ляликов, А. А. Рогачевский // Актуальные проблемы медицины: сб. материалов итоговой научно-практической конференции (27 января 2022г.) / отв. ред. С. Б. Вольф. – Гродно: ГрГМУ, 2022. – С. 261–265.

## References

1 Koninckx CR, Donat E, Benninga MA, Broekaert IJ, Gottrand F, Kolho KL, Lionetti P, Miele E, Orel R, Papadopoulou A, Pienar C, Schäppi MG, Wilschanski M, Thapar N. The Use of Fecal Calprotectin Testing in Paediatric Disorders: A Position Paper of the European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition Gastroenterology Committee. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2021;72(4):617-640. DOI:10.1097/MPG.0000000000003046.
2 Peura S, Fall T, Almqvist C, Andolf E, Hedman A, Pershagen G, Helmersson-Karlqvist J, Larsson A. Normal values for calprotectin in stool samples of infants from the population-based longitudinal born into life study. *Scand J Clin Lab Invest*. 2018 Feb-Apr;78(1-2):120-124. DOI:10.1080/00365513.2017.1420216.
3 Qiu L, Wang J, Ren F, Shen L, Li F. Can fecal calprotectin levels be used to monitor infant milk protein allergies? *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2021 Dec 13;17(1):132. DOI:10.1186/s13223-021-00636-0.
4 Anania C, Mondì F, Brindisi G, Spagnoli A, De Canditiis D, Gesmini A, Marchetti L, Fichera A, Piccioni MG, Zicari AM Fecal Calprotectin Determination in a Cohort of Children with Cow's Milk Allergy. *Nutrients*. 2025; 17(1):194. DOI:10.3390/nu17010194.
5 Jeong SJ. The role of fecal calprotectin in pediatric disease. *Korean J Pediatr*. 2019 Aug;62(8):287-291. DOI:10.3345/kjp.2019.00059.
6 Coppola S, Carucci L, De Michele R, Berni Canani R. The potential role of preventive and therapeutic immunonutrition strategies for pediatric food allergy: A mini-review. *Front Nutr.* 2022 Dec 2;9:1050554. DOI:10.3389/fnut.2022.1050554.
7 Tokuhara D, Kurashima Y, Kamioka M, Nakayama T, Ernst P, Kiyono H. A comprehensive understanding of the gut mucosal immune system in allergic inflammation. *Allergol Int.* 2019 Jan;68(1):17-25. DOI:10.1016/j.alit.2018.09.004.
8 Zeng J, Yu W, Gao X, Yu Y, Zhou Y, Pan X. Establishing reference values for age-related fecal calprotectin in healthy children aged 0-4 years: a systematic review and meta-analysis. *PeerJ.* 2025 Jun 12;13:e19572. DOI:10.7717/peerj.19572.
9 Sulistijono E, Promawardani P, Ningsih RN, Pradipta BPA. Fecal secretory immunoglobulin A, human ß defensin-2, and calprotectin levels in preterm neonates who consumes breast milk only, formula milk only, and combination. *Pediatrics Sciences Journal.* 2020 1;2:57-65.
10 Rugtveit J, Fagerhol MK. Age-dependent variations in fecal calprotectin concentrations in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2002 Mar; 34(3):323-4. DOI:10.1097/00005176-200203000-00022.
11 Kapel N, Campeotto F, Kalach N, Baldassare M, Butel MJ, Dupont C. Faecal calprotectin in term and preterm neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010 Nov; 51(5):542-7. DOI:10.1097/MPG.0b013e3181e2ad72.
12 Tihon NM, Lyalikov SA, Gorchakova OV. Soderzhanie kal'protektina v stule i eozinofil'nogo proteina X v moche u mladencev v zavisimosti ot polimorfizma genov interlejkina-10 (G1082A, C592A) i toll-podobnogo receptora 4 (ASP299GLY) [Fecal calprotectin and urine eosinophil protein X levels in infants depending on interleukin-10 (G1082A, C592A) and toll-like receptor 4 (ASP299GLY) gene polymorphisms]. Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta. [*Journal of Grodno State Medical University]*. 2023;21(1):58-63. DOI:10.25298/2221-8785-2023-21-1-58-63. (in Russian)
13 Tihon NM, Lyalikov SA, Belevcev MV, Kupchinskaya AN, Vartanova EB. Soderzhanie immunnyh faktorov v grudnom moloke i koncentraciya kal'protektina v stule mladencev [Level of immune factors in breast milk and concentration of fecal calprotectin in infant]. Aktual'nye problemy mediciny: sb. materialov itogovoj nauch.-prakt. konf. (26 yanvarya 2023). [*Current issues in medicine: proceedings of the final scientific and practical conference*]. 2023:387-389. (in Russian)
14 Tihon NM, Lyalikov SA, Rogachevskij AA. Soderzhanie kal'protektina i immunoglobulina A v stule u mladencev. Vliyanie antibakterial'noj terapii, svyaz' s mladencheskimi kolikami. [Fecal calprotectin and immunoglobulin A levels in infant. Antibacterial therapy, association with infantile colic]. Aktual'nye problemy mediciny: sb. materialov itogovoj nauchno-prakticheskoj konferencii (27 yanvarya 2022). [*Current issues in medicine: proceedings of the final scientific and practical conference*]. 2022:261-265. (in Russian)

# ANALYSIS OF FECAL CALPROTECTIN LEVEL IN ONE-YEAR-OLD CHILDREN

*N. M. Tsikhan[1], S. A. Lialikau[1], N. Ch. Vertinskaya[2]*

*[1]Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus*

*[2]Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus*

**Background.** Fecal calprotectin (FCP) levels in 1-year-old children vary considerably according to data of different authors, and there are no recommended reference values for children under 5 years of age.

**Objective.** To study the fecal calprotectin level in one-year-old children and analyze the relationship with clinical and anamnestic data.

**Material and Methods**. 135 children were enrolled for a study (observed from 6 months till 2 years of age). FCP was measured using the ELISA method.

**Results.** FCP level did not differ in children with food allergy (26.4 ng/ml [24.8; 29.3]), atopic dermatitis (28.3 ng/ml [21.9; 29.8]), skin xerosis (25.0 ng/ml [21.7; 28.9]) and in healthy children (28.1 ng/ml [23.7; 23.7; 30.9]). FCP level had positive correlation with relative body weight gain for the 1st year of life ($r = 0.25$, $p = 0.017$). FCP concentration in children who were breastfed until the age of 1 year was lower than in children with a shorter duration of breastfeeding (25.6 ng/ml [21.2; 28.7] and 28.2 [24.4; 31.3], $p = 0.0027$). FCP level was higher in infant who had father with positive history for allergy in comparing to those with father negative history for allergy (p=0.039).

**Conclusions.** FCP concentration in one-year-old children is influenced by the physical growth development in the first year of life, breastfeeding duration and the father allergy history.

**Keywords:** fecal biomarker, obstetric history, family allergy history, allergy.

**For citation:** Tsikhan NM, Lialikau SA, Vertinskaya NCh. Analysis of fecal calprotectin level in one-year-old children. *Biochemistry and molecular biology.* 2026, vol. 5, no. 1(8). pp. 55–61. (in Russian)

*Поступила 22.01.2026*

УДК 61:615.1(06)

# АНТИРАДИКАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 4-МЕТИЛПИПЕРАЗИНА, ПЕРСПЕКТИВНЫХ В ЛЕЧЕНИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

*С. Н. Авраменко[1], Г. Е. Лазаренко[2,3], С. Н. Шахаб[3,4], А. Л. Ермолинская[2], Ж. В. Игнатович[2], С. Н. Шиш[1], Е. В. Спиридович[1]*

*[1] Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларусь, г. Минск, Республика Беларусь;*

*[2] Институт химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь;*

*[3] Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова БГУ, г. Минск, Республика Беларусь*

*[4]Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь;*

**Введение.** Важным показателем эффективности соединений, помимо медико-биологической совместимости и физико-химических характеристик, является антирадикальная активность, определяющая их антиоксидантные свойства, благодаря которым улучшаются фармакокинетические показатели действия данных веществ.

**Цель исследования.** Разработка методики определения антирадикальной активности и выявление наиболее эффективных, по данному признаку, среди трёх синтезированных соединений разной химической природы.

**Материалы и методы.** Оценку антирадикальной активности осуществляли спектрофотометрически, по реакции взаимодействия хромоген-радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила с радикалами исследуемых соединений, в пересчете на 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоту.

**Результаты.** Разработан метод количественного определения антирадикальной активности изученных соединений, включая общую антиоксидантную активность, в пересчете на тролокс эквивалент. Выявлено, что максимальным антирадикальным эффектом обладает соединение №423, что составляет 1100,00 мкмоль эквивалент тролокса.

**Заключение.** Доказана антиоксидантная и антирадикальная активность всех синтезированных соединений, которая находится в диапазоне 111,45-1100,00 мкмоль эквивалент тролокса, что может позитивно повлиять на ход лечения заболеваний, специфичных для данных соединений.

**Ключевые слова:** антиоксиданты, свободные радикалы, DPPH-тест, тролокс, синтез.

**Для цитирования:** Антирадикальные свойства новых производных 4-метилпиперазина, перспективных в лечении нейродегенеративных заболеваний / С. Н. Авраменко, Г. Е. Лазаренко, С. Н. Шахаб [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2026. – Т. 5, № 1(8). – С. 62–67.

## Введение

В результате воздействия внешних факторов и нормальных метаболических процессов в организме человека постоянно образуются различные активные формы кислорода (АФК) как радикальной, так и нерадикальной природы [1]. Свободные радикалы – это небольшие, нестабильные молекулы, обладающие высокой реакционной способностью благодаря наличию неспаренного электрона на внешнем электронном слое. Типичными представителями свободных радикалов являются супероксид-анион (O•), гидроксильный радикал (OH•), радикал оксида азота (NO•), алкоксил (R-O•) и пероксил (R-$O_2$•). Свободные радикалы повреждают липиды клеточных мембран, белки и ДНК, что ведет к апоптозу нейрональных клеток и ухудшению межнейронных связей. В условиях нейродегенерации наблюдается увеличение уровней окислительного повреждения, что способствует развитию патологических процессов, таких как образование амилоида при болезни Альцгеймера или накопление альфа-синуклеина при болезни Паркинсона [2].

Свободные радикалы, наряду с окислительным стрессом, крайне негативно влияют на клеточные структуры, в том числе вызывая метаболические нарушения, включая нейродегенеративный эффект [3]. Нейродегенеративные заболевания, такие

как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, склерозы и другие, характеризуются прогрессирующей потерей структуры и функции нейронов, что приводит к ухудшению когнитивных, моторных и других функций организма. Одним из центральных механизмов повреждения нейрональных структур является окислительный стресс, возникающий в результате дисбаланса между образованием свободных радикалов (активных форм кислорода и азота) и антагонистическими системами антиоксидантной защиты.

Антиоксиданты – это молекулы, способные нейтрализовать свободные радикалы, предотвращая или ослабляя их вредное воздействие. Они делятся на эндогенные (например, глутатион, супероксиддисмутаза, каталаза, ферменты и пептиды, синтезируемые в организме) и экзогенные (получаемые из пищи). Исследования показывают, что диета, богатая антиоксидантами, может снижать уровень окислительного стресса в мозге и уменьшать риск развития нейродегенеративных заболеваний [4].

Механизм действия антиоксидантов, в контексте нейродегенерации, заключается не только в прямой нейтрализации свободных радикалов, но и в модуляции воспалительных процессов, связанных с окислительным стрессом. Хроническое воспаление в нервной ткани усиливает окислительный стресс, способствуя дальнейшему повреждению клеток и развитию патологических структур. Ввиду этого антиоксиданты помогают снизить уровень противовоспалительных цитокинов [4, 5] и ингибировать сигнальные пути, участвующие в реакциях эйкозаноидов.

Клинические исследования показывают, что применение антиоксидантных добавок и изменение рациона питания могут замедлить прогрессирование некоторых нейродегенеративных заболеваний. Например, в исследованиях по болезни Альцгеймера отмечается, что прием витаминов Е (токоферолов) и С (аскорбиновой кислоты) ассоциирован с замедлением когнитивных нарушений [5]. Аналогично, у пациентов с болезнью Паркинсона отмечается снижение уровня окислительного повреждения при использовании коэнзима $Q_{10}$ и других антиоксидантных средств [6]. Несмотря на положительные результаты, важно учитывать, что эффективность антиоксидантной терапии зависит от правильной дозировки, сочетания с другими лекарственными средствами и стадией заболевания, что требует консультации врачей-специалистов.

Стоит отметить, что антирадикальная активность описывает способность соединений реагировать со свободными радикалами, а антиоксидантная активность представляет собой способность ингибировать процессы окисления. В контексте химизма протекания реакции – это два совершенно разных термина, однако в контексте изучения молекулярных основ устойчивости клеток к окислительному стрессу ученые-биологи утверждают о синонимичности данных терминов [7].

В настоящее время активно продолжаются исследования, направленные на выявление наиболее эффективных комбинаций антиоксидантных веществ и разработку новых препаратов, способных целенаправленно снижать окислительный стресс в нервной ткани. В Институте химии новых материалов НАН Беларуси совместно с Международным государственным экологическим институтом выполнен дизайн, квантово-химическое моделирование и синтез ряда производных природных кислот и пиперазина, оказывающих потенциально позитивное влияние на лечение нейродегенеративных заболеваний. Произведены *in silico* исследования потенциальной нейрорегенеративной, анальгетической и антиоксидантной активности, изучаемых соединений [8,9]. Варианты соединений, их кодированное и номенклатурное обозначение представлены в табл. 1.

Таблица 1 – Наименование изучаемых соединений

Table 1 – Introduction to the connections

| Вариант | Номер ИХНМ НАН РБ | Наименование (согласно ИЮПАК) |
|---|---|---|
| 1 | 643 | 4-(4-метилпиперазин-1-ил)-4-оксо-N-(3-((4-(пиридин-3-ил) пиримидин-2-ил) амино) фенил) бутанамид гидрохлорид |
| 2 | 423 | (4-(((4-метил-3-((4-(пиридин-3-ил) пиримидин-2-ил) амино) фенил) амино) метил) фенил) (4-метилпиперазин-1-ил) метанон гидрохлорид |
| 3 | 399 | 4-(((4-метил-3-нитрофенил) амино) метил)-N-(4-((4-метилпиперазин-1-ил) метил) фенил) бензамид гидрохлорид |

**Цель исследования.** Цель данной работы заключается в разработке и оценке антирадикальной активности выше указанных соединений.

Материалы и методы

На базе лаборатории биохимии и биотехнологии растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси в 2025-2026 гг. были проведены биохимические исследования биологической активности новых синтезируемых соединений и предложена методика определения антирадикаль-

ной активности. Для оценки исследуемых образцов, в сравнении со стандартным антиоксидантом *Trolox,* была использована методика реакции с радикалом *DPPH* (хромоген-радикал 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил), позволяющую выражать результаты в виде эквивалентов *Trolox* (*Trolox equivalents*, *TE*) на массу соединения. Тролокс – водорастворимый аналог токоферола, который является сильным антиоксидантом, что делает его эталонным показателем при изучении общей антирадикальной активности.

Навеску *DPPH (*$Mr_{ДФПГ}$ = 394,33 г/моль*) (Aldrich, США, 2025)* растворяют в метаноле, до рабочей концентрации 0,1 мМ (0,0394 мг/мл). Для этого необходимо растворить 0,003940 г *DPPH* до 100 мл 95 % метанола. Этот раствор, ввиду своей чувствительности к ультрафиолету, хранится исключительно в затемненном сосуде и используется в течение суток. Установлено, что допускается хранение реактива в морозильной камере при –25 °С до 5 дней, без снижения параметров экстинкции раствора, определенной согласно закону Бугера – Ламберта – Бера, имеющая отклонение в значении оптической плотности, по сравнению с начальной плотность реактива, не более чем на 2 %.

Навеску образца взвешивают на аналитических весах в центрифужную пробирку типа Эппендорф на 2,00 мл и доводят 95 % метанолом до конечной концентрации вещества равной 0,1 %.

При недостаточной эффективности растворителя допускается применить нагревание до 40 °С в условиях воздушного термостата, при условии термической стабильности исследуемых веществ. Допускается заменить метанол на 95 % этанол. Образцы центрифугируют при 5000 об/мин на протяжении 5 минут, для предотвращения попадания кристаллов в систему, а полученные экстракты в объеме 10–100 мкл вносим в кювету. Так, для снижения до 50 % от исходного значения плотности молекулы *DPPH,* в каждую исследуемую кювету с экстрактом вносили по 2,0–2,6 мл 0,1 мМ *DPPH,* соблюдая пропорции растворителя в системе. Время реакции составило ровно 10 мин, с предварительной инкубацией при температуре 25 °С. Зануление спектрофотометра *Agilent* 8453 со станцией обработки данных и приставкой для изучения быстрой кинетики Pro-K.2000 (США, 2010) производили по контрольной кювете, а также регистрировали значение оптической плотности 0,1 мМ раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила.

В зависимости от полученных пиков оптических плотностей (А) взаимодействия *Trolox* (*Acros Organics,* Бельгия, 2025*) и DPPH* строят калибровочный график (рис. 1), определяющий эквивалент *Trolox*. Для этого навеску в количестве 0,5000 г 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоты растворяют в MeOH и доводят растворителем до 5,00 мл, так полученный стоковый раствор имеет концентрацию 100 мг/мл. Для получения серии растворов с рабочей концентрацией в диапазоне 1–100 мг/мл необходимо соответственно развести метанолом от 100 до 0 раз от объемных единиц стокового раствора.

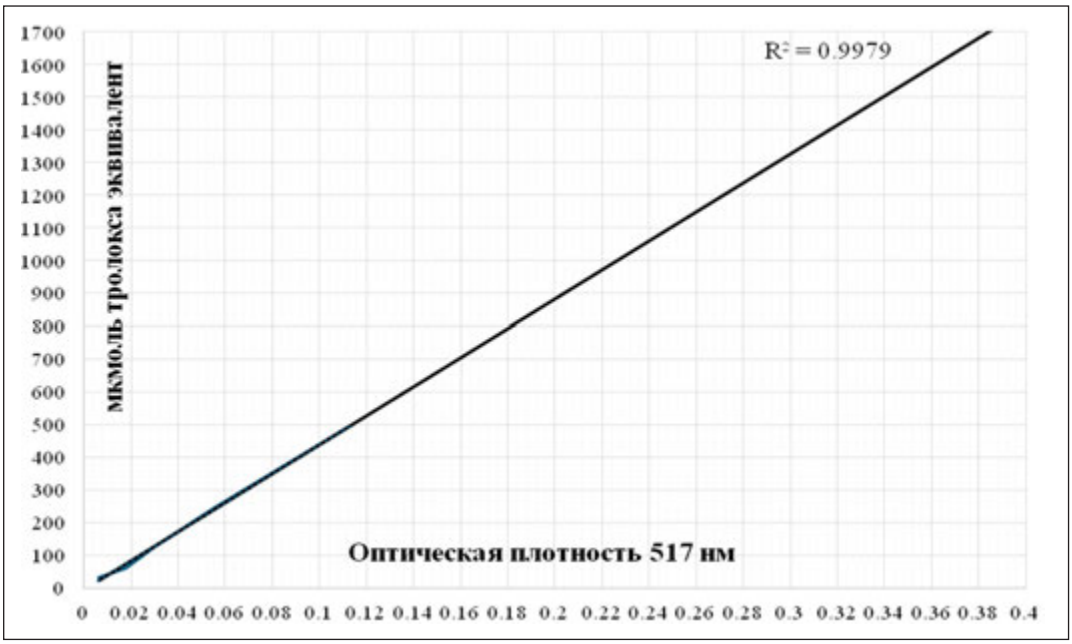



Рисунок 1 – Калибровочный график по 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновой кислоте, мкмоль эквивалент

Figure 1 – Calibration graph 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carbon acid, мкмоль эквивалент

При этом коэффициент корреляции ($R^2$) составил 0,998, что свидетельствует о сильной положительной линейной взаимосвязью между полученными значениями оптической плотности и эталонными данными активности *Trolox*-эквивалент.

Затем рассчитывают концентрацию по *Trolox* и выражают антиоксидантную активность (АОА) в пересчете на стандарт (в нашем случае). Для получения результатов по степени ингибирования свободных радикалов (до 50 %), без пересчета, следует воспользоваться формулой

$$АОА, (50\ \%) = ((A_{dpph} - A_{опыт}) / A_{dpph}) \cdot 100\ \%,$$

где $A_{DPPH}$ – оптическая плотность исходного раствора *DPPH* до добавления извлечений; $A_{опыт}$ – оптическая плотность системы после добавления испытуемых извлечений; 100 – переводной коэффициент для выражения в процентах.

Опыт повторяли не менее чем в трёхкратной повторности. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы *Microsoft Excel* 2013.

## Результаты и их обсуждение

Учитывая характеристику используемой длины волны (λ = 517 нм) при регистрации оптической плотности, нами было выявлено, что наилучшее значение наблюдается при использовании полистироловых кювет (рис. 2) 10×10 мм, с рабочим объемом 4,00 мл, тогда как наименьшими значениями пропускной способности характеризовались стеклянные кюветы с той же длиной оптического пути.

Предполагаемая реакция взаимодействия *DPPH** с антиоксидантами происходит по схеме: АОА + DPPH* → АОА* + DPPH-H.

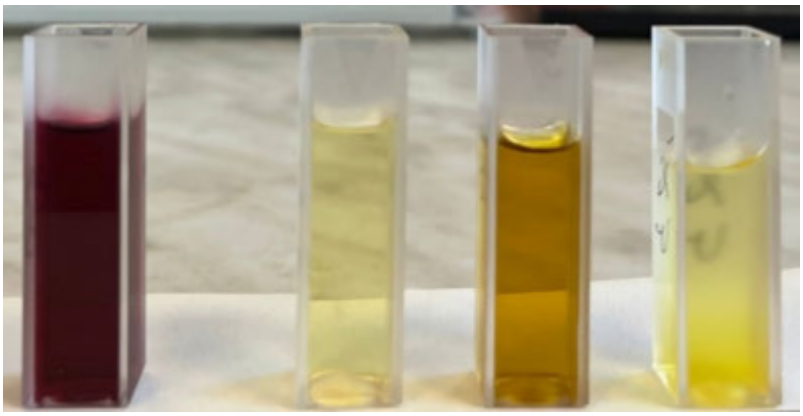


Рисунок 2 – Внешний вид продуктов реакции с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом на 10 минуте экспозиции (слева – контроль)

Figure 2 – The previous reaction products with 2,2-diphenyl-1-picrylhydroxide 10-minute exposition (слева – контроль)

Представляется возможным описать 2 варианта дальнейшего протекания реакции окислительно-восстановительного цикла *DPPH* и АОА:

1. Рекомбинация между собой: АОА* + АОА* → продукт 1;

2. Повторное взаимодействие с новой молекулой хромоген-радикала: АОА* + DPPH* → продукт 2.

Результаты взаимодействия хромоген-радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила с изучаемыми соединениями представлены на рис. 3.

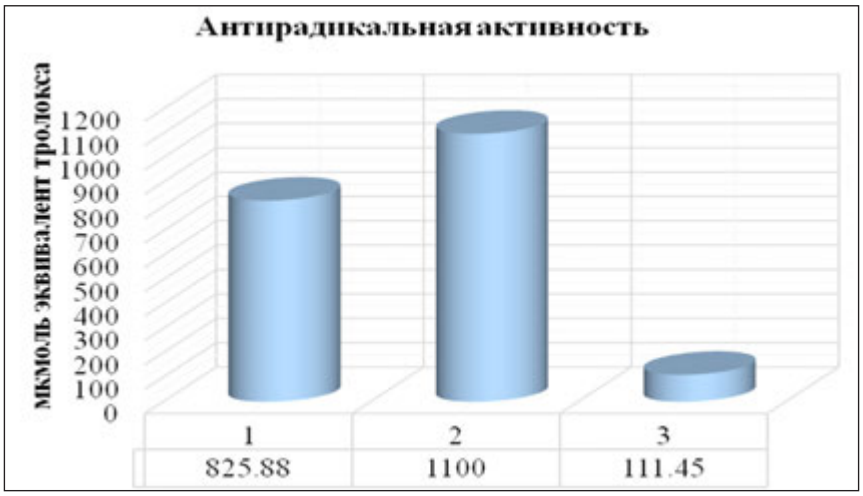



Рисунок 3 – Антирадикальная активность соединений синтеза ИХНМ НАН Беларуси, мкмоль эквивалент тролокса

Figure 3 – Antiradical activity connected to the synthesis of ИХНМ НАН Belarus, мкмоль эквивалент тролокса

Выявлено, что все исследуемые соединения обладают вы-

раженной биологической активностью, на примере способности участвовать в реакции с хромоген-радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом. Наилучший результат антирадикальной активности был получен в варианте с использованием соединения № 423: (4-(((4-метил-3-((4-(пиридин-3-ил) пиримидин-2-ил) амино) фенил) амино) метил) фенил) (4-метилпиперазин-1-ил) метанон гидрохлорид, что составило 1100,00 мкмоль эквивалент тролокса. На втором месте, с не менее ценной активностью, располагается система с применением соединения № 643: 4-(4-метилпиперазин-1-ил)-4-оксо-N-(3-((4-(пиридин-3-ил) пиримидин-2-ил) амино) фенил) бутанамид гидрохлорид с 825,88 мкмоль экв. тролокса. Наименьшей антиокислительной активностью характеризуется соединение № 399: 4-(((4-метил-3-нитрофенил) амино) метил)-N-(4-((4-метилпиперазин-1-ил) метил) фенил) бензамид гидрохлорид, активность которого эквивалентна 111,45 мкмоль тролокса.

## Заключение

Разработана методика анализа общей антирадикальной активности смоделированных и синтезированных соединений разной химической природы. Выявлен ряд соединений, в порядке уменьшения их антирадикальной активности: 423 > 643 > 399. Показано, что наиболее перспективными для дальнейшего использования в медицине, по характеру активности антирадикальной системы изучаемых соединений, являются варианты синтеза № 423 и № 643, с установленной активностью в диапазоне 825,88–1100,00 мкмоль эквивалент тролокса.

**Благодарности.** Работа выполнена при финансовой поддержке ГПНИ «Химические процессы и технологии», подпрограмма Лесохимия-3, Задание 2.4.2. «Разработка импортозамещающих композиционных полимерных материалов и функциональных продуктов на основе отечественного растительного сырья для целлюлозно-бумажной, деревообрабатывающей и фармацевтической отраслей промышленности» (2026–2030 гг.), НИР 1 «Разработка новых модифицирующих добавок и научных основ технологий их получения для полимерных композитов, в том числе на основе возобновляемого растительного сырья».

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список цитированных источников

1. Oxidative Stress Following Traumatic Brain Injury in Rats: Quantitation of Biomarkers and Detection of Free Radical Intermediates / V. A. Tyurin, Y. Y. Tyurina, G. G. Borisenko [et al.] // J. Neurochem. – 2000. – Vol. 75, № 5. – P. 2178–2189. – doi: 10.1046/j.1471-4159.2000.0752178.
2. Бонь, Е. И. Изменение иммунореактивности АТФ-синтазы и хроматофилии цитоплазмы нейронов теменной коры мозга крыс в условиях ступенчатой церебральной ишемии / Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович, С. М. Зиматкин // Оренбургский медицинский вестник. – 2020. – № 4(32). – С. 26–31.
3. Ribas, V. Glutathione and mitochondria / V. Ribas, C. García-Ruiz, J. C. Fernández-Checa // Frontiers in pharmacology. – 2014. – Vol. 5. – Is.151.
4. Chronic ischemia of the brain: morphological aspects and drug therapy / O. V. Zaratyants, A. L. Vertkin, A. L. Kebina, A. V. Nosova // Opinion Leader. – 2019. – Vol. 10, № 28. – P. 16–22.
5. Fu, Y. Emerging role of immunity in cerebral small vessel disease / Y. Fu, Y. Yan // Front. Immunol. – 2018. – Vol. 9. – Art. 67. doi: 10.3389/fimmu.2018.00067.
6. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits / H. E. Khoo, A. Azlan, S. T. Tang, S. M. Lim // Food & Nutrition Research. – 2017. – Vol. 61. – P. 1361779. DOI: 10.1080 16546628.2017.1361779.
7. Хлорогеновая кислота плодов и листьев некоторых растений семейства *Berberidaceae* / В.И. Дейнека, В. А. Хлебников, В. Н. Сорокопудов, И. П. Анисимович // Химия раст. сырья. – 2008. – № 1. – С. 57–61.
8. Лазаренко, Г. Е. *In silico* исследование и синтез нового производного янтарной кислоты и N-метилпиперазина / Г. Е. Лазаренко // Материалы и технологии XXI века: Всерос. с междунар. участ. школа-конф. студ., асп. и мол. уч., 4–5 дек. 2025 г., г. Казань / Казан. фед. ун-т ; редкол.: А. В. Герасимов (гл. ред.) [и др.]. – Казань, 2025. – С. 122.
9. Лазаренко, Г. Е. Дизайн и квантово-химическое моделирование нового производного янтарной кислоты с фармакофорным фрагментом N-метилпиперазина / Г. Е. Лазаренко, А. С. Григоренко, А. Л. Ермолинская // MedMinsk-2025: сб. материалов междун. науч.-практ. конф. студ. и мол. уч. до 35 лет / М-во здра-воохр. Респ. Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т; под ред. С. П. Рубниковича, М. Ю. Ревтовича. – Минск, 2025. – С. 659–661.

### References

1 Tyurin VA, Tyurina YY, Borisenko GG, Sokolova TV, Ritov VB, Quinn PJ, Rose M, Kochanek P, Graham SH, Kagan VE. Oxidative Stress Following Traumatic Brain Injury in Rats: Quantitation of Biomarkers and Detection of Free Radical Intermediates. *J Neurochem*. 2000 Nov;75(5):2178–2189. doi: 10.1046/j.1471-4159.2000.0752178.
2 Bon EI, Maksimovich NE, Zimatkin SM. Izmenenie immunoreaktivnosti ATF-sintazy i hromatofilii citoplazmy nejronov temennoj kory mozga krys v uslovijah stupenchatoj cerebral'noj ishemii [Changes in the immunoreactivity of ATP synthase and chromatophilia of the cytoplasm of neurons of the parietal cortex of rats in conditions of stepped cerebral ischemia]. *Orenburgskij medicinskij vestnik* [Orenburg Medical Bulletin]. 2020;4(32):26–31. (in Russian)
3. Ribas V, García-Ruiz C, Fernández-Checa JC. Glutathione and mitochondria. *Front Pharmacol*. 2014 Jul 1; 5: 151. doi: 10.3389/fphar.2014.00151
4. Zaratyants OV, Vertkin AL, Kebina AL, Nosova AV. Chronic ischemia of the brain: morphological aspects and drug therapy. *Opinion Leader*. 2019;10(28):16-22.
5. Y. Fu, Y. Yan, Y. Emerging role of immunity in cerebral small vessel disease. *Front. Immunol*. – 2018. – Vol. 9. – Art. 67. doi: 10.3389/fimmu.2018.00067.

6 Khoo HE, Azlan A, Tang ST, Lim SM. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 2017, vol. 61, pp.1361779. DOI: 10.1080/16546628.2017.1361779.
7 Daineka VI, Chlebnikov VA, Sorokopudov VN, Anisimovich IP. Chlorogenic acid found in the fruits and leaves of some plants in the *Berberidaceae* family. *Chimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2008; (1): 57–61 (In Russian).
8 Lazarenko, G.E. [et al.] In silico study and synthesis of a new derivative of succinic acid and N-methylpiperazine // Materials and technologies of the 21st century: All-Russian with international participatory school-conf. students, postgraduates and youth students, December 4–5, 2025, Kazan / Kazan Federal University; editorial board: A.V. Gerasimov (editor-in-chief) [et al.]. – Kazan, 2025. – P. 122. (In Russian).
9 Lazarenko GE, Grigorenko AS, Ermolinskaya AL. Design and quantum-chemical modeling of a new succinic acid derivative with a pharmacophore fragment of N-methylpiperazine / G. E. Lazarenko, A. S. Grigorenko, A. L. Ermolinskaya // MedMinsk-2025: collection of materials of the int. scientific and practical. conf. of students and youth students under 35 years old / Ministry of Health of the Republic of Belarus, Belarusian State Medical University; edited by S. P. Rubnikovich, M. Yu. Revtovich. – Minsk, 2025. – P. 659–661. (In Russian).

# ANTIRADICAL PROPERTIES OF NEW 4-METHYLPIPERAZINE DERIVATIVES SHOWING PROMISE IN THE TREATMENT OF NEURODEGENERATIVE DISEASES

*S. N. Avramenko[1], G. E. Lazarenko[2,3], S. N. Shahab[3,4], A. L. Ermoolinskaya[2], Zh. V. Ignatovich[2], S. N. Shish[1], E. V. Spiridovich[1]*

*[1]Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus;*

*[2] Institute of Chemistry of New Materials, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus;*

*[3] A.D. Sakharov International State Ecological Institute, Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*

*[4] Institute of Physical and Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus;*

**Background.** An important indicator of compound efficacy, in addition to biomedical compatibility and physicochemical characteristics, is antiradical activity, which determines their antioxidant properties and improves the pharmacokinetic properties of these substances.

**Objective.** Develop a method for determining antiradical activity and identifying the most effective compounds based on this characteristic among three synthesized compounds of different chemical natures.

**Materials and Methods.** Antiradical activity was assessed spectrophotometrically, using the reaction of the chromogen radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl with the radicals of the studied compounds, expressed as 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid.

**Results.** A method was developed for the quantitative determination of the antiradical activity of the studied compounds, including total antioxidant activity, expressed as a Trolox equivalent. Compound No. 423 was found to possess the maximum antiradical effect, amounting to 1100.00 μmol Trolox equivalent.

**Conclusion.** The antioxidant and antiradical activity of all synthesized compounds was demonstrated, ranging from 111.45 to 1100.00 μmol Trolox equivalent. This may positively impact the treatment of diseases specific to these compounds.

**Keywords:** antioxidants, free radicals, DPPH test, Trolox, synthesis.

**For citation:** Avramenko SN, Lazarenko GE, Shahab SN, Ermoolinskaya AL, Ignatovich ZhV, Shish SN, Spiridovich EV. Antiradical properties of new 4-methylpiperazine derivatives showing promise in the treatment of neurodegenerative diseases. *Biochemistry and molecular biology.* 2026, vol. 5, no. 1(8). pp. 62–67. (in Russian)

*Поступила 15.04.2026*

УДК 577.112:611.81.018.82]:616.36-008.811.6

# КАЛЬБИНДИН В НЕЙРОНАХ ГРУШЕВИДНОЙ КОРЫ МОЗГА КРЫСЫ ПРИ ХОЛЕСТАЗЕ

*Т. В. Климуть[1], А. В. Заерко[1], С. М. Зиматкин[1], Д. В. Климуть[1], С. В. Емельянчик[2]*

*[1] Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь*

*[2] Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, г. Гродно, Республика Беларусь*

**Введение.** Холестаз — застой желчи, который приводит к поступлению её компонентов в кровь, что оказывает токсическое воздействие на различные органы и системы, включая головной мозг. Накопление желчных кислот способно изменять нейрональную возбудимость, нарушать кальциевый гомеостаз и усиливать процессы окислительного стресса, что делает актуальным изучение экспрессии ключевого регулятора внутриклеточного кальция в нейронах – кальбиндина.

**Цель исследования.** Изучение содержания кальбиндина в нейронах грушевидной коры головного мозга крысы при экспериментальном подпеченочном холестазе.

**Материалы и методы.** Исследовали нейроны второго и третьего слоя грушевидной коры мозга крыс в разные сроки после перерезки у них общего жёлчного протока или ложной операции. Использовали гистологический, иммуногистохимический, морфометрический, статистический методы.

**Результаты.** На 5-е и 10-е сутки в нейронах второго слоя грушевидной коры наблюдалось достоверное снижение экспрессии изучаемого маркера, а к 20-м суткам наиболее выраженное уменьшение. На 45-е и 90-е сутки происходит устранение холестаза в результате прорастания обходных желчных протоков и показатель восстанавливается до контрольных значений. В нейронах третьего слоя изменений содержания кальбиндина не выявлено, что связано с высокой устойчивостью этих нейронов к холестазу.

**Выводы.** Развитие подпеченочного холестаза сопровождается динамическим, обратимым понижением содержания белка кальбиндина в нейронах второго слоя грушевидной коры.

**Ключевые слова:** крысы, головной мозг, грушевидная кора, нейроны, холестаз, кальбиндин.

**Для цитирования:** Кальбиндин в нейронах грушевидной коры мозга крысы при холестазе / Т. В. Климуть, А. В. Заерко, С. М. Зиматкин, С. В. Емельянчик // Биохимия и молекулярная биология. – 2026. – Т. 5, № 1(8). – С. 68–72.

## Введение

Холестаз известен как тяжелое осложнение многих заболеваний печени и желчевыводящих путей, характеризующееся нарушением оттока желчи из печени в 12-перстную кишку. Он сопровождается нарушениями пищеварения (особенно липидов) и избыточным поступлением компонентов желчи (билирубин, желчные кислоты, холестерин) в кровь, а затем и в нервную систему [1, 2]. Помимо хорошо изученных повреждений печени, холестаз вызывает выраженные экстрагепатические эффекты, включая токсическое действие на ЦНС. Накопление желчных кислот способно изменять нейрональную возбудимость, нарушать кальциевый гомеостаз и усиливать процессы окислительного стресса, что делает актуальным изучение молекулярных механизмов нейрональной дисфункции при холестазе. Одним из ключевых регуляторов внутриклеточного кальция в нейронах является белок кальбиндин. Его молекула может связывать 4 иона кальция и играет важную роль в поддержании кальциевого гомеостаза, участвует в нейропротекции, модулирует синаптическую передачу и пластичность, играет важную роль в функционировании мозжечка [3]. Установлены значительные особенности распределения кальбиндинпозитивных нейронов в различных отделах и слоях коры мозга обезьян [4, 5]. Кальций связывающие белки определяют чувствительность нейронов ЦНС к различным болезням [6].

Грушевидная кора (piriform cortex) – важная структура лимбической системы головного мозга, участвующая в обработке обонятельной информации, формировании эмоциональных реакций [7]. Эта филогенетически древняя кора мозга, особенно нейроны ее третьего слоя, оказались более устойчивыми при холестазе, по сравнению с нейронами неокортекса или промежуточной коры [1, 8]. Несмотря на растущий интерес к нейротоксическим эффектам холестаза, данные о состоянии кальций-связывающих белков в структурах лимбической системы остаются ограниченными. В

частности, отсутствуют сведения об изменении экспрессии кальбиндина в нейронах грушевидной коры при холестазе. Учитывая ключевую роль кальциевого гомеостаза в выживании и функциональной активности нейронов, исследование динамики экспрессии в них кальбиндина может пролить свет на механизмы нейрональной адаптации или повреждения в условиях холестаза.

**Цель исследования.** Целью настоящего исследования явилось изучение содержания кальбиндина в нейронах грушевидной коры головного мозга крысы при экспериментальном подпеченочном холестазе.

## Материал и методы

Общее количество животных в эксперименте составило 220 самцов беспородных белых крыс массой 225±25 г. Гибель животных от холестаза во все сроки составила 67,2 %. Наибольшая смертность животных наблюдалась на 3–25-е сутки после операции; после 30 суток животные не погибали. В работе использованы 72 выжившие крысы (по 6 животных в 6 опытных и 6 контрольных группах). Контрольных и опытных животных содержали в стандартных условиях вивария, в индивидуальных клетках со свободным доступом к воде и полноценной пище. Исследование проведено в соответствии с принципами биоэтики и требованиями Директивы Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22 сентября 2010 г. о защите животных, использующихся для научных целей [9]. На проведение данного исследования получено разрешение Комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета (протокол № 1 от 11 ноября 2024 г.).

Через 2, 5, 10, 20, 45 и 90 суток после операции в утренние часы опытных и контрольных животных синхронно выводили из эксперимента путем декапитации, предварительно усыпив парами эфира. Для исследования брали кусочки больших полушарий головного мозга, фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде [10] при +4 °С (на ночь), затем заключали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм готовили с помощью микротома Leica RM 2125 RTS (Leica Microsystems, Германия), монтировали на предметные стекла. Срезы обрабатывали согласно протоколу иммуноцитохимической реакции для световой микроскопии [11].

Для выявления кальбиндина-D28K применяли первичные поликлональные кроличьи антитела фирмы Abcam (Великобритания, каталожный номер ab. 11426) в разведении 1:1200 (выбрано как оптимальное) при +4 °С, экспозиция 20 ч, во влажной камере. Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор EXPOSE Mouse and Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit Abcam (Великобритания, каталожный номер ab. 80436).

Изучение гистологических препаратов, их микрофотографирование и цитофотометрию проводили при разных увеличениях микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), встроенной цифровой видеокамеры Leica DFC 320 (Leica Microsystems GmbH, Германия) и программы компьютерного анализа изображения Image Warp (BitFlow США; http://www.imagewarp.com/app.html).

В результате морфометрических исследований получены количественные непрерывные данные. Их обрабатывали с помощью лицензионной компьютерной программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США, серийный номер AXAR207F394425FA-Q) с применением описательной статистики. Так как в эксперименте нами использовались малые выборки, которые не всегда имели нормальное распределение, анализ проводили методами непараметрической статистики. Для каждого показателя определяли значения медианы (Me), нижнего (LQ) и верхнего (UQ) квартилей, а также интерквартильного диапазона (IQR). Объекты исследования набирали в группы независимо друг от друга, поэтому сравнение групп по одному признаку проводили с помощью критерия Манна–Уитни для независимых выборок (Mann–Whitney U-test). Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5 % ($p < 0,05$, где $p$ — критическое значение уровня значимости) [12].

## Результаты и их обсуждение

В цитоплазме нейронов второго и третьего слоев грушевидной коры иммунопозитивная окраска на кальбиндин выявляется в перикарионах нейронов и их отростках.

После перерезки ОЖП содержание кальбиндина в цитоплазме нейронов второго слоя грушевидной коры на 2-е сутки эксперимента не отличалось от контрольных показателей, снижение изучаемого маркера наблюдалось на 5-е и 10-е сутки на 22,2 %, на 20-е сутки – на 27,8 % ($p < 0,001$). К 45-м и 90-м суткам в нейронах опытной группы изучаемый показатель не отличался от контроля (рисунок 1, таблица 1).

При анализе содержания кальбиндина в нейронах ***третьего слоя*** грушевидной коры контрольной и опытной группы достоверных различий не наблюдалось (рисунок 2, таблица 2).

*а*

*б*

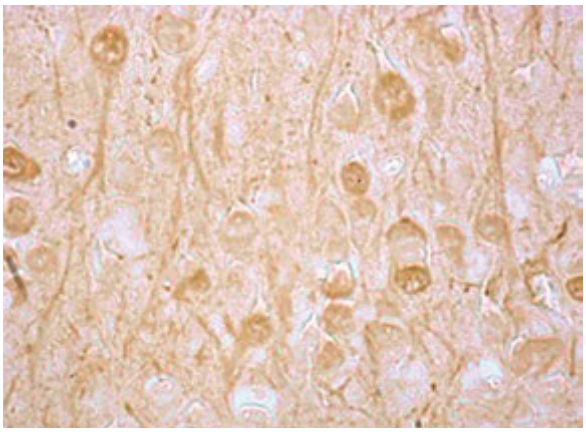


Рисунок 1 – Локализация кальбиндина в нейронах второго слоя грушевидной коры мозга крысы на 20-е сутки (*а* – контроль; *б* – опыт) после перерезки ОЖП. Иммуноцитохимическая реакция на кальбиндин. Ув. 400

Figure 1 – Localization of calbindin in neurons of the second layer of the piriform cortex of the rat brain on the 20th day (*a* – control; *b* – experiment) after transection of the common bile duct. Immunocytochemical reaction for calbindin. Magnification 400

Таблица 1 – Содержание кальбидина (в ед. опт. пл.) в нейронах второго слоя грушевидной коры крыс в различные сроки после перевязки ОЖП (О), или ложной операции (К)

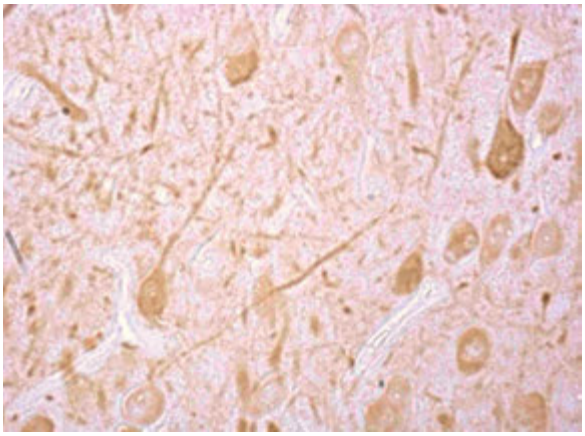
Table 1 – Calbidin content (in units of optical density) in neurons of the second layer of the piriform cortex of rats at different times after ligation of the common bile duct (O) or sham operation (K)

| Сутки | Контроль | Опытная группа |
|---|---|---|
| 2-е | 0,17(0,14;0,20) | 0,17(0,15;0,18) |
| 5-е | 0,18(0,16;0,18) | 0,14(0,11;0,17)*** |
| 10-е | 0,18(0,17;0,18) | 0,14(0,12;0,18)*** |
| 20-е | 0,18(0,16;0,19) | 0,13(0,11;0,17)*** |
| 45-е | 0,17(0,14;0,18) | 0,16(0,12;0,19) |
| 90-е | 0,18(0,16;0,21) | 0,17(0,14;0,18) |

*** $p < 0{,}001$, при сравнении с контролем того же срока

*** $p < 0.001$, when compared with the control of the same period

*а*



*б*

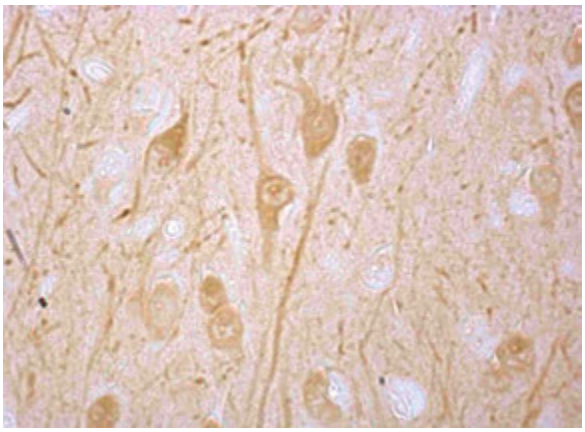


Рисунок 2 – Локализация кальбиндина в нейронах третьего слоя грушевидной коры мозга крысы на 20-е сутки (*а* – контроль; *б* – опыт) после перерезки ОЖП. Иммуноцитохимическая реакция на кальбиндин. Ув. 400

Figure 2 – Localization of calbindin in neurons of the third layer of the piriform cortex of the rat brain on the 20th day (*a* – control; *b* – experiment) after transection of the common bile duct. Immunocytochemical reaction for calbindin. Magnification 400

Таблица 2 – Содержание кальбиндина (в ед. опт. пл.) в нейронах третьего слоя грушевидной коры крыс в различные сроки после перевязки ОЖП (О), или ложной операции (К)

Table 2 – Calbindin content (in units of optical density) in neurons of the third layer of the piriform cortex of rats at different times after ligation of the common bile duct (O) or sham operation (K)

| Сутки | Контроль | Опытная группа |
|---|---|---|
| 2-е | 0,17(0,14;0,19) | 0,16(0,13;0,18) |
| 5-е | 0,17(0,16;0,19) | 0,17(0,14;0,18) |
| 10-е | 0,17(0,14;0,18) | 0,15(0,13;0,18) |
| 20-е | 0,17(0,15;0,19) | 0,17(0,17;0,18) |
| 45-е | 0,17(0,14;0,20) | 0,18(0,15;0,20) |
| 90-е | 0,16(0,14;0,19) | 0,17(0,15;0,18) |

В ранние сроки эксперимента, а именно на 2-е сутки после перерезки ОЖП, в начале развития холестаза, содержание кальбиндина в нейронах

2-го слоя грушевидной коры не отличалось от контроля. На 5–20-е сутки опыта, когда по результатам биохимического анализа крови животных уровень билирубина, холестерина и желчных кислот в крови был значительно повышен [1] наблюдалось достоверное снижение содержания кальбиндина. В этот период наблюдаются значительные нарушения размеров и формы нейронов этого слоя и к 20-м суткам опыта погибает до 15 % этих клеток [8]. На 45-е и 90-е сутки, когда происходит устранение холестаза в результате прорастания обходных желчных протоков [1], содержание кальбиндина в нейронах 2-го слоя восстанавливается до контрольных значений. В нейронах 3-го слоя достоверных изменений содержания кальбиндина во все сроки эксперимента не выявлено. Интересно, что именно в этом слое при холестазе не развиваются тяжелые гистологические изменения и гибель нейронов, характерные для нейронов 2-го слоя грушевидной коры и других отделов коры мозга [8].

Динамическое, обратимое снижение экспрессии кальбиндина во 2-м слое грушевидной коры при холестазе отражает особенности адаптивной перестройки кальциевого гомеостаза, которая, вероятно, способствует большей устойчивости нейронов этой филогенетически древней коры, по сравнению с нейронами новой и промежуточной коры мозга, в которых содержание кальбиндина при холестазе возрастало [13, 14].

В нейронах третьего слоя грушевидной коры уровень кальбиндина остаётся стабильным, что может отражать консервативные защитные стратегии, сформированные в ходе эволюции и являющиеся более древними механизмами регуляции для сохранения функций обонятельной системы.

## Заключение

Развитие подпеченочного холестаза сопровождается понижением содержания кальций-связывающего белка кальбиндина в нейронах 2-го слоя грушевидной коры. В нейронах третьего слоя изменений содержания кальбиндина не выявлено, что связано с высокой устойчивостью этих нейронов к холестазу.

### Список использованных источников


1. Зиматкин, С. М. Нейроны мозга при нарушениях циркуляции желчи: монография / С. М. Зиматкин, С. В. Емельянчик. – Гродно: ГрГМУ, 2021. – 368 с.
2. Bile acid metabolism and signalling in liver disease / C. D. Fuchs, B. Simbrunner, M. Baumgartner [et al.] // J. Hepatol. – 2025. – Vol. 82, № 1. – P. 134–153. doi: 10.1016/j.jhep.2024.09.032.
3. Schwaller, B. ‘New’ functions for ‘old’ proteins: the role of the calcium-binding proteins calbindin D-28k, calretinin and parvalbumin, in cerebellar physiology. Studies with knockout mice / B. Schwaller, M. Meyer, S. Schiffmann // Cerebellum. – 2002. – Vol. 1. – P. 241–258. doi: 10.1080/147342202320883551.
4. Distribution of calbindin-positive neurons across areas and layers of the marmoset cerebral cortex / N. Atapour, M. G. P. Rosa, S. Bai [et al.] // PLoS Comput. Biol. – 2024. – Vol. 20. – № 9. – P. 24–28. doi: 10.1371/journal.pcbi.1012428..
5. Densities and numbers of calbindin and parvalbumin positive neurons across the rat and mouse brain / I. E. Bjerke, S. C. Yates, A. Laja [et al.] // iScience. – 2020. – Vol. 24, № 1. – P.10-19. doi: 10.1016/j.isci.2020.101906.
6. Fairless, R. Calcium-binding proteins as determinants of central nervous system neuronal vulnerability to disease / R. Fairless, S. K. Williams, R. Diem //. Int. J. Mol. Sci. – 2019. – Vol. 20, № 9. – P. 21–46. doi: 10.3390/ijms20092146.
7. Young, J. C. Anatomical imaging of the piriform cortex in epilepsy / J. C. Young, D. N. Vaughan, H. M. Nasser, G. D. Jackson //. Exp. Neurol. – 2019. – Vol. 320. – P. 11–13. doi: 10.1016/j.expneurol.2019.113013.
8. Устойчивость нейронов грушевидной коры мозга к холестазу / Т. В. Климуть, А. В. Заерко, С. В. Емельянчик, С. М. Зиматкин // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2025. – Т. 23, № 6. – С. 601-609. doi:10.25298/2221-8785-2025-23-6-601-609.
9. European Parliament; Council of the European Union. Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes // Official Journal of the European Union. – 2010. – № 63. – P. 1–47.
10. Григорьев, И. П. Современные технологии фиксации биологического материала, применяемые при проведении иммуногистохимических исследований (обзор) / И. П. Григорьев, Д. Э. Коржевский // Современные технологии в медицине. – 2018. – Т. 10, № 2. – С. 6–16.
11. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии : руководство / Д. Э. Коржевский [и др.]; под ред. Д. Э. Коржевского. – 2-е изд., испр. и доп. – СПб.: СпецЛит, 2014. – 119 с.
12. Омельченко, В. П. Информатика, медицинская информатика, статистика / В. П. Омельченко, А. А. Демидова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021. – 608 с.
13. Емельянчик, С. В. Иммуногистохимия кальбиндина в нейронах коры головного мозга и мозжечка при холестазе у крыс / С. В. Емельянчик, О.А. Карнюшко, С. М. Зиматкин // Вестник ВГМУ. – 2019. – Т. 18, № 1. – С. 21–29. doi: 10.22263/2312-4156.2019.1.21
14. C-fos и кальбиндин в нейронах поясной коры мозга крысы при холестазе / Т. В. Климуть, А. В. Заерко, С. В. Емельянчик, С. М. Зиматкин // Гепатология и гастроэнтерология. 2025. – Т. 9, №2. – С. 128–134. doi: 10.25298/2616-5546-2025-9-2-128-134


### References


1 Zimatkin SM, Emelyanchik SV. Neirony mozga pri narusheniiakh tsirkuliatsii zhelchi: monografia [Neurons of the brain in disorders of bile circulation]. *Grodno: GrGMU*; 2021. 368 p. (in Russian)

2 Fuchs CD, Benedikt Simbrunner 1, Maximillian Baumgartner 2, Clarissa Campbell 3, Thomas Reiberger 1, Michael Trauner Bile acid metabolism and signalling in liver disease. *J Hepatol.* 2025;82(1):134–153. doi:10.1016/j.jhep.2024.09.032.

3 Schwaller B. M. Meyer, S. Schiffmann ‘New’ functions for ‘old’ proteins: the role of the calcium-binding proteins calbindin D-28k, calretinin and parvalbumin, in cerebellar physiology. Studies with knockout mice. *Cerebellum*. 2002 Dec;1(4):241–258. doi:10.1080/147342202320883551.

4 Atapour N, Rosa MGP, Bai S, Bednarek S, Kulesza A, Saworska G, Teymornejad S, Worthy KH, Majka P. Distribution of calbindin-positive neurons across areas and layers of the marmoset cerebral cortex. *PLoS Comput Biol*. 2024;20(9):e1012428. doi:10.1371/journal.pcbi.1012428.
5 Bjerke IE, Yates SC, Laja A, Witter MP, Puchades MA, Bjaalie JG, Leergaard TB. Densities and numbers of calbindin and parvalbumin positive neurons across the rat and mouse brain. *iScience*. 2020;24(1):101906. doi:10.1016/j.isci.2020.101906.
6 Fairless R, Williams SK, Diem R. Calcium-Binding Proteins as Determinants of Central Nervous System Neuronal Vulnerability to Disease. *Int J Mol Sci*. 2019;20(9):2146. doi:10.3390/ijms20092146.
7 Young JC, Vaughan DN, Nasser HM, Jackson GD. Anatomical imaging of the piriform cortex in epilepsy. *Exp Neurol*. 2019;320:113013. doi:10.1016/j.expneurol.2019.113013.
8 Klimut TV, Zaerko AV, Emelyanchik SV, Zimatkin SM. Ustoichivost' neironov grushevidnoi kory mozga k kholestazu [Resistance of piriform cortex neurons to cholestasis]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* [Journal of the Grodno State Medical University]. 2025;23(6):601–609. doi:10.25298/2221-8785-2025-23-6-601-609. (in Russian)
9 European Parliament; Council of the European Union. Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union.* 2010;(63):1–47.
10 Grigor'ev IP, Korzhevskii DE. Sovremennye tekhnologii fiksatsii biologicheskogo materiala, primeniaemye pri provedenii immunogistokhimicheskikh issledovanii (obzor) [Modern fixation technologies for biological material used in immunohistochemical studies (review)]. *Sovremennye tekhnologii v meditsine* [Modern Technologies in Medicine]. 2018;10(2):6–16. (in Russian)
11 Korzhevskii DE, et al. Teoreticheskie osnovy i prakticheskoe primenenie metodov immunogistokhimii: rukovodstvo [Theoretical foundations and practical application of immunohistochemistry methods: a guide]. 2nd ed., rev. and enl. Saint Petersburg: SpetsLit; 2014. 119 p. (in Russian)
12 Omel'chenko VP, Demidova AA. Informatika, meditsinskaia informatika, statistika [Informatics, medical informatics, statistics]. M.: GEOTAR-Media; 2021. 608 p. (in Russian)
13 Emelyanchik SV, Karnyushko OA, Zimatkin SM. Immunogistokhimiia kal'bindina v neironakh kory golovnogo mozga i mozzhechka pri kholestaze u krys [Immunohistochemistry of calbindin in neurons of the cerebral cortex and cerebellum in rats with cholestasis]. *Vestnik VGMU* [Bulletin of VSMU]. 2019;18(1):21–29. doi:10.22263/2312-4156.2019.1.21. (in Russian)
14 Klimut TV, Zaerko AV, Emelyanchik SV, Zimatkin SM. C-fos i kal'bindin v neironakh poiasnoi kory mozga krysy pri kholestaze [C-fos and calbindin in neurons of the rat cingulate cortex during cholestasis]. *Gepatologiia i gastroenterologiia* [Hepatology and Gastroenterology]. 2025;9(2):128–134. doi:10.25298/2616-5546-2025-9-2-128-134. (in Russian)

# CALBINDIN IN NEURONS OF THE PIRISFORMA CORTEX OF THE RAT WITH CHOLESTASIS

*T. V. Klimut[1], A. V. Zaerko[1], S. M. Zimatkin[1], D. V. Klimut[1], S. V. Emelyanchik[2]*

*[1]Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus*

*[2]Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Republic of Belarus*

**Background.** Cholestasis is bile stagnation, which leads to the release of bile components into the bloodstream, causing toxic effects on various organs and systems, including the brain. The accumulation of bile acids can alter neuronal excitability, disrupt calcium homeostasis, and increase oxidative stress, making it important to study the expression of calbindin, a key regulator of intracellular calcium in neurons.

**Objective.** To study calbindin levels in neurons of the piriform cortex of rats with experimental subhepatic cholestasis.

**Materials and Methods.** Neurons in layers II and III of the piriform cortex of rats were examined at various times after common bile duct transection or sham surgery. Histological, immunohistochemical, morphometric, and statistical methods were used.

**Results.** On days 5 and 10, a significant decrease in the expression of the studied marker was observed in neurons of layer II of the piriform cortex, with the most pronounced decrease by day 20. On days 45 and 90, cholestasis resolves as a result of the growth of the bile duct bypass, and the level returns to control values. No changes in calbindin levels were detected in neurons of layer III, which is due to the high resistance of these neurons to cholestasis.

**Conclusions.** The development of subhepatic cholestasis is accompanied by a dynamic, reversible decrease in calbindin protein levels in neurons of layer II of the piriform cortex.

**Keywords:** rats, brain, piriform cortex, neurons, cholestasis, calbindin.

**For citation:** Klimut TV, Zaerko AV, Zimatkin SM, Emelyanchik SV. Calbindin in neurons of the pirisforma cortex of the rat with cholestasis. *Biochemistry and molecular biology.* 2026, vol. 5, no. 1(8). pp. 68–72. (in Russian)

*Поступила 26.02.206*

УДК 577.112:577.352.3:004.942

# ВЫЧИСЛИТЕЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ БЕЛКА ГЕМАГГЛЮТИНИНА В ЛИПИДНОЙ МЕМБРАНЕ С УЧЕТОМ S-АЦИЛИРОВАНИЯ

*О. Е. Мискевич, В. В. Хрусталёв*

*Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь*

**Введение.** Гемагглютинин вируса гриппа А является тримерным мембранным гликопротеином. Для моделирования мембранной формы учитывается трансмембранный сегмент и S-ацилирование цистеинов в области мембранного якорения, так как липидные цепи влияют на взаимодействия белка с липидным бислоем и параметры якорения.

**Цель исследования.** Реализовать алгоритм моделирования S-ацилирования цистеинов в составе собственного программного средства и применить его для построения и анализа мембранно-заякоренной модели тримера гемагглютинина.

**Материалы и методы.** Полная тримерная модель получена методами предсказания структуры, ацильные цепи добавлены собственным программным модулем с релаксацией и контролем перекрытий. Мембранная система собрана в CHARMM-GUI Membrane Builder, молекулярная динамика выполнена в GROMACS. Анализ включал положение тримера в мембране, положение ацильных цепей и вторичную структуру трансмембранного и подмембранного сегментов (DSSP).

**Результаты**. После первичной симуляции молекулярной динамики в модели сохранены мембранное заякоривание трансмембранного сегмента и локализация ацильных цепей в липидной фазе. Трансмембранный сегмент оставался преимущественно α-спиральным, подмембранный домен – нерегулярным.

**Заключение.** Модель демонстрирует структурную и мембранную согласованность и может использоваться как основа для более длительного и сравнительного вычислительного анализа.

**Ключевые слова:** Гемагглютинин, S-ацилирование, посттрансляционные модификации, липидный бислой, молекулярная динамика, CHARMM-GUI, GROMACS, AlphaFold.

**Для цитирования:** Мискевич, О. Е. Вычислительное моделирование белка гемагглютинина в липидной мембране с учетом S-ацилирования / О. Е. Мискевич, В. В. Хрусталёв // Биохимия и молекулярная биология. – 2026. – Т. 5, № 1(8). – С. 73–82.

## Введение

Гемагглютинин вируса гриппа А (HA) представляет собой тримерный мембранный гликопротеин, обеспечивающий связывание вириона с клеткой-хозяином и последующие этапы проникновения [1, 2]. Для корректного описания мембранной формы HA требуется учитывать наличие трансмембранного сегмента и липидных посттрансляционных модификаций в области мембранного якорения. Ацилирование цистеинов увеличивает гидрофобность соответствующих участков белка и влияет на геометрию закрепления белка в липидном бислое и локальные взаимодействия с липидной средой.

Молекулярно-динамическое моделирование мембранно-якоренной формы HA требует построения полной атомистической модели, включающей тримерную организацию, трансмембранный домен и ацильные цепи на модифицированных остатках. Отсутствие полной экспериментальной структуры в открытых структурных базах для заданной постановки задачи приводит к необходимости получения исходной модели с использованием методов предсказания структуры и дальнейшей подготовки системы для расчетов в мембране.

Ранее для гемагглютинина выполнялись длительные симуляции молекулярной динамики для анализа влияния пониженного pH на конформационную динамику белка [3]. Также для идентификации потенциальных сайтов S-пальмитоилирования в белках разработаны вычислительные предсказательные методы, в частности GPS-Palm [4].

В настоящей работе дополнительно реализовано и применено программное моделирование ковалентно присоединённых ацильных цепей и сформирована мембранно-заякоренная атомистическая модель тримера с трансмембранным сегментом в явном липидном бислое, что позволяет анализировать устойчивость заякоривания и положение ацильных цепей.

Реализованное программное средство объединяет в себе функциональность интерактивного взаимодействия с исследуемой структурой, визуализации модифицированных структур, геометрической валидации полученного результата моди-

фикации и локальной релаксации S-ацилированных остатков.

**Цель исследования.** Цель данной работы – реализовать и отладить алгоритм в составе собственного программного средства для моделирования ацилирования как посттрансляционной модификации белка, применить данный алгоритм для построения и первичной валидации мембранно-заякоренной атомистической модели тримера HA пандемического H1N1 варианта, включающей трансмембранный сегмент и ацилированные цистеиновые остатки, с оценкой адекватности модели по результатам молекулярной динамики в липидном бислое с использованием метрик, характеризующих стабильность белка, устойчивость мембранного заякоривания, положение ацильных цепей и параметры взаимодействия тримера с мембраной.

## Материалы и методы

В качестве объекта моделирования выбран гемагглютинин вируса гриппа A(H1N1)pdm09 («калифорнийский» вариант), поскольку он является репрезентативным для пандемической линии 2009 года и широко используется как эталонный вариант при структурно-функциональных сопоставлениях и иммунологических интерпретациях [1].

Анализ структурных данных в PDB показал, что для пандемического H1N1 доступны преимущественно структуры, описывающие растворимый эктодомен тримера, тогда как трансмембранный сегмент и цитоплазматический «хвост» отсутствуют в экспериментальных моделях. Это связано с тем, что гидрофобные мембранные участки и прилегающие гибкие регионы существенно усложняют экспрессию, очистку и структурную характеризацию, а потому часто удаляются на стадии конструирования белка для кристаллографии или крио-ЭМ, или же остаются «незамеченными» по причине изменчивости своей структуры [5].

В результате экспериментальная база недостаточна для прямого построения модели полного тримера с корректным мембранным заякориванием, необходимой для последующего атомистического моделирования в липидном бислое и анализа поведения якорных модификаций. По этой причине дальнейшая работа основывается на предсказании полной структуры с последующей подготовкой модели к мембранной постановке [6].

***Предсказание полной структуры тримера в AlphaFold.*** Полная структура тримера предсказывалась по аминокислотной последовательности с использованием AlphaFold Colab [6]. Гемагглютинин является гомотримером, поэтому предсказание выполнялось в режиме AlphaFold-Multimer, в рамках задания состава комплекса на вход подавались три копии одной и той же последовательности, что соответствует гомотримерной организации [7, 8].

Выбор итоговой модели среди результатов предсказания проводился по совокупности критериев: высокий глобальный pLDDT как показатель локальный уверенности на шкале 0-100 [7], отсутствие грубых структурных артефактов по визуальной проверке, согласованность интерфейса субъединиц с учетом ipTM как меры точности взаимного расположения субъединиц [8], а также согласованность относительного положения доменов по матрице PAE, оценивающей уверенность в взаимном положении пар остатков [9]. Выбранная модель представлена на рисунках 1 и 2. Карта предсказанной выровненной ошибки (PAE) для выбранной модели представлена на рисунке 3.

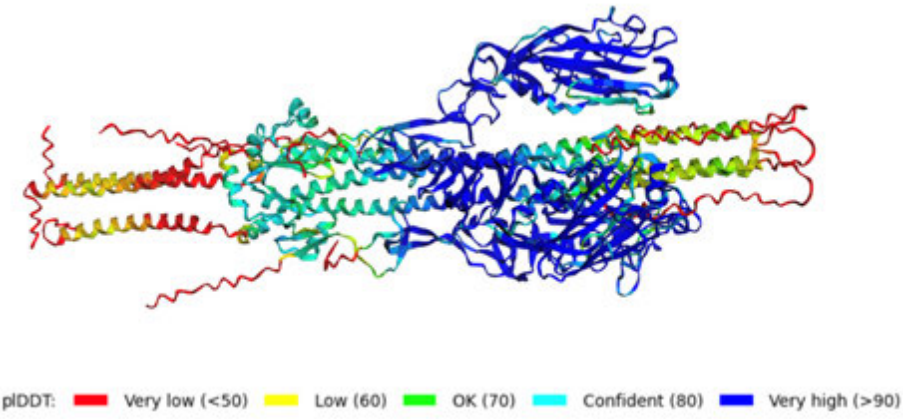



Рисунок 1 – Предсказанная структура тримера гемагглютинина A(H1N1)pdm09 (AlphaFold-Multimer), окраска по показателю pLDDT. Красный – очень низкая уверенность (<50), желтый – низкая (50–60), зеленый – умеренная (60–70), голубой – высокая (70–80), синий – очень высокая (>90)

Figure 1 – Predicted structure of the A(H1N1)pdm09 hemagglutinin trimer (AlphaFold-Multimer) colored by pLDDT score. Red – very low confidence (<50); yellow – low (50–60); green – moderate (60–70); cyan – high (70–80); blue – very high (>90)

*а* *б*

Рисунок 2 – Предсказанная структура тримера гемагглютинина A(H1N1)pdm09 (AlphaFold-Multimer): *а* – окраска по цепям (субъединицам), *б* – окраска по показателю pLDDT (уверенность предсказания по остаткам)

Figure 2 – Predicted structure of the A(H1N1)pdm09 hemagglutinin trimer (AlphaFold-Multimer): *a* – colored by chains (subunits); *b* – colored by pLDDT (per-residue prediction confidence)

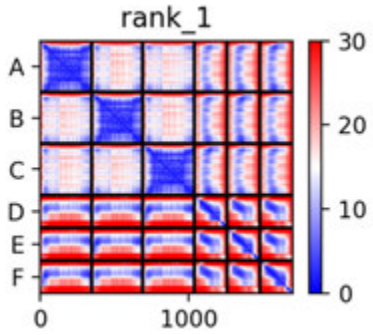



Рисунок 3 – Карта PAE (predicted aligned error) для выбранной модели тримера гемагглютинина (AlphaFold-Multimer). По осям отложены позиции аминокислотной последовательности; блоковая разметка соответствует цепям A-F. Цветовая шкала 0-30 Å отражает уверенность в относительном положении фрагментов (низкие значения – выше уверенность)

Figure 3 – PAE (predicted aligned error) map for the selected hemagglutinin trimer model (AlphaFold-Multimer). Amino acid sequence positions are shown on both axes; the block boundaries correspond to chains A-F. The 0-30 Å color scale reflects confidence in the relative positioning of fragments (lower values indicate higher confidence)

В предсказанной модели отмечены локальные признаки повышенной конформационной неопределённости в области «стебля» (понижена локальная уверенность и повышена междоменная ошибка, а также частично ослаблена упаковка спиральных элементов по визуальной оценке), которые могут соответствовать ранней стадии перестройки. В рамках данной работы это наблюдение не являлось предметом отдельного анализа. Однако нельзя не отметить, что шаблоном, по которому AlphaFold Colab построил эту модель, являлась структура 6Y5K, полученная при pH 5.0, или подобные ей структуры. Таким образом, полученные нами результаты важны для понимания процессов, происходящих во время формирования мембранной поры, позволяющей генетическому материалу вируса проникнуть из эндолизосомы в цитоплазму [10]

***Моделирование S-ацилирования цистеинов собственным программным средством.*** Моделирование S-ацилирования цистеинов выполнялось собственным программным средством, доступным по ссылке: https://protein-studio-frontend.onrender.com/, в котором построение ацильных модификаций сопряжено с интерактивным взаимодействием с исследуемой структурой, автоматической геометрической валидацией и локальной релаксацией результата. Перед модификацией проверялись тип остатка и наличие атомов CA, CB, SG. Тиоэфирная связь и карбонильный фрагмент формировались по фиксированным параметрам геометрии, после чего достраивалась алифатическая цепь заданной длины. Начальное пространственное положение хвоста подбиралось перебором ориентаций относительно атома серы с оценкой стерической совместимости с окружением на основе ван-дер-ваальсовых перекрытий; конфигурации с недопустимыми перекрытиями исключались.

После добавления цепи выполнялась локальная релаксация ацильной группы. Стартовая конформация задавалась как геометрически корректная зигзагообразная цепь, затем проводился двухэтапный поиск ориентации с вариацией диэдральных углов CA–CB–SG–C1 и CB–SG–C1–O1 и поворотом всей цепи вокруг оси SG–C1. Целевая функция релаксации определялась как максимум ван-дер-ваальсовых перекрытий для трёх компонент: контакты хвоста с окружением, контакты хвоста с атомами собственного цистеина вне хвоста и самоперекрытия внутри хвоста. Выбиралась конфигурация, минимизирующая указанную функцию, её координаты записывались в структуру. Корректность результата контролировалась валидатором по геометрии тиоэфирной группы, планарности карбонильного фрагмента и отсутствию критических межатомных столкновений. Результат работы алгоритма представлен на рисунках 4 и 5.

Рисунок 4 – Достроенная модификация в 3D-структуре

Figure 4 – Reconstructed modification in the 3D structure

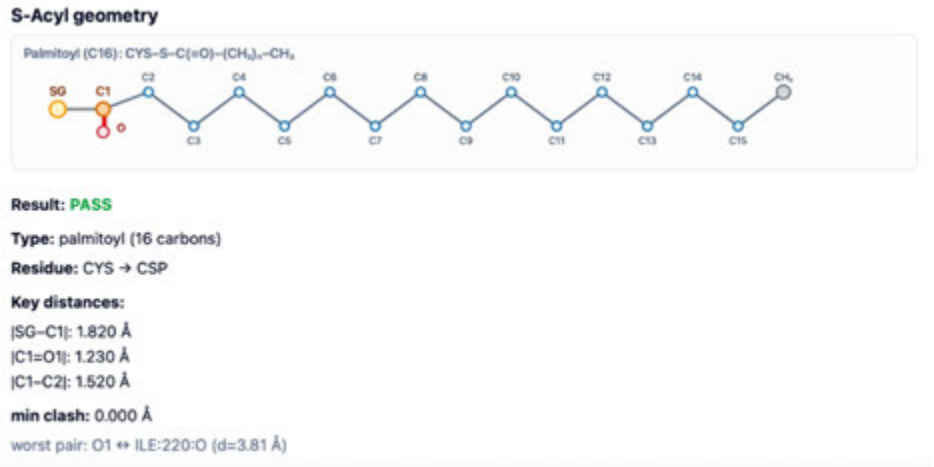



Рисунок 5 – Результат проверки корректности достроенной модификации

Figure 5 – Validation results for the reconstructed modification

***Ограничение CHARMM-GUI и принятое допущение по типу ацильных цепей.*** После добавления ацильных хвостов цистеинам для постановки белка в липидный бислой и генерации входных файлов молекулярной динамики использовался сервис CHARMM-GUI Membrane Builder. Сервис опирается на топологию и параметры силового поля CHARMM. При наличии в файле PDB остатка, отсутствующего в наборе параметров CHARMM дальнейшая сборка невозможна без замены остатка на поддерживаемый тип либо без пользовательской параметризации; корректность именования остатков и атомов должна быть обеспечена при подготовке файла PDB [13].

В связи с отсутствием стеаратоилированного цистеина в параметрах CHARMM-GUI, было принято допущение, что все модифицированные цистеины представлены как пальмитоилированные, то есть ацильные цепи унифицированы до варианта C16. В стандартном пайплайне CHARMM-GUI пальмитоилирование цистеина представлено параметризованным остатком CYSP [14][15].

Аналогичное допущение описано при моделировании фрагмента S-белка SARS-CoV-2, где пальмитоилирование предполагалось для всех цистеинов [16]. Унификация C16 рассматривается как приемлемая для задач моделирования мембранного заякоривания и размещения хвостов в гидро-

фобном ядре бислоя, тогда как различение эффектов C16 и C18 требует отдельного сравнительного анализа. Для гемагглютинина описано присутствие и стеарата, и пальмитата на разных сайтах, что указывает на потенциальную значимость длины цепи в специализированных моделях [17]. Однако в рамках данной работы функциональные различия между сайтами с модификациями стеаратоилированием и пальмитоилированием не рассматривались.

***Сборка мембранной системы в CHARMM-GUI Membrane Builder.*** Сборка системы «белок-мембрана» выполнялась в CHARMM-GUI Membrane Builder [18]. Модель ориентировали относительно мембраны так, чтобы нормаль мембраны совпадала с осью Z и гидрофобная область трансмембранного сегмента была расположена в пределах гидрофобного ядра бислоя. На этапе подготовки структуры были заданы дисульфидные мостики в необходимых для гемагглютинина местах [19].

Липидный бислой формировали как гетерогенную мембрану с разным составом листков: в верхнем листке задавались доли холестерина 30%, 1-пальмитоил-2-олеоил-sn-глицеро-3-фосфохолин (POPC) 35 %, сфингомиелин (PSM) 35 %; в нижнем листке – холестерин 30 %, 1-пальмитоил-2-олеоил-sn-глицеро-3-фосфохолин (POPC) 20 %, 1-пальмитоил-2-олеоил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин (POPE) 40 %, 1-пальмитоил-2-олеоил-sn-глицеро-3-фосфо-L-серин (POPS) 10 %. Состав мембраны задавался как модельное приближение липидной среды мембраны хозяина и вирусной оболочки, пропорции подбирались контролем асимметрии внешнего и внутреннего листков, чтобы воспроизвести различие их композиции на уровне типичных классов липидов [20]. Такое приближение рассматривалось как достаточное для проверки устойчивости мембранного заякоривания белка.

После моделирования мембраны выполнялись солватация и добавление ионов, затем генерировались файлы топологии и входные параметры с экспортом под GROMACS [21].

***Молекулярная динамика и анализ траекторий.*** Расчёты молекулярной динамики выполнялись в GROMACS на основе входных файлов, полученных из CHARMM-GUI. Протокол включал минимизацию энергии, эквилибрацию в ансамблях NVT и NPT и основной этап динамики длительностью 50 нс, который рассматривался как первичный шаг динамики для проверки устойчивости полученной мембранной конфигурации [22, 23, 24].

Анализ проводился по траектории production. Для описания заякоривания использовалось расстояние между центром масс ацилированного остатка и центром масс мембраны. Ориентацию трансмембранного сегмента оценивали по наклону оси трансмембранной спирали относительно нормали мембраны. Взаимодействия трансмембранной области с липидами характеризовали числом межатомных контактов при пороге $d < 0{,}6$ нм и метрикой минимального расстояния mindist. Для контроля общей компактности белка рассчитывался радиус инерции Rg, а сохранность вторичной структуры в области трансмембранной спирали оценивали по DSSP. Дополнительно выполнялась визуальная проверка траектории в VMD с контролем положения ацильных хвостов относительно гидрофобного ядра мембраны.

## Результаты и их обсуждение

Первичное молекулярно-динамическое моделирование мембранной системы с тримером HA проводилось в течение 50 нс в ансамбле NPT. По динамике основных термодинамических параметров и геометрических характеристик белка система демонстрировала устойчивое поведение без признаков разрушения тримерной организации. Радиус гирации оставался в узком диапазоне, что согласуется с сохранением общей архитектуры модели (рисунок 6). Положение ацильных цепей относительно мембраны оценивали по расстоянию между центрами масс модификации и липидного бислоя (рисунок 7). После 33 нс ацильные цепи перешли в состояние с несколько удлинённым расстоянием от мембраны (на 1 нм), в котором и были стабилизированы.

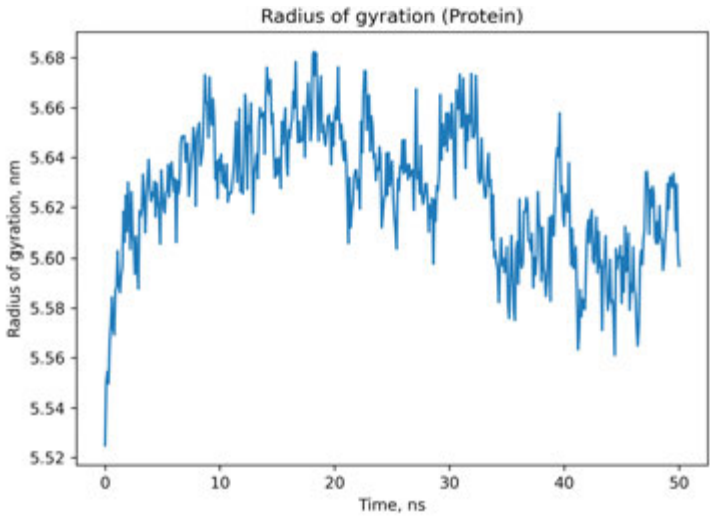



Рисунок 6 – График изменений радиуса гирации тримера за время динамики комплекса

Figure 6 – Plot of changes in the trimer radius of gyration during the molecular dynamics simulation of the complex

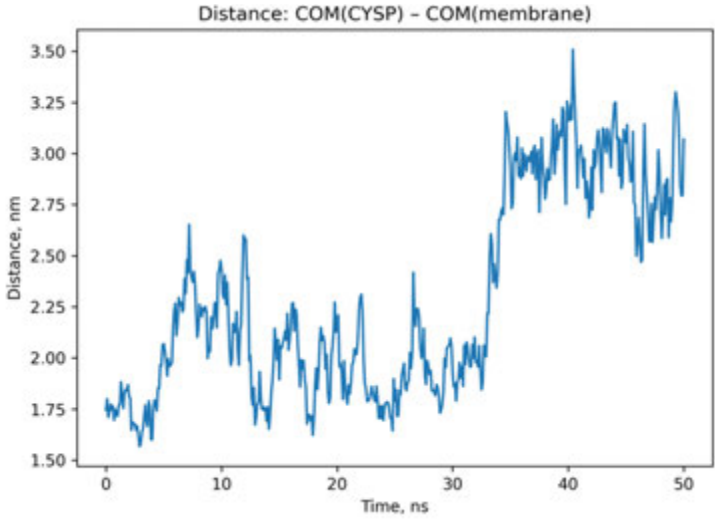



Рисунок 7 – График изменения расстояния между центрами масс за время динамики

Figure 7 – Plot of changes in the distance between the centers of mass over the course of the molecular dynamics simulation

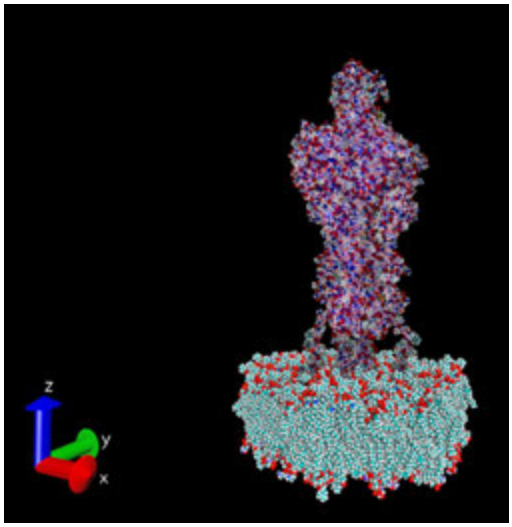



Рисунок 8 – Графическое отображение заякоренного в мембране тримера

Figure 8 – Graphical representation of the membrane-anchored trimer

Для контроля положения тримера относительно мембраны использовали визуальный анализ траектории. Трансмембранный сегмент сохранял погружение в бислой, а липидные хвосты модифицированных цистеинов преимущественно располагались в гидрофобном ядре мембраны (рисунок 8).

Ориентацию трансмембранной α-спирали относительно нормали мембраны оценивали по углу наклона ТМ-домена. В течение траектории угол колебался вокруг квазистационарного значения без длительных трендов, что соответствует стабильному закреплению ТМ-сегмента и бислое (рисунок 9).

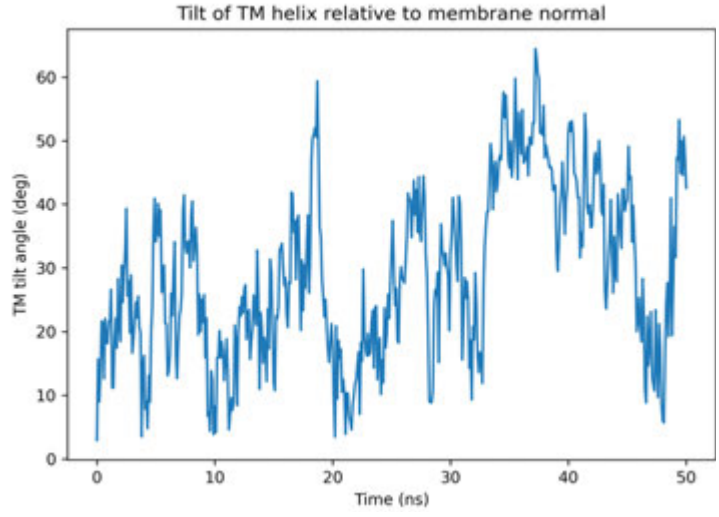



Рисунок 9 – Временная зависимость угла наклона α-спирали (трансмембранного домена) относительно нормали мембраны по траектории симуляции (50 нс)

Figure 9 – Time dependence of the tilt angle of the α-helix (transmembrane domain) relative to the membrane normal along the simulation trajectory (50 ns)

Состояние вторичной структуры ТМ-сегмента оценивали по данным DSSP. На протяжении 50 нс преобладало α-спиральное содержание. Длительной потери спиральной структуры в ТМ-области не наблюдалось (рисунок 10).

По результатам анализа вторичной структуры подмембранного домена методом DSSP установлено, что исследуемый участок сохраняет преимущественно нерегулярную конформацию (рисунок 11). Основная доля назначений соответствует категории loops, элементы регулярной вторичной структуры (α-спирали и β-структуры) в пределах выбранного сегмента практически не формируются. На протяжении моделирования наблюдаются умеренные флуктуации долей «bends» и «turns», что отражает локальные изгибы и кратковременные повороты цепи без стабилизации в протяженную спираль, но иногда с образованием короткой недолгоживущей спирали 3/10. Эти наблюдения указывают на сохранение конформационной подвижности подмембранного домена в пределах рассмотренного временного интервала и соответствуют ожидаемому поведению коротких периферических участков белка вблизи мембранного интерфейса.

Интерфейс ТМ-домена с мембраной дополнительно характеризовали контактным анализом. Число контактов ТМ-домена с липидами (критерий контакта d < 0,6 нм) после начального роста выходило на плато и далее флуктуировало вокруг квазистационарного уровня (рисунок 12).

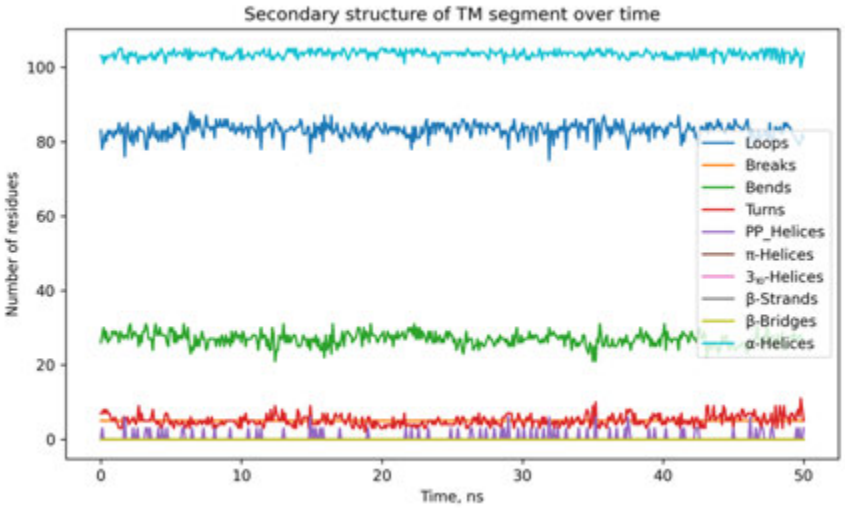



Рисунок 10 – Динамика вторичной структуры трансмембранного сегмента в ходе симуляции: число остатков в основных типах вторичной структуры во времени (50 нс)

Figure 10 – Secondary-structure dynamics of the transmembrane segment during the simulation: number of residues in major secondary-structure types over time (50 ns)

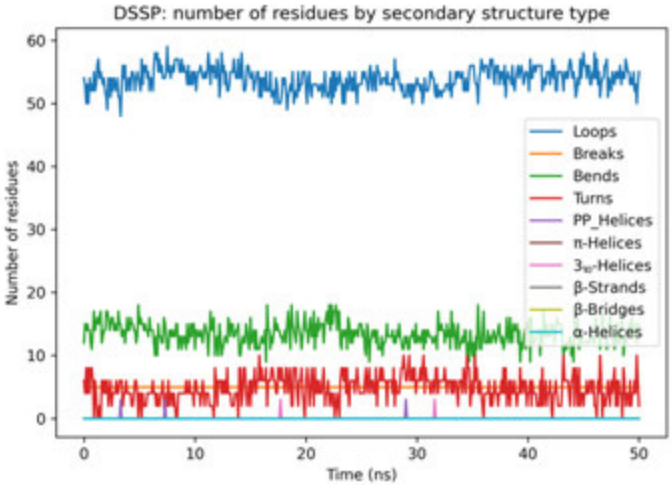



Рисунок 11 – Динамика вторичной структуры подмембранного домена на production-траектории: число остатков в основных типах вторичной структуры во времени (50 нс)

Figure 11 – Secondary-structure dynamics of the submembrane domain along the production trajectory: number of residues in major secondary-structure types over time (50 ns)

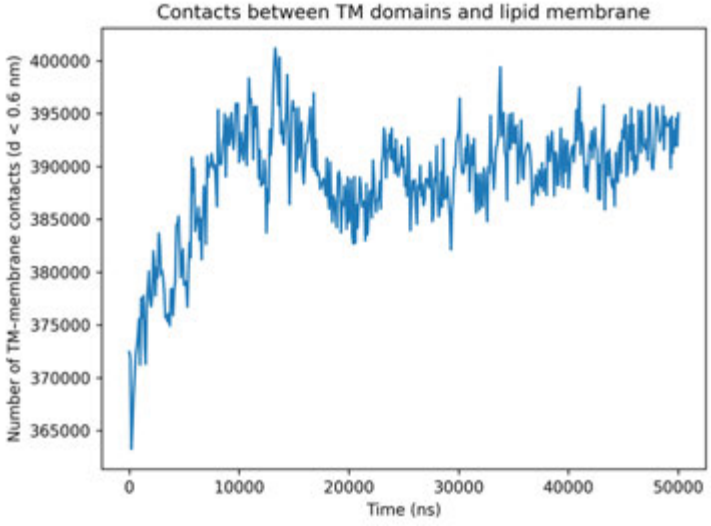



Рисунок 12 – Временная зависимость числа контактов между трансмембранным доменом и липидной мембраной (критерий контакта: расстояние <0,6 нм) по траектории симуляции (50 нс)

Figure 12 – Time dependence of the number of contacts between the transmembrane domain and the lipid membrane (contact criterion: distance <0.6 nm) along the simulation trajectory (50 ns)

Минимальная дистанция между ТМ-доменом и мембраной оставалась близкой к постоянной с малыми флуктуациями, что указывает на отсутствие событий длительного отделения ТМ-участка от гидрофобной фазы (рисунок 13).

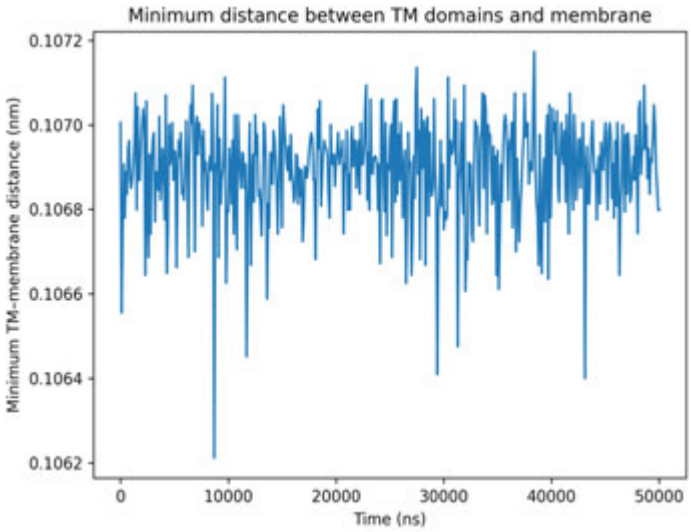



Рисунок 13 – Временная зависимость минимальной дистанции между трансмембранным доменом и липидной мембраной по траектории симуляции (50 нс)

Figure 13 – Time dependence of the minimum distance between the transmembrane domain and the lipid membrane along the simulation trajectory (50 ns)

Совокупность метрик и визуального контроля подтверждает физически согласованную конфигурацию мембранно-заякоренного тримера НА на исследованном первичном 50-нс временном интервале. Данные о функциональной активности белка и о влиянии модификаций на процессы проникновения в рамках текущего моделирования не оценивались.

## Заключение

В рамках работы реализован и отлажен алгоритм моделирования S-ацилирования цистеиновых остатков в составе собственного программного средства. Этот алгоритм применён для подготовки мембранно-заякоренной атомистической модели тримера гемагглютинина пандемического варианта H1N1. Подготовленная система использована для молекулярно-динамического моделирования, по результатам которого выполнен анализ структурной и мембранной согласованности полученной модели на рассматриваемом временном интервале.

Результаты моделирования свидетельствуют о том, что полученная геометрия мембранного заякоривания и расположение липидных хвостов согласуются с мембранной средой, модель не проявляет признаки неустойчивости на рассматриваемом временном интервале. Полученный 50-нс интервал следует рассматривать как первичную проверку стартовой конфигурации модели. Модель предназначена для дальнейшего вычислительного анализа и постановки более длительных, реплицированных или сравнительных молекулярно-динамических расчётов.

Интерпретация результатов ограничена принятым допущением унификации ацильных цепей до варианта C16, обусловленным особенностями параметризации и сборки системы в используемом пайплайне. Отдельный анализ различий между сайтами модификации эффектов длины ацильной цепи в рамках текущей работы не выполнялся, такая постановка задачи рассматривается как направление дальнейших исследований.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список использованных источников

1. Pushan S.S. Evolution of Indian Influenza A (H1N1) Hemagglutinin Strains: A Comparative Analysis of the Pandemic Californian HA Strain / S. S. Pushan, M. Samantaray, M. Rajagopalan [et al.] // Frontiers in Molecular Biosciences. – 2023. – Vol. 10. – Art. 1111869.
2. Wu, N.C. Structural Biology of Influenza Hemagglutinin: An Amaranthine Adventure / N. C. Wu, I. A. Wilson // Viruses. – 2020. – Vol. 12, № 9. – Art. 1053.
3. Badiee, S.A. Molecular Dynamics Investigation of the Influenza Hemagglutinin Conformational Changes in Acidic pH / S. A. Badiee, V. G. Kumar, M. Moradi // The Journal of Physical Chemistry B. – 2024. – Vol. 128, № 45. – P. 11151–11163.
4. GPS-Palm: a deep learning-based graphic presentation system for the prediction of S-palmitoylation sites in proteins / W. Ning, P. Jiang, Y. Guo [et al.] // Briefings in Bioinformatics. – 2021. – Vol. 22, № 2. – P. 1836–1847.
5. Influenza hemagglutinin membrane anchor / D.J. Benton, A. Nans, L.J. Calder [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2018. – Vol. 115, № 40. – P. 10112–10117.
6. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold / J. Jumper, R. Evans, A. Pritzel [et al.] // Nature. – 2021. — Vol. 596. – P. 583–589.
7. AlphaFold: Code repository / GitHub. – URL: https://github.com/google-deepmind/alphafold (accessed: 09.12.2025).
8. A step-by-step guide to generating predictions with AlphaFold Server / EMBL-EBI. – URL: https://www.ebi.ac.uk/training/online/courses/alphafold/alphafold-3-and-alphafold-server/alphafold-server-your-gateway-to-alphafold-3/a-step-by-step-guide-to-generating-predictions-with-alphafold-server (accessed: 10.12.2025).
9. pLDDT: understanding local confidence / EMBL-EBI. – URL: https://www.ebi.ac.uk/training/online/courses/alphafold/inputs-and-outputs/evaluating-alphafolds-predicted-structures-using-confidence-scores/plddt-understanding-local-confidence (accessed: 10.12.2025).
10. Structural transitions in influenza haemagglutinin at membrane fusion pH / D. J. Benton, S. J. Gamblin,

P. B. Rosenthal [et al.] // Nature. – 2020. – Vol. 583, № 7814. – P. 150–153.
11. Confidence scores in AlphaFold-Multimer / EMBL-EBI. – URL: https://www.ebi.ac.uk/training/online/courses/alphafold/inputs-and-outputs/evaluating-alphafolds-predicted-structures-using-confidence-scores/confidence-scores-in-alphafold-multimer (accessed: 11.12.2025).
12. PAE: a measure of global confidence in AlphaFold predictions / EMBL-EBI. – URL: https://www.ebi.ac.uk/training/online/courses/alphafold/inputs-and-outputs/evaluating-alphafolds-predicted-structures-using-confidence-scores/pae-a-measure-of-global-confidence-in-alphafold-predictions (accessed: 11.12.2025).
13. I/O of CHARMM-GUI / CHARMM-GUI. – URL: https://www.charmm-gui.org/charmmdoc/io.html (accessed: 12.12.2025).
14. SARS-CoV-2 Spike Protein: Demo Lesson / CHARMM-GUI. – URL: https://charmm-gui.org/?doc=demo&id=cov_2_s&lesson=1 (accessed: 12.12.2025).
15. CHARMM-GUI PDB Manipulator: Various PDB Structural Modifications for Biomolecular Modeling and Simulation / S. Park, N. Kern, T. Brown [et al.] // Journal of Molecular Biology. – 2023. – Vol. 435, № 14. – Art. 167995.
16. Molecular Modeling of the HR2 and Transmembrane Domains of the SARS-CoV-2 S Protein in the Prefusion State / M. E. Bozdaganyan, P. S. Orekhov, D. S. Litvinov [et al.] // Moscow University Biological Sciences Bulletin. – 2021. – Vol. 76. – P. 130–136.
17. Site-specific S-acylation of influenza virus hemagglutinin: the location of the acylation site relative to the membrane border is the decisive factor for attachment of stearate / K. Brett, L. V. Kordyukova, M. V. Serebryakova [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2014. – Vol. 289, № 50. – P. 34978–34989.
18. Li, Y. Preparing Membrane Proteins for Simulation Using CHARMM-GUI / Y. Li, J. Liu, J. C. Gumbart // Methods in Molecular Biology. – 2021. – Vol. 2302. – P. 237–251.
19. Flórido M. Influenza A Virus Hemagglutinin Is Produced in Different Disulfide-Bonded States / M. Flórido, J. Chiu, P. J. Hogg // Antioxidants & Redox Signaling. – 2021. – Vol. 35, No. 13. – P. 1081–1092.
20. Membrane Builder Step 3: Lipid Components / CHARMM-GUI. – URL: https://charmm-gui.org/?chapter=membrane_vdac_hetero&doc=tutorial&project=membrane&sub=step3 (accessed: 16.12.2025).
21. A web-based graphical user interface for CHARMM / CHARMM-GUI. – URL: https://www.charmm-gui.org (accessed: 17.12.2025).
22. Membrane Protein: KALP15 in DPPC / GROMACS Tutorials. – URL: https://tutorials.gromacs.org/docs/membrane-protein.html (accessed: 17.12.2025).
23. System preparation / GROMACS User Guide. – URL: https://manual.gromacs.org/current/user-guide/system-preparation.html (accessed: 18.12.2025).
24. Hands-on: Running molecular dynamics simulations using GROMACS / Galaxy Training Network. – URL: https://training.galaxyproject.org/training-material/topics/computational-chemistry/tutorials/md-simulation-gromacs/tutorial.html (accessed: 18.12.2025).

## References

1 Pushan SS, Samantaray M, Rajagopalan M, Ramaswamy A. Evolution of Indian Influenza A (H1N1) Hemagglutinin Strains: A Comparative Analysis of the Pandemic Californian HA Strain. *Front Mol Biosci*. 2023 Mar 16;10:1111869. doi: 10.3389/fmolb.2023.1111869.
2 Wu NC, Wilson IA. Structural Biology of Influenza Hemagglutinin: An Amaranthine Adventure. *Viruses*. 2020 Sep 22;12(9):1053. doi: 10.3390/v12091053.
3 Badiee SA, Govind Kumar V, Moradi M. Molecular Dynamics Investigation of the Influenza Hemagglutinin Conformational Changes in Acidic pH. *J Phys Chem* B. 2024 Nov 14;128(45):11151-11163. doi: 10.1021/acs.jpcb.4c04607.
4 Ning W, Jiang P, Guo Y, Wang C, Tan X, Zhang W, Peng D, Xue Y. GPS-Palm: a deep learning-based graphic presentation system for the prediction of S-palmitoylation sites in proteins. *Brief Bioinform*. 2021 Mar 22;22(2):1836-1847. doi: 10.1093/bib/bbaa038.
5 Benton DJ, Nans A, Calder LJ, Turner J, Neu U, Lin YP, Ketelaars E, Kallewaard NL, Corti D, Lanzavecchia A, Gamblin SJ, Rosenthal PB, Skehel JJ. Influenza hemagglutinin membrane anchor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018 Oct 2;115(40):10112-10117. doi: 10.1073/pnas.1810927115.
6 Jumper J, Evans R, Pritzel A, Green T, Figurnov M, Ronneberger O, Tunyasuvunakool K, Bates R, Žídek A, Potapenko A, Bridgland A, Meyer C, Kohl SAA, Ballard AJ, Cowie A, Romera-Paredes B, Nikolov S, Jain R, Adler J, Back T, Petersen S, Reiman D, Clancy E, Zielinski M, Steinegger M, Pacholska M, Berghammer T, Bodenstein S, Silver D, Vinyals O, Senior AW, Kavukcuoglu K, Kohli P, Hassabis D. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*. 2021 Aug;596(7873):583-589. doi: 10.1038/s41586-021-03819-2.
7 AlphaFold [Internet]. GitHub; [cited 2025 Dec 9]. Available from: https://github.com/google-deepmind/alphafold.
8 A step-by-step guide to generating predictions with AlphaFold Server [Internet]. EMBL-EBI; [cited 2025 Dec 10]. Available from: https://www.ebi.ac.uk/training/online/courses/alphafold/alphafold-3-and-alphafold-server/alphafold-server-your-gateway-to-alphafold-3/a-step-by-step-guide-to-generating-predictions-with-alphafold-server.
9 pLDDT: understanding local confidence [Internet]. EMBL-EBI; [cited 2025 Dec 10]. Available from: https://www.ebi.ac.uk/training/online/courses/alphafold/inputs-and-outputs/evaluating-alphafolds-predicted-structures-using-confidence-scores/plddt-understanding-local-confidence.
10 Benton DJ, Gamblin SJ, Rosenthal PB, Skehel JJ. Structural transitions in influenza haemagglutinin at membrane fusion pH. *Nature*. 2020 Jul;583(7814):150-153. doi: 10.1038/s41586-020-2333-6.
11 Confidence scores in AlphaFold-Multimer [Internet]. EMBL-EBI; [cited 2025 Dec 11]. Available from: https://www.ebi.ac.uk/training/online/courses/alphafold/inputs-and-outputs/evaluating-alphafolds-predicted-structures-using-confidence-scores/confidence-scores-in-alphafold-multimer.
12 PAE: a measure of global confidence in AlphaFold predictions [Internet]. EMBL-EBI; [cited 2025 Dec 11]. Available from: https://www.ebi.ac.uk/training/online/courses/alphafold/inputs-and-outputs/evaluating-alphafolds-predicted-structures-using-confidence-scores/pae-a-measure-of-global-confidence-in-alphafold-predictions.
13 I/O of CHARMM-GUI [Internet]. CHARMM-GUI; [cited 2025 Dec 12]. Available from: https://www.charmm-gui.org/charmmdoc/io.html.
14 SARS-CoV-2 Spike Protein: Demo Lesson [Internet]. CHARMM-GUI; [cited 2025 Dec 12]. Available from: https://charmm-gui.org/?doc=demo&id=cov_2_s&lesson=1.
15 Park SJ, Kern N, Brown T, Lee J, Im W. CHARMM-GUI PDB Manipulator: Various PDB Structural Modifications for Biomolecular Modeling and Simulation. *J Mol Biol*. 2023 Jul 15;435(14):167995. doi: 10.1016/j.jmb.2023.167995.

16 Bozdaganyan ME, Orekhov PS, Litvinov DS, Novoseletsky VN. Molecular Modeling of the HR2 and Transmembrane Domains of the SARS-CoV-2 S Protein in the Prefusion State. *Moscow Univ Biol Sci Bull*. 2021;76(3):130-136. doi: 10.3103/S0096392521030044.
17 Brett K, Kordyukova LV, Serebryakova MV, Mintaev RR, Alexeevski AV, Veit M. Site-specific S-acylation of influenza virus hemagglutinin: the location of the acylation site relative to the membrane border is the decisive factor for attachment of stearate. *J Biol Chem*. 2014 Dec 12;289(50):34978-89. doi: 10.1074/jbc.M114.586180.
18 Li Y, Liu J, Gumbart JC. Preparing Membrane Proteins for Simulation Using CHARMM-GUI. Methods Mol Biol. 2021;2302:237-251. doi: 10.1007/978-1-0716-1394-8_13.
19 Flórido M, Chiu J, Hogg PJ. Influenza A Virus Hemagglutinin Is Produced in Different Disulfide-Bonded States. *Antioxid Redox Signal*. 2021 Nov 1;35(13):1081-1092. doi: 10.1089/ars.2021.0033.
20 Membrane Builder Step 3: Lipid Components [Internet]. CHARMM-GUI; [cited 2025 Dec 16]. Available from: https://charmm-gui.org/?chapter=membrane_vdac_hetero&doc=tutorial&project=membrane&sub=step3.
21 A web-based graphical user interface for CHARMM [Internet]. CHARMM-GUI; [cited 2025 Dec 17]. Available from: https://www.charmm-gui.org.
22 Membrane Protein: KALP15 in DPPC [Internet]. GROMACS Tutorials; [cited 2025 Dec 17]. Available from: https://tutorials.gromacs.org/docs/membrane-protein.html.
23 System preparation [Internet]. GROMACS User Guide; [cited 2025 Dec 18]. Available from: https://manual.gromacs.org/current/user-guide/system-preparation.html.
24 Hands-on: Running molecular dynamics simulations using GROMACS [Internet]. Galaxy Training Network; [cited 2025 Dec 20]. Available from: https://training.galaxyproject.org/training-material/topics/computational-chemistry/tutorials/md-simulation-gromacs/tutorial.html.

# COMPUTATIONAL MODELING OF THE HEMAGGLUTININ PROTEIN IN A LIPID MEMBRANE CONSIDERING S-ACYLATION

*O. E. Miskevich, V. V. Khrustalev*

*Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*

**Background.** Influenza A hemagglutinin is a trimeric membrane glycoprotein. Modeling of its membrane form considers the transmembrane segment and cysteine S-acylation in the membrane-anchoring region, since lipid chains affect protein-bilayer interactions and anchoring parameters.

**Objective.** To implement an algorithm for modeling cysteine S-acylation within a custom software tool and apply it to build and analyze a membrane-anchored model of the hemagglutinin trimer.

**Material and Methods.** A full trimeric model was obtained using structure prediction methods; acyl chains were added using a custom software tool with local relaxation and overlap control. The membrane system was assembled in CHARMM-GUI Membrane Builder, and molecular dynamics simulations were performed in GROMACS. The analysis included the position of the trimer in the membrane, the location of the acyl chains, and the secondary structure of the transmembrane and submembrane segment (DSSP).

**Results.** After a primary molecular dynamics simulation membrane anchoring of the transmembrane segment and localization of the acyl chains within the lipid phase were maintained. The transmembrane segment remained predominantly α-helical, whereas the submembrane domain was irregular.

**Conclusions.** The model shows structural and membrane consistency and can be used as a basis for longer and comparative computational analysis.

**Keywords:** Hemagglutinin, S-acylation, post-translational modifications, lipid bilayer, molecular dynamics, CHARMM-GUI, GROMACS, AlphaFold.

**For citation:** Miskevich O E, Khrustalev VV. Computational modeling of the hemagglutinin protein in a lipid membrane considering S-acylation. *Biochemistry and molecular biology.* 2026, vol. 5, no. 1(8). pp. 73–82. (in Russian)

*Поступила 04.03.2026*

УДК 616.12-008.331.1:575.174.015.3]-053.2

# ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНАЦИЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У ДЕТЕЙ: ПОЛИМОРФИЗМ G894T (RS1799983) ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА

*А. В. Лукша[1], О. В. Горчакова[2]*

*[1]Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь;*

*[2]Гродненский областной клинический перинатальный центр, г. Гродно, Республика Беларусь*

**Введение**. Одним из приоритетных направлений современной гипертензиологии является исследование молекулярно-генетических основ развития артериальной гипертензии (АГ). Расширение представлений о «генах предрасположенности» позволит выявить наследственные тенденции к развитию АГ, что в будущем сможет улучшить диагностику, профилактику и лечение данного заболевания.

**Цель исследования.** Оценить частоту встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма G894T (rs1799983) гена эндотелиальной синтазы оксида азота (NOS3) у детей с АГ и высоким нормальным артериальным давлением (ВНАД), а также у здоровых детей, проживающих на территории Гродненской области.

**Материалы и методы.** Обследовано 90 детей в возрасте от 14 до 18 лет. Медиана возраста обследуемых пациентов – 15,2 лет. Все пациенты были разделены на 3 группы: группу 1 ($n$ = 39) составили дети с АГ, группу 2 ($n$ = 22) – с ВНАД, группу 3 – 29 здоровых детей из групп периодического диспансерного наблюдения. Генотипирование по полиморфному варианту G894T (rs1799983) гена NOS3 проводили на геномной ДНК, полученной из лейкоцитов периферической крови 90 детей.

**Результаты.** Результаты анализа распределения частот генотипов и аллелей полиморфизма G894T гена NOS3 в выборке детей Гродненской области ($n$ = 90) показал, что наиболее распространенным является гомозиготный генотип GG (в 55,5 % случаев). Носительство генотипа TT полиморфизма G894T гена NOS3 ассоциировано с повышенным риском развития АГ у детей (ОР = 1,8; 95% ДИ 1,45–2,24).

**Заключение.** Среди детей Гродненской области достоверно чаще выявлялся генотип GG и G-аллель полиморфного варианта G894T гена NOS3. Риск развития АГ повышен в 1,8 раза (ОР = 1,8; 95% ДИ 1,45–2,24) у носителей генотипа TT полиморфизма G894T гена NOS3.

**Ключевые слова:** полиморфизм, G894T (rs1799983), прогнозирование, артериальная гипертензия, дети.

**Для цитирования:** Лукша, А. В. Генетическая детерминация артериальной гипертензии у детей: полиморфизм G894T (rs1799983) гена эндотелиальной синтазы оксида азота / А. В. Лукша, О. В. Горчакова // Биохимия и молекулярная биология. – 2026. – Т. 5, № 1(8). – С. 83–88.

## Введение

Проблема диагностики, лечения и профилактики АГ у детей занимает одно из приоритетных положений в современной кардиологии [1, 2]. Это связано с высокой распространенностью АГ, а также с возможностью трансформации в ишемическую болезнь сердца, которая нередко становится основной причиной инвалидизации и смертности среди взрослого населения [1, 3]. По данным G. A. Roth и соавт., за последние 30 лет число случаев сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) удвоилось и составило 523 млн в 2019 г. (в 1990 г. – 271 млн случаев), а число смертей от них – увеличилось с 12,1 млн в 1990 г., достигнув 18,6 млн в 2019 г. [4]. Согласно прогнозам, к 2030 году данный показатель составит более 23 млн неблагоприятных исходов [5].

Несмотря на продолжающийся рост выявления АГ, в последние десятилетия в ее структуре увеличился удельный вес лиц молодого возраста [6]. Глобальная распространенность АГ среди детей варьирует от 1,6 % до 3,5 % [7]. В то время, как на евразийском континенте, отмечается более высокий процент встречаемости данной патологии: в Европейском регионе ВОЗ – от 2,2 до 22 % [8], в Китае – 22,3 % [9], в Индии – до 25 % [10].

Одним из приоритетных направлений современной гипертензиологии является исследование молекулярно-генетических основ развития АГ [11, 12, 13]. Последнее десятилетие стало свидетелем

выдающихся успехов в понимании генетической основы ССЗ благодаря исследованию полногеномного поиска ассоциаций (Genome-Wide Association Studies) – GWAS. С расширением знаний о локусах регуляции артериального давления с помощью GWAS большое внимание в практике научных исследований уделяют идентификации полиморфных участков генов, мутации в которых повышают риск развития заболевания [12]. К настоящему времени идентифицировано более 30 генов и около 1500 полиморфных вариантов, участвующих в системе регуляции артериального давления и обуславливающих его фенотипическое разнообразие [13]. Считают, что расширение представлений о «генах предрасположенности» позволит выявить наследственные тенденции к развитию АГ, что в будущем сможет улучшить диагностику, профилактику и лечение данного заболевания.

В фокусе научных интересов последних лет находится группа генов, кодирующих синтазы оксида азота (NOS). Ген NOS3, кодирующий эндотелиальную NOS (eNOS), рассматривается как один из ключевых генов, ассоциированных с АГ. Среди всех вариантов гена NOS3, полиморфизм G894T (rs1799983), обладает наибольшей клинической значимостью.

**Цель исследования.** Оценить частоту встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма G894T (rs1799983) гена NOS3 у детей с АГ и ВНАД, а также у здоровых детей, проживающих на территории Гродненской области.

## Материалы и методы

На базе учреждения здравоохранения «Гродненская областная детская клиническая больница» было обследовано 90 детей в возрасте от 14 до 18 лет, из них: 61 пациент с повышенным артериальным давлением и 29 здоровых детей. Медиана возраста пациентов – 15,2 лет (14,0–16,5).

Клиническое исследование выполнялось в соответствии с этическими принципами Хельсинкской Декларации. Проведение исследования одобрено Комитетом по биомедицинской этике учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет», учреждения здравоохранения «Гродненская областная детская клиническая больница». Все пациенты были включены в исследование после получения, письменного информированного согласия родителей (законных представителей) и ознакомлены с протоколом клинического исследования.

Детям с повышенным артериальным давлением ($n$ = 61) для верификации диагноза АГ (МКБ-10 шифр I10) и ВНАД (МКБ-10 шифр R03.0) проводилось суточное мониторирование артериального давления (СМАД) до назначения гипотензивной терапии. По результатам СМАД (таблица 1), были сформированы 2 группы детей: группа 1 ($n$ = 39) составили дети с АГ, группа 2 ($n$ = 22) – с ВНАД. Группа сравнения (группа 3) включала 29 здоровых детей из групп периодического диспансерного наблюдения.

Таблица 1 – Показатели СМАД у детей в зависимости от сформированных групп

Table 1 – ABPM indicators in children

| Показатель | Период | Группа 1 ($n$ = 39) | Группа 2 ($n$ = 29) |
|---|---|---|---|
| Среднее систолическое артериальное давление (САД), мм рт. ст. | Сутки | 132,7 (125,6; 135,9) | 122,5 (116,4; 128,9) |
| | День | 137,7 (128,9; 142,0) | 127,4 (119,4; 131,6) |
| | Ночь | 120,7 (113,4; 125,1) | 110,8 (105,7; 117,2) |
| Среднее диастолическое артериальное давление (ДАД), мм рт. ст. | Сутки | 76,2 (72,6; 80,6) | 70,8 (66,1; 74,3) |
| | День | 81,8 (77,5; 85,0) | 74,9 (71,3; 80,2) |
| | Ночь | 65,3 (61,6; 71,1) | 62,0 (56,5; 65,1) |
| Гипертонический индекс времени САД, % | Сутки | 61,1 (33,7; 75,0) | 25,9 (7,7; 43,7) |
| | День | 61,4 (38,3; 80,0) | 25,1 (7,7; 49,9) |
| | Ночь | 52,3 (36,0; 76,3) | 20,8 (7,9; 36,5) |
| Гипертонический индекс времени ДАД, % | Сутки | 31,8 (15,9; 52,2) | 16,1 (9,6; 24,2) |
| | День | 31,9 (14,4; 49,7) | 15,3 (8,1; 25,8) |
| | Ночь | 22,4 (8,9; 42,7) | 14,8 (5,2; 23,8) |
| Гипертонический нормированный индекс площади САД, мм рт. ст. | Сутки | 6,1 (3,2; 10,9) | 2,2 (0,5; 5,2) |
| | День | 6,1 (3,1; 11,8) | 1,95 (0,3; 6,2) |
| | Ночь | 5,0 (2,2; 8,9) | 1,5 (0,2; 3,2) |
| Гипертонический нормированный индекс площади ДАД, мм рт. ст. | Сутки | 2,5 (0,8; 4,3) | 1,4 (0,5; 2,4) |
| | День | 2,2 (0,7; 5,2) | 1,6 (0,3; 2,7) |
| | Ночь | 1,3 (0,3; 5,2) | 0,8 (0,3; 2,0) |

Генотипирование по полиморфному варианту G894T (rs1799983) гена NOS3 проводили на геномной ДНК, полученной из лейкоцитов периферической крови 90 детей. Выделение

геномной ДНК проводилась из образцов крови, набранных с использованием вакуумных систем с ЭДТА и комплекта реагентов для выделения ДНК из цельной крови методом магнитной сорбции, производства ООО «Синтол» (РФ). Выявление полиморфизма G894T (rs1799983) в гене NOS3 проводили с помощью набора реактивов производства «Литех» (РФ). Генотипирование проводилось методом полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени» посредством термоциклирующей системы Rotor Gene Q5 plex HRM (Qiagen, Германия) в соответствии с протоколами реакции фирм производителей к указанному полиморфизму.

Для статистического анализа данных применяли непараметрические методы с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel и Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США). Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей между различными группами пациентов проводился с использованием точного критерия Фишера. Сравнение групп по качественному бинарному признаку проводили с помощью критерия $\chi^2$. Различия между двумя независимыми группами по количественным признакам оценивались с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Различия считались достоверными при значении $p < 0,05$.

## Результаты и их обсуждение

Распределение частот генотипов в исследуемой выборке детей соответствовало закону Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 0,12$; $p = 0,7$), что указывает на популяционное равновесие по данному полиморфному варианту и отсутствие влияния факторов микроэволюции.

Результаты анализа распределения частот генотипов и аллелей полиморфизма G894T гена NOS3 в выборке детей Гродненской области ($n = 90$) показал, что наиболее распространенным (в 55,5 % случаев) был гомозиготный генотип GG. Гетерозиготный генотип GT встречался почти у каждого третьего ребенка (38,9 %). Небольшая часть детей (5,6 %) оказалась носителями мутантного гомозиготного генотипа TT. Установлено, что генотип GG, в отличие от генотипа TT, встречался чаще ($\chi^2 = 53,0$, $p < 0,001$). Носителями аллели G являлись 75,0 % детей, аллели T – 25,0 % ($p < 0,001$) (таблица 2).

Таблица 2 – Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма G894T гена NOS3 у обследуемых детей

Table 2 – Genotypes and allele frequencies of the G894T polymorphism of the NOS3 gene in examined children

| Полиморфизм | Генотип / аллель | Частота генотипов, абс. (%) |
|---|---|---|
| G894T (rs1799983) | GG | 50 (55,5) |
| | GT | 35 (38,9) |
| | TT | 5 (5,6) |
| | G | 135 (75,0) |
| | T | 45 (25,0) |

Для оценки частоты встречаемости потенциально неблагоприятных генотипов и аллелей полиморфизма G894T гена NOS3, рассматриваемых как фактор риска развития АГ, пациенты были распределены по группам в зависимости от нозологической принадлежности (таблица 3). Кроме того, для изучения влияния этих полиморфных локусов применялся статистический анализ по доминантному и рецессивному типам наследования.

Таблица 3 – Распределение генотипов и аллелей полиморфизма G894T гена NOS3 в зависимости от нозологической принадлежности

Table 3 – Genotypes and allele frequencies of the G894T polymorphism of the NOS3 gene depending on the nosological distribution

| Генотип / аллель, модель наследования | Группа 1 ($n = 39$) | | Группа 2 ($n = 22$) | | Группа 3 ($n = 29$) | | $p$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | абс. | % | абс. | % | абс. | % | |
| GG | 20 | 51,3 | 13 | 59,1 | 17 | 58,6 | >0,05 |
| GT | 16 | 41,0 | 7 | 31,8 | 12 | 41,4 | |
| TT | 3 | 7,7 | 2 | 9,1 | 0 | 0,0 | |
| Аллель G | 56 | 71,8 | 33 | 75,0 | 46 | 79,3 | |
| Аллель T | 22 | 28,2 | 11 | 25,0 | 12 | 20,7 | |
| GG/GTр | 36 | 92,3 | 20 | 90,9 | 29 | 100,0 | |
| TT | 3 | 7,7 | 2 | 9,1 | 0 | 0,0 | |
| GGд | 20 | 51,3 | 13 | 59,1 | 17 | 58,6 | |
| GT/TT | 19 | 48,7 | 9 | 40,9 | 12 | 41,4 | |

Согласно данным, представленным в таблице 3, значимых различий в распределении генотипов и частотных характеристиках между группой детей с АГ, с ВНАД и группой сравнения выявлено

не было ($p > 0,05$). Тем не менее, была отмечена не достигшая статистической значимости тенденция к более высокой частоте встречаемости патологического генотипа TT в группах детей с АГ и ВНАД по сравнению с группой 3. По мнению авторов, отсутствие статистически достоверных различий, вероятно, связано с небольшим размером исследуемой выборки.

При анализе распределения частот генотипов и аллелей между пациентами внутри каждой группы установили достоверное преобладание генотипа GG по сравнению с генотипом TT ($\chi^2 = 18,6$, $p < 0,001$), аллели G по сравнению с аллелью T ($\chi^2 = 29,6$, $p < 0,001$) в группе 1. В группе 2 – гомозиготного генотипа GG ($\chi^2 = 12,2$, $p < 0,001$), аллели G ($\chi^2 = 22,0$, $p < 0,001$). В группе сравнения наиболее часто выявлялись генотип GG ($\chi^2 = 24,1$, $p < 0,001$) и аллель G ($\chi^2 = 39,9$, $p < 0,001$).

Учитывая распространенность генотипов и аллелей полиморфизма G894T гена NOS3 среди обследуемых детей, был проведен расчет относительного риска развития АГ. Показали, что наличие генотипа TT полиморфизма G894T гена NOS3 повышает риск развития АГ в 1,8 раза (95% ДИ 1,45–2,24), в то же время, присутствие рецессивного варианта модели GG/GT против TT в генотипе – оказывает протективный эффект и снижает вероятность развития АГ (ОР = 0,55; 95% ДИ 0,44–0,68).

Множество научных публикаций рассматривают связь между полиморфизмом G894T гена NOS3 и вероятностью развития АГ. Однако полученные в различных исследованиях результаты оказались неоднозначными и противоречивыми. В исследовании A. B. L. Neto и соавт. было продемонстрировано, что гомозиготный генотип TT полиморфизма G894T гена NOS3 значительно чаще выявлялся у пациентов с АГ по сравнению с группой здоровых людей [14]. Среди европейской популяции у пациентов, являющихся носителями патологического генотипа TT, наблюдается повышение риска развития АГ в 2,04 раза (ОР = 2,04; 95% ДИ 1,24–3,37) [15]. Мета-анализ J. Shi и соавт. также подтвердил наличие связи между полиморфизмом G894T гена NOS3 и риском развития АГ [16]. В то же время, исследования J. Śladowska-Kozłowska и соавт. [17] и G. K. Salman и соавт. [18] не установили взаимосвязи между полиморфизмом G894T гена NOS3 и развитием АГ.

## Заключение

Определены особенности распределения частот генотипов и аллелей полиморфного варианта G894T гена NOS3 у детей с АГ и ВНАД, а также у здоровых детей, проживающих на территории Гродненского региона.

Установлено статистически значимое преобладание гомозиготного генотипа GG и аллели G полиморфизма G894T гена NOS3 среди обследованных групп детей.

Носительство патологического генотипа TT полиморфизма G894T гена NOS3 ассоциировано с повышенным риском развития АГ (ОР = 1,8; 95% ДИ 1,45–2,24).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список цитированных источников

1. Hypertension in children and adolescents / G. de Simone, C. Mancusi, H. Hanssen [et al.] // Europ. Heart J. – 2022. – Vol. 43, № 35. – P. 3290–3301.
2. Mensah, G. A. The Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors: 2020 and Beyond / G. A. Mensah, G. A. Roth, V. Fuster // J Am Coll Cardiol. – 2019. – Vol. 74, № 20. – P. 2529–2532. doi:10.1016/j.jacc.2019.10.009
3. GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. Lancet. – 2020. – Vol. 396, № 10258. – P. 1204–1222. doi:10.1016/S0140-6736(20)30925-9
4. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990-2019: Update From the GBD 2019 Study / G. A. Roth, G. A. Mensah, C. O. Johnson [et al.] // J Am Coll Cardiol. – 2020. – Vol. 76, № 25. – P. 2982–3021. doi:10.1016/j.jacc.2020.11.010
5. Amini, M. Trend analysis of cardiovascular disease mortality, incidence, and mortality-to-incidence ratio: results from global burden of disease study 2017 / M. Amini, F. Zayeri, M. Salehi // BMC Public Health. – 2021. – Vol. 21, № 1. – P. 401. doi:10.1186/s12889-021-10429-0
6. Global Prevalence of Hypertension in Children: A Systematic Review and Meta-analysis / P. Song, Y. Zhang, J. Yu [et al.] // JAMA Pediatr. – 2019/ – Vol. 173, № 12. – P. 1154–1163. doi:10.1001/jamapediatrics.2019.3310
7. Childhood Hypertension: A Retrospective Analysis of Causes, Treatments, and Complications / M. S. Al Riyami, A. Al Shuaibi, S. Al Jardani [et al.] // Children (Basel). – 2024. – Vol. 11, № 10. – P. 1234. doi:10.3390/children11101234
8. 2016 European Society of Hypertension guidelines for the management of high blood pressure in children and adolescents / E. Lurbe, E. Agabiti-Rosei, J. K. Cruickshank [et al.] // J Hypertens. – 2016. – Vol. 34, № 10. – P. 1887–1920. doi:10.1097/HJH.0000000000001039
9. Epidemiological characteristics of elevated blood pressure among middle and high school students aged 12-17 years: a cross-sectional study in Jiangsu Province, China, 2017-2018 / X. Zhang, J. Yang, Y. Wang [et al.] // BMJ Open. – 2019. – Vol. 9, № 8. e027215. doi:10.1136/bmjopen-2018-027215
10. Zaidi, A. H. Prevalence of High Blood Pressure Among Youth in India and Association With Future Cardiovascular Disease / A. H. Zaidi, S. D. de Ferranti // JAMA Netw Open. – 2022. – Vol. 5, № 10. e2239290. doi:10.1001/jamanetworkopen.2022.39290
11. Genetic analysis of over 1 million people identifies 535 new loci associated with blood pressure traits / E. Evangelou, H. R. Warren, D. Mosen-Ansorena [et al.] // Nat Genet. – 2018. – Vol. 50, № 10. – P. 1412–1425. doi:10.1038/s41588-018-0205-x

12. Wang, Y. Genome-Wide Association Studies of Hypertension and Several Other Cardiovascular Diseases / Y. Wang, J. G. Wang // Pulse (Basel). – 2019. – Vol. 6, № 3–4. – P. 169–186. doi:10.1159/000496150
13. Роль мультиомиксных технологий и генетического анализа в диагностике и прогнозировании сердечно-сосудистых заболеваний / Е. И. Усова, А. С. Алиева, А. Н. Яковлев, [и др.] // Российский журнал персонализированной медицины. – 2022. – Т. 2, № 2. – С. 6–16.
14. Prevalence of endothelial nitric oxide synthase (ENOS) gene G894T polymorphism and its association with hypertension: a population-based study with Brazilian women / A. B. L. Neto, M. C. O. Farias, N. B. R. Vasconcelos [et al.] // Arch Med Sci Atheroscler Dis. – 2019. – № 4. – P. 63–73. doi:10.5114/amsad.2019.84539
15. Target sequencing, cell experiments, and a population study establish endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene as hypertension susceptibility gene / E. Salvi, T. Kuznetsova, L. Thijs [et al.] // Hypertension. – 2013. – Vol. 62, № 5. – P. 844–852. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA. 113.01428
16. Association between eNOS rs1799983 polymorphism and hypertension: a meta-analysis involving 14,185 cases and 13,407 controls / J. Shi, S. Liu, Y. Guo [et al.] // BMC Cardiovasc Disord. – 2021. – Vol. 21, № 1. – P. 385. doi:10.1186/s12872-021-02192-2
17. Associations of the eNOS G894T gene polymorphism with target organ damage in children with newly diagnosed primary hypertension / J. Śladowska-Kozłowska, M. Litwin, A. Niemirska [et al.] // Pediatr Nephrol. – 2015. – Vol. 30, № 12. – P. 2189–2197. doi:10.1007/s00467-015-3164-9
18. Association between rs1799983 polymorphism of eNOS gene and essential hypertension in Iraqi hypertensive patients / G. K. Salman, B. I. Mohammad, H. A. Saheb [et al.] // Wiad Lek. – 2024. – Vol. 77, № 7. – P. 1470–1475. doi:10.36740/WLek202407123

## References

1 de Simone G, Mancusi C, Hanssen H, Genovesi S, Lurbe E, Parati G, Sendzikaite S, Valerio G, Bonito PD, Salvo GD, Ferrini M, Leeson P, Moons P, Weismann CG, Williams B. Hypertension in children and adolescents. *Eur Heart J*. 2022;43(35):3290-3301. doi:10.1093/eurheartj/ehac328
2 Mensah GA, Roth GA, Fuster V. The Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors: 2020 and Beyond. *J Am Coll Cardiol*. 2019;74(20):2529-2532. doi:10.1016/j.jacc.2019.10.009
3 GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 2020;396(10258):1204-1222. doi:10.1016/S0140-6736(20)30925-9
4 Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, Addolorato G, Ammirati E, Baddour LM, Barengo NC, Beaton AZ, Benjamin EJ, Benziger CP, Bonny A, Brauer M, Brodmann M, Cahill TJ, Carapetis J, Catapano AL, Chugh SS, Cooper LT, Coresh J, Criqui M, DeCleene N, Eagle KA, Emmons-Bell S, Feigin VL, Fernández-Solà J, Fowkes G, Gakidou E, Grundy SM, He FJ, Howard G, Hu F, Inker L, Karthikeyan G, Kassebaum N, Koroshetz W, Lavie C, Lloyd-Jones D, Lu HS, Mirijello A, Temesgen AM, Mokdad A, Moran AE, Muntner P, Narula J, Neal B, Ntsekhe M, de Oliveira GM, Otto C, Owolabi M, Pratt M, Rajagopalan S, Reitsma M, Ribeiro ALP, Rigotti N, Rodgers A, Sable C, Shakil S, Sliwa-Hahnle K, Stark B, Sundström J, Timpel P, Tleyjeh IM, Valgimigli M, Vos T, Whelton PK, Yacoub M, Zuhlke L, Murray C, Fuster V. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990-2019: Update From the GBD 2019 Study. *J Am Coll Cardiol*. 2020;76(25):2982-3021. doi:10.1016/j.jacc.2020.11.010
5 Amini M, Zayeri F, Salehi M. Trend analysis of cardiovascular disease mortality, incidence, and mortality-to-incidence ratio: results from global burden of disease study 2017. *BMC Public Health*. 2021;21(1):401. doi:10.1186/s12889-021-10429-0
6 Song P, Zhang Y, Yu J, Zha M, Zhu Y, Rahimi K, Rudan I. Global Prevalence of Hypertension in Children: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Pediatr*. 2019;173(12):1154-1163. doi:10.1001/jamapediatrics.2019.3310
7 Al Riyami MS, Al Shuaibi A, Al Jardani S, Asma Elfar 1, Al Anisa M, Al Badria G, Al Sulaiman S, Al Kalbani N. Childhood Hypertension: A Retrospective Analysis of Causes, Treatments, and Complications. *Children (Basel)*. 2024;11(10):1234. doi:10.3390/children11101234
8 Lurbe E, Agabiti-Rosei E, Cruickshank JK. 2016 European Society of Hypertension guidelines for the management of high blood pressure in children and adolescents. *J Hypertens*. 2016;34(10):1887-1920. doi:10.1097/HJH.0000000000001039
9 Zhang X, Yang J, Wang Y, Liu W, Yang W, Gao L, Schwertz R, Welker A, Zhang F, Zhou Y. Epidemiological characteristics of elevated blood pressure among middle and high school students aged 12-17 years: a cross-sectional study in Jiangsu Province, China, 2017-2018. *BMJ Open*. 2019;9(8):e027215. doi:10.1136/bmjopen-2018-027215
10 Zaidi AH, de Ferranti SD. Prevalence of High Blood Pressure Among Youth in India and Association With Future Cardiovascular Disease. *JAMA Netw Open*. 2022;5(10):e2239290. doi:10.1001/jamanetworkopen.2022.39290
11 Evangelou E, Warren HR, Mosen-Ansorena D. Genetic analysis of over 1 million people identifies 535 new loci associated with blood pressure traits. *Nat Genet*. 2018;50(10):1412-1425. doi:10.1038/s41588-018-0205-x
12 Wang Y, Wang JG. Genome-Wide Association Studies of Hypertension and Several Other Cardiovascular Diseases. *Pulse (Basel)*. 2019;6(3-4):169-186. doi:10.1159/000496150
13 Usova EI, Alieva AS, Yakovlev AN, Makarova TA, Alieva MS, Konradi AO, Catapano AL, Shlyakhto EV. The role of multi-omics technologies and genetic analysis in the diagnosis and prediction of cardiovascular diseases. *Russian Journal for Personalized Medicine*. 2022;2(2):6-16. (In Russian)
14 Neto ABL, Farias MCO, Vasconcelos NBR, Xavier AF Jr, Assunção ML, Ferreira HS. Prevalence of endothelial nitric oxide synthase (ENOS) gene G894T polymorphism and its association with hypertension: a population-based study with Brazilian women. *Arch Med Sci Atheroscler Dis*. 2019;4:e63-e73. doi:10.5114/amsad.2019.84539
15 Salvi E, Kuznetsova T, Thijs L, Lupoli S, Stolarz-Skrzypek K, D'Avila F, Tikhonoff V, De Astis S, Barcella M, Seidlerová J, Benaglio P, Malyutina S, Frau F, Velayutham D, Benfante R, Zagato L, Title A, Braga D, Marek D, Kawecka-Jaszcz K, Casiglia E, Filipovsky J, Nikitin Y, Rivolta C, Manunta P, Beckmann JS, Barlassina C, Cusi D, Staessen JA. Target sequencing, cell experiments, and a population study establish endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene as hypertension susceptibility gene. *Hypertension*. 2013;62(5):844-852. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA. 113.01428
16 Shi J, Liu S, Guo Y, Liu S, Xu J, Pan L, Hu Y, Liu Y, Cheng Y. Association between eNOS rs1799983 polymorphism and hypertension: a meta-analysis involving 14,185 cases and 13,407 controls. *BMC Cardiovasc Disord*. 2021;21(1):385. Published 2021 Aug 9. doi:10.1186/s12872-021-02192-2

17 Śladowska-Kozłowska J, Litwin M, Niemirska A, Wierzbicka A, Roszczynko M, Szperl M. Associations of the eNOS G894T gene polymorphism with target organ damage in children with newly diagnosed primary hypertension. *Pediatr Nephrol*. 2015;30(12):2189-2197. doi:10.1007/s00467-015-3164-9

18 Salman GK, Mohammad BI, Saheb HA, Sultan AM, Kadhim SAA, Swadi AA. Association between rs1799983 polymorphism of eNOS gene and essential hypertension in Iraqi hypertensive patients. *Wiad Lek*. 2024;77(7):1470-1475. doi:10.36740/WLek202407123

# GENETIC DETERMINATION OF ARTERIAL HYPERTENSION IN CHILDREN: ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE G894T (RS1799983) GENE POLYMORPHISM

*A. V. Luksha[1], V. U. Harchakova[2]*

*[1]Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus*

*[2]Grodno Regional Clinical Perinatal Center, Grodno, Republic of Belarus*

**Background.** One of the priority areas of modern hypertensiology is the study of the molecular and genetic basis for the development of AH. The expansion of understanding of «predisposition genes» will make it possible to identify hereditary tendencies for the development of AH, which in the future can improve the diagnosis, prevention, and treatment of this disease.

**Objective.** To estimate the frequency of occurrence of genotypes and alleles of the G894T (rs1799983) polymorphism of the NOS3 gene in children with AH, HNBP and healthy children living in the Grodno region.

**Materials and methods**. 90 children aged 14 to 18 years were examined (median age – 15.2 years). All patients were divided into 3 groups: group 1 ($n$ = 39) – children with AH, group 2 ($n$ = 22) – with HNBP and group 3 – 29 healthy children. Genotyping of the G894T (rs1799983) polymorphism of the NOS3 gene was perfomed on genomic DNA extracted from blood samples of 90 children.

**Results**. The results of the analysis of the genotype and allele frequency distribution of for the G894T polymorphism of the NOS3 gene in a sample of children from the Grodno region ($n$ = 90) showed that the most common is the homozygous genotype GG (in 55.5% of cases). Carriage of the TT genotype of the G894T polymorphism of the NOS3 gene is associated with an increased risk of developing AH in children (OR = 1.8; 95% CI, 1.45–2.24).

**Conclusions.** Among children in the Grodno region, the GG genotype and the G-allele of the G894T polymorphism of the NOS3 gene were significantly more frequently detected. The risk of developing AH was increased by 1.8 times (OR = 1.8; 95% CI, 1.45–2.24) in carriers of the TT genotype of the G894T polymorphism of the NOS3 gene.

**Keywords**: polymorphism, G894T (rs1799983), prediction, arterial hypertension, children.

**For citation:** Luksha AV, Harchakova VU. Genetic determination of arterial hypertension in children: endothelial nitric oxide synthase G894T (rs1799983) gene polymorphism. *Biochemistry and molecular biology.* 2026, vol. 5, no. 1(8). pp. 83–88. (in Russian)

*Поступила 12.03.2026*

УДК 577.158

# КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ MODY С ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫМИ МУТАЦИЯМИ У ДЕТЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

*Д. Н. Велеменчук, А. В. Солнцева, Т. В. Савицкая*

*Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, г. Минск, Республика Беларусь*

**Введение.** Диабет зрелого возраста у молодых MODY (maturity onset diabetes of the young) является клинически и генетически гетерогенной формой моногенного сахарного диабета (СД), обусловленной дефектами β-клеток поджелудочной железы. При помощи молекулярно-генетической диагностики (МГД) методом секвенирования по Сэнгеру возможно верифицировать подтип MODY, диагностировать неописанные ранее в научной литературе генетические варианты, а также установить случаи с дигенным и олигогенным наследованием данной патологии.

**Цель исследования.** Определить генетические и клинические особенности пациентов детского возраста с MODY, оценить распространенность его подтипов и констатировать новые генетические варианты заболевания.

**Материалы и методы.** В ходе исследования 45 пациентам детского возраста с фенотипом MODY был проведен молекулярно-генетический анализ (МГА) методом секвенирования по Сэнгеру с определением мутаций в генах-кандидатах MODY: *GCK* (10 экзонов), *HNF1A* (10 экзонов), *HNF4A* (10 экзонов), *HNF1B* (10 экзонов).

**Результаты.** Диагноз GCK-MODY верифицирован у 29 (55,2 %) обследованных пациентов, выявлены замены с неопределенным клиническим значением и проведен их биоинформационный анализ у 3 (6,6 %) пробандов. Впервые выявленные генетические варианты описаны у 3 (6,6 %) детей, проанализирована их взаимосвязь с клиническими проявлениями MODY, в том числе у пациента с дигенным характером данного заболевания.

**Заключение.** Настоящее исследование демонстрирует необходимость молекулярно-генетической диагностики генов-кандидатов MODY у пациентов с СД неопределенного типа.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, MODY, секвенирование по Сэнгеру, мутации, дети.

**Для цитирования:** Велеменчук, Д. Н. Клинико-лабораторные характеристики MODY с впервые выявленными мутациями у детей в Республике Беларусь / Д. Н. Велеменчук, А. В. Солнцева, Т. В. Савицкая // Биохимия и молекулярная биология. – 2026. – Т. 5, № 1(8). – С. 89–94.

## Введение

Диабет зрелого возраста у молодых MODY (maturity onset diabetes of the young) является клинически и генетически гетерогенной формой моногенного сахарного диабета (СД), обусловленной дефектами β-клеток поджелудочной железы. Данное заболевание манифестирует обычно в возрасте до 25 лет и имеет аутосомно-доминантный тип наследования [8]. MODY является наиболее распространенным вариантом моногенного диабета и составляет 2 % от всех случаев СД в Европе [10].

В настоящее время известно 16 подтипов MODY, название которых ранее соответствовало порядковому номеру открытия генов-кандидатов. В данный момент классификация базируется на названии гена, мутации в котором ассоциированы с развитием патологии. Наиболее распространенными подтипами являются GCK-MODY (*GCK – Glucokinase* – глюкокиназа), HNF1A-MODY (*HNF1A – hepatocyte nuclear factor 1-alpha* – ядерный фактор гепатоцитов 1-альфа), HNF4A-MODY *(HNF4A – hepatocyte nuclear factor 4 alpha* – ядерный фактор гепатоцитов 4-альфа), HNF1B-MODY (*HNF1B – Hepatocyte nuclear factor-1 beta* – ядерный фактор гепатоцитов 1-бета), на долю которых приходится до 90 % всех случаев заболевания [6, 11].

MODY является диагнозом исключения, поэтому при дифференциальной диагностике важное значение имеет:

отягощенный семейный анамнез по СД любого типа;

отсутствие антител к компонентам *β*-клеток поджелудочной железы;

сохранность секреции эндогенного инсулина (уровень С-пептида в пределах референсных значений);

отсутствие клинических признаков инсулинорезистентности (ожирения, черного акантоза, повышения уровня триглицеридов).

Диагноз MODY подтверждается только при помощи молекулярно-генетической диагностики (МГД) [2,10].

Из-за различных механизмов в патогенезе моногенного СД, клинические проявления различных подтипов MODY вариабельны. Легкая гипергликемия с незначительным повышением гликированного гемоглобина и редкое развитие осложнений характерна для GCK-MODY, при котором гетерозиготные однонуклеотидные замены в гене *GCK* приводят к снижению активности фермента глюкокиназы и уменьшению чувствительности *β*-клеток к глюкозе. В данном случае большинству пациентов не требуется фармакотерапия, достаточно соблюдения рекомендаций по диете.

При HNF1A-MODY происходит нарушение функции *β*-клеток, что является причиной уменьшения секреции инсулина [9]. На ранней стадии развития заболевания характерна глюкозурия при нормогликемии. Это связано со снижением почечного порога для глюкозы у пациентов с мутациями в гене *HNF1A* из-за экспрессии этого фактора транскрипции в почках [5]. Клинические проявления варьируют от легкой гипергликемии до декомпенсации углеводного обмена даже у родственников, имеющих одинаковую мутацию. В связи с этим пациентам с данным вариантом моногенного диабета ошибочно выставляют диагноз СД 1 типа. В этом случае необходимо учитывать, что развитие кетоацидоза для данного типа не характерно. Пациенты подвержены риску развития микро-и макрососудистых осложнений. Кроме диетотерапии, при лечении лиц с HNF1A-MODY эффективны препараты сульфонилмочевины (гликлазид, глибенкламид). Инсулинотерапия (ИТ) показана при прогрессировании заболевания [3].

Гетерозиготные мутации в гене *HNF4A*, являются причиной дисфункции β-клеток и снижения секреции инсулина. Кроме этого, ядерный фактор *HNF4A* участвует в глюконеогенезе и регулирует гены, ответственные за синтез жирных кислот и липидного обмена, мутации в которых могут приводить к атерогенной дислипидемии [4]. Для пациентов с HNF4A-MODY манифестация заболевания характерна в подростковом возрасте, с постепенным прогрессирующим развитием гипергликемии, вплоть до декомпенсации с сосудистыми осложнениями (ретино- и нефропатии). Лечение данного подтипа MODY заключается в диетотерапии и применении низких доз препаратов сульфонилмочевины. При прогрессировании заболевания показана ИТ [7].

Клиническая картина HNF1B-MODY не соответствует другим подтипам MODY, имеющим более легкую форму течения СД. При данном заболевании из-за мутаций в гене *HNF1B* наблюдается сочетание резистентности печени к инсулину с дефицитом его секреции, что приводит к выраженной фенотипической гетерогенности. Снижение функции β-клеток происходит достаточно быстро, в связи с этим развивается диабетический кетоацидоз, декомпенсация углеводного обмена. Кроме того, у пациентов с данным подтипом моногенного СД диагностируются аномалии почек, половых органов, бесплодие у мужчин. Из-за прогрессирующего снижения секреции инсулина большинству пациентам со временем требуется инсулинотерапия [1].

Подтверждение диагноза при помощи МГД позволяет верифицировать подтип MODY, выбирать индивидуальную стратегию прецизионного лечения, избегать необоснованного назначения ИТ, прогнозировать течение заболевания и его осложнений, а также проводить генетическое консультирование родственников пробанда [8].

**Цель исследования.** Определить генетические и клинические особенности пациентов детского возраста с MODY, оценить распространенность его подтипов и констатировать новые генетические варианты заболевания.

## Материалы и методы

В ходе исследования 45 пациентам детского возраста с фенотипом MODY был проведен молекулярно-генетический анализ (МГА) методом секвенирования по Сэнгеру с определением мутаций в генах-кандидатах MODY: *GCK* (10 экзонов), *HNF1A* (10 экзонов), *HNF4A* (10 экзонов), *HNF1B* (10 экзонов) в клинико-диагностической лаборатории РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии. Законные представители всех обследуемых пациентов дали согласие на проведение МГА.

Геномная ДНК была выделена из лейкоцитарных клеток периферической крови, содержащей антикоагулянт К2ЭДТА с помощью фенольно-хлороформной экстракции. С ПЦР амплифицированными последовательностями экзонов, после очистки, проведена реакция терминирования элонгации с использованием Big Dye Terminator Cycle Sequencing kits V3.1 Applied Biosystems, USA. Продукт реакции после очистки спиртами и денатурации был проанализирован при помощи капиллярного электрофореза (ABI 3500 Applied Biosystems, USA). Биоинформационный анализ результатов электрофореза проведен с помощью программного обеспечения Sequencing Analysis 7.0 (Applied Biosystems, США) и BioEdit. Для определения клинического значения, выявленных генетических вариантов (доброкачественный, вероятно доброкачественный, патогенный, вероятно патогенный, замена с неопределенным клиническим значени-

ем) были использованы базы данных NCBI, Ensembl, VarSome, ClinVar. Для анализа значимости впервые выявленных, неописанных ранее в литературе, однонуклеотидных гетерозиготных замен в последовательности ДНК применялся браузер для анализа генетических вариантов Ensembl Variant Effect Predictor (VEP). Данный браузер включает результаты предсказаний патогенности выявленной замены при помощи инструментов SIFT и PolyPhen. Числовая оценка характера замены при помощи предиктора патогенности PolyPhen имеет диапазон от 0.0 (доброкачественный) до 1.0 (патогенный). Оценка прогноза инструмента SIFT варьирует от 0 до 1 и предполагает патогенный характер замены при значении ниже 0.05.

Статистический анализ проведен с помощью компьютерной программы Statistika 8.0 для Windows (StatSoft, Inc., США). Для анализа полученных данных использовались методы непараметрической статистики. Рассчитывались медиана и интерквартильный размах (Me [25; 75 перцентиль]).

## Результаты и их обсуждение

Возраст пациентов, направленных на МГА составил от 1 до 18 лет (Me–13,0 [10,0;15,0]). Среди обследованных было 29 (64,4 %) мальчиков и 16 (35,6 %) девочек.

Патогенные и вероятно патогенные мутации были выявлены у 29 (55,2 %) обследованных пациентов в гене глюкокиназы, что позволило верифицировать диагноз GCK-MODY, из них 16 (55,2 %) пробандов были мужского пола, 13 (44,8 %) женского. Все определенные однонуклеотидные гетерозиготные генетические варианты в гене *GCK* являются миссенс-мутациями, которые приводят к аминокислотной замене и изменению полипептидной цепи кодируемого этим геном белка. Кроме этого, у одного обследованного мальчика 6 лет была диагностирована нонсенс-мутация в 5 экзоне гена *GCK* ((NM_000162.5):c.521C>A p.(Ser174Ter)), патогенность которой не описана в доступных на территории Республики Беларусь базах данных. В данном случае вместо кодона кодирующего аминокислоту серин образуется стоп-кодон терминирующий синтез белка.

У 3 (6,6 %) обследованных пациентов зарегистрированы гетерозиготные однонуклеотидные замены в гене *HNF1A* с неопределенным клиническим значением. В результате проведенного анализа с помощью геномного браузера VEP определен доброкачественный характер замен rs561269721 ((NM_000545.8):c.4A>G) в 1 экзоне и rs55834942 ((NM_000545.8):c.1545G>A p.(Thr515=)) в 8 экзоне гена *HNF1A*. Однако, генетический вариант rs539507291 ((NM_000545.8):c.862G>T p.(Gly288Trp)) в 4 экзоне гена *HNF1A* соответствует критериям патогенности, а именно: SIFT – 0.0; PolyPhen – 0.988 и относится к миссенс варианту. В этом случае происходит замена аминокислоты глицин на аминокислоту триптофан.

Неописанные ранее в научной литературе генетические варианты, диагностированные у 3 (6,6%) обследованных детей, представлены в таблице.

Таблица – Характеристика впервые выявленных генетических вариантов MODY

Table – Characterization of newly identified genetic variants of MODY

| Пробанд, № | Пол | Возраст на момент МГИ | Ген, экзон | Генетический вариант, зиготность | Тип мутации | Значение (SIFT, PolyPhen) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 брат | м | 15 | GCK 8 | GCK(NM_000162.5):c.1013T>A p.(Val338Glu) гетерозигота | миссенс | 0.0; 0.905 |
| 2 сестра | ж | 12 | GCK 8 | GCK(NM_000162.5):c.1013T>A p.(Val338Glu) гетерозигота | миссенс | 0.0; 0.905 |
| 3 | м | 18 | GCK 10 | GCK(NM_000162.5):c.1337G>A p.(Gly446Asp) гетерозигота | миссенс | 0.0; 1.0 |

Согласно данным, представленным в таблице, неописанный ранее генетический вариант GCK(NM_000162.5):c.1013T>A p.(Val338Glu) был диагностирован у родных брата и сестры с отягощенным семейным анамнезом по линии отца (СД 2 типа у отца и бабушки). Клинические данные пациентов приведены ниже.

**1. Мальчик С., 2008 г.р. (брат)**

Ребенок родился в срок с массой тела 3150 г, рос и развивался соответственно возрасту. В январе 2022 года у ребенка была зарегистрирована гипергликемия натощак. На основании данных глюкозотолерантного теста ((глюкоза натощак – 6,9 ммоль/л (норма 3,3–5,5 ммоль/л), через

2 часа – 10,5 ммоль/л (норма до 7,8 ммоль/л)) был выставлен диагноз «нарушение толерантности к глюкозе». При обследовании в июле 2022 г. в стационаре г. Гомеля были проведены следующие лабораторные исследования: антитела к GAD (*Glutamic acid decarboxylase* – глютаматдекарбоксилаза) – 0,52 МЕ/мл (норма<1,0 МЕ/мл), антитела к ICA (*Islet Cell Antibodies* – антитела к островковым клеткам поджелудочной железы) – 0,45 МЕ/мл (норма<0,95 МЕ/мл), HbA1 (*Glycated hemoglobin* – гликированный гемоглобин) – 5,8 % (норма 4,0–6,0 %), С-пептид – 7,0 нг/мл (норма 0,78–5,19 нг/мл), инсулин – 1,23 мкМЕ/мл (норма 3,0–20,0 мкМЕ/мл). Глюкоза и кетоны в моче отсутствовали. В январе того же года уровень С-пептида составил 1,96 нг/мл, инсулина натощак 8,3 мкМЕ/мл, через 2 часа после еды 9,7 мкМЕ/мл, HbA1 – 6,5%.

В апреле 2023 года ребенок был направлен в РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии для проведения молекулярно-генетической диагностики MODY, по результатам которой в 8 экзоне гена *GCK* выявлена гетерозиготная однонуклеотидная замена GCK(NM_000162.5):c.1013T>A p.(Val338Glu). Информация о данном генетическом варианте отсутствует в базах данных и не описана в научной литературе. Вероятность патогенности выявленной замены мы оценивали с помощью браузера для анализа генетических вариантов VEP. Замена соответствует критерию патогенности (SIFT – 0.0; PolyPhen – 0.905) и может являться причиной развития GCK-MODY.

На протяжении 2023 года у мальчика показатели гликемии в плазме венозной крови натощак варьировали от 5,9 до 6,9 ммоль/л (норма 3,9–6,0 ммоль/л), уровень HbA1 до 6,5%. С октября 2023 г., кроме соблюдений рекомендаций по питанию, ребенку был назначен препарат сульфонилмочевины (гликвидон 30 мг по ¼ таблетки 1 раз в сутки). В последующие годы показатели углеводного обмена соответствовали метаболической компенсации заболевания: HbA1c в пределах 5,4–6,1 %, гликемия натощак в венозной крови 5,2–6,7 ммоль/л.

**2. Девочка Д., 2011 г.р. (сестра)**

Ребенок родился в срок с массой тела 2730 г, развивался соответственно возрасту. Одновременно с братом при прохождении планового обследования в январе 2022 года выявлено повышение гликемии натощак до 6,0 ммоль/л, был выставлен диагноз СД неуточненного типа. Гликемия в течении суток достигала до 8,9 ммоль/л, натощак варьировала от 5,6 до 7,1 ммоль/л, уровень HbA1 соответствовал 6,0–6,7 %. При этом значения инсулина, С-пептида, антител к ICA, GAD соответствовали референсным значениям.

В октябре 2023 года выполнено молекулярно-генетическое исследование генов-кандидатов MODY методом секвенирования по Сэнгеру. Нами была выявлена гетерозиготная замена в 8 экзоне гена *GCK*, как и у брата пробанда.

В настоящее время девочке рекомендована диета и прием препарата сульфонилмочевины (гликвидон 30 мг по ¼ таблетки 1 раз в сутки). Уровень HbA1 соответствует 5,9–6,4 %, гликемия натощак в венозной крови варьирует от 5,8 до 6,6 ммоль/л.

Клинические данные брата и сестры соответствуют картине GCK-MODY.

В качестве примера MODY с дигенным характером наследования приводим клинический случай пациента, проходившего МГД в рамках нашего исследования. Подобные варианты моногенного диабета представляют большой интерес в изучении генотипа и фенотипа данного заболевания.

**3. Мальчик Р., 2009 г.р.**

В нашей практике проведенная МГД в ноябре 2021 года мальчику 12 лет с СД неуточненного типа в стадии компенсации и отягощенной наследственностью (у матери нарушение углеводного обмена: гликемия натощак 6,4–7,2 ммоль/л, HbA1 – 6,3 %) позволила диагностировать MODY с гетерозиготными заменами в разных генах. В 5 экзоне гена *GCK* выявлена патогенная мутация rs587780345 ((GCK(NM_000162.5):c.544G>A p.(Val182Met)), а в 4 экзоне гена *HNF1A* замена с неопределенным клиническим значением rs539507291 ((HNF1A(NM_000545.8):c.862G>T p.(Gly288Trp)), соответствующая критериям патогенности (SIFT – 0.0; PolyPhen – 0.988).

Спустя 4 года после верифицированного диагноза ребенок не получает медикаментозного лечения, соблюдает рекомендации по питанию. Уровень гликемии натощак в течении 2025 года варьировал от 6,8 до 7,4 ммоль/л (норма 3,3–5,5 ммоль/л), уровень инсулина и С-пептида находился в пределах референсных значений. Глюкозурия, характерная для HNF1A-MODY, на данный момент не регистрируется. Ребенок направлен к эндокринологу для назначения препаратов сульфонилмочевины.

Дальнейшее изучение подобных вариантов позволит лучше понять генетику, лежащую в основе данного заболевания, определить тактику лечения и проводить профилактику осложнений у данных пациентов.

## Заключение

Диагноз GCK-MODY верифицирован у 29 (55,2 %) обследованных пациентов, выявлены замены с неопределенным клиническим значением и проведен их биоинформационный анализ у 3 (6,6 %) пробандов. Впервые выявленные генетические варианты описаны у 3 (6,6 %) детей, проанализирована их взаимосвязь с клиническими проявлениями MODY, в том числе у пациента с дигенным характером данного заболевания.

Таким образом, настоящее исследование демонстрирует необходимость молекулярно-генетической диагностики генов-кандидатов MODY у пациентов с СД неопределенного типа с целью верификации диагноза.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список цитированных источников


1. Maturity-onset diabetes of the young secondary to HNF1B variants (HNF1B-MODY): a series of 10 patients from a single diabetes center / S. Amaral, A. Palha, P. Bogalho [et al.] // Diabetol Metab Syndr. – 2023. – Vol. 15, № 1. – P. 21.
2. Maturity-onset diabetes of the young (MODY): an update / A. Anık, G. Çatlı, A. Abacı [et al.] // J Pediatr Endocrinol Metab. – 2015. – Vol. 28, № 3–4. – P. 251–263.
3. Mutations in the genes encoding the transcription factors hepatocyte nuclear factor 1 alpha and 4 alpha in maturity-onset diabetes of the young and hyperinsulinemic hypoglycemia / K. Colclough, C. Bellanne-Chantelot, C. Saint-Martin [et al.] // Hum. Mutat. – 2013. – Vol. 34, № 5. – P. 669–685.
4. Delvecchio, M. Treatment Options for MODY Patients: A Systematic Review of Literature / M. Delvecchio, C. Pastore, P. Giordano // Diabetes Ther. – 2020. – Vol. 11. – P. 1667–1685.
5. Freitas, H. S. Na(+) -glucose transporter-2 messenger ribonucleic acid expression in kidney of diabetic rats correlates with glycemic levels: involvement of hepatocyte nuclear factor-1alpha expression and activity / H. S. Freitas, G. F. Anhê, K. F. Melo // Endocrinology. – 2008. – Vol. 149, № 2. – P. 717–724.
6. The Mutation Spectrum of Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY) – Associated Genes among Western Siberia Patients / D. Ivanoshchuk, E. Shakhtshneider, O. Rymar [et al.] // Journal of Personalized Medicine. – 2021. – Vol. 11, № 1. – P.57.
7. Nkonge, K. M. The epidemiology, molecular pathogenesis, diagnosis, and treatment of maturity-onset diabetes of the young (MODY) / K. M. Nkonge, D. K. Nkonge, T. N. Nkonge // Clin Diabetes Endocrinol. – 2020. – Vol. 6, № 1. – P. 20.
8. Revealing Monogenic Diabetes: Clinical and Genetic Features of Pediatric MODY Cases in Türkiye: Single Center Experience / A. Sanri, T. K. Cetin, E. G. Acikgoz [et al.] // Pediatr Diabetes. – 2025. – № 1. – P.13.
9. Valkovicova, T. Novel insights into genetics and clinics of the HNF1A-MODY / T. Valkovicova, M. Skopkova, J. Stanik [et al.] // Endocr Regul. – 2019. – Vol. 53, № 2. – P. 110–134.
10. «Двойной» сахарный диабет у членов одной семьи: обзор литературы и клинический случай / Н. В. Волкова, А. В. Солнцева, В. С. Гудыно [и др.] // Педиатрия. Восточная Европа. – 2019. – Т. 8, № 1. – С. 106–119.
11. Сахарный диабет: обновление классификации и особенности диагностики различных типов: учебно-методическое пособие / Т. В. Мохорт, А. П. Шепелькевич, Е. И. Шишко [и др.] / – Минск: БГМУ. – 2021. – С.31.


### References


1 Amaral S, Palha A, Bogalho P, Silva-Nunes J. Maturity-onset diabetes of the young secondary to HNF1B variants (HNF1B-MODY): a series of 10 patients from a single diabetes center. *Diabetol Metab Syndr*. 2023 Feb 15;15(1):21. doi: 10.1186/s13098-022-00964-0. PMID: 36793123; PMCID: PMC9930356.

2 Anık A, Çatlı G, Abacı A, Böber E. Maturity-onset diabetes of the young (MODY): an update. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2015 Mar;28(3-4):251-63. doi: 10.1515/jpem-2014-0384. PMID: 25581748.

3 Colclough K, Bellanne-Chantelot C, Saint-Martin C, Flanagan SE, Ellard S. Mutations in the genes encoding the transcription factors hepatocyte nuclear factor 1 alpha and 4 alpha in maturity-onset diabetes of the young and hyperinsulinemic hypoglycemia. *Hum Mutat*. 2013 May;34(5):669-85. doi: 10.1002/humu.22279. Epub 2013 Apr 2. PMID: 23348805.

4 Delvecchio M, Pastore C, Giordano P. Treatment Options for MODY Patients: A Systematic Review of Literature. *Diabetes Ther*. 2020 Aug;11(8):1667-1685. doi: 10.1007/s13300-020-00864-4. Epub 2020 Jun 24. PMID: 32583173; PMCID: PMC7376807.

5 Freitas HS, Anhê GF, Melo KF, Okamoto MM, Oliveira-Souza M, Bordin S, Machado UF. Na(+) -glucose transporter-2 messenger ribonucleic acid expression in kidney of diabetic rats correlates with glycemic levels: involvement of hepatocyte nuclear factor-1alpha expression and activity. *Endocrinology*. 2008 Feb;149(2):717-24. doi: 10.1210/en.2007-1088. Epub 2007 Oct 25. PMID: 17962340.

6 Ivanoshchuk DE, Shakhtshneider EV, Rymar OD, Ovsyannikova AK, Mikhailova SV, Fishman VS, Valeev ES, Orlov PS, Voevoda MI. The Mutation Spectrum of Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY)-Associated Genes among Western Siberia Patients. *J Pers Med*. 2021 Jan 18;11(1):57. doi: 10.3390/jpm11010057. PMID: 33477506; PMCID: PMC7831070.

7 Nkonge KM, Nkonge DK, Nkonge TN. The epidemiology, molecular pathogenesis, diagnosis, and treatment of maturity-onset diabetes of the young (MODY). *Clin Diabetes Endocrinol*. 2020 Nov 4;6(1):20. doi: 10.1186/s40842-020-00112-5. PMID: 33292863; PMCID: PMC7640483.

8 Sanri A, Cetin TK, Acikgoz EG, Mutlu MB, Sezer O. Revealing Monogenic Diabetes: Clinical and Genetic Features of Pediatric MODY Cases in Türkiye: Single Center Experience. *Pediatr Diabetes*. 2025 Dec 1;2025:4035026. doi: 10.1155/pedi/4035026. PMID: 41367630; PMCID: PMC12685419.

9 Valkovicova T, Skopkova M, Stanik J, Gasperikova D. Novel insights into genetics and clinics of the HNF1A-MODY. *Endocr Regul*. 2019 Apr 1;53(2):110-134. doi: 10.2478/enr-2019-0013. PMID: 31517624.

10 Volkava N, Solntsava A, Hudyna V, Puhauka T. “Double” Diabetes in Members of One Family: Clinical Case and Literature Review. *Pediatrics. Eastern Europe*. 2020; doi:10.34883/PI.2020.8.1.009. (in Russian).

11 Mokhort TV, Shepelkevich AP, Shishko EI, Mokhort EG, Dydyshko YV, Shishko ON, Karlovich NV, Mashkova MA. Diabetes mellitus: modification of classification and features of diseases of various types. Minsk. BSMU Publ., 2021, 31 p. (in Russian).

# CLINICAL AND LABORATORY CHARACTERISTICS OF MODY WITH NOVEL MUTATIONS IN PEDIATRIC PATIENTS IN THE REPUBLIC OF BELARUS

*D. N. Velemianchuk, A. V. Solntsava, T. V. Savitskaya*

*Republican Scientific and Practical Center of Children's Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Republic of Belarus*

**Background.** Maturity-onset diabetes of the young (MODY) is a clinically and genetically heterogeneous form of monogenic diabetes mellitus (DM) resulting from pancreatic β-cell defects. Molecular genetic diagnostics (MGD) using Sanger sequencing enables the verification of MODY subtypes, the identification of genetic variants not previously described in the scientific literature, and the detection of cases with digenic and oligogenic inheritance patterns of this pathology.

**Objective.** To determine the genetic and clinical characteristics of pediatric patients with MODY, assess the prevalence of its subtypes, and identify novel genetic variants associated with the disease.

**Material and Methods.** In this study, 45 pediatric patients with a MODY phenotype underwent molecular genetic analysis (MGA) using Sanger sequencing to identify mutations in candidate MODY genes: *GCK* (10 exons), *HNF1A* (10 exons), *HNF4A* (10 exons), and *HNF1B* (10 exons).

**Results.** A diagnosis of *GCK*-MODY was confirmed in 29 (55.2 %) of the examined patients. Variants of uncertain significance (VUS) were identified in 3 (6.6 %) probands, and subsequent bioinformatic analysis was performed. Novel genetic variants were described in 3 (6.6 %) children, and their correlation with the clinical manifestations of MODY was analyzed, including in one patient with a digenic form of the disease.

**Conclusions.** The present study demonstrates the necessity of molecular genetic diagnostics targeting candidate MODY genes in patients with DM of an unclassified type.

**Keywords:** Diabetes mellitus, MODY, Sanger sequencing, mutations, children.

**For citation:** Velemianchuk DN, Solntsava AV, Savitskaya TV. Clinical and laboratory characteristics of mody with novel mutations in pediatric patients in the Republic of Belarus. *Biochemistry and molecular biology.* 2026, vol. 5, no. 1(8). pp. 89–94. (in Russian)

*Поступила 27.03.2026*

УДК 544.47:577.152:661.72

# ЗАВИСИМОСТЬ КАТАЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗЫ ОТ СТРУКТУРЫ АЛИФАТИЧЕСКИХ СПИРТОВ

*П. Ю. Пинчук*

*Витебский государственный университет имени П.М. Машерова, г. Витебск, Республика Беларусь*

**Введение.** Поверхностные воды Республики Беларусь подвержены загрязнению алифатическими спиртами из промышленных и бытовых источников. Эти соединения могут приводить к изменениям ферментативной активности, что отражается на метаболизме водных организмов. Алкогольдегидрогеназа (АДГ) катализирует окисление спиртов и отражает метаболические изменения, что делает ее удобным биомаркером органического загрязнения.

**Цель исследования.** Оценить возможность использования АДГ модельных организмов для контроля воздействия алифатических спиртов на водные экосистемы.

**Материал и методы.** Исследовали печень крыс и гепатопанкреас моллюсков при остром воздействии спиртов различной структуры и концентрации. Кинетические параметры ($V_{max}$, $K_m$) определяли спектрофотометрически. Межвидовые различия анализировали методом молекулярного докинга.

**Результаты.** У крыс спирты снижают $V_{max}$ АДГ с проявлением смешанного типа ингибирования. У моллюсков при низких концентрациях спиртов максимальная скорость повышается, а при более высоких концентрациях снижается. Структурный анализ активного центра АДГ моллюсков показал его гибкость и гидрофобную насыщенность, обеспечивая стабильное связывание длинноцепочечных и разветвленных спиртов.

**Заключение.** АДГ моллюсков и крыс реагирует на алифатические спирты по-разному, отражая межвидовые особенности ферментов. Гибкость и гидрофобная насыщенность активного центра фермента у моллюсков делает его чувствительным и удобным биохимическим маркером органического загрязнения водных экосистем.

**Ключевые слова:** алкогольдегидрогеназа, спирты, ферментативная кинетика, экотоксикология.

**Для цитирования:** Пинчук, П. Ю. Зависимость каталитических свойств алкогольдегидрогеназы от структуры алифатических спиртов / П. Ю. Пинчук // Биохимия и молекулярная биология. – 2026. – Т. 5, № 1(8). – С. 95–101.

## Введение

Согласно официальным данным государственного мониторинга, большинство поверхностных водных объектов в 2024 г. соответствовали хорошему и отличному экологическому статусу [1]. Поддержание и повышение качества воды требует совершенствования методов диагностики, особенно в отношении органических загрязнителей. В мировой практике для этого используют токсикологический подход, основанный на оценке реакции тест-организмов на разных уровнях биологической организации.

Ранние изменения на клеточном и организменном уровнях часто регистрируют с помощью биохимических маркеров. К ним относят показатели окислительного стресса, активность стресс-белков и ферментов детоксикационного и энергетического метаболизма [2].

В Республике Беларусь легочные пресноводные моллюски успешно используются в качестве модельных объектов в различных областях исследований [3]. Например, в нейробиологии для изучения организации нервных центров [4], в радиобиологии для исследования процессов радиоадаптации в загрязненных водоемах [5], а также в экотоксикологии для оценки роли антиоксидантных систем при стрессе и воздействии тяжелых металлов [6]. Кроме того, прудовик обыкновенный (*Lymnaea stagnalis*) и катушка роговая (*Planorbarius corneus*) служат биоиндикаторами состояния водных экосистем и объектами для моделирования метаболических нарушений [7].

Алкогольдегидрогеназа (АДГ, КФ 1.1.1.1), катализирующая окисление спиртов, отражает метаболические изменения и интересна в сравнительной биохимии и экотоксикологии, особенно у эволюционно удаленных организмов [8]. Низшие алифатические спирты поступают в водоемы с промышленными стоками и образуются при разложении органического вещества, особенно в условиях эвтрофикации [1, 9]. Их высокая летучесть и быстрая деградация затрудняют прямое определение

в воде, что делает актуальным косвенные методы оценки. Однако сравнительные данные о взаимодействии спиртов с алкогольдегидрогеназой у разных гидробионтов ограничены: не известно, как длина углеродной цепи спирта влияет на аффинность к активному центру фермента и на кинетику реакции.

**Цель исследования.** Установить, как длина углеродной цепи алифатических спиртов ($C_1$–$C_4$, $C_6$) влияет на каталитические свойства алкогольдегидрогеназы у лабораторных крыс и легочных пресноводных моллюсков, а также оценить перспективы использования АДГ в качестве чувствительного биохимического маркера органического загрязнения водных экосистем.

## Материал и методы

В работе изучается влияние экзогенного воздействия алифатических спиртов на кинетические параметры алкогольдегидрогеназы. Метанол, этанол, изопропиловый спирт, бутанол-1 и гексанол-1 использовались исключительно как факторы внешнего воздействия и не использовались в качестве субстратов ферментативной реакции. Во всех экспериментах в качестве субстрата алкогольдегидрогеназы использовали этанол. Таким образом, полученные изменения максимальной скорости реакции и константы Михаэлиса отражают функциональное состояние фермента после экзогенного воздействия спиртов, а не особенности его взаимодействия с альтернативными субстратами.

В исследовании использовали 56 самцов беспородных крыс, распределенных на 7 групп по 8 животных: контроль и шесть экспериментальных групп с различными спиртами и концентрациями (этанол 10 % и 20 %, изопропиловый спирт 2,5 % и 5 %, бутанол-1 1 % и 2,5 %). Раствор вводили перорально в объеме 0,5 мл. Через 3 часа после воздействия животных декапитировали под эфирным наркозом и извлекали печень.

Для водной экспозиции использовали 330 особей легочных пресноводных моллюсков: 165 катушек роговых (*Planorbarius corneus*) и 165 прудовиков обыкновенных (*Lymnaea stagnalis*). Особи каждого вида были распределены на контрольную и 10 экспериментальных групп (метанол 0,25 % и 1 %, этанол 1 % и 5 %, изопропиловый спирт 0,5 % и 2 %, бутанол-1 0,25 % и 1 %, гексанол-1 0,25 % и 1 %). В спиртовых растворах моллюски находились в течение 1 часа при температуре 20±1 °C, что соответствует оценке острых эффектов ксенобиотиков и позволяет фиксировать первичные изменения активности фермента.

Ткань печени крыс и гепатопанкреас моллюсков гомогенизировали при 4 °C в 5-кратном объеме 0,02 M Tris-HCl буфера (pH 7,5), содержащего 0,01 M ЭДТА и 0,25 M сахарозы. Гомогенаты центрифугировали при 1000 g в течение 10 мин, затем надосадочную жидкость повторно центрифугировали при 10 000 g в течение 15 мин при 4 °C.

Ферментативную реакцию регистрировали спектрофотометрически на спектрофотометре Agilent G1103B Cary 8454 UV-Vis по увеличению оптической плотности при 340 нм, обусловленному образованием NADH, при 25°C. Для регистрации ферментативной активности у *Planorbarius corneus* использовали реакционную смесь (1 $см^3$) с диапазоном концентраций субстрата 0,2–1,2 мМ, а для *Lymnaea stagnalis* – 2,0–9,0 мМ. Различие в исходной концентрации субстрата учитывалось при сравнительном анализе изменений $V_{max}$ и $K_m$ под действием экзогенных спиртов. Кинетические параметры ($V_{max}$ и $K_m$) определяли методом нелинейной регрессионной аппроксимации по модели Михаэлиса-Ментен.

Статистическую обработку данных проводили с использованием методов вариационной статистики. Результаты представлены в виде M ± SEM, где M – среднее значение, SEM – стандартная ошибка среднего. Сравнение экспериментальных групп с контролем выполняли методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим апостериорным тестом Тьюки. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Для объяснений изменения кинетических параметров использовали метод молекулярного докинга, который позволяет оценить особенности взаимодействия алифатических спиртов с активным центром АДГ. Моделирование использовали для качественной оценки особенностей связывания субстратов. Результаты докинга рассматривали как вспомогательные и использовали для сопоставления с экспериментальными кинетическими данными.

## Результаты

Острое воздействие алифатических спиртов приводит к выраженным изменениям кинетических параметров алкогольдегидрогеназы печени крыс, прежде всего максимальной скорости реакции. Как следует из данных, представленных в таблице 1, во всех экспериментальных группах наблюдается снижение $V_{max}$ по сравнению с контролем, тогда как изменения $K_m$ носят разнонаправленный характер и зависят от природы и концентрации спирта.

Этанол с концентрацией 10 % и 20 % приводит к снижению максимальной скорости реакции в 1,7 раза и 1,9 раза соответственно, при этом константа Михаэлиса практически не изменяется. Мо-

лекулярное моделирование показывает умеренно стабильное взаимодействие этанола с активным центром АДГ. Гидрофобные связи с Ile608 и Pro618, взаимодействие с Gln612 и слабые связи с Thr611 и Met617. Такая конфигурация комплекса позволяет субстрату оставаться эффективно вовлеченным в реакцию, тогда как стадия каталитического превращения замедлена.

Таблица 1 – Кинетические параметры АДГ печени крыс при остром воздействии алифатических спиртов

Table 1 – Kinetic parameters of rat liver ADH under acute exposure to aliphatic alcohols

| Группы | $V_{max}$ (мМ/мин) | $K_m$ (мМ) | Интерпретация кинетических параметров |
|---|---|---|---|
| Контроль | 5,81±0,09 | 0,40±0,03 | Фермент сохраняет нормальную каталитическую способность |
| Этанол 10 % | 3,37±0,03* | 0,47±0,02 | ($\downarrow V_{max}$; $K_m \approx$ const) связь с ключевыми остатками (Thr611, Ile608, Gln612, Met617, Pro618) стабилизирует фермент-субстратный комплекс, замедляя каталитическую стадию |
| Этанол 20 % | 3,08±0,06* | 0,41±0,04 | ($\downarrow V_{max}$; $K_m \approx$ const) дальнейшее снижение скорости катализа без изменения аффинности связывания. Активный центр частично ограничен подвижностью гидрофобных остатков, субстрат связывается эффективно |
| Изопропиловый спирт 2,5 % | 3,11±0,07* | 0,17±0,03* | ($\downarrow V_{max}$; $\downarrow K_m$) увеличение сродства к субстрату. Полярные остатки Thr611 и Gln612, гидрофобные Ile608, Met617, Pro618 стабилизируют фермент-субстратный комплекс, повышая сродство к субстрату и замедляя скорость катализируемой реакции |
| Изопропиловый спирт 5 % | 2,38±0,07* | 1,00±0,09* | ($\downarrow V_{max}$; $\uparrow K_m$) снижение каталитической способности и частичное нарушение структуры активного центра ограничивает эффективность вовлечения субстрата |
| Бутанол-1 1 % | 2,13±0,04* | 0,46±0,04 | ($\downarrow V_{max}$; $K_m \approx$ const) снижение каталитической способности при сохранении эффективности связывания субстрата. Гидрофобные взаимодействия с Phe634 и Val557 стабилизируют комплекс, минимально влияя на сродство к субстрату |
| Бутанол-1 2,5 % | 1,87±0,01* | 2,02±0,24* | ($\downarrow V_{max}$; $\uparrow K_m$) частичное заполнение гидрофобного кармана активного центра препятствует эффективному связыванию субстрата |

*Различия по сравнению с контрольной группой статистически значимы при $p < 0,05$.

*Differences compared with the control group are statistically significant at $p < 0.05$.

Влияние изопропилового спирта в низкой концентрации (2,5 %) приводит к уменьшению $V_{max}$ в 1,9 раза и $K_m$ в 2,4 раза. Структурная визуализация взаимодействий демонстрирует плотные гидрофобные связи с активным центром: Ile608, Pro618, Thr611, Met617, Gln612, а также слабые связи с Ala647 и Ser650. Разветвленная структура молекулы стабилизирует фермент-субстратный комплекс и усиливает сродство к субстрату ($\downarrow K_m$). При высокой концентрации изопропилового спирта (5 %) $V_{max}$ падает в 2,4 раза, а $K_m$ увеличивается в 2,5 раза. Усиление гидрофобной нагрузки на активный центр ограничивает доступ этанола, изменяет конформацию фермента и приводит к субстратному ингибированию, что объясняет резкий рост $K_m$.

Воздействие бутанола-1 низкой концентрации (1 %) снижает $V_{max}$ в 2,7 раза, а константа Михаэлиса остается практически неизменной. Результаты молекулярного докинга показывают, что бутанол-1 формирует гидрофобные связи преимущественно с Phe634 и Val557. Отсутствие α-разветвления молекулы не дает дополнительной стабилизации фермент-субстратного комплекса, поэтому $K_m$ сохраняет значение близкое к контролю. При высокой концентрации (2,5 %) $V_{max}$ падает в 3,1 раза, а $K_m$ возрастает в 5 раз из-за насыщения гидрофобных карманов активного центра длинной цепью бутанола-1 и ограничения доступа этанола, что приводит к субстратному ингибированию.

Таким образом, при высокой концентрации изопропилового спирта и бутанола-1, имеющих одинаковую длину углеродного скелета, наблюдается резкий рост $K_m$, тогда как изопропиловый спирт в низкой концентрации снижает $K_m$, усиливая сродство фермента к субстрату. Такое различие можно объяснить разветвлением молекулы изопропилового спирта, которое обеспечивает более плотное взаимодействие с гидрофобными остатками активного центра, стабилизируя фермент-субстратный комплекс.

Кинетическая оценка АДГ катушки роговой (*Planorbarius corneus*) и прудовика обыкновенного (*Lymnaea stagnalis*) при остром воздействии алифатических спиртов также показала выраженные изменения максимальной скорости реакции с этанолом в качестве субстрата (таблица 2).

Таблица 2 – Кинетические параметры АДГ гепатопанкреаса легочных пресноводных моллюсков при остром воздействии алифатических спиртов

Table 2 – Kinetic parameters of hepatopancreas ADH in pulmonate freshwater mollusks under acute exposure to aliphatic alcohols

| Группы | $V_{max}$ (мМ/мин) | $K_m$ (мМ) | Интерпретация кинетических параметров |
|---|---|---|---|
| *Planorbarius corneus* | | | |
| Контроль | 10,07±0,07 | 0,25±0,01 | Нормальная каталитическая способность фермента. |
| Изопропиловый спирт 0,5 % | 2,68±0,09* | 0,44±0,04* | ($\downarrow V_{max}$; $\uparrow K_m$) частичное снижение каталитической активности с усилением взаимодействий с полярными (Thr116, Gln117) и гидрофобными остатками (Ile113, Met122, Pro123) стабилизирует фермент-субстратный комплекс, но замедляет скорость реакции |
| Бутанол-1 0,25 % | 7,29±0,15 | 0,18±0,02 | ($\downarrow V_{max}$; $\downarrow K_m$) гидрофобные взаимодействия с Phe139, Ile59, Val62 повышают сродство к субстрату при минимальном снижении каталитической активности |
| Бутанол-1 1 % | 4,18±0,14* | 0,32±0,03* | ($\downarrow V_{max}$; $\uparrow K_m$) частичное насыщение гидрофобного кармана активного центра снижает скорость реакции, но субстрат остается доступен |
| Этанол 1 % | 4,44±0,13* | 0,36±0,03* | ($\downarrow V_{max}$; $\uparrow K_m$) взаимодействия с Thr116, Ile113, Gln117 и Pro123 стабилизируют фермент-субстратный комплекс |
| Этанол 5 % | 3,11±0,07* | 0,33±0,02* | ($\downarrow V_{max}$; $\uparrow K_m$) активный центр частично насыщен, субстрат связывается эффективно |
| Метанол 0,25 % | 19,53±0,34* | 0,48±0,02* | ($\uparrow V_{max}$; $\uparrow K_m$) оптимальная ориентация субстрата обеспечивается водородными и гидрофобными связями с Thr116, Gln117, Ile113 и Pro123, что усиливает скорость реакции |
| Метанол 1 % | 2,96±0,06* | 0,52±0,03* | ($\downarrow V_{max}$; $\uparrow K_m$) частичное насыщение активного центра молекулой экзогенного спирта нижает каталитическую активность |
| Гексанол-1 0,25 % | 29,48±0,29* | 0,15±0,01* | ($\uparrow V_{max}$; $\downarrow K_m$) сильные гидрофобные взаимодействия с Phe139 и Val59 повышают скорость реакции и сродство к субстрату |
| Гексанол-1 1 % | 6,27±0,08* | 0,13±0,01* | ($\downarrow V_{max}$; $\downarrow K_m$) частичное насыщение гидрофобного кармана замедляет скорость, но сродство к субстрату сохраняется |
| *Lymnaea stagnalis* | | | |
| Контроль | 10,72±0,13 | 3,19±0,11 | Нормальная каталитическая способность фермента |
| Изопропиловый спирт 0,5 % | 3,72±0,07* | 2,67±0,15* | ($\downarrow V_{max}$; $\downarrow K_m$) гидрофобные взаимодействия с Phe139, Val59 и Val62 ограничивают скорость реакции, сродство к субстрату сохраняется лучше, чем у *Planorbarius corneus* |
| Изопропиловый спирт 2 % | 4,14±0,24* | 5,08±0,64* | ($\downarrow V_{max}$; $\uparrow K_m$) субстратное ограничение и гидрофобное взаимодействие объясняют снижение каталитической эффективности |
| Бутанол-1 0,25 % | 14,08±0,66* | 3,54±0,43 | ($\uparrow V_{max}$; $\uparrow K_m$) повышается каталитическая эффективность, не влияя на сродство к субстрату |
| Бутанол-1 1 % | 4,09±0,15* | 6,52±0,45* | ($\downarrow V_{max}$; $\uparrow K_m$) гидрофобные остатки (Phe139, Val59, Val62) ограничивают доступ субстрата, снижая скорость реакции |
| Этанол 1 % | 3,74±0,20* | 6,74±0,68* | ($\downarrow V_{max}$; $\uparrow K_m$) гидрофобные контакты с Phe139 частично замедляют скорость реакции |
| Этанол 5 % | 3,72±0,13* | 4,57±0,35* | ($\downarrow V_{max}$; $\uparrow K_m$) гидрофобное взаимодействие с Phe139 и Val59 сохраняет эффекты снижения скорости |
| Метанол 0,25 % | 24,08±0,61* | 2,77±0,20* | ($\uparrow V_{max}$; $\downarrow K_m$) водородные связи с Ser370, Arg369 и Val43 стабилизируют фермент-субстратный комплекс и повышают эффективность катализа |
| Метанол 1 % | 5,67±0,21* | 5,47±0,42 | ($\downarrow V_{max}$; $\uparrow K_m$) частичное субстратное насыщение замедляет скорость реакции |
| Гексанол-1 0,25 % | 49,79±0,99* | 1,06±0,11* | ($\uparrow V_{max}$; $\downarrow K_m$) сильные гидрофобные взаимодействия с Phe139 и Val59 повышают скорость реакции и сродство к субстрату |
| Гексанол-1 1 % | 14,45±0,25* | 2,95±0,14* | ($\uparrow V_{max}$; $\downarrow K_m$) гидрофобное ограничение поддерживает сродство к субстрату при умеренной скорости реакции. |

*Различия по сравнению с контрольной группой статистически значимы при $p < 0,05$;

*Differences compared with the control group are statistically significant at $p < 0.05$.

У *Planorbarius corneus* при воздействии 0,5 % раствором изопропилового спирта $V_{max}$ падает почти в 3,8 раза, а $K_m$ увеличивается в 1,8 раза. Это отражает частичное ограничение каталитической функции фермента, при котором субстрат связывается с активным центром, но скорость реакции снижается. Результаты молекулярного докинга подтверждают влияние как полярных остатков (Thr116 и Gln117), так и гидрофобных (Ile113, Met122 и Pro123), стабилизирующих фермент-субстратный комплекс. При 2 % концентрации изопропилового спирта данные отсутствуют, так как линейная фаза реакции не фиксируется из-за сильного подавления активности фермента.

Бутанол-1 0,25 % снижает $V_{max}$ и $K_m$ в 1,4 раза, что указывает на повышение сродства к субстрату через гидрофобные контакты с Phe139, Ile59 и Val62 при частичном ограничении скорости катализируемого превращения. При 1 % концентрации $V_{max}$ падает в 2,4 раза, а $K_m$ увеличивается в 1,3 раза. Структурное моделирование обосновывает это частичным насыщением гидрофобного кармана активного центра и снижением каталитической эффективности.

Этанол в концентрации 1 % и 5 % снижает $V_{max}$ в 2,3 и 3,2 раза соответственно, повышая $K_m$ в 1,3 и 1,5 раза. Это связано с частичным заполнением активного центра полярными и гидрофобными остатками Thr116, Ile113, Gln117 и Pro123.

Метанол 0,25 % увеличивает $V_{max}$ и $K_m$ почти в 1,9 раза, вероятно, за счет оптимальной ориентации субстрата под влиянием водородных и гидрофобных взаимодействий с Thr116, Gln117, Ile113 и Pro123. При 1 % метанола $V_{max}$ снижается в 3,4 раза, а $K_m$ увеличивается в 2,1 раза, что указывает на частичное ингибирование активного центра.

Гексанол-1 0,25 % повышает $V_{max}$ почти в 2,9 раза и снижает $K_m$ в 1,7 раза через гидрофобные взаимодействия с Phe139 и Val59, тогда как при 1 % $V_{max}$ снижается в 1,6 раза при сохранении низкого $K_m$, что свидетельствует о частичном насыщении гидрофобного кармана активного центра.

У *Lymnaea stagnalis* изопропиловый спирт 0,5 % снижает $V_{max}$ в 2,9 раза и $K_m$ в 1,2 раза, ограничивая скорость реакции через гидрофобные контакты с Phe139, Val59 и Val62, при этом сродство к субстрату сохраняется. При 2 % концентрации изопропилового спирта $V_{max}$ падает в 2,6 раза, а $K_m$ увеличивается в 1,6 раза, что объясняется субстратным ограничением и гидрофобными взаимодействиями.

Бутанол-1 0,25 % повышает $V_{max}$ в 1,3 раза и $K_m$ в 1,1 раза, тогда как при 1 % концентрации $V_{max}$ падает в 2,6 раза и $K_m$ увеличивается в 1,8 раза вследствие ограничения доступа субстрата гидрофобными остатками Phe139, Val59 и Val62.

Этанол 1 % и 5 % снижает $V_{max}$ в 2,5 и 2,9 раза соответственно и повышает $K_m$ в 1,3 и 2,0 раза. Гидрофобные контакты с Phe139 и Val59 замедляют скорость реакции, сохраняя субстратное связывание.

Метанол 0,25 % увеличивает $V_{max}$ в 2,2 раза и снижает $K_m$ в 1,2 раза за счет стабилизации фермент-субстратного комплекса водородными связями с Ser370, Arg369 и Val43. При 1 % метанола $V_{max}$ падает в 1,9 раза, а $K_m$ возрастает в 1,6 раза, что указывает на частичное субстратное ингибирование.

Гексанол-1 0,25 % значительно усиливает рост $V_{max}$ почти в 4,7 раза и снижает $K_m$ в 3,0 раза, при 1 % сохраняются высокая скорость и низкий $K_m$ благодаря гидрофобному ограничению активности фермента.

Таким образом, изменения $V_{max}$ и $K_m$ полностью соответствуют характеру молекулярных взаимодействий. Полярные остатки определяют стабильность фермент-субстратного комплекса и $K_m$, гидрофобные контакты с ключевыми аминокислотами активного центра влияют на скорость реакции и эффективность катализируемого превращения. Различия между видами количественно объясняются исходными субстратными концентрациями и реакционными условиями, поэтому прямое сравнение кинетических показателей ограничено.

## Заключение

Таким образом, установлено, что длина углеродной цепи алифатических спиртов является доминирующим фактором, определяющим направленность и силу их влияния на каталитические свойства алкогольдегидрогеназы. У крыс спирты выступают как классические ингибиторы, подавляя максимальную скорость реакции, причем эффективность ингибирования растет с увеличением длины и гидрофобности цепи. В то же время у пресноводных моллюсков обнаружен уникальный активирующий эффект метанола и гексанола-1 в низких концентрациях, что указывает на видовую специфику строения активного центра фермента. Эти выраженные и воспроизводимые изменения кинетических параметров АДГ, четко коррелирующие со структурой алифатических спиртов, подтверждают высокую перспективность использования данного фермента в качестве чувствительного биохимического маркера для ранней диагностики органического загрязнения водных экосистем.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках гранта Министерства образования по теме «Обоснование использования биомаркеров алкогольдегидрогеназы для оценки загрязнения поверхностных вод Белорусского Поозерья алифатическими спиртами» (№ гос. регистрации 20251474 от 20.10.2025).

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

**Список использованных источников**

1. Мониторинг поверхностных вод [Электронный ресурс] / Главный информационно-аналитический центр национальной системы мониторинга окружающей среды Республики Беларусь. – Минск, 2024. – Режим доступа: https://www.nsmos.by/sites/default/files/2025-07/2-surfase-water-monitoring-2024_0.pdf. – Дата обращения: 10.01.2026.
2. Голубев, А. П. Применение интегрального подхода к оценке воздействия антропогенного загрязнения на биоту пресных водоемов/ А. П. Голубев, Д. В. Аксенов-Грибанов, М. А. Тимофеев //Экологический вестник. – 2013. – №. 3. – С. 106–115.
3. Использование легочных пресноводных моллюсков для изучения нарушений обмена веществ / А. А. Чиркин, П. Ю. Пинчук, М. В. Вишневская, О. М. Балаева-Тихомирова // Новости медико-биологических наук. – 2024. – Т. 24, № 2. – С. 90–97.
4. Сидоров, А.В. Нейромодуляторное действие пероксида водорода на центральные нейроны пищевой сети моллюска Lymnnaea stagnalis/ А.В. Сидоров // Журн. эволюц. биохим. и физиол. – 2017. – Т. 53, № 6. – С. 437–443.
5. Голубев А. П. Динамика процессов радиоадаптации в популяциях моллюсков из водоемов Белорусского сектора зоны загрязнения ЧАЭС // Экологический вестник. – 2012. – №2 (20). С. 44–57.
6. Дромашко, С. Е. Влияние тяжёлых металлов на большого прудовика Lymnaea stagnalis L. / С. Е. Дромашко, С. Н. Шевцова, А. С. Бабенко. – Минск: Беларуская навука, 2018. – 172 с.
7. Чиркин, А. А. Молекулярно-структурная гомология протеолитических ферментов: монография. / А. А. Чиркин, О. М. Балаева-Тихомирова – Чебоксары: Изд. дом «Среда», 2022. – 124 с.
8. Пинчук, П. Ю. Молекулярно-биохимический анализ алкогольдегидрогеназы у эволюционно удаленных модельных организмов / П. Ю. Пинчук // Биохимия и молекулярная биология. – 2025. – Т.4, № 1(6). – С. 50–55.
9. ЭкоНиП 17.06.01-006-2023 «Охрана окружающей среды и природопользование. Гидросфера. Нормативы качества воды поверхностных водных объектов» [Электронный ресурс]: утв. постановлением Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь от 15.12.2023. № 15-Т. – Введ. 26.04.2024. – Режим доступа: https://www.ecoinfo.by/wp-content/uploads/2024/03/15-%D0%A2.pdf. – Дата обращения: 12.01.2026.

**References**

1 Glavnyi informatsionno-analiticheskii tsentr natsional'noi sistemy monitoringa okruzhaiushchei sredy Respubliki Belarus'. Monitoring poverkhnostnykh vod [Monitoring of surface waters] [Internet]. Minsk; 2024 [cited 2026 Jan 10]. Available from: https://www.nsmos.by/sites/default/files/2025-07/2-surfase-water-monitoring-2024_0.pdf (in Russian)

2 Golubev AP, Aksenov-Gribanov DV, Timofeev MA. Primenenie integral'nogo podkhoda k otsenke vozdeistviia antropogennogo zagriazneniia na biotu presnykh vodoemov [Application of an integrated approach to assessing the impact of anthropogenic pollution on freshwater biota]. *Ekologicheskii vestnik* [Ecological Bulletin]. 2013;(3):106-115. (in Russian)

3 Chirkin AA, Pinchuk PYu, Vishnevskaia MV, Balaeva-Tikhomirova OM. Ispol'zovanie legochnykh presnovodnykh molliuskov dlia izucheniia narushenii obmena veshchestv [Use of pulmonary freshwater mollusks for studying metabolic disorders]. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk* [News of Medical and Biological Sciences]. 2024;24(2):90-97. (in Russian)

4 Sidorov AV. Neiromoduliatornoe deistvie peroksida vodoroda na tsentral'nye neirony pishchevoi seti molliuska Lymnaea stagnalis [Neuromodulatory effect of hydrogen peroxide on central neurons of the feeding network of the mollusk Lymnaea stagnalis]. *Zhurnal evoliutsionnoi biokhimii i fiziologii* [Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology]. 2017;53(6):437-443. (in Russian)

5 Golubev AP. Dinamika protsessov radioadaptatsii v populiatsiiakh molliuskov iz vodoemov Belorusskogo sektora zony zagriazneniia ChAES [Dynamics of radioadaptation processes in mollusk populations from water bodies of the Belarusian sector of the Chernobyl contamination zone]. *Ekologicheskii vestnik* [Ecological Bulletin]. 2012;2(20):44-57. (in Russian)

6 Dromashko SE, Shevtsova SN, Babenko AS. Vliianie tiazhelykh metallov na bol'shogo prudovika Lymnaea stagnalis L. [Effects of heavy metals on the great pond snail Lymnaea stagnalis L.]. Minsk: Belaruskaya navuka; 2018. 172 p. (in Russian)

7 Chirkin AA, Balaeva-Tikhomirova OM. Molekuliarno-strukturnaia gomologiia proteoliticheskikh fermentov [Molecular-structural homology of proteolytic enzymes]. Cheboksary: Izdatel'skii dom «Sreda»; 2022. 124 p. (in Russian)

8 Pinchuk PYu. Molekuliarno-biokhimicheskii analiz alkogol'degidrogenazy u evoliutsionno udalennykh model'nykh organizmov [Molecular and biochemical analysis of alcohol dehydrogenase in evolutionarily distant model organisms]. *Biokhimiia i molekuliarnaia biologiia* [Biochemistry and Molecular Biology]. 2025;4(1):50-55. (in Russian)

9 Ministerstvo prirodnykh resursov i okhrany okruzhaiushchei sredy Respubliki Belarus'. EkoNiP 17.06.01-006-2023: Okhrana okruzhaiushchei sredy i prirodopol'zovanie. Gidrosfera. Normativy kachestva vody poverkhnostnykh vodnykh ob"ektov [Environmental protection and nature management. Hydrosphere. Water quality standards for surface water bodies] [Internet]. Minsk; 2023 [cited 2026 Jan 12]. Available from: https://www.ecoinfo.by/wp-content/uploads/2024/03/15-%D0%A2.pdf. (in Russian)

# DEPENDENCE OF THE CATALYTIC PROPERTIES OF ALCOHOL DEHYDROGENASE ON THE STRUCTURE OF ALIPHATIC ALCOHOLS

*P. Yu. Pinchuk*

*Vitebsk State University named after P. M. Masherov, Vitebsk, Republic of Belarus*

**Background.** The surface waters of the Republic of Belarus are susceptible to pollution by aliphatic alcohols originating from industrial and domestic sources. These compounds are capable of altering enzymatic activity, thereby

impacting the metabolism of aquatic organisms. Alcohol dehydrogenase (ADH), which catalyzes alcohol oxidation and mirrors metabolic shifts, serves as a practical biomarker for organic pollution monitoring.

**Objective.** To evaluate the potential of ADH from model organisms for monitoring the effects of aliphatic alcohols on aquatic ecosystems.

**Materials and Methods**. Liver of rats and hepatopancreas of mollusks were studied under acute exposure to alcohols of different structures and concentrations. Kinetic parameters ($V_{max}$, $K_m$) were measured spectrophotometrically. Inter-species differences were analyzed using molecular docking of the enzyme active site.

**Results.** In rats, alcohols reduced ADH $V_{max}$, showing mixed inhibition. In mollusks, low alcohol concentrations increased the maximum reaction rate, whereas higher concentrations caused a decrease. Structural analysis of the mollusk ADH active site revealed flexibility and hydrophobic enrichment, providing stable binding of long-chain and branched alcohols.

**Conclusions.** ADH from mollusks and rats responds differently to aliphatic alcohols, reflecting species-specific enzyme features. The flexibility and hydrophobic enrichment of the mollusk enzyme active site makes it a sensitive and convenient biochemical marker of organic pollution in aquatic ecosystems.

**Keywords:** Alcohol dehydrogenase, alcohols, enzymatic kinetics, ecotoxicology.

**For citation:** Pinchuk PYu. Dependence of the catalytic properties of alcohol dehydrogenase on the structure of aliphatic alcohols. *Biochemistry and molecular biology.* 2026, vol. 5, no. 1(8). pp. 95–101. (in Russian)

*Поступила 26.01.2026*

УДК 577.33; 544.182.34; 004.942; 615.21

# COMPUTATIONAL EVALUATION OF KAEMPFEROL AND RELATED FLAVONOIDS: DOCKING, DFT, AND PHARMACOKINETIC INSIGHTS INTO NEUROPROTECTION IN PARKINSON'S DISEASE

*M. V. Statsi[1], S. N. Shahab [1,2,3]*

*[1] Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*

*[2] Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

*[3] Institute of Chemistry of New Materials, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

**Background**. Parkinson's disease (PD) is a progressive neurodegenerative disorder characterized by the loss and degeneration of dopaminergic neurons. Currently, all available therapeutic strategies for PD are predominantly symptomatic. Numerous studies highlight the crucial role of oxidative stress in neuronal damage. Flavonoids are potent natural antioxidants. CDK2, a cyclin-dependent kinase involved in cell-cycle regulation, may also participate in cellular stress-related processes relevant to neurodegeneration; its modulation is considered a potentially neuroprotective mechanism capable of reducing ROS-dependent damage. The development of therapeutic agents capable of preventing neuronal injury represents a promising direction in PD therapy.

**Objective.** A comprehensive in silico evaluation of kaempferol and structurally related flavonoids as potential CDK2 ligands using molecular docking, pharmacokinetic prediction, and density functional theory (DFT) analysis, in order to assess their neuroprotective and pharmacological relevance. To date, no systematic studies of Kaempferol and related flavonoids based on docking or DFT in relation to CDK2 have been published.

**Materials and Methods.** Global electronic characteristics, including hardness, softness, and electrophilicity, were obtained from frontier orbital energies using the B3LYP/MidiX method to describe the reactivity and stability of the ligands. ADME analysis was employed to assess drug-likeness and pharmacokinetic properties. Docking was performed using AutoDock Vina via the UCSF Chimera integration interface.

**Results.** A molecular docking assessment, pharmacokinetic evaluation, and density functional theory (DFT) analysis were carried out to examine the electronic properties of Kaempferol and structurally related flavonoids. All ligands demonstrated favorable docking performance and strong compliance with major pharmacokinetic criteria.

**Conclusion.** Comparative evaluation showed that isorhamnetin and quercetin possess the most balanced electronic profiles and drug-like properties, supporting their potential as CDK2 modulators for subsequent laboratory and experimental validation.

**Keywords:** Parkinson's disease, Kaempferol, flavonoids, Cyclin-dependent kinase 2, pharmacokinetic properties, density functional theory, docking, bioactivity.

**For citation:** Statsi MV, Shahab SN. Computational evaluation of kaempferol and related flavonoids: docking, DFT, and pharmacokinetic insights into neuroprotection in parkinson's disease. *Biochemistry and molecular biology.* 2026, vol. 5, no. 1(8). pp. 102–108.

## Background

In the present work molecular docking, pharmacokinetic modeling, and density functional theory (DFT) analyses were performed to evaluate the CDK2-binding affinity (PDB ID: 3LFN), drug-likeness, and electronic characteristics of kaempferol and structurally related flavonoids. All ligands demonstrated favorable docking scores and compliance with major pharmacokinetic rules. Global electronic descriptors, including hardness, softness, and electrophilicity, were derived from frontier orbital energies (B3LYP/MidiX method) to characterize their reactivity and stability. Comparative assessment revealed that Isorhamnetin and Quercetin exhibit balanced electronic profiles and promising drug-like properties, supporting their potential as CDK2 modulators for further *in silico* and experimental validation.

Parkinson's disease (PD) is a chronic, progressive neurodegenerative disorder primarily affecting dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta. Its clinical manifestations – bradykinesia, rigidity, tremors, and postural instability – are often preceded by biochemical and molecular disturbances such as oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and neuroinflammation. While genetic factors contribute to disease etiology, a growing body of evidence implicates environmental toxins – such as pesticides, heavy metals, and air pollutants – as key

triggers or accelerators of PD pathology through the induction of reactive oxygen species (ROS) and disruption of cellular homeostasis [1].

Given the environmental origin of many neurotoxic substances, the search for safe, naturally derived neuroprotective agents has intensified in recent years. Polyphenolic flavonoids, abundant in fruits, vegetables, and medicinal plants, have emerged as promising candidates due to their antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic properties. Among them, kaempferol (3,4',5,7-tetrahydroxyflavone) has attracted attention for its ability to modulate signaling pathways associated with neurodegeneration, including PI3K/Akt, MAPK/ERK, and NF-κB. In preclinical models of PD, kaempferol has been shown to mitigate behavioral deficits, preserve dopaminergic neuron integrity, and reduce oxidative damage [5-8].

Cyclin-dependent kinase 2 (CDK2), traditionally known for its role in cell cycle regulation, has recently been implicated in neurodegenerative processes. Aberrant activation of CDK2 has been linked to neuronal apoptosis, DNA damage response, and cell cycle re-entry in terminally differentiated neurons. This non-canonical role makes CDK2 a compelling molecular target for neuroprotection, especially in diseases like PD, where kinase dysregulation contributes to neuronal loss [2, 4, 9].

We assume that kaempferol may exert neuroprotective effects by directly binding to CDK2, thereby modulating its pro-apoptotic activity. To test this hypothesis, we performed a multi-tiered *in silico* analysis, including:

Molecular docking simulations to assess binding affinity and interaction profiles between kaempferol and CDK2;

SwissADME-based pharmacokinetic and drug-likeness profiling to evaluate the compound's suitability as a therapeutic agent;

Quantum chemical calculations to determine kaempferol's electronic properties relevant to ligand-protein interactions.

By integrating molecular, pharmacokinetic, and electronic perspectives, this study aims to provide a comprehensive computational evaluation of kaempferol's potential as a neuroprotective agent, with a specific focus on its interaction with CDK2. Furthermore, we consider these findings within the broader landscape of environmental neurotoxicology and natural compound-based therapeutic strategies.

**Objective.** Therefore, the purpose of this study was to perform a comprehensive *in silico* evaluation of kaempferol and structurally related flavonoids as potential CDK2 ligands by integrating molecular docking, pharmacokinetic prediction and quantum chemical (DFT) analyses to assess their neuroprotective and pharmacological relevance. To date, no systematic docking or DFT-based evaluations of kaempferol and related flavonoids have been published so far.

## Materials and Methods

1. *Ligand Selection and Preparation*

Kaempferol and five structurally related flavonoids (quercetin, naringenin, myricetin, isorhamnetin, and hexahydroxyflavone) were selected based on their documented antioxidant and neuroprotective properties. The molecular structures were retrieved from the PubChem database in SMILES format. Each compound was built and pre-optimized using ChemOfficeBio 2016 software (Figure 1).

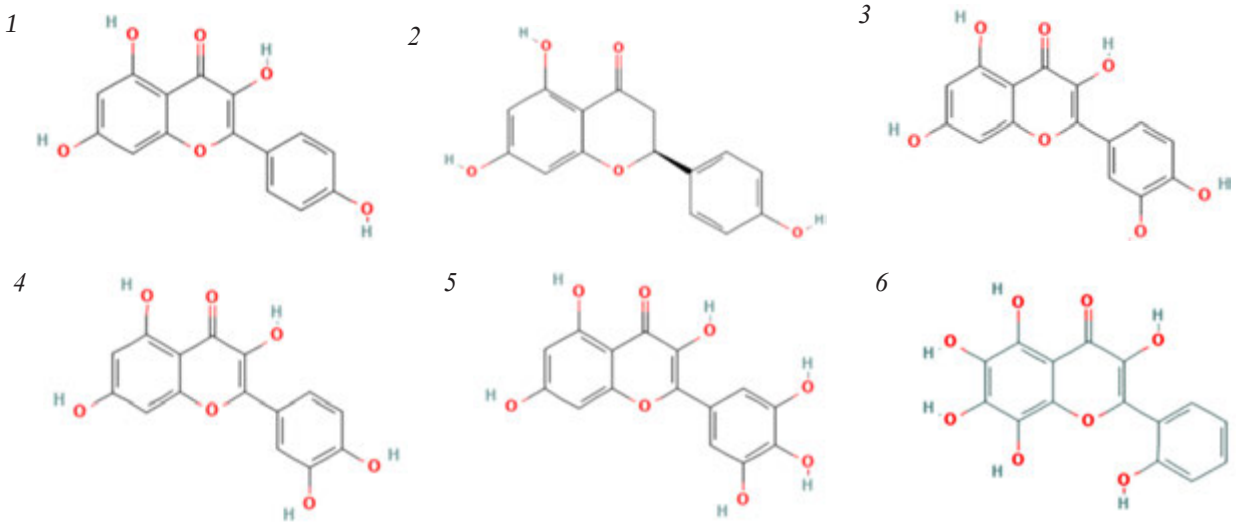



Figure 1 – Chemical structures of Kaempferol (*1*), 2) Quercetin (*2*), Naringenin (*3*), Myricetin (*4*), Isorhamnetin (*5*), and Hexahydroxyflavone (*6*)

Малюнак 1 – Хімічныя структуры кемпферолу (*1*), кверцэціну (*2*), нарынгеніну (*3*), мірыцэціну (*4*), ізарамнеціну (*5*) і гексагідраксіфлавону (*6*)

Energy minimization was performed using the MM2 force field to obtain stable 3D conformations suitable for docking and quantum calculations. Final structures were saved in PDB format for molecular docking and as Gaussian input files for quantum chemical analysis [13].

2. *Pharmacokinetic Evaluation (SwissADME)*

Pharmacokinetic and drug-likeness parameters were assessed using the SwissADME web tool (http://www.swissadme.ch). SMILES representations of each compound were submitted to evaluate gastrointestinal (GI) absorption, blood-brain barrier (BBB) permeability, P-glycoprotein interaction, cytochrome P450 inhibition, and structural alerts (PAINS and Brenk filters). Drug-likeness filters (Lipinski, Ghose, Veber, Egan, and Muegge rules) were applied. LogP and LogS values were recorded using multiple prediction models (iLOGP, XLOGP3, WLOGP, MLOGP, SILICOS-IT) [1-3, 11-14].

3. *Quantum Chemical Calculations*

Frontier molecular orbital calculations were performed using Gaussian 16 software. Geometry optimizations and molecular orbital computations were conducted at the B3LYP/MidiX (no heavy elements) level of theory in the gas phase. The highest occupied molecular orbital (HOMO) and the lowest unoccupied molecular orbital (LUMO) energies were recorded in atomic units (a.u.). The energy gap ($\Delta E = E_{LUMO} - E_{HOMO}$) was calculated to assess electronic reactivity and stability. The resulting LUMO–HOMO gaps were converted to electronvolts (eV) for comparative analysis among ligands [1], [13-15].

4. *Target Protein Preparation*

The crystal structure of human cyclin-dependent kinase 2 (CDK2) was obtained from the Protein Data Bank (PDB ID: 3LFN). Protein preparation was performed using UCSF Chimera. All heteroatoms, water molecules, and co-crystallized ligands were removed. Hydrogen atoms were added, and hydrogen-bonding networks were optimized. The structure was energy-minimized using the Amber99 force field to ensure stability and proper geometry before docking.

5. *Molecular Docking*

Molecular docking was conducted using AutoDock Vina integrated with MGLTools 1.5.6. The prepared ligand and CDK2 structures were imported, and the docking grid box was defined to cover the full protein surface (blind docking) [15-17]. For each ligand, five independent docking runs were performed to ensure reproducibility. The best binding pose (lowest docking energy) was selected for further analysis. Interactions between ligands and active site residues were visualized using BIOVIA Discovery Studio Visualizer and Molegro Molecular Viewer, with a focus on hydrogen bonds, π-π interactions, hydrophobic contacts, and van der Waals forces, etc.

## Results and Discussion

1. *SwissADME Analysis Confirms Drug-Likeness and Oral Bioavailability*

Kaempferol's pharmacokinetic and drug-likeness properties were assessed using SwissADME. The compound passed all major medicinal chemistry filters (Lipinski, Ghose, Veber, Egan, Muegge) with no violations, and demonstrated:

High gastrointestinal (GI) absorption,
Moderate lipophilicity (consensus LogP = 1.58),
Water solubility (LogS = −3.31 to −3.86),
No PAINS or Brenk structural alerts,
A bioavailability score of 0.55.

However, kaempferol was predicted to lack blood-brain barrier (BBB) permeability, likely due to its relatively high topological polar surface area (TPSA = 111.13 Å²) and number of hydrogen bond donors.

Cytochrome P450 profiling showed kaempferol to be a potential inhibitor of CYP1A2, CYP2D6, and CYP3A4, but not CYP2C9 or CYP2C19, indicating a possible role in modulating xenobiotic metabolism – relevant in the context of environmental toxicant exposure.

These pharmacokinetic attributes support kaempferol's candidacy as an orally available therapeutic lead, though formulation strategies may be required to improve CNS penetration. Its clean medicinal chemistry profile and absorption potential suggest suitability for further development, especially in contexts where systemic anti-inflammatory or antioxidant action may benefit CNS health indirectly.

2. *Quantum Chemical Calculations Indicate Electronic Compatibility with CDK2 Binding*

To complement the docking and ADME analysis, density functional theory (DFT) calculations were performed using Gaussian 09W software at the B3LYP/MidiX level. The frontier orbital energies were:

HOMO: −0.19417 a.u.
LUMO: −0.04476 a.u.
LUMO–HOMO gap: 0.14941 a.u. (~4.07 eV)

This moderate gap reflects a balance between electronic stability and reactivity, suggesting that kaempferol can engage in favorable donor-acceptor interactions with protein targets. The distribution of frontier orbitals further supports the compound's potential for hydrogen bonding and π-π stacking – consistent with observed docking poses.

The electronic profile of kaempferol aligns well with the binding interactions seen in the CDK2 active site. Its orbital properties support stable, non-covalent engagement, reinforcing the structural and functional viability of kaempferol as a CDK2 ligand.

Global electronic parameters were calculated from the HOMO and LUMO energies, including energy gap ($E_g$), ionization potential (I), electron affinity (A), electronegativity (χ), chemical potential (μ), hardness (η), softness (S), and electrophilicity indices (ω, $\omega^+$, $\omega^-$). The values are presented in Table 1.

Table 1 – Global electronic descriptors of the studied ligands

Табліца 1 – Глабальныя электронныя дэскрыптары вывучаных лігандаў

| Ligand | $E_{HOMO}$ (eV) | $E_{LUMO}$ (eV) | $E_g$ (eV) | I (eV) | A(eV) | H (eV) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kaempferol | −5.28264 | −1.21798 | 4.06466 | 5.2826 | 1.2180 | 2.03233 | |
| Quercetin | −5.32309 | −1.13580 | 4.18729 | 5.3231 | 1.1358 | 2.09365 | |
| Naringenin | −5.80664 | −1.28710 | 4.51974 | 5.8066 | 1.2871 | 2.25987 | |
| Myricetin | −5.31520 | −1.16546 | 4.14974 | 5.3152 | 1.1655 | 2.07487 | |
| Isohramnetin | −5.35275 | −1.15785 | 4.19491 | 5.3528 | 1.1579 | 2.09745 | |
| Hexahydroxyflavone | −4.94812 | −1.34832 | 3.60020 | 4.9481 | 1.3483 | 1.80010 | |

| | H (eV) | S ($eV^{-1}$) | χ (eV) | μ (eV) | ω (eV) | $\omega^-$ (eV) | $\omega^+$ (eV) | Δω (eV) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2.03233 | 0.4921 | 3.2503 | −3.2503 | 2.599 | 8.958 | 2.456 | −6.502 |
| | 2.09365 | 0.4775 | 3.2294 | −3.2294 | 2.493 | 8.740 | 2.277 | −6.463 |
| | 2.25987 | 0.4425 | 3.5469 | −3.5469 | 2.783 | 9.670 | 2.586 | −7.084 |
| | 2.07487 | 0.4819 | 3.2403 | −3.2403 | 2.529 | 8.819 | 2.339 | −6.480 |
| | 2.09745 | 0.4768 | 3.2553 | −3.2553 | 2.526 | 8.833 | 2.322 | −6.511 |
| | 1.80010 | 0.5555 | 3.1482 | −3.1482 | 2.753 | 9.103 | 2.809 | −6.294 |

The obtained results show comparable electronic profiles for kaempferol, isorhamnetin, myricetin, and Quercetin, with moderate hardness (≈2.0–2.1 eV) and electrophilicity (≈2.5 eV). Naringenin exhibited the highest hardness, whereas hexahydroxyflavone displayed the lowest, corresponding to increased softness and reactivity. These descriptors complement docking and pharmacokinetic analyses, providing additional insight into the electronic characteristics of the ligands.

3. *Molecular Docking Reveals Strong Binding Affinity of kaempferol to CDK2*

Molecular docking simulations were performed to evaluate the binding potential of kaempferol to human cyclin-dependent kinase 2 (CDK2; PDB ID: 3LFN). Five independent docking runs using AutoDock Vina yielded consistent results, with kaempferol demonstrating an average binding score of −8.5. This value is indicative of strong thermodynamic favorability, exceeding the typical threshold (−7.0) for biologically relevant interactions *in silico* models.

Visualization using BIOVIA Discovery Studio revealed that kaempferol formed a range of stabilizing interactions with residues in the CDK2 active site. Notably, π-sigma and π-alkyl interactions were observed with Val A:18, Ala A:31, and Leu A:134. Additional van der Waals interactions were formed with residues such as Gly A:11, Glu A:12, and Phe A:80 (Figure 2). These interactions suggest a snug fit of kaempferol within a hydrophobic sub-pocket of the kinase domain, consistent with its rigid aromatic structure and planar geometry.

These findings support our hypothesis that kaempferol can serve as a potential modulator of CDK2 activity, offering a molecular mechanism for its observed neuroprotective effects. The interaction profile reinforces kaempferol's capacity to engage in specific, stable non-covalent contacts relevant to kinase inhibition.

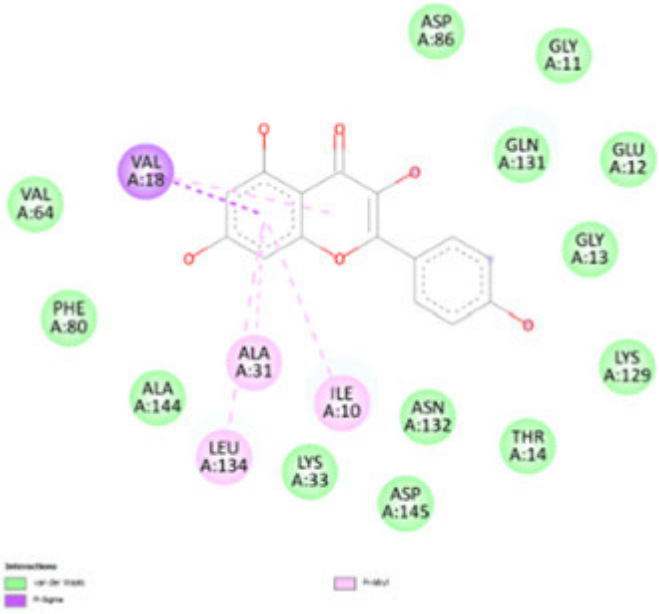



Figure 2 – Ligand map of Kaempferol

Малюнак 2 – Лігандная карта кемпферолу

4. *Comparative Analysis of Structurally Related Natural Ligands*

To contextualize kaempferol's binding and pharmacokinetic profile, we compared it against five structurally related polyphenolic compounds: quercetin, naringenin, myricetin, isorhamnetin, and hexahydroxyflavone. All compounds were docked to CDK2 (3LFN), evaluated for drug-likeness via SwissADME, and subjected to quantum chemical analysis at the B3LYP/MidiX level to determine HOMO–LUMO energy gaps (Table 2).

Table 2 – SwissADME profiles of the studied ligands

Табліца 2 – Профілі SwissADME вывучаных лігандаў

| Ligand | Docking Score | LUMO-HOMO Gap (eV) | GI Absorption | BBB | Lipinski | PAINS Alerts | logP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kaempferol | –8.5 | 4.07 | High | No | 0 viol. | 0 | 1.58 |
| Quercetin | –8.7 | 4.19 | High | No | 0 viol. | 1 (catechol) | 1.23 |
| Naringenin | –8.4 | 4.52 | High | No | 0 viol. | 0 | 1.84 |
| Myricetin | –8.1 | 4.15 | Low | No | 1 viol. | 1 (catechol) | 0.79 |
| Isorhamnetin | –8.1 | 4.20 | High | No | 0 viol. | 0 | 1.65 |
| Hexahydroxyflavone | –8.7 | 3.60 | Low | No | 1 viol. | 1 (catechol) | 0.93 |

Docking scores ranged from –8.1 to –8.7, with both quercetin and hexahydroxyflavone outperforming kaempferol (–8.5) slightly. Notably, hexahydroxyflavone demonstrated the lowest LUMO–HOMO gap (~3.60 eV), indicating the highest electronic reactivity – a trait often correlated with enhanced non-covalent binding potential. However, hexahydroxyflavone and myricetin both exhibited low gastrointestinal (GI) absorption and violations of Lipinski's rule (due to excessive H-bond donors), possibly limiting their oral bioavailability.

Quercetin showed both strong docking affinity and acceptable pharmacokinetics, yet triggered a PAINS alert (catechol group), indicating potential promiscuous binding or oxidative liabilities. Similarly, myricetin and hexahydroxyflavone also exhibited catechol-based PAINS alerts.

In contrast, kaempferol and isorhamnetin emerged as the most pharmacologically clean candidates – both showed high GI absorption, zero Lipinski violations, no PAINS alerts, and moderate lipophilicity (logP ≈ 1.5–1.6), which is ideal for oral bioavailability. While Isorhamnetin exhibited slightly lower docking affinity (–8.1), its electronic and pharmacokinetic profiles closely mirror those of kaempferol.

Naringenin, despite good absorption and no alerts, had a significantly higher LUMO–HOMO gap (~4.52 eV), suggesting reduced molecular reactivity and potentially weaker non-covalent interactions.

Although kaempferol is not the strongest modulator among the tested compounds, it shows the most balanced profile as regards binding affinity, pharmacokinetics, and chemical stability. Isorhamnetin is a close second, and quercetin, while potent, may be limited by its PAINS liability.

## Conclusions

Among the tested compounds, quercetin and hexahydroxyflavone demonstrated the strongest binding affinities (score –8.7), followed closely by kaempferol (–8.5). Hexahydroxyflavone (–8.7) also exhibited the lowest LUMO–HOMO energy gap (~3.60 eV), suggesting the highest electronic reactivity. However, both compounds presented pharmacokinetic and chemical liabilities, including PAINS alerts and poor predicted gastrointestinal absorption.

Kaempferol, in contrast, showed the most balanced profile as regards all evaluated parameters. Firstly, it combined strong binding affinity with favorable oral bioavailability; secondly, zero PAINS alerts; and, thirdly, an electronically stable frontier orbital distribution.

Isorhamnetin (–8.1) also emerged as a viable candidate, exhibiting a similarly clean pharmacokinetic profile, although with slightly lower docking performance.

Based on these findings, kaempferol can be considered a leading candidate for further experimental validation as a neuroprotective modulator of CDK2. Isorhamnetin may also warrant inclusion in subsequent *in vitro* studies.

The results support the broader concept that naturally occurring flavonoids hold therapeutic potential in addressing environmentally mediated neurodegenerative processes and highlight the importance of integrated *in silico* workflows for rational lead compound identification. Future work should include kinase inhibition assays to confirm the stability and functional relevance of the ligand-protein complexes under physiologically relevant conditions.

**Conflict of interest.** The authors declare that there is no conflict of interest.

The work was carried out as part of the preparation of a PhD dissertation.

## List of references


1. Synthesis, modeling, bioactivity, docking, binding energy analysis of new effective piperazine derivatives as effective drug candidates for treatment of Parkinson's disease / S. Shahab, R. Kumar, M. Sheikhi [et al.] // Analytical Chemistry Letters. – 2024. – V. 14, № 5. – P. 638–653.
2. Dessalew, N. A flavonoid gossypin binds to cyclin-dependent kinase 2 / N. Dessalew, P. V. Bharatam // Eur. J. Med. Chem. – 2007. – V. 42, № 7. – P. 1014–1027.
3. Molecular docking, pharmacophore modeling and dynamic analysis of kaempferol derivatives as CDK2 inhibitors / W. Xing, B. Wang, K. Bahadar [et al.] // Molecules. – 2024. – V. 29, № 6. – P. 2158.
4. Docking and molecular dynamics studies on anticancer activities of flavonoids as inhibitors of CDK2 and CDK9 / A. S. Sony, S. Xavier, M. Suresh // Med. Chem. – 2025. – V. 20, № 1. – P. 69–83.
5. Effects of structurally related flavonoids on cell cycle progression of human melanoma cells: regulation of cyclin-dependent kinases CDK2 and CDK1 / M. A. Lea, V. M. Randolph, J. Lee // Biochem. Pharmacol. – 2001. – V. 61, № 11. – P. 1421–1427.
6. Isorhamnetin suppresses skin cancer through direct inhibition of MEK1 and PI3-K / J. E. Kim, D. E. Lee, K. W. Lee [et al.] // Carcinogenesis. – 2011. – V. 32, № 6. – P. 869–875.
7. Isorhamnetin induces cell cycle arrest and apoptosis via ROS-mediated AMPK signalling in human bladder cancer cells / Y. Zhang, H. J. Cha 2, E. O. Choi [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2019. – V. 519, № 2. – P. 246–252.
8. Isorhamnetin suppresses colon cancer cell growth through the PI3K-Akt-mTOR pathway / J. Xie, X. Yang, C. Chen [et al.] // Carcinogenesis. – 2014. – V. 35, № 2. – P. 425–433.
9. Isorhamnetin: reviewing recent developments in anticancer mechanisms and nano-formulation-driven delivery / A. Gómez-Hernández, K. Gul, S. Mumtaz [et al.] // Front. Pharmacol. – 2024. – V. 15. – P. 40806510.
10. An integrated approach of network pharmacology, molecular docking, and experimental verification uncovers kaempferol as an effective modulator of HSD17B1 for the treatment of endometrial cancer / H. Liu, L. X. Ye, J. S. Lin [et al.] // J. Transl. Med. – 2023. – V. 21. – P. 40.
11. Natural flavonoids quercetin and kaempferol are nuclear receptor NR4A1 ligands and inhibit rhabdomyosarcoma cell and tumor growth / S. D. Cho [et al.], K. Mohankumar, G. Martin // J. Exp. Clin. Cancer Res. – 2021. – V. 40. – P. 392.
12. Cheminformatics-based screening and evaluation of phytochemicals as CDK2 inhibitors in colorectal cancer therapy / S. Tabassum, M. E. Hossan, M. M. Islam [et al.] // J. Mol. Graph. Model. – 2025. – V. 127. – P. 109671.
13. Shahab, S. Polarization, excited states, trans-cis properties and anisotropy of thermal and electrical conductivity of the 4-(phenyldiazenyl)aniline in PVA matrix / S. Shahab // J. Mol. Struct. – 2017. – V. 1141. – P. 703–709.
14. Molecular investigations of the new synthesized azomethines as antioxidants: theoretical and experimental studies / S. Shahab, M. Sheikhi, L. Filippovich [et al.] // Curr. Mol. Med. – 2019. – V. 19. – P. 419–433.
15. Shahab, S. Triazavirin – potential inhibitor for 2019-nCoV Coronavirus M protease: A DFT study / S. Shahab, M. Sheikhi // Curr. Mol. Med. – 2020. – V. 21. – P. 645–654.
16. Theoretical study of interaction between apalutamide anticancer drug and thymine by DFT method / S. Shahab, M. Sheikhi, Z. Khaleghian [et al.] // Chin. J. Struct. Chem. – 2019. – V. 38. – P. 1645–1663.
17. Shahab S. Design of geometry, synthesis, spectroscopic (FT-IR, UV/Vis, excited state, polarization) and anisotropy (thermal conductivity and electrical) properties of new synthesized derivatives of (E,E)-azomethines in colored stretched poly(vinyl alcohol) matrix / S. Shahab, M. Sheikhi, L. Filippovich // J. Mol. Struct. – 2018. – V. 1157. – P. 536–550.


## References


1 Shahab S, Kumar R, Sheikhi M, Ihnatovich Z, Siniutsich J, Koroleva E, Filippovich L, Auhustsinovich A, Makhakhei M, Stati M, Hui W, Khancheuski M, Borzehandani MY. Synthesis, modeling, bioactivity, docking, binding energy analysis of new effective piperazine derivatives as effective drug candidates for treatment of Parkinson's disease. *Anal Chem Lett*. 2024;14(5):638–653. DOI:10.1080/22297928.2024.2397798.

2 Dessalew N, Bharatam PV. A flavonoid gossypin binds to cyclin-dependent kinase 2. *Bioorg Med Chem Lett*. 2008;18(2):661–664. DOI:10.1016/j.bmcl.2007.12.030.

3 Xing W, Wang B, Bahadar K, Wang W. Molecular docking, pharmacophore modeling and dynamic analysis of kaempferol derivatives as CDK2 inhibitors. *Front Chem*. 2024;12:1440196. DOI:10.3389/fchem.2024.1440196.

4 Sony AS, Xavier S, Suresh M. Docking and molecular dynamics studies on anticancer activities of flavonoids as inhibitors of CDK2 and CDK9. *Med Chem*. 2025;21(1):69–83. DOI:10.2174/0115734064314933240812120123.

5 Lea MA, Randolph VM, Lee J. Effects of structurally related flavonoids on cell cycle progression of human melanoma cells: regulation of cyclin-dependent kinases CDK2 and CDK1. *Biochem Pharmacol*. 2001;61(11):1421–1427. DOI:10.1016/S0006-2952(01)00583-4.

6 Kim JE, Lee DE, Lee KW, Son JE, Seo SK, Li J, Jung SK, Heo YS, Mottamal M, Bode AM, Dong Z, Lee HJ. Isorhamnetin suppresses skin cancer through direct inhibition of MEK1 and PI3-K. *Carcinogenesis*. 2011;32(6):869–875. DOI:10.1093/carcin/bgr053.

7 Zhang Y, Li Q, Wang J, Cheng F, Huang X, Cheng Y, Wang K. Isorhamnetin induces cell cycle arrest and apoptosis via ROS-mediated AMPK signalling in human bladder cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019;519(2):246–252. DOI:10.1016/j.bbrc.2019.08.101.

8 Xie J, Liu M, Liu H, Chen J, Luo M, Zhao J. Isorhamnetin suppresses colon cancer cell growth through the PI3K-Akt-mTOR pathway. *Carcinogenesis*. 2014;35(2):425–433. DOI:10.1093/carcin/bgt378.

9 Gómez-Hernández A, Reyes-Ramírez A, López-Sánchez P, García-Mendoza A, Martínez-Pacheco H, Silva-García R. Isorhamnetin: reviewing recent developments in anticancer mechanisms and nano-formulation-driven delivery. *Front Pharmacol*. 2024;15:40806510. DOI:10.3389/fphar.2024.40806510.

10 Liu H, Zhao J, Chen X, Li S, Wang Y, Zhang Z, Xu J, Li X, Wang H, Zhao Y, Yang Y. An integrated approach of network pharmacology, molecular docking, and experimental verification uncovers kaempferol as an effective modulator of HSD17B1 for the treatment of endometrial cancer. *J Transl Med*. 2023;21:204. DOI:10.1186/s12967-023-04048-z.

11. Cho SD, Lee JY, Park JS, Kim YH, Kang HS, Lee YS. Natural flavonoids quercetin and kaempferol are nuclear receptor NR4A1 ligands and inhibit rhabdomyosarcoma cell and tumor growth. *J Exp Clin Cancer Res*. 2021;40:392. DOI:10.1186/s13046-021-02172-0.

12. Tabassum S, Noman M, Ahmad A, Riaz M, Khan S, Ali S, Hussain K, Akhtar N, Javed S, Aslam N, Bilal M, Iqbal HMN. Cheminformatics-based screening and evaluation of phytochemicals as CDK2 inhibitors in colorectal cancer therapy. *PLoS One*. 2024;20(9):e0331438. DOI:10.1371/journal.pone.0331438.

13. Shahab S, Sheikhi M, Filippovich L, Dikusar E, Siniutsich J, Ihnatovich Z. Polarization, excited states, trans-cis properties and anisotropy of thermal and electrical conductivity of the 4-(phenyldiazenyl)aniline in PVA matrix. *J Mol Struct.* 2017;1141:703–709. DOI:10.1016/j.molstruc.2017.04.023.
14. Shahab S, Sheikhi M, Filippovich L, Dikusar E, Ihnatovich Z, Siniutsich J. Molecular investigations of the new synthesized azomethines as antioxidants: theoretical and experimental studies. *Curr Mol Med*. 2019;19:419–433. DOI:10.2174/1566524019666190107102105.
15. Shahab S, Sheikhi M. Triazavirin – potential inhibitor for 2019-nCoV coronavirus M protease: A DFT study. Curr Mol Med. 2021;21(8):645–654. DOI:10.2174/1566524020666200521075848.
16. Shahab S, Sheikhi M, Khaleghian Z, Ihnatovich Z, Siniutsich J, Filippovich L. Theoretical study of interaction between apalutamide anticancer drug and thymine by DFT method. *Chin J Struct Chem*. 2019;38:1645–1663. DOI:10.14102/j.cnki.0254-5861.2019-0001.
17. Shahab S, Sheikhi M, Filippovich L. Design of geometry, synthesis, spectroscopic (FT-IR, UV/Vis, excited state, polarization) and anisotropy (thermal conductivity and electrical) properties of new synthesized derivatives of (E,E)-azomethines in colored stretched poly(vinyl alcohol) matrix. *J Mol Struct.* 2018;1157:536–550. DOI:10.1016/j.molstruc.2017.12.049.

**Conflict of interest.** The author declare no conflict of interest.

# ВЫЛІЧАЛЬНАЯ АЦЭНКА КЭМПФЕРОЛА І РОДНАСНЫХ ФЛАВАНОІДАЎ: ДОКІНГ, DFT І ФАРМАКАКІНЕТЫЧНЫЯ АСПЕКТЫ НЕЎРАПРАТЭКЦЫІ ПРЫ ХВАРОБЕ ПАРКІНСАНА

*М. В. Стаці[1], С. Н. Шахаб [1,2,3]*

*[1] Міжнародны экалагічны інстытут імя А. Д. Сахарава БДУ, г. Мінск, Республика Беларусь*

*[2] Інстытут фізіка-арганічнай хіміі Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі, г. Мінск, Республика Беларусь*

*[3] Інстытут хіміі новых матэрыялаў Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі, г. Мінск, Республика Беларусь*

**Уводзіны**. Хвароба Паркінсана (ХП) – прагрэсуючае неўрадэгенератыўнае засмучэнне, якое характэрызуецца пашкоджаннем і стратаю дапамінэргічных неўронаў. Станам на сёння існуюць выключна сімптаматычныя падыходы да лячэння ХП. Шматлікія даследванні адзначаюць ролю аксідатыўнага стрэсу у пашкоджанні неўронаў. Флаваноіды з'яўляюцца моцнымі натуральнымі антыаксідантамі. CDK2 – цыклінзалежная кіназа, якая ўдзельнічае ў клеткавым цыкле, а таксама можа быць залучана ў клеткавыя стрэсавыя працэсы, што маюць значэнне пры неўрадэгенерацыі; яе мадуляцыя разглядаецца як патэнцыйна неўрапратэктарны механізм, здольны знізіць ROS-залежнае пашкоджанне. Распрацоўка лекавага сродку, якая дазваляе прадухіліць пашкоджанне неўронаў – перспектыўны накірунак у тэрапіі ХП.

**Мэта**. Комплексная ацэнка кэмпферола і структурна роднасных флаваноідаў *in silico* як патэнцыйных лігандаў CDK2 праз малекулярны докінг, фармакакінетычнае прагназаванне і квантава-хімічны аналіз (**Density Functional Theory –** DFT) для ацэнкі іх неўрапратэктарнай і фармакалагічнай значнасці. На сённяшні дзень не апублікавана сістэматычных даследаванняў кэмпферола і роднасных яму флаваноідаў на падставе докінгу або DFT.

**Матэрыялы і метады.** Глабальныя электронныя характарыстыкі, уключаючы цвёрдасць, мяккасць і электрафільнасць, былі атрыманы на аснове энергіі памежных арбіталяў (метад B3LYP/MidiX) для характарыстыкі іх рэакцыйнай здольнасці і стабільнасці. Для ацэнкі падабенства да лекавага сродку і іншых фармакакінетычных чыннікаў быў ужыты ADME-аналіз. Докінг быў праведзены з выкарыстаннем AutoDock Vina праз інтэграцыйны інтэрфейс UCSF Chimera.

**Рэзультаты.** Праведзены аналіз малекулярнага докінгу, аналіз фарамакакінетычных уласцівасцяў, аналіз тэорыі функцыяналу шчыльнасці (DFT) для ацэнкі электронных характарыстык кэмпферола і структурна роднасных флаваноідаў. Усе ліганды прадэманстравалі добрыя паказчыкі стыкоўкі і высокую адпаведнасць асноўным фармакакінетычным правілам.

**Заключэнне.** Параўнальная ацэнка паказала, што ізарамнетын, і кверцытын маюць збалансаваныя электронныя профілі і лекавыя ўласцівасці, якія пацвярджаюць іх патэнцыял у якасці мадулятараў CDK2 для далейшай лабараторнай і эксперыментальнай праверкі.

**Ключавыя словы:** хвароба Паркінсана, кэмпферол, флаваноіды, цыклінзалежная кіназа 2, фармакакінетычныя ўласцівасці, тэорыя функцыяналу шчыльнасці, докінг, біялагічная актыўнасць.

Для цитирования: Стаці, М.В. Вылічальная ацэнка кэмпферола І роднасных флаваноідаў: докінг, DFT І фармакакінетычныя аспекты неўрапратэкцыі пры хваробе паркінсана / М.В. Стаці, С.Н. Шахаб// // Биохимия и молекулярная биология. –2026. – Т. 5, № 1(8). – С. 102–108.

*Поступила 08.12.2025*

УДК 57.088.7

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОФИЛЕЙ ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ: СОВРЕМЕННЫЙ МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ИНСТРУМЕНТ ВЫЯВЛЕНИЯ ПРЕДИКТОРОВ И СОЗДАНИЯ БАЗ ДАННЫХ

*О. С. Полуян, С. А. Костюк*

*Белорусский государственный медицинский университет,*
*г. Минск, Республика Беларусь*

**Введение.** В настоящее время геном человека полностью секвенирован, что активно используется для разработки инновационных методов и инструментов с целью изучения функций генов в норме и при различных заболеваниям. Молекулярно-генетические методы диагностики заболеваний для изучения профилей экспрессии генов, специфичных для различных типов клеток, в настоящее время широко используются при планировании и выполнении фундаментальных исследований, лежащих в основе разработки новых диагностических алгоритмов оптимизации фармакотерапии.

**Цель исследования.** Провести аналитический обзор литературы современных молекулярно-генетических методов обнаружения и выделения генов, используемых относительно всех аспектов заболеваний человека, включая фундаментальную и прикладную медицинскую науку.

**Материалы и методы.** Используя базы данных научной литературы проведен аналитический обзор литературы современных молекулярно-генетических методов обнаружения и выделения генов, используемых относительно всех аспектов заболеваний человека, включая фундаментальную и прикладную медицинскую науку.

**Результаты.** Современная наука обладает широким арсеналом молекулярных методов как диагностической (профили экспрессии генов, установление генов-кандидатов различных заболеваний, анализ мутаций и т.д.), так и терапевтической (фармакогенетика, идентификация генов-мишеней фармакотерапии и др.) направленности.

**Заключение.** Настоящий аналитический обзор раскрывает новые возможности практического применения результатов проведенных ранее геномных исследований с учетом данных, полученных другими систематическими методами, такими как протеомика, что, в свою очередь, позволяет получать четкую молекулярную характеристику заболеваний, стадий заболеваний, тканей или типов клеток. Авторами представлен обзор последних разработок в области технологии генных чипов и основных принципов функциональной геномики.

**Ключевые слова:** дифференциальный дисплей, экспрессия генов, геномика, анализ микрочипов, протеомика.

**Для цитирования:** Полуян, О. С. Определение профилей генной экспрессии: современный молекулярный инструмент выявления предикторов и создания баз данных / О. С. Полуян, С. А. Костюк // Биохимия и молекулярная биология. – 2026. – Т. 5. № 1(8). – С. 109–117.

## Введение

По оценкам специалистов геном человека состоит из 30.000-50.000 генов, 10-20% из которых могут экспрессироваться в клетке в определенное время. Геном человека полностью секвенирован с использованием различных подходов, и огромные объемы данных представлены в общедоступных базах, данных [1, 2]. Кроме того, большое количество экспрессируемых последовательностей, небольших комплементарных ДНК (кДНК), которые представляют собой части пула транскриптов определенной ткани, предоставляют дополнительную информацию для сравнения последовательностей и обнаружения новых генов [3]. Изучение экспрессируемых генов оказало большое влияние на биологические исследования [4]. Однако эти данные об экспрессии не дают полную информацию о функциях генов или значении их экспрессии на определенном этапе развития, дифференцировки клеток или развития заболевания. Проекты секвенирования генома и проводимые крупномасштабные исследования экспрессии различных генов предоставляют ученым огромное количество потенциально значимых данных, при этом принципиально важным становится переход от непосредственной идентификации генома к верификации функций определенных генов в норме и при различных заболеваниях, что послужило основой формирования

новой области молекулярной медицины под названием «функциональная геномика» [4].

Когда в конце 1980-х годов был начат проект «Геном человека», научное сообщество обсуждало смысл крупномасштабного подхода к сбору данных в биомедицине. Впоследствии стало ясно, что геномика окажет большое влияние на будущее открытия лекарственных средств и навсегда изменит медицину. В настоящем обзоре описаны основные методы (таблица 1), которые можно использовать для обнаружения генов, которые дифференциально экспрессируются на определенных стадиях развития, при заболеваниях, в ответ на терапию или в определенных типах клеток или тканях.

Таблица 1 – Обзор молекулярно-генетических методов, охарактеризованных в статье

Table 1 – Overview of molecular genetic methods described in the article

| Метод | Краткое описание |
|---|---|
| *Классические методы обнаружения дифференциально экспрессируемых генов* | |
| Дифференциальный скрининг библиотек кДНК | Сравнение двух пулов транскриптов с использованием эталонного пула, клонированного в библиотеку кДНК |
| Поглощенные зонды и вычтенные библиотеки | Обогащение редких транскриптов, которые используются в последующих процедурах в качестве абсорбированного зонда для скрининга библиотек кДНК на предмет конкретных клонов или в качестве матрицы для создания вычтенной библиотеки кДНК |
| *Методы на основе ПЦР для обнаружения дифференциально экспрессируемых генов* | |
| ДД-ПЦР | Метод на основе ПЦР для идентификации дифференциально экспрессируемых генов |
| Серийный анализ экспрессии генов | Метод на основе ПЦР для мониторинга и сравнения различных пулов экспрессии |
| *Функциональная геномика и генные чипы* | |
| Генные чипы | Прототип геномной методологии для измерения количества нескольких тысяч известных последовательностей ДНК |
| Протеомика | Систематический крупномасштабный анализ белков |

*Примечание* – ДНК: дезоксирибонуклеиновая кислота; кДНК: комплементарная ДНК; ПЦР: полимеразная цепная реакция; ДД-ПЦР: ПЦР с дифференциальным дисплеем.

*Note* – DNA: deoxyribonucleic acid; cDNA: complementary DNA; PCR: polymerase chain reaction; DD-PCR: differential display PCR.

**Цель исследования.** Провести аналитический обзор литературы современных молекулярно-генетических методов обнаружения и выделения генов, используемых относительно всех аспектов заболеваний человека, включая фундаментальную и прикладную медицинскую науку.

## Материалы и методы

Используя базы данных научной литературы проведен аналитический обзор литературы современных молекулярно-генетических методов обнаружения и выделения генов, используемых относительно всех аспектов заболеваний человека, включая фундаментальную и прикладную медицинскую науку.

## Результаты и их обсуждение

**Классические методы обнаружения дифференциально экспрессируемых генов.** *Дифференциальный скрининг библиотек кДНК.* Этот метод использует пулы транскриптов двух разных типов клеток или тканей для скрининга библиотеки кДНК с целью поиска последовательностей, которые присутствуют только в одном пуле транскриптов (рисунок 1).

Полиаденилированная РНК (поли(А)зРНК) экстрагируется из двух тестируемых образцов и используется в качестве матрицы для создания меченых радиоактивным изотопом зондов. Их отдельно гибридизуют для дублирования копий интересующей библиотеки кДНК [5]. Таким образом, библиотека кДНК представляет собой пул транскриптов определенного типа клеток или ткани, которые были преобразованы в кДНК и клонированы в подходящие векторы, такие как лямбда-фаги. Для скрининга таких библиотек на наличие определенной последовательности кДНК векторы культивируют на агарозных субстратах совместно с бактериальными клетками. Затем бактерии лизируются фагами, в результате чего образуются видимые бляшки. На следующем этапе проводится гибридизация с меченым зондом для выявления искомых последовательностей. Для проведения дифференциального скрининга библиотек кДНК дубликаты фильтров снимают с одного и того же планшета и используют для отдельной гибридиза-

ции с двумя представляющими интерес зондами кДНК, мечеными радиоактивным изотопом. Клоны, которые гибридизуются с обоими зондами, соответствуют генам, которые представлены в обоих пулах матричной РНК (мРНК), тогда как клоны, которые гибридизуются только с одним зондом, соответствуют мРНК, которые дифференциально экспрессируются только в одном пуле транскриптов. Эти клоны изолируют и дополнительно анализируют.

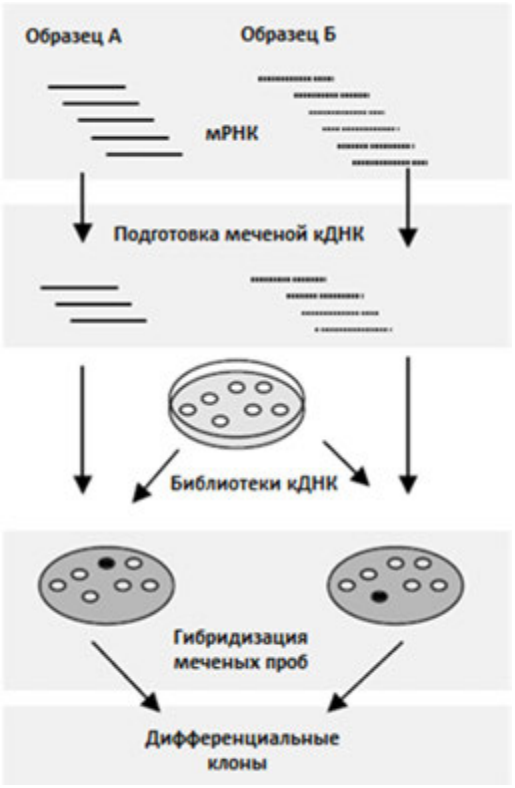



Рисунок 1 – Дифференциальный скрининг библиотек кДНК

Figure 1 – Differential screening of cDN libraries

Дифференциальный скрининг является классическим методом и широко используется для обнаружения дифференциально экспрессируемых генов (например, генов, участвующих в дифференцировке клеток); однако он довольно трудоемкий и эффективно работает только для тех генов, которые массово экспрессируются в одном из двух типов тканей или клеток [5].

*Субтрактивные методы: поглощенные зонды и вычтенные библиотеки.* Когда ген дифференциально экспрессируется, но его мРНК не экспрессируется в большом количестве, можно увеличить эффективную концентрацию последовательности путем субтрактивной гибридизации (рисунок 2) [6].

Подходы, использующие субтрактивные методы, увеличивают процент релевантных нуклеотидных последовательностей за счет исключения нерелевантных последовательностей. Поли(А)zРНК, выделенная из одного образца («трейсер»), используется для синтеза меченой кДНК, которая гибридизуется с избытком поли(А)zРНК («драйвер») из другого типа клеток или ткани. кДНК и мРНК можно использовать либо в качестве драйвера, либо в качестве индикатора. кДНК, соответствующие генам, экспрессируемым как в тканях, так и в клетках, образуют гибриды ДНК/РНК, и вместе с негибридизированным драйвером их можно отделить от одноцепочечных кДНК различными методами, например хроматографией на колонках с гидроксиапатитом или с использованием биотинилированного или иммобилизованного драйвера [7]. Пул кДНК, обогащенный пулами транскриптов, специфичных для типа клеток или ткани, затем можно использовать в качестве так называемого «поглощенного» зонда для скрининга библиотек кДНК на наличие конкретных клонов или в качестве матрицы для создания вычтенной библиотеки кДНК. Методы с использованием вычтенных зондов или матриц ограничены изначально доступным количеством мРНК. После двух или более раундов гибридизации и выделения выход конкретной кДНК ограничен в количестве, и часто ее недостаточно для выполнения последующих этапов.

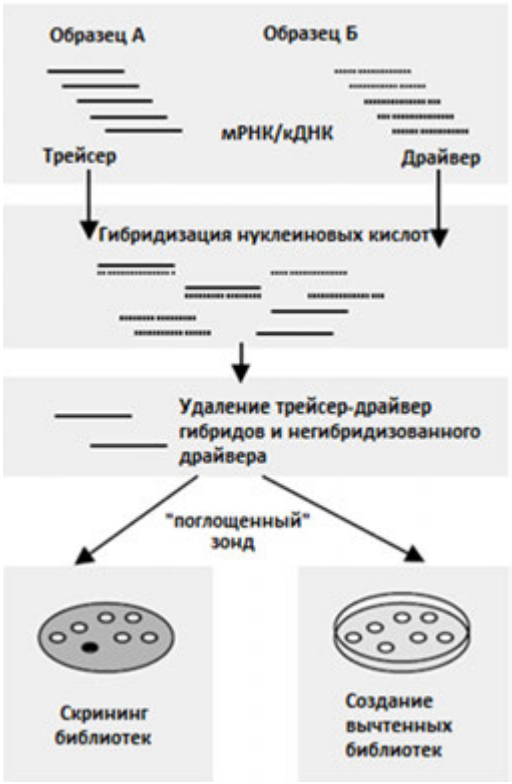



Рисунок 2 – Субстрактивный метод выявления дифференциально экспрессируемых генов

Figure 2 – Subtractive method for identifying differentially expressed genes

**Методы, основанные на ПЦР, для обнаружения дифференциально экспрессируемых генов.** *Полимеразная цепная реакция дифференциального дисплея.* Методы с использованием ПЦР для обнаружения дифференциально экспрессируемых генов основаны на том, что, когда ПЦР проводится на сложном образце кДНК с использованием одного или двух произвольных праймеров, создается воспроизводимый отпечаток матрицы. Различия в этих отпечатках обусловлены различиями в материале шаблона. ДД-ПЦР дает представление о пуле транскриптов клеток или тканей, отображая подмножества мРНК. Подмножества, полученные из разных типов клеток или тканей, можно сравнивать и использовать для выделения интересующих генов.

Общая стратегия ДД-ПЦР состоит из следующих стадий (рисунок 3):

обратная транскрипция с использованием якорного праймера;

собственно ПЦР с якорным праймером и произвольным праймером;

разделение продукта ПЦР электрофорезом с последующей визуализацией.

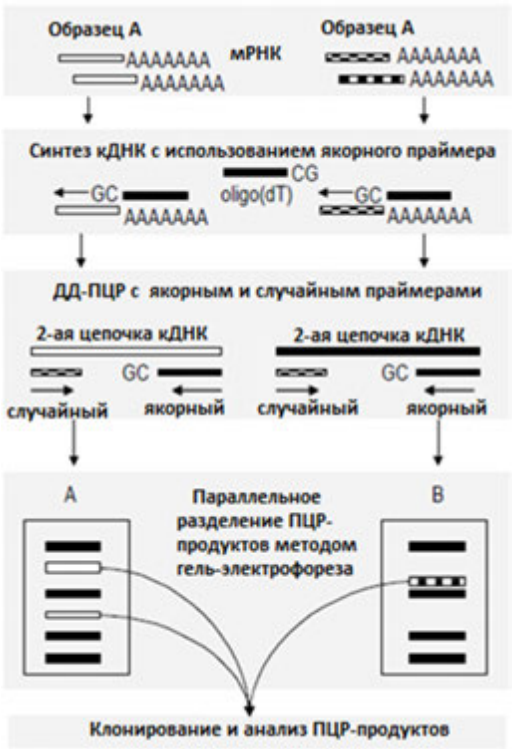



Рисунок 3 – Схематическое изображение ПЦР с дифференциальным дисплеем

Figure 3 – Schematic representation of PCR with differential display

Стандартный протокол ДД-ПЦР представляет собой обратную транскрипцию выделенной мРНК с использованием дезокситимидинового (dT) олигонуклеотидного (oligo(dT)n) ($n$ = 8–10) праймера с «якорем» из двух оснований на 5’-конце [8]. Использование 5’-олиго(dT)NN-3’ для обратной транскрипции приводит к праймированию главным образом 5’-конца поли(A)z-хвоста и частично в богатых аденином участках мРНК. Селективность обеспечивается двумя якорными основаниями, теоретически приближаясь к одной из 12 полиаденилированных РНК. Полученная кДНК используется в качестве матрицы для ПЦР с использованием одного произвольного праймера (т.е. праймера, имеющего одно случайное основание в каждой позиции) и якорного праймера, используемого для обратной транскрипции. Обратная транскрипция и собственно ПЦР выполняются для каждого тестируемого пула транскриптов. Затем продукты ПЦР разделяют с помощью гель-электрофореза, визуализируют и сравнивают. Полосы, обнаруженные только в одном образце, представляют собой дифференциально экспрессируемые гены, поэтому их вырезают, повторно амплифицируют с помощью ПЦР и клонируют.

В последние годы ДД-ПЦР интенсивно используется для выделения генов, специфичных для респираторных заболеваний [9], а также ответственных за дифференцировку клеток [10, 11]. Дифференциальный скрининг технически прост, однако процент ложноположительных результатов высок и необходим тщательный скрининг полученных последовательностей.

*Серийный анализ экспрессии генов.* САЭГ – это упрощенный метод секвенирования частей кДНК, полученных из любого типа источника транскриптов, который используется для установления экспрессирующихся генов и количественной оценки уровней их экспрессии [12]. Каждая популяция мРНК, подлежащая анализу с помощью САЭГ, требует подготовки библиотеки, содержащей теги САЭГ, которые представляют отдельные гены, экспрессируемые в клетках (рисунок 4).

Для создания библиотек САЭГ мРНК преобразуется в кДНК, которая используется для создания специфичных для транскриптов меток длиной 10 п.о., полученных из точного местоположения относительно 3’-конца отдельных мРНК. Отдельные метки связываются вместе в результате последующего расщепления определенными эндонуклеазами. Затем их амплифицируют с помощью ПЦР с использованием праймеров, комплементарных адаптерным последовательностям, связанным с концами меток. Наконец, отдельные метки лигируют и клонируют в обычную плазмиду. Каждая библиотека САЭГ содержит 26106 тегов с индивидуальной клонированной вставкой размером 500 п.о. (40 тегов САЭГ). В большинстве проектов

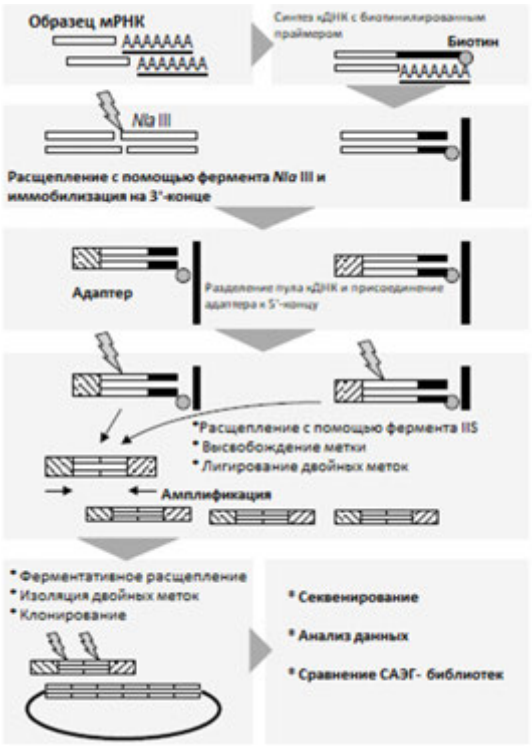



Рисунок 4 – Схематическое изображение принципа серийного анализа экспрессии генов

Figure 4 – Schematic representation of the principle of serial analysis of gene expression

секвенируют до 2000 клонов САЭГ, чтобы получить 50.000 тегов САЭГ. После секвенирования тегов профилирование транскриптов основано на генерации и анализе вычислительных данных, которые включают обнаружение последовательности тегов и табуляцию; сравнение численности тегов между отдельными библиотеками; а также поиск в базе данных с использованием тегов САЭГ. Данный метод используют для мониторинга экспрессии большого количества генов, а также для идентификации новых генов. Как «открытая» система САЭГ может применяться для выявления генов, которые экспрессируются без использования заранее определенного набора генов-мишеней [13].

**Функциональная геномика и генные чипы.** В области геномики и протеомики были разработаны новые и мощные методы анализа экспрессии большого числа генов на уровне транскриптов и белков. В «постгеномную» эру (время после того, как геномы были полностью секвенированы) фокус смещается от генерации и получения информации о последовательностях к более функциональному подходу, который включает в себя различные подходы к генерации и пониманию больших наборов взаимосвязанных данных [4].

*Генные чипы.* Генные чипы (также называемые микрочипами ДНК или микрочипами олигонуклеотидов) представляют собой прототипную методологию, которая разрабатывалась параллельно с секвенированием генома человека [14, 15, 16]. Генные чипы позволяют определять экспрессию большого количества генов, которые используются для анализа экспрессии в масштабе генома. Метки кДНК для тысяч потенциально экспрессируемых генов располагаются на стеклянной или мембранной подложке. Затем чипы гибридизуют с интересующим меченым зондом кДНК и анализируют.

В настоящее время используется несколько различных технических вариантов этого основного принципа [17] (таблица 2).

Таблица 2 – Технические подходы к мониторингу экспрессии генов с использованием технологии генных массивов

Table 2 – Technical approaches to gene expression monitoring using gene array technology

| Подложка | Массив ДНК | Метод, используемый для массива ДНК | Метка зонда | Система детекции |
|---|---|---|---|---|
| Нитроцеллюлоза | кДНК, полученная методом ПЦР (300–2000 п.о.) | Фотолитография (синтез полинуклеотидов под воздействием УФ-излучения на чипе) | Радиоактив ное вещество | Фосфовизуализация для радиоактивной маркировки |
| Стеклянная подложка | Олигонуклеотиды (20–50 п.о.) | Механическое разметка сетки (высокоточные методы струйной печати или напыления) | Флуоресцентные красители | Лазерное возбуждение флуоресцентных молекул, встроенных в мишень нуклеиновой кислоты |

Стандартные этапы эксперимента включают следующие (рисунок 5):

• подготовка проб и выделение мРНК. мРНК выделяют из тканей, используя стандартные методы. При использовании клеточных культур, получаемый материал является достаточно гомогенным, тогда как биологический материал, получаемый от пациентов, следует предварительно гомогенизировать.

• обратная транскрипция и мечение кДНК с использованием различных реагентов, таких как радиоактивные или флуоресцентные вещества. На

этом этапе также можно использовать меченую РНК.

• гибридизация с микрочипом. Меченая нуклеиновая кислота гибридизуется с массивом ДНК с использованием протоколов, оптимизированных для конкретной системы генных чипов. Можно использовать один зонд или два зонда, меченных разными красителями.

• визуализация. После промывки связанные зонды детектируют с помощью инструментов визуализации, которые зависят от метода мечения.

• анализ данных. Важным шагом во всей процедуре является соответствующий анализ полученных данных. Это включает в себя нормализацию для нивелирования различий в выборке, сбор необработанных данных, выбор выходного формата и кластерный анализ.

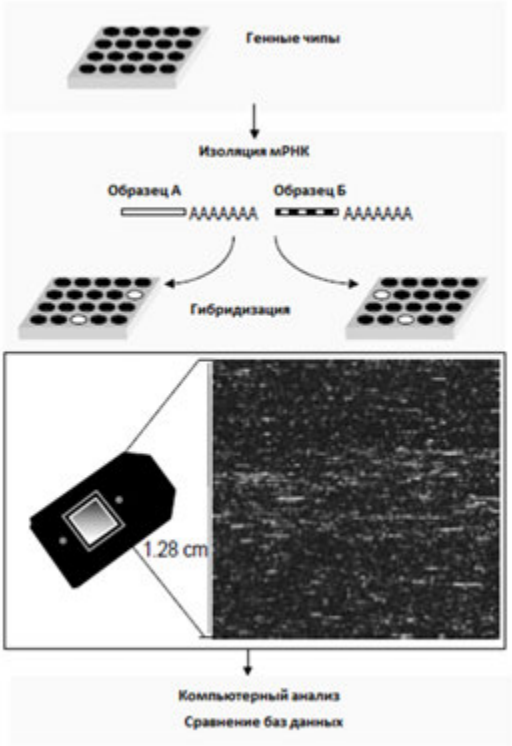



Рисунок 5 – Технология микрочипов

Figure 5 – Microchip technology

На конечном этапе, данные необходимо интегрировать с результатами других систематических подходов. Решающее значение для успеха всего эксперимента имеет анализ созданных данных и создание интерактивной виртуальной карты, связывающей различные аспекты основного биологического процесса (например, фенотип, экспрессия генов и другие категории), которые доступны с помощью компьютеризированных подходов [16, 18].

Таким образом, все вышеописанные технологии молекулярного анализа в настоящее время широко используются для исследования профилей экспрессии генов, участвующих в развитии различных заболеваний. Кроме того, скрининговые исследования экспрессии генов также можно использовать для тестирования лекарственных средств и токсикологических целей [19], для анализа метаболических путей, а также для составления молекулярных профилей заболеваний [20].

Кроме выявления дифференциально экспрессируемых генов, генные чипы часто используются для изучения нормальных клеток и клеток муковисцидоза для оценки клеточного ответа на лекарственные средства [21]. Данный подход проводится на клеточных культурах и предшествует экспериментам на животных для конечного тестирования новых терапевтических средств.

Еще одним применением генных чипов является крупномасштабный анализ маркеров ДНК, так называемых однонуклеотидных полиморфизмов (SNP). Быстрое обнаружение SNP с помощью технологии массивов облегчает картирование генов заболеваний [22] для дальнейшей характеристики геномов.

*Протеомика.* В результате множества геномных проектов, как текущих, так и завершенных, огромный объем данных в настоящее время доступен в ряде общедоступных и коммерческих баз данных. Хотя проекты секвенирования будут продолжаться, задача открытий смещается от генерации новых данных о последовательностях к идентификации и пониманию генных продуктов и их функций. Для решения этих и других проблем эффективная интеграция и интерпретация полученных данных стала одной из важнейших задач биоинформатики.

Биоинформатика – это применение современных средств информатики для интерпретации и управления биологическими данными. Данное направление используется для установления новых связей между профилями генной экспрессии на уровне транскриптов (т.е. геномику) с другими систематическими подходами. Наиболее известной методологией, помимо геномики, является протеомика, которая занимается крупномасштабным анализом белков [17, 23]. Подход в этой области включает микрохарактеризацию белков для крупномасштабной идентификации белков и их посттрансляционных модификаций. Протеомика сравнивает уровни белка в разных типах клеток или при различных заболеваниях, а также используется для анализа функционального потенциала посредством исследования межбелковых взаимодействий. Основные методы, применяемые в протеомике, включают двумерный гель-электрофорез [24], белковые чипы

и аффинные метки с изотопным кодированием [25], фаговый дисплей [26] и масс-спектроскопию [27].

## Заключение

Современная наука обладает широким арсеналом молекулярных методов как диагностической (профили экспрессии генов, установление генов-кандидатов различных заболеваний, анализ мутаций и т.д.), так и терапевтической (фармакогенетика, идентификация генов-мишеней фармакотерапии и др.) направленности. При этом успешное применение данных подходов во многом зависит от методов сбора, анализа и управления данными, полноты формирования общедоступных баз данных. Благодаря успешной реализации проекта «Геном человека» прогнозирование рисков развития различных заболеваний, ранняя диагностика патологических процессов, улучшение качества проводимого лечения посредством персонификации терапии и т.д. являются в настоящее время «рутинной» практикой. Тем не менее, всегда есть вершины, к которым необходимо стремиться – будущее как фундаментальной, так и прикладной науки за геномикой и протеомикой, что позволит достичь дальнейшего прогресса в области молекулярной медицины.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список использованных источников


1. Initial sequencing and analysis of the human genome / E. S. Lander, L. M. Linton, B. Birren [et al.] // Nature. – 2001. – Vol. 409. – P. 860-921. DOI: 10.1038/35057062.
2. The sequence of the human genome / J. C. Venter, M. D. Adams, E. W. Myers [et al.] // Science. – 2001. – Vol. 291. – P. 1304–1351. DOI: 10.1126/science.1058040.
3. Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project / M. D. Adams, J. M. Kelley, J. D. Gocayne [et al.] // Science. – 1991. – Vol. 252. – P. 1651-1656. DOI:10.1126/science.2047873.
4. Vukmirovic, O. G., Tilghman, S.M. Exploring genome space / O. G. Vukmirovic, S .M. Tilghman // Nature. – 2000. – Vol. 405. – P. 820–822. doi.org/10.1038/35015690.
5. Identification of Differentially Expressed Genes in Cervical Cancer Patients by Comparative Transcriptome Analysis / S. D. Annapurna, D. Pasumarthi, A. Pasha [et al.] // Biomed Res Int. – 2021. doi: 10.1155/2021/8810074.
6. Subtractive proteomic analysis of antigenic extracellular proteins and design a multi-epitope vaccine against Staphylococcus aureus / V. Solanki, M. Tiwari, V. Tiwari // Microbiol Immunol. – 2021. – Vol. 65, № 8. – P. 302–316. doi: 10.1111/1348-0421.12870.
7. New DNA-hydrolyzing DNAs isolated from an ssDNA library carrying a terminal hybridization stem / C. Zhang, Q. Li, T. Xu [et al.] // Nucleic Acids Res. – 2021. – Vol. 49, № 11. – P. 6364–6374. doi: 10.1093/nar/gkab439.
8. Tutorial: Guidelines for Single-Cell RT-qPCR / D. Zucha, M. Kubista, L. Valihrach // Cells. – 2021. – Vol. 10. – P. 2607. doi: 10.3390/cells10102607.
9. Design of targeted primers based on 16S rRNA sequences in meta-transcriptomic datasets and identification of a novel taxonomic group in the Asgard archaea / R. Y. Zhang, B. Zou, Y. W. Yan [et al.] // BMC Microbiol. – 2020. – Vol. 20. – P. 25. doi: 10.1186/s12866-020-1707-0.
10. Molecular identification and biological characterization of Cryptosporidium muris from camels (Camelus bactrianus) in China / L. Wang, L. Cao, S. Zheng [et al.] // Parasit Vectors. – 2021. – Vol. 14. – P. 365. doi: 10.1186/s13071-021-04862-8.
11. The secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in pathophysiology of non-communicable diseases: Evidence from experimental studies to clinical applications / P. Mongkolpathumrat, F. Pikwong, C. Phutiyothin [et al.] // Heliyon. – 2024. – Vol. 10. – P. 24550. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e24550.
12. Serial Analysis of Gene Mutations and Gene Expression during First-Line Chemotherapy against Metastatic Colorectal Cancer: Identification of Potentially Actionable Targets within the Multicenter Prospective Biomarker Study REVEAL / J. Kumbrink, L. Bohlmann, S. Mamlouk [et al.] // Cancers (Basel). – 2022. – Vol. 14. – P. 3631. doi: 10.3390/cancers14153631.
13. Serial co-expression analysis of host factors from SARS-CoV viruses highly converges with former high-throughput screenings and proposes key regulators / A. J. Pérez-Pulido, G. Asencio-Cortés, A. M. Brokate-Llanos [et al.] // Brief Bioinform. – 2021. – Vol. 22. – P. 1038-1052. doi: 10.1093/bib/bbaa419.
14. Yan, S. Gene-Based Association Tests Using New Polygenic Risk Scores and Incorporating Gene Expression Data / S. Yan, Q. Sha, S. Zhang // Genes (Basel). – 2022. – Vol. 13. – P. 1120. doi: 10.3390/genes13071120.
15. Colbran, L.L. A gene-level test for directional selection on gene expression / L. L. Colbran, F. C. Ramos-Almodovar, I. Mathieson // Genetics. – 2023. – Vol. 224. – P. 060. doi: 10.1093/genetics/iyad060.
16. GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis / Z. Tang, B. Kang, C. Li [et al.] // Nucleic Acids Res. – 2019. – Vol. 47. – P. 556-560. doi: 10.1093/nar/gkz430.
17. Mapping the proteo-genomic convergence of human diseases / M. Pietzner, E. Wheeler, J. Carrasco-Zanini [et al.] // Science. – 2021. – Vol. 374. – P. 1541. doi: 10.1126/science.abj1541.
18. Genome-Wide Analysis of SIMILAR TO RCD ONE (SRO) Family Revealed Their Roles in Abiotic Stress in Poplar / Y. Wang, R. Wang, Y. Yu [et al.] // Int J Mol Sci. – 2023. – Vol. 24. – P. 4146. doi: 10.3390/ijms24044146.
19. Moving Pharmacogenetics Into Practice: It's All About the Evidence! / J. A. Luzum, N. Petry, A. K. Taylor [et al.] // Clin Pharmacol Ther. – 2021. – Vol. 110. – P. 649-661. doi: 10.1002/cpt.2327.
20. CAGEE: Computational Analysis of Gene Expression Evolution / J. Bertram, B. Fulton, J. P. Tourigny [et al.] // Mol Biol Evol. – 2023. – Vol. 40. – P. 106. doi: 10.1093/molbev/msad106.
21. Zhou, Y. Population pharmacogenomics: an update on ethnogeographic differences and opportunities for precision public health / Y. Zhou, V. M. Lauschke // Hum Genet. – 2022. – Vol. 141. – P. 1113–1136. doi: 10.1007/s00439-021-02385-x.
22. Large-scale sequencing identifies multiple genes and rare variants associated with Crohn's disease susceptibility / A. Sazonovs, C. R. Stevens, G. R. Venkataraman [et al.] // Nat Genet. – 2022. – Vol. 54. – P. 1275-1283. doi: 10.1038/s41588-022-01156-2.

23. A Quantitative Proteome Map of the Human Body / L. Jiang, M. Wang, S. Lin [et al.] // Cell. – 2020. – Vol. 183. – P. 269–283. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.036.
24. Kim, S. I. Proteomic Analysis of Microorganisms / S. I. Kim // Int J Mol Sci. – 2022. – Vol. 23. – P. 4329. doi: 10.3390/ijms23084329.
25. Kisty, E.A. Redox proteomics combined with proximity labeling enables monitoring of localized cysteine oxidation in cells / E. A. Kisty, J. A. Falco, E. Weerapana // Cell Chem Biol. – 2023. – Vol. 30. – P. 321–336. doi: 10.1016/j.chembiol.2023.02.006.
26. Zhang, Y. Evolution of phage display libraries for therapeutic antibody discovery / Y. Zhang // MAbs. – 2023. – Vol. 15. – P. 2213793. doi: 10.1080/19420862.2023.2213793.
27. Savinov, A. Mapping functional regions of essential bacterial proteins with dominant-negative protein fragments / A. Savinov, A. Fernandez, S. Fields // Proc Natl Acad Sci USA. – 2022. – Vol. 119. – P. 2200124119. doi: 10.1073/pnas.2200124119.

## References

1 Lander ES, Linton LM, Birren B. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.* 2001; 409: 860–921. DOI: 10.1038/35057062.
2 Venter JC, Adams MD, Myers EW. et al. The sequence of the human genome. *Science*. 2001; 291: 1304–1351. DOI: 10.1126/science.1058040.
3 Adams MD, Kelley JM, Gocayne JD. Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project. *Science.* 1991; 252: 1651–1656. DOI:10.1126/science.2047873.
4 Vukmirovic OG, Tilghman SM. Exploring genome space. *Nature*. 2000; 405: 820–822. doi.org/10.1038/35015690.
5 Annapurna SD, Pasumarthi D, Pasha A, Doneti R, Sheela B, Botlagunta M, Pawar SC. Identification of Differentially Expressed Genes in Cervical Cancer Patients by Comparative Transcriptome Analysis. *Biomed Res Int*. 2021 Mar 19;2021:8810074. doi: 10.1155/2021/8810074.
6 Solanki V, Tiwari M, Tiwari V. Subtractive proteomic analysis of antigenic extracellular proteins and design a multi-epitope vaccine against Staphylococcus aureus. *Microbiol Immunol*. 2021 Aug;65(8):302-316. doi: 10.1111/1348-0421.12870.
7 Zhang C, Li Q, Xu T, Li W, He Y, Gu H. New DNA-hydrolyzing DNAs isolated from an ssDNA library carrying a terminal hybridization stem. *Nucleic Acids Res*. 2021 Jun 21;49(11):6364-6374. doi: 10.1093/nar/gkab439.
8 Zucha D, Kubista M, Valihrach L. Tutorial: Guidelines for Single-Cell RT-qPCR. *Cells.* 2021 Sep 30;10(10):2607. doi: 10.3390/cells10102607.
9 Zhang RY, Zou B, Yan YW, Jeon CO, Li M, Cai M, Quan ZX. Design of targeted primers based on 16S rRNA sequences in meta-transcriptomic datasets and identification of a novel taxonomic group in the Asgard archaea. *BMC Microbiol*. 2020 Feb 3;20(1):25. doi: 10.1186/s12866-020-1707-0.
10 Wang L, Cao L, Zheng S, Chang Y, Zhang K, Zhang S, Zhang L. Molecular identification and biological characterization of Cryptosporidium muris from camels (Camelus bactrianus) in China. *Parasit Vectors*. 2021 Jul 15;14(1):365. doi: 10.1186/s13071-021-04862-8.
11 Mongkolpathumrat P, Pikwong F, Phutiyothin C, Srisopar O, Chouyratchakarn W, Unnajak S, Nernpermpisooth N. The secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in pathophysiology of non-communicable diseases: Evidence from experimental studies to clinical applications. *Heliyon*. 2024 Jan 17;10(2):e24550. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e24550.
12 Kumbrink J, Bohlmann L, Mamlouk S, Redmer T, Peilstöcker D, Li P, Lorenzen S. Serial Analysis of Gene Mutations and Gene Expression during First-Line Chemotherapy against Metastatic Colorectal Cancer: Identification of Potentially Actionable Targets within the Multicenter Prospective Biomarker Study REVEAL. *Cancers (Basel).* 2022 Jul 26;14(15):3631. doi: 10.3390/cancers14153631.
13 Pérez-Pulido AJ, Asencio-Cortés G, Brokate-Llanos AM, Brea-Calvo G, Rodríguez-Griñolo R, Garzón A, Muñoz MJ. Serial co-expression analysis of host factors from SARS-CoV viruses highly converges with former high-throughput screenings and proposes key regulators. *Brief Bioinform*. 2021 Mar 22;22(2):1038-1052. doi: 10.1093/bib/bbaa419.
14 Yan S, Sha Q, Zhang S. Gene-Based Association Tests Using New Polygenic Risk Scores and Incorporating Gene Expression Data. *Genes (Basel).* 2022 Jun 22;13(7):1120. doi: 10.3390/genes13071120.
15 Colbran LL, Ramos-Almodovar FC, Mathieson I. A gene-level test for directional selection on gene expression. *Genetics.* 2023 May 26;224(2):iyad060. doi: 10.1093/genetics/iyad060.
16 Tang Z, Kang B, Li C, Chen T, Zhang Z. GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis. *Nucleic Acids Res.* 2019 Jul 2;47(W1):W556-W560. doi: 10.1093/nar/gkz430.
17 Pietzner M, Wheeler E, Carrasco-Zanini J, Cortes A, Koprulu M, Wörheide MA, Oerton E. Mapping the proteo-genomic convergence of human diseases. *Science.* 2021 Nov 12;374(6569):eabj1541. doi: 10.1126/science.abj1541.
18 Wang Y, Wang R, Yu Y, Gu Y, Wang S, Liao S, Xu X. Genome-Wide Analysis of SIMILAR TO RCD ONE (SRO) Family Revealed Their Roles in Abiotic Stress in Poplar. *Int J Mol Sci.* 2023 Feb 19;24(4):4146. doi: 10.3390/ijms24044146.
19 Luzum JA, Petry N, Taylor AK, Van Driest SL, Dunnenberger HM, Cavallari LH. Moving Pharmacogenetics Into Practice: It's All About the Evidence! *Clin Pharmacol Ther.* 2021 Sep;110(3):649-661. doi: 10.1002/cpt.2327.
20 Bertram J, Fulton B, Tourigny JP, Peña-Garcia Y, Moyle LC, Hahn MW. CAGEE: Computational Analysis of Gene Expression Evolution. *Mol Biol Evol.* 2023 May 2;40(5):msad106. doi: 10.1093/molbev/msad106.
21 Zhou Y, Lauschke V.M. Population pharmacogenomics: an update on ethnogeographic differences and opportunities for precision public health. *Hum Genet.* 2022 Jun;141(6):1113-1136. doi: 10.1007/s00439-021-02385-x.
22 Sazonovs A, Stevens CR, Venkataraman GR, Yuan K, Avila B, Abreu MT, Ahmad T. Large-scale sequencing identifies multiple genes and rare variants associated with Crohn's disease susceptibility. *Nat Genet.* 2022 Sep;54(9):1275-1283. doi: 10.1038/s41588-022-01156-2.
23 Jiang L, Wang M, Lin S, Jian R, Li X, Chan J, Dong G. A Quantitative Proteome Map of the Human Body. *Cell.* 2020 Oct 1;183(1):269-283.e19. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.036.
24 Kim SI. Proteomic Analysis of Microorganisms. *Int J Mol Sci.* 2022 Apr 14;23(8):4329. doi: 10.3390/ijms23084329.
25 Kisty EA, Falco JA, Weerapana E. Redox proteomics combined with proximity labeling enables monitoring of localized cysteine oxidation in cells. *Cell Chem Biol.* 2023 Mar 16;30(3):321-336.e6. doi: 10.1016/j.chembiol.2023.02.006.
26 Zhang Y. Evolution of phage display libraries for therapeutic antibody discovery. *MAbs.* 2023 Jan-Dec;15(1):2213793. doi: 10.1080/19420862.2023.2213793.
27 Savinov A, Fernandez A, Fields S. Mapping functional regions of essential bacterial proteins with dominant-negative protein fragments. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2022 Jun 28;119(26):e2200124119. doi: 10.1073/pnas.2200124119.

# DETERMINATION OF GENE EXPRESSION PROFILES: A MODERN MOLECULAR TOOL FOR PREDICTORS IDENTIFICATION AND DATABASES CREATION

*O. S. Poluyan, S. A. Kostiuk*

*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

**Background.** Currently, the human genome has been completely sequenced, which is actively used to develop innovative methods and tools to study the functions of genes in health and in various diseases. Molecular genetic methods of diseases diagnosing for studying gene expression profiles specific to various cell types are currently widely used in planning and performing fundamental research that underlies the development of new diagnostic algorithms for optimizing pharmacotherapy.

**Objective.** To conduct the analytical review of the literature of modern molecular genetic methods for detecting and isolating genes used in relation to all aspects of human diseases including fundamental and applied medical science.

**Results.** Modern science has a wide arsenal of molecular methods for both diagnostic (gene expression profiling, identification of candidate genes for various diseases, mutation analysis, etc.) and therapeutic (pharmacogenetics, identification of target genes for pharmacotherapy, etc.) applications.

**Conclusion.** This scoping review reveals new opportunities of practical application of the results of previous genomic studies based on the data obtained from other systematic methods, such as proteomics, which in turn allows to provide clear molecular characterization of diseases, disease stages, tissues, or cell types. The authors have presented the latest developments in the field of gene chip technology and the basic principles of functional genomics.

**Keywords:** differential display, gene expression, genomics, microarray chip analysis, proteomics.

**For citation:** Poluyan OS, Kostiuk SA. Determination of gene expression profiles: a modern molecular tool for predictors identification and databases creation. *Biochemistry and molecular biology.* 2026, vol. 5, no. 1(8). pp. 109–117. (in Russian)

*Поступила 09.04.2026*

УДК 612.127.2:[612.123:577.175.7]-092.9

# ЖИРОВАЯ ТКАНЬ И НАРУШЕНИЯ УГЛЕВОДНОГО МЕТАБОЛИЗМА

*Д. Ш. О. Аль-Джебур[1], В. В. Зинчук[2], Н. В. Глуткина[2], М. В. Подопригора[2]*

*[1] Гродненский государственный университет им. Янки Купалы, Гродно, Республика Беларусь;*

*[2] Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь*

**Введение.** В развитии нарушений метаболизма углеводов, ведущих к избыточной массе тела, отводят существенную роль особому классу сигнальных веществ – адипокинам, которые образуются преимущественно в жировой ткани.

**Цель исследования.** Провести анализ собственных и литературных данных о значении жировой ткани в развитии нарушений углеводного метаболизма.

**Материалы и методы.** Проведен системный анализ научных публикаций с использованием баз данных PubMed, Scopus, Web of Science и Cyberleninka с учетом собственных исследований о значении жировой ткани в развитии нарушений углеводного метаболизма.

**Результаты.** Гормон аспросин, который образуется в жировой ткани, увеличивает аппетит и потребление пищи, усиливает выработку и высвобождение глюкозы в поджелудочной железе, снижая секрецию инсулина. Изменения содержания газотрансмиттеров монооксида азота и сероводорода и аспросина при инсулинорезистентности и сахарной диабете 2-го типа при избыточной массе тела и ожирении I степени имеют значения для формирования кислородсвязующих свойств крови и развития возникающего метаболического дисбаланса. Предлагается использовать определение аспросина и газотрансмиттеров монооксида азота и сероводорода в крови для оценки нарушений метаболизма углеводов и избыточной массы тела.

**Заключение.** Применение данных подходов обладает практической значимостью и перспективностью для здравоохранения для направленной коррекции возникающих нарушений.

**Ключевые слова:** аспросин, жировая клетчатка, углеводы, избыточная масса, кровь, кислород, газотрансмиттер.

**Для цитирования:** Жировая ткань и нарушения углеводного метаболизма / Д. Ш. О. Аль-Джебур, В. В. Зинчук, Н. В. Глуткина [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2026. – Т. 5, № 1(8). – С. 118–124.

## Введение

Нарушения углеводного обмена, и прежде всего, сахарный диабет 2-го типа (СД2Т), являются причиной глобальной эпидемии затрагивающей все уровни кровообращения: от микрососудистых повреждений головного мозга, сетчатки, почек и сердца до макрососудистых (атеросклероз, инсульт и сердечная недостаточность), демонстрируя, что они являются не просто следствием гипергликемии, а результатом системных метаболических нарушений [1, 2].

**Цель исследования.** Провести анализ собственных и литературных данных о значении жировой ткани в развитии нарушений углеводного метаболизма.

## Материалы и методы

Проведен системный анализ научных публикаций с использованием баз данных PubMed, Scopus, Web of Science и Cyberleninka с учетом собственных исследований о значении жировой ткани в развитии нарушений углеводного метаболизма.

## Результаты и их обсуждение

В жировой ткани происходит синтез существенного количества соединений, таких как адипокины, фактор некроза опухоли-α, интерлейкин-6, белок хемоаттрактант моноцитов-1, белки ренин-ангиотензиновой системы. В развитии метаболических нарушений, ведущих к избыточной массе тела, отводят существенную роль жировой ткани, которая представляет собой физиологически активный эндокринный орган, продуцирующий класс особых сигнальных веществ – адипокинов, дисбаланс образования которых в висцеральной жировой ткани сопряжен с повышенным риском развития кардиометаболических наруше-

ний [3, 4]. Оценка роли различных адипокинов, в частности, недавно обнаруженного гормона аспросина [5] в развитии ожирения и сопутствующих ему нарушений является важной для проведения различных мероприятий по диагностике и профилактике эндокринной и сердечно-сосудистой патологии.

Аспросин через различные системные механизмы влияет на многие физиологические процессы (рисунок). Данный гормон активирует нейроны агути-родственного пептида (AgRP) в дугообразном ядре гипоталамуса посредством связывания с рецептором протеинтирозинфосфатазы, увеличивая аппетит и потребление пищи, что реализуется за счет активации кальций-зависимых калиевых каналов; в печени связывается с OLFR734, усиливая выработку и высвобождение глюкозы через CREB-путь (цАМФ response element-binding protein); в β-клетках поджелудочной железы связывается с Toll-подобным рецептором 4, способствуя воспалению и апоптозу этих клеток и снижая секрецию инсулина посредством стимуляции активности Jun-киназы; в стромальных клетках сердечной мышечной ткани предотвращает апоптоз этих клеток, вызванных окислительным стрессом за счет активации сигнального киназного пути ERK1/2-СОД2; в скелетных мышцах активирует PKCδ/SERCA2-опосредованные пути стресса/воспаления эндоплазматического ретикулума, способствуя развитию ИР; а также через систему газотрансмиттеров (ГТ) влияет на кислородсвязующие свойства крови [6, 7].

Рисунок – Центральные и периферические механизмы гормона аспросина

Figure – Central and peripheral mechanisms of the hormone asprosin

Жировая ткань играет важную роль в поддержании нормального сосудистого тонуса, что делает ее ключевым элементом в профилактике сердечно-сосудистых заболеваний, в физиологических условиях синтезируемые ею цитокины способствуют снижению окислительного стресса, однако при метаболических нарушениях, таких как, например, ожирение или инсулинорезистентность (ИР) происходит ее дисфункция, что приводит к нарушению данной регуляторной системы [8]. ГТ монооксид азота и сероводород играют ключевую роль в метаболических процессах, демонстрируя двойственные эффекты: могут регулировать экспрессию как анти-, так и проапоптотических генов через прямую модификацию ДНК и РНК или через более сложные эпигенетические механизмы, реализующиеся через активацию или ингибирование факторов транскрипции [9].

Увеличение концентрации аспросина у здоровых лиц с повышенным значением индекса массы тела и ожирением I степени обуславливает снижение парциального давления кислорода и степени оксигенации венозной крови и рост сродства гемоглобина к кислороду, увеличение ГТ монооксида азота и снижение сероводорода [10]. В наших исследованиях выявлено, что у пациентов с ИР

при повышенном содержании аспросина отмечается ухудшение оксигенации крови, проявление которой более выражено с увеличением концентрации данного гормона, а также увеличивается концентрация ГТ монооксида азота и снижается уровень сероводорода [11]. У этих пациентов происходит рост сродства гемоглобина к кислороду при нормальных значениях индекса массы тела, а при избыточной массе тела и ожирении I степени – его уменьшение, что отражает поломку компенсаторных механизмов транспорта кислорода кровью.

Нарушения углеводного обмена являются пусковым механизмом в патогенезе СД2Т, выступая самостоятельным фактором высокого сердечно-сосудистого риска, усугубляют воздействие повышенного уровня глюкозы крови на эндотелий сосудов, в связи с чем поиск предикторов, которые вовлечены в каскад метаболических нарушений, позволит проводить первичную и вторичную профилактику на более ранних этапах развития заболевания, снижая риск возникновения кардиоваскулярных осложнений дисгликемии [12, 13]. Определение аспросина позволяет оценить выраженность нарушений углеводного обмена, а именно, ИР, что важно для совершенствования подходов направленной терапии и коррекции данных нарушений [14].

При СД2Т при повышенном содержании аспросина отмечается у исследуемых с нормальной массой тела рост сродства гемоглобина к кислороду, наиболее значимой при избыточной массе тела и ожирении I степени, а также увеличение концентрации ГТ монооксида азота и снижение уровня сероводорода, что имеет значение для развития возникающей дисфункция жировой ткани [6]. Установленные изменения состояния системы ГТ (монооксид азота и сероводород) при нарушениях углеводного обмена с различной концентрацией аспросина важны для формирования механизмов транспорта кислорода кровью [11, 15]. Вклад аспросина в регуляцию кислородсвязывающих свойств крови имеет значение для формирования кислородного обеспечения и адаптационных резервов у лиц с метаболическими нарушениями.

Можно заключить, что ГТ NO больше склонен оказывать проапоптотический эффект, связанный с развитием окислительного стресса и повышением уровня белков, индуцирующих апоптоз, а $H_2S$, в свою очередь, может нивелировать эти негативные эффекты, снижая уровень свободных радикалов и ингибируя активность апоптотических белков через механизмы персульфидирования [16]. Выявленные изменения содержания данных ГТ и аспросина при СД2Т при избыточной массе тела и ожирении I степени имеют значения для формирования кислородсвязующих свойств крови и развития возникающего метаболического дисбаланса [6].

Оценка нарушений инсулиновой сигнализации на уровне генетического аппарата, включая субстрат инсулинового рецептора (IRS)1, IRS2, регуляторную субъединицу фосфатидилинозитол-3-киназы (PIK3R1) и транспортер глюкозы типа 4 (GLUT4) при дезадаптивном ремоделировании и сердечной недостаточности, позволяет рассматривать ИР как системное метаболическое состояние, что представляет собой основу для создания многоцелевой кардиозащитной стратегии при СД2Т [1].

Известно, в силу своей свободнорадикальной природы ГТ NO может нарушать работу антиоксидантной системы и приводить к нитрозильному стрессу, который затем ведет к активации свободнорадикальных процессов, истощению пула АТФ, нарушению функции $Ca^{2+}$-каналов, деструкции цитоскелета, митохондриальной дисфункции, что в конечном итоге может запустить процессы апоптоза, а также гиперпродукцию NO, $Ca^{2+}$-эксайтотоксичность, в результате чего происходит $Ca^{2+}$-перегрузка клетки, увеличение проницаемости внешней митохондриальной мембраны и выход в цитоплазму цитохрома С и факторов, реализующих апоптоз [16].

Нами было проанализировано у лиц мужского пола с различной массой тела при метаболических нарушениях, а именно, ИР с нормальной и избыточной массой тела и ожирением I степени содержание ГТ монооксида азота и сероводорода [17]. На основании полученных данных предложено оценивать метаболические нарушения по специальному критерию, который уменьшается по мере увеличения степени метаболических нарушений. Данный подход к определению системных метаболических нарушений, основанный на определении ГТ монооксида азота и сероводорода в крови, может быть использован для оценки их степени выраженности.

Жировая ткань в организме является важным эндокринным регулятором и вовлечена в координацию многих нейроэндокринных и иммунных процессов, включая метаболизм углеводов, а ее избыток может приводить к нарушению различных метаболических путей [18]. В связи с высокой востребованностью оценки жироотложения при решении самых разных медицинских задач предпринимались многочисленные попытки использовать наиболее доступные антропометрические параметры: рост, вес и длины обхватов талии и

бедер [19]. Принятая ВОЗ классификация значений индекса массы тела для взрослых, определяющая интервалы пониженных, нормальных и повышенных значений массы тела, повсеместно применяется, но результаты, полученные на популяционном уровне исследований, не всегда объективны для индивидуальных оценок, возможны ошибки при постановке диагноза обусловленной, тем, что при одном и том же значении индекса массы тела соотношение между составляющими массы тела может варьироваться в достаточно широких пределах.

Метаболические и циркуляторные факторы (аспросин и ингибирующий цитокин-1 макрофагов), включая окружность талии, уровень ферритина в сыворотке крови, витамин D [25(OH)D], триглицериды и систолическое артериальное давление, влияют на регуляцию аппетита у пожилых пациентов с СД2Т [20], и в конечном итоге, на массу тела. Уровень гормона аспросина положительно коррелирует с величиной жировой массы, индексом ИР, соотношением триглицеридов, глюкозы и окружностью талии, https://www.google.com/search?q=%D0%90%D0%BB%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%BD%D0%B0%D0%BC%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D1%82%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D1%84%D0%B5%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%B0&oq=%D0%B0%D0%BB%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%BD%D1%82%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D1%84%D0%BC%D0%B8%D0%BD%D0%B0%D0%B7%D0%BE%D0%B9&gs_lcrp=EgZjaHJvbWUyBggAEEUYOdIBBzcxMmowajeoAgCwAgA&sourceid=chrome&ie=UTF-8&mstk=AUtExfA7apnfMNiziUg02wZojEXV6-eH0QVuOLDyrO02f3JTNf-8Ppzvfce6ILETINcQexQ-49om1EFMuMd6-qxLxZF74jEjP40IjkF3CuLf-SV3ZXtsWSFb80SHFBzCso-mxDonYXmYv6HOjjpij_AzQ7Jyf-uGJrwa65CwCcg8yor4TVs&csui=3&ved=2ahUKEwjin4-jjZqTAxWRJRAIHVEcKA8QgK4QegQIARAB аланинтрансаминазой и С-реактивным белком, и отрицательно с мышечной массой, общим количеством воды в организме, скоростью метаболизма в состоянии покоя и индексом Matsuda, что указывает на перспективность его определения как биомаркера и потенциальной терапевтической мишени при метаболических заболеваниях, связанных с ожирением [21]. Аспросин имеет важное клиническое значение в лечении COVID-19, его повышенный уровень положительно коррелирует с уровнем фибриногена и отражает степень как воспалительного, так и метаболического стресса, тем самым его определение может дополнять существующие биомаркеры по определению необходимости своевременной терапии [22].

Известен способ оценки доли жировой массы тела мужчин-механизаторов сельского хозяйства [23], в котором определяют индекс массы тела исследуемого, а также возраст, окружность талии и долю жировой массы тела с учетом специальных коэффициентов. Однако он имеет определенные недостатки: трудоемкость, субъективность, применим только к механизаторам сельского хозяйства.

Нами у исследуемых пациентов с ИР выявлено, что концентрация аспросина с избыточной массой тела имеет более высокое значение, а при ожирении I степени его величина была еще выше. В связи с этим предлагается критерий оценки избыточной массы тела, основанный на определении индекса массы тела и содержании аспросина в плазме крови с последующим расчетом его величины по специальной формуле [24]. Согласно проведенным расчетам по определению этого критерия по предлагаемой методике были получены его значения, которые более полно характеризуют степень величины избыточной массы тела.

Высокий риск осложнений и смертности при ожирении и его сочетание с различными патологиями связан с полифункциональностью жировой ткани. Наиболее значимой для метаболического гомеостаза является ее секреторная функция, так как синтез метаболически активных соединений, обладающих метаболическим, морфогенетическим и корригирующим воздействием практически на все системы организма, а нарушение их образования может быть ведущим фактором в альтерации метаболизма липидов и глюкозы, приводящим к развитию гиперлипидемии, дислипидемии, изменению толерантности к глюкозе, гипергликемии, ИР [18].

## Заключение

Таким образом, анализ литературных и собственных данных обосновывает новые подходы к оценке избыточной массы тела, основанные на определении содержания аспросина и ГТ монооксида азота и сероводорода, которые могут быть использованы для оценки ее степени. Их применение обладает практической значимостью и перспективностью для здравоохранения, что позволит совершенствовать подходы направленной коррекции нарушений метаболизма, сопровождающихся избыточной массой тела.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Список использованных источников**

1. Mao, H. Editorial: New insights on vascular and metabolic diabetic complications / H. Mao, J. D. Imig, R. Espinosa-Tanguma // Front. Physiol. – 2026. Vol. 17. – 1784609. doi: 10.3389/fphys.2026.1784609
2. Glycaemic control remains central in type 2 diabetes mellitus management: key learnings from the latest International Diabetes Federation guidelines / J. C. N. Chan, C. Deerochanawong, K. Khunti [et al.] // Diabetes Res Clin Pract. – 2026. – Vol. 234. – 113173. doi: 10.1016/j.diabres.2026.113173
3. Шишкин, А. Н. Эндотелиальная дисфункция у больных с ожирением / А. Н. Шишкин, А. И. Князева // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2022. – Т. 21, № 3. – С. 4–11.
4. Austin, G. Signaling architecture of the glucagon-like peptide-1 receptor / G. Austin, A. Tomas // J Clin Invest. – 2026. – Vol. 136, № 2. – P.47-52. doi: 10.1172/JCI194752.
5. Asprosin, a fasting-induced glucogenic protein hormone / C. Romere, C. Duerrschmid, J. Bournat [et al.] // Cell. – 2016. – Vol. 165, № 3. – P. 566–579.
6. Zinchuk, V. V. Oxyren-dependent aspecs of asprosin action / V. V. Zinchuk, J. S. O Al-Jebur // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. – 2024. – Vol. 60, № 2. – P. 818–820.
7. Asprosin Levels in Adults with Type 2 Diabetes Mellitus and Diabetic Kidney Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis / J. Ristic, S. Kodalak, G. A. Peralta-Jiménez [et al.] // Diabetes Metab Syndr Obes. – 2025. – Vol. 18. – P. 2493–2506. doi: 10.2147/DMSO.S527579
8. Логинов, Н. А. Роль периваскулярной ткани в патогенезе ожирения / Н. А. Логинов, А. А. Драников, Д. А. Саргсян // Парадигма. – 2025. – № 3-1. – С. 3–14.
9. Родькин, С. В. Роль оксида азота и сероводорода в регуляции экспрессии про- и антиапоптотических генов при травмах центральной и периферической нервной системы / С. В. Родькин // Биологические мембраны. – 2025. – Т. 42, № 5. – С. 356–381.
10. Зинчук, В. В. Роль аспросина в регуляции механизмов транспорта кислорода кровью и системы газотрансмиттеров у мужчин с различным индексом массы тела / В. В. Зинчук, Д. Ш. О. Аль-Джебур, Н. В. Глуткина // Физиология человека. – 2023а. – Т. 49, № 4. – С. 101–107.
11. Зинчук, В. В. Кислородсвязывающие свойства крови при инсулинорезистентности с различным содержанием аспросина / В. В. Зинчук, Д. Ш. О. Аль-Джебур, Н. В. Глуткина // Биомедицинская химия. – 2023б. – Т. 69, № 2. – С. 133–139.
12. Ассоциации полиморфных вариантов гена eNOS с факторами кардиоваскулярного риска у пациентов с нарушениями углеводного обмена / Д. Н. Исакова, С. Н. Коломейчук, Е. А. Евгеньева [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2025. – Т. 180, № 9. – С. 351–356.
13. Bhatia, K. Obesity and type 2 diabetes as chronic inflammation: how does the cytokine evidence align? / K. Bhatia, V. K. Gupta, S. K. Upadhyay // Front Endocrinol (Lausanne). – 2026. – Vol. 17. – 1721206. doi: 10.3389/fendo.2026.1721206.
14. Способ определения индекса инсулинорезистентности / В. В. Зинчук, Д. Ш. О. Аль-Джебур, Н. В. Глуткина [и др.] // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2024. – Т. 23, № 1. – С. 136–141.
15. The Problem of Obesity and Asprosin / M. V. Podoprigora, J. S. O. Al-Jebour, V. V. Zinchuk // Acta Scientific Paediatrics. – 2024. – Vol. 7, №10. – P. 12–16.
16. Родькин, С. В. Роль оксида азота и сероводорода в гибели нейронов и глиальных клеток при нейродегенеративных процессах / С. В. Родькин, Ч. Д. Нвосу // Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. – 2023. – Т. 40, № 5. – С. 306–327.
17. Новый подход к определению системных метаболических нарушений / Н. В. Глуткина, М. В. Подопригова, Т. И. Литвинова [и др.] // Актуальные проблемы медицины: сборник материалов итоговой научно-практической конференции, 29 января 2026 г. / отв. ред. И. Г. Жук. – Гродно: ГрГМУ, 2026. – С. 80–82.
18. Новый аспект метаболических нарушений при ожирении: карбонильный стресс / А. С. Лесная, М. А. Даренская, Н. В. Семенова [и др.] // Сибирский научный медицинский журнал. – 2023. – Т. 43, № 6. – С. 24–33.
19. Роль распределения жировой ткани в организме у пациенток с метаболическим синдромом и гиперплазией эндометрия / Ю. Э. Доброхотова, И. Ю. Ильина, С. А. Хлынова [и др.] // Гинекология. – 2025. – Т. 27, № 2. – С. 129–133.
20. Metabolic appetite regulation in elderly patients with type 2 diabetes mellitus and the role of asprosin and MIC-1 / M. Bayrak, B. Karahan, Ö. A. Lazoğlu [et al.] // Aging Male. – 2025. – Vol. 28, № 1. – 2534563. doi: 10.1080/13685538.2025.2534563.
21. Associations between asprosin, insulin resistance, and oxidative stress in adults with obesity / M. Kościuszko, A. Buczyńska, E. Duraj [et al.] // Sci Rep. – 2025. – Vol. 15, № 1. – 40849.
22. Erdoğan, E. Serum asprosin levels as a potential prognostic biomarker in COVID-19: insights for future respiratory viral pandemics / E. Erdoğan, A. Yetişgen // BMC Infect Dis. – 2025. – 1809. doi: 10.1186/s12879-025-12227-0.
23. Способ оценки доли жировой массы тела при гигиенических исследованиях мужчин-механизаторов сельского хозяйства: пат. RU2535786C1 / Е. С. Буянов, А. В. Спирин, А. М. Старшов [и др.]. – Опубл. 20.12.2014. – 7 с.
24. Новый подход к определению избыточной массы тела / Д. Ш. О. Аль-Джебур, Н. В. Глуткина [и др.] // Кислород и свободные радикалы: сборник материалов республиканской научно-практической конференции с международным участием (19 мая 2026 г.) / под ред. проф. В. В. Зинчука. – Гродно: ГрГМУ, 2026. – С. 8–10.

**References**

1 Mao H, Imig JD, Espinosa-Tanguma R. Editorial: New insights on vascular and metabolic diabetic complications. *Front Physiol*. 2026 Jan;23;17:1784609. doi: 10.3389/fphys.2026.1784609

2 Chan JCN, Deerochanawong C, Khunti K, Hassanein M, Mohan V. Glycaemic control remains central in type 2 diabetes mellitus management: key learnings from the latest International Diabetes Federation guidelines. *Diabetes Res Clin Pract.* 2026 Apr;234:113173. doi: 10.1016/j.diabres.2026.113173

3 Shishkin AN, Kniazeva AI. Jendotelial'naja disfunkcija u bol'nyh s ozhireniem [Endothelial dysfunction in patients with obesity]. Regionarnoe krovoobrashhenie i mikrocirkuljacija [Regional blood circulation and microcirculation]. 2022;21(3):4-11. (In Russian). doi. org/10.24884/1682-6655-2022-21-3-4-11

4 Austin G, Tomas A. Signaling architecture of the glucagon-like peptide-1 receptor. *J Clin Invest*. 2026 Jan16;136(2):194752. doi: 10.1172/JCI194752

5 Romere C, Duerrschmid C, Bournat J, Constable P, Jain M, Xia F, Saha PK, Del Solar M, Zhu B, York B, Sarkar P,

Rendon DA, Gaber MW, LeMaire SA, Coselli JS, Milewicz DM, Sutton VR, Butte NF, Moore DD, Chopra AR. Asprosin, a Fasting-Induced Glucogenic Protein Hormone. *Cell*. 2016 Apr;21;165(3):566-579. doi: 10.1016/j.cell.2016.02.063

6 Zinchuk VV, Al-Jebur JSO. Oxyren-dependent aspecs of asprosin action. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology.* 2024 Apr;60(2):818-820.

7 Ristic J, Kodalak S, Peralta-Jiménez GA, Moura de Lima MF, Kovacevic M, Masic S, Nikolic T. Asprosin Levels in Adults with Type 2 Diabetes Mellitus and Diabetic Kidney Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2025 Jul23;18:2493-2506. doi: 10.2147/DMSO.S527579

8 Loginov NA, Dranikov AA, Sargsyan DA. Rol' perivaskuljarnoj tkani v patogeneze ozhirenija [The role of perivascular tissue in the pathogenesis of obesity]. *Paradigma* [Paradigma]. 2025;3(1):3-14 (in Russian).

9 Rodkin SV. Rol' oksida azota i serovodoroda v reguljacii jekspressii pro- i antiapoptoticheskih genov pri travmah central'noj i perifericheskoj nervnoj sistemy [The Role of Nitric Oxide and Hydrogen Sulfide in the Regulation of Pro- and Antiapoptotic Gene Expression in Central and Peripheral Nervous System Injuries]. *Biologicheskie membrany* [Biological membranes]. 2025;42(5):356-381 (in Russian).

10 Zinchuk VV, Al-Jebur JSO, Glutkina NV. Rol' asprosina v reguljacii mehanizmov transporta kisloroda krov'ju i sistemy gazotransmitterov u muzhchin s razlichnym indeksom massy tela [The role of asprosin in the regulation of blood oxygen transport mechanisms and the gas transmitter system in men with different body mass index]. *Fiziologija cheloveka* [Human physiology]. 2023a;49(4):101-107 (in Russian). doi: 10.31857/S013116462260077X (in Russian).

11 Zinchuk VV, Al-Jebur JSO, Glutkina NV. Kislorodsvjazyvajushhie svojstva krovi pri insulinorezistentnosti s razlichnym soderzhaniem asprosina [Oxygen-binding properties of blood in insulin resistance with different asprosin content]. *Biomedicinskaja himija* [Biomeditsinskaya Khimiya] 2023b;69(2):133-139 (in Russian). doi: 10.18097/PBMC20236902133

12 Isakova DN, Kolomeychuk SN, Evgeneva1 EA, Petrova YuA, Mezhakova MS, Troshina IA, Petrov IM. Associacii polimorfnyh variantov gena eNOS s faktorami kardiovaskuljarnogo riska u pacientov s narushenijami uglevodnogo obmena [Associations of polymorphic variants of eNOS gene with cardiovascular risk factors in patients with carbohydrate metabolism disorders]. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny* [Bulletin of Experimental Biology and Medicine] 2025;180(9):351-356 doi: 10.47056/0365-9615-2025-180-9-351-356. (in Russian).

13 Bhatia K, Gupta VK, Upadhyay SK. Obesity and type 2 diabetes as chronic inflammation: how does the cytokine evidence align? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2026 Feb3;17:1721206. doi: 10.3389/fendo.2026.1721206.

14 Zinchuk VV, Al-Jebur JSO, Glutkina NV, Padapryhara MV, Zinchuk VlV. Sposob opredelenija indeksa insulinorezistentnosti [Method for determining insulin resistance index]. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii* [Bulletin of the Smolensk State Medical Academy]. 2024;23(1):136-141 (in Russian).

15 Podoprigora MV, Al-Jebour JSO, Zinchuk VV. The Problem of Obesity and Asprosin. *Acta Scientific Paediatrics*. 2024;7(10):12-16.

16 Rod'kin SV, Nvosu ChD. Rol' oksida azota i serovodoroda v gibeli nejronov i glial'nyh kletok pri nejrodegenerativnyh processah [The role of nitric oxide and hydrogen sulfide in the death of neurons and glial cells in neurodegenerative processes]. *Biologicheskie membrany: Zhurnal membrannoj i kletochnoj biologii* [Biological Membranes: Journal of Membrane and Cell Biology]. 2023;40(5):306-327 (in Russian). doi: 10.31857/S0233475523050067

17 Glutkina NV, Podoprigora MV, Litvinova TI, Prokopovich TV, Zinchuk VV. Novyj podhod k opredeleniju sistemnyh metabolicheskih narushenij [A new approach to identifying systemic metabolic disorders]. Aktual'nye problemy mediciny: sbornik materialov itogovoj nauchno-prakticheskoj konferencii, 29 janvarja 2026 [Current problems of medicine: collection of materials from the final scientific and practical conference, January 29, 2026] 2026:80-82 (in Russian).

18 Lesnaya AS, Darenskaya MA, Semenova NV, Kolesnikova LI. Novyj aspekt metabolicheskih narushenij pri ozhirenii: karbonil'nyj stress [A new aspect of metabolic disorders in obesity: carbonyl stress]. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal* [Siberian Scientific Medical Journal]. 2023;43(6):24-33 (in Russian). doi: 10.18699/SSMJ20230603

19 Dobrokhotova YuE, Il'ina IIu, Khlynova SA, Nikolaev DV, Shchelykalina SP, Fisenko AD. Rol' raspredelenija zhirovoj tkani v organizme u pacientok s metabolicheskim sindromom i giperplaziej jendometrija [The role of the distribution of adipose tissue in the body in patients with metabolic syndrome and endometrial hyperplasia: A prospective study]. *Ginekologija* [Gynecology]. 2025;27(2):129-133 (in Russian). doi: 10.26442/20795696.2025.2.203247

20 Bayrak M, Karahan B, Lazoğlu Özkaya A, Cadirci K, Yılmaz GN, Pak N, Kılıç AF. Metabolic appetite regulation in elderly patients with type 2 diabetes mellitus and the role of asprosin and MIC-1. *Aging Male*. 2025 Dec;28(1):2534563. doi: 10.1080/13685538.2025.2534563

21 Kościuszko M, Buczyńska A, Duraj E, Adamska A, Siewko K, Krętowski AJ, Popławska-Kita A. Associations between asprosin, insulin resistance, and oxidative stress in adults with obesity. *Sci Rep.* 2025 Nov;19;15(1):40849. doi: 10.1038/s41598-025-24648-7

22 Erdoğan E, Yetişgen A. Serum asprosin levels as a potential prognostic biomarker in COVID-19: insights for future respiratory viral pandemics. *BMC Infect Dis*. 2025 Nov;24;25(1):1809. doi: 10.1186/s12879-025-12227-0

23 Bujanov ES, Spirin AV, Starshov AM, Bakutkin IV, Rakhimov RB, Kovalenko VJ. Sposob ocenki doli zhirovoj massy tela pri gigienicheskih issledovanijah muzhchin-mehanizatorov sel'skogo hozjajstva [Method for assessing portion of body fat accompanying hygienic examination of male farm machinery operators]. Patent RU2535786C1 [Patent RU2535786C1]. 2014:7 (in Russian).

24 Al-Jebur JSO, Glutkina NV, Podoprigora MV, Myatleva IA. Sposob ocenki izbytochnoj massy tela [Method for assessing excess body weight]. Kislorod i svobodnye radikaly: sbornik materialov respublikanskoj nauchno-prakticheskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem (19 maja 2026 g.) / pod red. prof. V. V. Zinchuka [Oxygen and free radicals: a collection of materials from the republican scientific and practical conference with international participation (May 19, 2026) / ed. prof. V. V. Zinchuk: Grodno, 2026] 2026:8-10 (in Russian).

# ADIPOSE TISSUE AND CARBOHYDRATE METABOLISM DISORDERS

*J. S. O. Al-Jebur[1], V. V. Zinchuk[2], N. V. Glutkina[2], M. V. Podoprigora[2]*

*[1] State University of Grodno Yanka Kupala, Grodno, Republic of Belarus,*

*[2] Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus*

**Background.** In the development of carbohydrate metabolism disorders leading to excess body weight, a significant role is assigned to a special class of signaling substances – adipokines, which are formed mainly in adipose tissue.

**Objective.** To analyze our own and literature data on the importance of adipose tissue in the development of carbohydrate metabolism disorders.

**Materials and methods.** A systematic analysis of scientific publications was carried out using the PubMed, Scopus, Web of Science and Cyberleninka databases, taking into account our own research on the importance of adipose tissue in the development of carbohydrate metabolism disorders.

**Results.** The hormone asprosin, which is formed in adipose tissue, increases appetite and food consumption, enhances the production and release of glucose in the pancreas, reducing insulin secretion. Changes in the content of gas transmitters nitrogen monoxide and hydrogen sulfide and asprosin with insulin resistance and type 2 diabetes mellitus with overweight and obesity of the first degree are important for the formation of oxygen-binding properties of the blood and the development of the resulting metabolic imbalance. It is proposed to use the determination of asprosin and gas transmitters nitrogen monoxide and hydrogen sulfide in the blood to assess disorders of carbohydrate metabolism and excess body weight.

**Conclusions.** The use of these approaches has practical significance and promise for healthcare for the targeted correction of emerging disorders.

**Keywords:** asprosin, fatty tissue, carbohydrates, excess weight, blood, oxygen, gasotransmitter.

**For citation:** Al-Jebur JSO, Zinchuk VV, Glutkina NV, Podoprigora MV. Adipose tissue and carbohydrate metabolism disorders. Biochemistry and molecular biology. 2026, vol. 5, no. 1(8). pp. 118–124 (in Russian).

*Поступила 02.04.2026*

УДК 577.151.7+ 577.151.63+571.27

# КАТАЛИТИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА – АБЗИМЫ

*И. П. Сутько*

*Гродненский государственный университет имени Янки Купалы,*
*г. Гродно, Республика Беларусь*

**Введение.** В настоящее время известно, что отдельные антитела способны катализировать химические реакции, аналогично ферментам. Такие антитела, называемые абзимами, обеспечивают катализ за счет связывания переходного состояния реакции. Результаты исследований подтверждают их потенциальную значимость для биомедицинских и биотехнологических исследований.

**Цель исследования.** Проанализировать научные данные о каталитических антителах (абзимах), включая современные исследования их природы, механизма действия и возможностей практического использования в биомедицине и биотехнологии.

**Материалы и методы.** Проведен анализ современных литературных данных, посвященных каталитическим антителам (абзимам).

**Результаты.** Представлены данные о природе каталитических антител (абзимов) как особого класса иммуноглобулинов, сочетающих антигенсвязывающую функцию с каталитической активностью. Показана их роль как в норме, так и при различных патологических состояниях, включая аутоиммунные заболевания.

**Заключение.** Проведенный анализ литературных данных свидетельствует о значительном прогрессе в понимании механизмов формирования абзимов, их структурно-функциональных особенностей и биологической роли как в норме, так и при патологических состояниях. Современные исследования подтверждают перспективность абзимов как потенциальных терапевтических агентов, диагностических маркеров и биокатализаторов нового поколения.

**Ключевые слова:** каталитические антитела, абзимы, аутоиммунные заболевания, каталитические вакцины.

**Для цитирования:** Сутько, И. П. Каталитические антитела – абзимы / И. П. Сутько // Биохимия и молекулярная биология. – 2026. – Т. 5, № 1(8). – С. 125–130.

## Введение

Ферменты, или энзимы, – это биологические катализаторы, ускоряющие химические реакции. Ферменты – ключевые участники любого биологического процесса. В живых организмах ферменты обеспечивают протекание с высокой скоростью и избирательностью огромного количества разнообразных химических реакций, приводящих к расщеплению питательных веществ, получению и превращению химической энергии, синтезу биологических макромолекул из простых предшественников и др. [1, 2].

До начала 80-х годов XX века считалось, что все ферменты по своей природе являются белками. Однако в 1982 г. группой американских биохимиков во главе с Томом Чехом (Thomas Robert Cech) было установлено, что РНК-интрон в составе пре-рРНК простейшего *Tetrahymena thermophila* способен к самосплайсингу (аутосплайсингу), то есть действует как катализатор собственного созревания, что доказало существование РНК, которые, подобно белкам, обладают высоко специфической каталитической активностью (рибозимы) [3]. Вскоре за этим последовало открытие другого рибозима, рибонуклеазы Р, лабораторией Сида Альтмана (Sidney Altman). Этот фермент катализирует удаление 5’-концевой последовательности при созревании тРНК во многих клетках [4]. В 1989 г. за открытие каталитических функций РНК Чех и Альтман получили Нобелевскую премию по химии.

В середине 1980-х годов были получены первые экспериментальные доказательства существования антител, которые наряду с высокоаффинным и специфическим связыванием антигена способны ускорять химические реакции, проявляя свойства биокатализаторов. Такие иммуноглобулины получили название **каталитических антител**, или **абзимов**.

**Цель исследования. А**нализ и обобщение научных данных о каталитических антителах (абзимах), включая современные исследования их природы, механизмов действия и возможностей практического использования в биомедицине и биотехнологии.

## Материалы и методы

Проведен анализ современных литературных данных, посвященных каталитическим антителам (абзимам). В качестве материалов исследования использованы обзорные и оригинальные научные публикации, представленные в международных библиографических базах данных.

## Результаты и их обсуждение

Теоретические основы исследования каталитических антител были заложены в середине XX века на основании чисто гипотетических умозаключений, возникших при сравнении свойств антител и ферментов. В 1946 году Л. Полингом (Linus Pauling) для объяснения природы ферментативного катализа была предложена теория переходного состояния, которая объясняет исключительную эффективность ферментов их способностью избирательно связывать не субстрат, а именно промежуточное соединение, образующееся в ходе реакции, – так называемое переходное состояние химической реакции. Согласно этой концепции, активный центр фермента комплементарен структуре переходного состояния и тем самым стабилизирует его, снижая уровень энергии активации. Идеи Полинга заложили теоретическую основу для последующего создания аналогов переходного состояния и развитию направления поиска ингибиторов ферментов, обладающих высокой аффинностью к активному центру за счет структурной комплементарности переходному состоянию [5]. В 1969 году Уильямс Дженкс (William P. Jencks), опираясь на предложенную Полингом теорию переходного состояния, выдвинул гипотезу, что, если антитело может связываться с переходным состоянием реакции, то теоретически оно должно обладать каталитическими свойствами [6]. Тем самым была сформирована теоретическая основа концепции иммунного катализа, однако ее экспериментальная реализация стала возможной лишь с развитием гибридомных технологий и методов рационального химического дизайна гаптенов.

Первые убедительные экспериментальные доказательства существования каталитических антител были получены в 1986 году двумя независимыми группами исследователей под руководством Р. Лернера (Richard A. Lerner) и П. Шульца (Peter G. Schultz). Ими было показано, что моноклональные антитела, полученные при иммунизации фосфонатными аналогами тетраэдрического переходного состояния реакции гидролиза, способны катализировать расщепление соответствующих сложных эфиров [6].

С этого момента термин **абзим** (abzyme, от англ. **a**nti**b**ody и en**zyme**), обозначающий антитела, способные катализировать химические реакции аналогично ферментам, прочно закрепился в научной литературе. В последующие десятилетия было показано, что спектр реакций, катализируемых абзимами, значительно шире и включает не только реакции гидролиза: они проявляют протеолитическую, ДНКазную, РНКазную, фосфатазную, протеинкиназную активности и др. Параллельно произошло принципиально важное смещение фокуса исследований от исключительно искусственно полученных антител к пониманию того, что каталитические антитела могут формироваться *in vivo*.

Первым примером природных каталитических антител в мировой литературе принято считать антитела, расщепляющие вазоактивный интестинальный нейропептид (ВИП), выделенные из крови больных бронхиальной астмой в лаборатории под руководством Сидхура Пола (Sudhir Paul) в 1989 г. Работы С. Пола впервые продемонстрировали, что антитела с каталитической активностью могут вырабатываться в организме без использования синтетических соединений, используемых в качестве вакцинных антигенов (иммуногенов) [7].

Таким образом, в настоящее время выделяют абзимы природные (образующиеся в живом организме естественным образом) и искусственные (полученные путем иммунизации животных стабильными аналогами переходных состояний химических реакций, т.е. путем введения в организм антигена (например, вакцины), которое вызывает иммунный ответ и приводит к выработке специфических антител). Следовательно, природные и искусственные абзимы различаются по происхождению, но объединяются общим принципом катализа, основанным на специфическом связывании переходного состояния. Абзимы являются одним из немногих примеров, когда синтетически полученные соединения были охарактеризованы прежде, чем были выявлены их естественные аналоги.

В настоящее время известно более 100 реакций, катализируемых каталитическими антителами. В ряде случаев полученные абзимы обладают более высокой скоростью катализа, чем природные ферменты, высокой специфичностью (в том числе и стереоспецифичностью), а для некоторых нет аналогов среди природных ферментов [8]. Поэтому интерес в изучении каталитических антител связан с перспективами применения их в биотехнологии и медицине.

Для получения абзимов наиболее часто используют метод иммунизации животных стабильным

аналогом переходного состояния химической реакции. Используемый для получения абзимов антиген, как правило, состоит из двух частей: низкомолекулярной (гаптена) и высокомолекулярного носителя (белка). Применяемый гаптен должен быть стабилен и по своему строению соответствовать соответствующему переходному состоянию реакции, поскольку непосредственно он формирует активный центр абзима. Гаптены – это вещества, которые сами по себе не вызывают иммунного ответа, но, будучи коньюгированы с носителями (чаще молекулами белков), обладают способностью стимулировать синтез против них антител. Полученный антиген используется для иммунизации животных – мышей чистых линий. По истечении определенного срока клетки селезенки иммунизированного животного используют для получения антител. Полученные моноклональные антитела подвергают скринингу на каталитическую активность. Основными ограничениями метода являются сложность синтеза гаптенов, риск иммунного ответа на нерелевантные участки молекулы и трудоемкость функционального скрининга [6, 9–11].

К настоящему времени с помощью такого подхода получены абзимы, катализирующие гидролиз амидов и сложных эфиров, а также реакции декарбоксилирования, окислительно-восстановительные реакции и др. Описаны реакции, для которых не существует аналогов среди природных ферментов. Также получены абзимы, для которых требуются кофакторы, аналогичные классическим ферментам [12].

Важным этапом в изучении каталитических антител стало их обнаружение в организме без искусственной иммунизации. Было показано, что при аутоиммунных заболеваниях, таких как системная красная волчанка, аутоиммунный тиреоидит, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, СПИД и др., в сыворотке крови присутствуют антитела, гидролизующие ДНК, РНК, олигонуклеотиды, белки, пептиды и олигосахариды. Кроме того, описаны абзимы, которые образуются при воспалительных, инфекционных, онкологических заболеваниях. Механизмы образования абзимов и роль в патогенезе болезней до конца не изучены [12, 13].

Появление каталитически активных антител нередко рассматривается как один из наиболее ранних признаков развития аутоиммунных патологических процессов. В связи с этим исследование их каталитической активности представляет собой перспективный подход как для ранней диагностики аутоиммунных заболеваний, так и для прогнозирования возможных обострений при хроническом течении патологии, а также для мониторинга эффективности лекарственной терапии. В качестве примера можно привести рассеянный склероз, диагностика которого зачастую осуществляется лишь на поздних стадиях, когда в центральной нервной системе формируются характерные бляшки, визуализируемые методами магнитно-резонансной томографии. У пациентов с рассеянным склерозом выявлены антитела, способные к каталитическому расщеплению основного белка миелина, что свидетельствует о вовлеченности абзимов в патологический процесс. Определение активности таких каталитических антител может рассматриваться в качестве диагностического инструмента, позволяющего выявлять заболевание на ранней стадии [13].

Считается, что образование абзимов на начальных этапах аутоиммунных заболеваний может играть роль фактора, способствующего дальнейшему прогрессированию патологического процесса. Так, было показано, что абзимы, выделенные из крови пациентов с системной красной волчанкой и обладающие ДНК-гидролизующей активностью, проявляют выраженные цитотоксические свойства, то есть способны подавлять рост клеток. Подобный эффект сопоставим с действием некоторых естественных регуляторов клеточной пролиферации – цитокинов. Одним из известных представителей данного класса белков является фактор некроза опухолей (TNF), играющий важную роль в противоопухолевой защите организма. При этом в ряде случаев цитотоксическая активность абзимов превышает таковую самих цитокинов. В отличие от классических антител, каталитические антитела способны проникать в клеточное ядро, взаимодействовать с ДНК и осуществлять ее расщепление, что в конечном итоге может приводить к гибели клетки [9].

Длительное время в научной литературе преобладало представление о том, что каталитические антитела формируются исключительно при патологических состояниях и не обнаруживаются у здоровых людей. Однако первым примером существования абзимов в отсутствие каких-либо заболеваний стали секреторные иммуноглобулины А (sIgA), выделенные из грудного молока человека и способные катализировать реакции фосфорилирования белков. В дальнейшем было установлено, что молоко рожениц представляет собой богатый источник каталитических антител, проявляющих активность в отношении широкого спектра субстратов, включая ДНК и РНК, полисахариды, казеин. Интересно, что антитела грудного молока зачастую характеризуются более высокой каталитической активностью по сравнению с большин-

ством известных абзимов, выявленных у пациентов с аутоиммунными заболеваниями. Кроме того, в составе грудного молока обнаружены уникальные формы абзимов, катализирующие не только гидролитическое разрушение субстратов, но и их химическую модификацию. В частности, данные антитела способны осуществлять фосфорилирование липидов, белков и полисахаридов путем переноса фосфатной группы на определенные участки молекулы. При этом в качестве доноров фосфатного остатка они могут использовать не только аденозинтрифосфат (АТФ), но и другие нуклеотиды [8, 13].

Предполагается, что абзимы грудного молока играют существенную роль в обеспечении защиты новорожденного от вирусных и бактериальных инфекций. Их положительное значение может заключаться в усилении механизмов пассивного иммунитета за счет гидролиза и модификации чужеродных молекул, включая вирусы, бактерии и пищевые антигены [13].

Особый интерес представляет тот факт, что беременность, вероятно, индуцирует у женщин иммунные процессы, сходные с теми, которые наблюдаются при аутоиммунных патологиях. Однако в отличие от хронического характера таких реакций у больных, в организме здоровой женщины данные изменения имеют временный характер и завершаются после окончания лактации. Выяснение механизмов, обеспечивающих своевременное подавление потенциально опасных аутоиммунных реакций, может иметь важное значение для разработки новых подходов к терапии до сих пор неизлечимых аутоиммунных заболеваний [8, 13].

У клинически здоровых людей в сыворотке крови были выявлены антитела, обладающие пероксидазной и оксидоредуктазной активностями и способные окислять широкий спектр токсических соединений. Наряду с классическими антиоксидантными ферментными системами такие каталитические антитела участвуют в защите организма от последствий окислительного стресса [8, 13, 14].

Таким образом, образование абзимов является и одним из естественных проявлений функционального потенциала иммунной системы, обеспечивающее дополнительный уровень биохимической защиты организма. Вместе с тем расширение спектра каталитических активностей антител, включая появление абзимов, гидролизующих нуклеиновые кислоты и специфические белки, как правило, наблюдается при глубоких нарушениях иммунной регуляции, особенно в условиях аутоиммунной патологии. Поэтому можно говорить как о патологической, так и защитной роли каталитических антител в организме. В целом, абзимы даже при одном и том же заболевании могут играть двойственную роль. Это хорошо иллюстрируется на примере ДНК-гидролизующих абзимов, которые с одной стороны могут быть цитотоксичными, а с другой защищать от вирусных инфекций [15, 16]. Следовательно, исследование спектра и активности абзимов представляет значительный интерес как для понимания фундаментальных механизмов иммунорегуляции, так и для разработки новых диагностических маркеров аутоиммунной патологии.

В настоящее время ведется большое количество исследований по получению и применению абзимов в медицине и биотехнологии. Первоначально каталитические антитела разрабатывались преимущественно как искусственные биокатализаторы для осуществления химических превращений. Однако сравнительно низкая каталитическая активность большинства абзимов по сравнению с природными ферментами обусловила смещение исследовательского интереса в сторону их потенциального терапевтического применения. В настоящее время накоплено значительное число примеров, свидетельствующих о перспективности абзимов для клинической практики. Абзимы обладают рядом свойств, благоприятных для медицинского использования, включая низкую иммуногенность, продолжительный период циркуляции в кровотоке, а также высокую специфичность и аффинность к молекулярным мишеням.

Получены первые положительные результаты, свидетельствующие о перспективности использования каталитических антител в терапии зависимостей от психоактивных веществ, в первую очередь кокаина и никотина. Данный подход основан на способности абзимов специфически связывать и катализировать разрушение молекул наркотических соединений еще в периферическом кровотоке, препятствуя их проникновению в центральную нервную систему [6, 11, 12, 17].

Одно из направлений исследований абзимов связано с разработкой лекарственных средств нового поколения, предназначенных для сайт-направленной противоопухолевой химиотерапии. Проводятся работы по созданию биоинженерных каталитических антител с заранее заданной специфичностью и функциональными характеристиками, которые могут послужить основой для конструирования лекарственных средств, способных избирательно распознавать опухолевую ткань-мишень и селективно инициировать ее разрушение, оставляя близлежащие здоровые клетки интактными [6, 11, 17].

Разрабатываются каталитические антитела, способные избирательно гидролизовать фосфорорганические соединения. Данные вещества из-

начально применялись в качестве инсектицидов, однако впоследствии некоторые из них были адаптированы для военных целей и использованы в составе боевых отравляющих агентов, таких как зарин, зоман. Токсическое действие фосфорорганических соединений обусловлено их способностью необратимо связываться с ацетилхолинэстеразой, что приводит к блокированию ее активности. В результате происходит накопление ацетилхолина в центральной нервной системе и нарушение передачи нервных импульсов. Это, в свою очередь, вызывает тяжелые расстройства дыхательной функции, которые могут приводить к летальному исходу вследствие дыхательного коллапса. В качестве потенциального антидота рассматриваются абзимы, способные метаболизировать фосфорорганические субстраты и тем самым снижать их токсическое воздействие [11, 12].

В настоящее время разрабатывается каталитическая вакцина против ВИЧ, основанная на способности абзимов гидролизовать вирусный белок gp120 [18, 19].

Создано моноклональное антитело UA15, обладающее способностью к гидролизу уреазы бактерии *Helicobacter pylori*, являющейся одним из основных возбудителей гастрита [19].

## Заключение

Таким образом, каталитические антитела (абзимы) представляют собой уникальный класс иммуноглобулинов, обладающих одновременно способностью связывать антигены и катализировать химические реакции с их участием. Проведенный анализ научной литературы указывает на существенное продвижение в изучении механизмов образования абзимов, их структурно-функциональных характеристик и биологического значения как в физиологических условиях, так и при различных патологических состояниях. Современные исследования подтверждают перспективность абзимов как потенциальных терапевтических агентов, диагностических маркеров и биокатализаторов нового поколения. Несмотря на существующие ограничения, требующие совершенствования методов получения высокоэффективных абзимов, а также оценки их безопасности и продолжительности действия, дальнейшее развитие методов биоинженерии может существенно расширить возможности их практического использования в биомедицине и биотехнологии.

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

## Список цитированных источников

1. Robinson, P. K. Enzymes: principles and biotechnological applications / P. K. Robinson // Essays in Biochemistry. – 2015. – Vol. 59. – P. 1–41. – doi: 10.1042/bse0590001.
2. Urlacher, V. B. Enzyme structure and function / V. B. Urlacher, K. Koschorreck // Introduction to Enzyme Technology / ed. by K.-E. Jaeger, A. Liese, C. Syldatk. – Cham: Springer International Publishing, 2024. – P. 19–38. – doi: 10.1007/978-3-031-42999-6_2.
3. Cech, T. R. In vitro splicing of the ribosomal RNA precursor of Tetrahymena: involvement of guanosine nucleotides in the excision of the intervening sequence / T. R. Cech, A. J.Zaug, P. J. Grabowski // Cell. – 1981. – Vol. 27. – P. 487–496.
4. The RNA moiety of ribonuclease P is the catalytic subunit of the enzyme / C. Guerrier-Takada, K. Gardiner, T. Marsh, N. Pace [et al.] // Cell. – 1983. – Vol. 35, № 3 (Pt 2). – P. 849–857. – doi: 10.1016/0092-8674(83)90117-4.
5. Amyes, T. L. Specificity in transition state binding: the Pauling model revisited / T. L. Amyes, J. P. Richard // Biochemistry. – 2013. – Vol. 52, № 12. – P. 2021–2035. – doi: 10.1021/bi301491r.
6. Catalytic antibodies: design, expression, and their applications in medicine / D. Zhao, J. Chen, X. Hu, S. Zhang // Applied Biochemistry and Biotechnology. – 2023. – Vol. 195, № 2. – P. 1514–1540. – doi: 10.1007/s12010-022-04183-1.
7. Catalytic hydrolysis of vasoactive intestinal peptide by human autoantibody / S. Paul, D. J. Volle, C. M. Beach [et al.] // Science. – 1989. – Vol. 244, № 4909. – P. 1158–1162. – doi: 10.1126/science.2727702.
8. Nevinsky, G. A. Catalytic antibodies in healthy humans and patients with autoimmune and viral diseases / G. A. Nevinsky, V. N. Buneva // Journal of Cellular and Molecular Medicine. – 2003. – Vol. 7, № 3. – P. 265–276. – doi: 10.1111/j.1582-4934.2003.tb00227.x.
9. Xu, Y. Catalytic antibodies: hapten design strategies and screening methods / Y. Xu, N. Yamamoto, K. D. Janda // Bioorganic & Medicinal Chemistry. – 2004. – Vol. 12, № 20. – P. 5247–5268. – doi: 10.1016/j.bmc.2004.03.077.
10. Кочетков, Н. К. Каталитические антитела: перспективы использования в органическом синтезе / Н. К. Кочетков // Успехи химии. – 1998. – Т. 67, № 8. – С. 731–748.
11. Catalytic antibodies and their applications in biotechnology: state of the art / S. Padiolleau-Lefèvre, R. B. Naya, M. A. Shahsavarian [et al.] // Biotechnology Letters. – 2014. – Vol. 36, № 7. – P. 1369–1379. – doi: 10.1007/s10529-014-1503-8.
12. Генералов, И. И. Абзимная активность иммуноглобулинов / И. И. Генералов. – Витебск: Изд-во Витебского гос. мед. ун-та, 2000. – 152 с.
13. Невинский, Г. А. Таинственные абзимы / Г. А. Невинский // Наука из первых рук. – 2006. – № 6. – С. 36–45.
14. Tolmacheva, A. S. Essential protective role of catalytically active antibodies (abzymes) with redox antioxidant functions in animals and humans / A. S. Tolmacheva, G. A. Nevinsky // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Vol. 23, № 7. – Art. 3898. – doi: 10.3390/ijms23073898.
15. Nevinsky, G. A. Natural catalytic antibodies in norm, autoimmune, viral, and bacterial diseases / G. A. Nevinsky, V. N. Buneva // The Scientific World Journal. – 2010. – Vol. 10. – Art. 820417. – doi: 10.1100/tsw.2010.82.
16. Nevinsky, G. A. Immune response and production of abzymes in patients with autoimmune and neurodegenerative diseases / G. A. Nevinsky // Biochemistry (Moscow). – 2025. – Vol. 90, Suppl. 1. – P. S373–S400. – DOI: 10.1134/S0006297924604167.
17. Достижения и перспективы клинической абзимологии / С. В. Сучков, З. С. Алекберова, А. Н. Хитров [и др.] // Медицинская иммунология. – 2006. – Т. 8, № 1. – С. 23–30.

18. Hanson, C. V. Catalytic antibodies and their applications / C. V. Hanson, Y. Nishiyama, S. Paul // Current Opinion in Biotechnology. – 2005. – Vol. 16, № 6. – P. 631–636. – doi: 10.1016/j.copbio.2005.10.003.
19. Bowen, A. Antibody-mediated catalysis in infection and immunity/ A. Bowen, M. Wear, A. Casadevall // Infection and Immunity. – 2017. – Vol. 85, № 9. – e00202-17. – doi: 10.1128/IAI.00202-17.

**References**

1 Robinson PK. Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays Biochem.* 2015;59:1-41. doi: 10.1042/bse0590001.
2 Urlacher VB, Koschorreck K. Enzyme structure and function. In: Jaeger K-E, Liese A, Syldatk C, editors. *Introduction to enzyme technology*. Cham (Switzerland): Springer International Publishing; 2024. p. 19–38. doi:10.1007/978-3-031-42999-6_2.
3 Cech TR, Zaug AJ, Grabowski PJ. In vitro splicing of the ribosomal RNA precursor of Tetrahymena: involvement of a guanosine nucleotide in the excision of the intervening sequence. *Cell.* 1981 Dec;27(3 Pt 2):487-96. doi: 10.1016/0092-8674(81)90390-1.
4 Guerrier-Takada C, Gardiner K, Marsh T, Pace N, Altman S. The RNA moiety of ribonuclease P is the catalytic subunit of the enzyme. *Cell.* 1983 Dec;35(3 Pt 2):849-57. doi: 10.1016/0092-8674(83)90117-4.
5 Amyes TL, Richard JP. Specificity in transition state binding: the Pauling model revisited. *Biochemistry.* 2013 Mar 26;52(12):2021-35. doi: 10.1021/bi301491r.
6 Zhao D, Chen J, Hu X, Zhang S. Catalytic Antibodies: Design, Expression, and Their Applications in Medicine. *Appl Biochem Biotechnol.* 2023 Feb;195(2):1514-1540. doi: 10.1007/s12010-022-04183-1.
7 Paul S, Volle DJ, Beach CM, Johnson DR, Powell MJ, Massey RJ. Catalytic hydrolysis of vasoactive intestinal peptide by human autoantibody. *Science*. 1989 Jun 9;244(4909):1158-62. doi: 10.1126/science.2727702.
8 Nevinsky GA, Buneva VN. Catalytic antibodies in healthy humans and patients with autoimmune and viral diseases. *J Cell Mol Med*. 2003 Jul-Sep;7(3):265-76. doi: 10.1111/j.1582-4934.2003.tb00227.x.
9 Xu Y, Yamamoto N, Janda KD. Catalytic antibodies: hapten design strategies and screening methods. *Bioorg Med Chem*. 2004 Oct 15;12(20):5247-68. doi: 10.1016/j.bmc.2004.03.077.
10 Kochetkov NK. Kataliticheskie antitela: perspektivy ispol'zovaniya v organicheskom sinteze [Catalytic antibodies: prospects for use in organic synthesis]. *Uspekhi khimii*. 1998;67(8):731–748. (in Russian)
11 Padiolleau-Lefèvre S, Ben Naya R, Shahsavarian MA, Friboulet A, Avalle B. Catalytic antibodies and their applications in biotechnology: state of the art. *Biotechnol Lett.* 2014 Jul;36(7):1369-79. doi: 10.1007/s10529-014-1503-8.
12 Generalov II. Abzimnaya aktivnost' immunoglobulinov [Abzyme activity of immunoglobulins]. Vitebsk: Izdatel'stvo Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta; 2000. 152 p. (in Russian)
13 Nevinskii GA. Tainstvennye abzimy [Mysterious abzymes]. *Nauka iz pervykh ruk.* 2006;(6):36–45. (in Russian)
14 Tolmacheva AS, Nevinsky GA. Essential Protective Role of Catalytically Active Antibodies (Abzymes) with Redox Antioxidant Functions in Animals and Humans. *Int J Mol Sci*. 2022 Mar 31;23(7):3898. doi: 10.3390/ijms23073898.
15 Nevinsky GA, Buneva VN. Natural catalytic antibodies in norm, autoimmune, viral, and bacterial diseases. *Scientific World Journal.* 2010 Jun 29;10:1203-33. doi: 10.1100/tsw.2010.98.
16 Nevinsky GA. Immune Response and Production of Abzymes in Patients with Autoimmune and Neurodegenerative Diseases. *Biochemistry (Mosc).* 2025 Jan;90(Suppl 1):S373-S400. doi: 10.1134/S0006297924604167. PMID: 40164167.
17 Suchkov SV, Alekberova ZS, Khitrov AN, Shogenov ZS, Voskresenskaya OV, Gnuchev NV, Gabibov AG. Dostizheniya i perspektivy klinicheskoi abzimologii [Achievements and prospects of clinical abzymology]. *Meditsinskaya immunologiya* [*Medical Immunology (Russia)*]. 2006;8(1):23–30. (in Russian)
18 Hanson CV, Nishiyama Y, Paul S. Catalytic antibodies and their applications. *Curr Opin Biotechnol*. 2005 Dec;16(6):631-6. doi: 10.1016/j.copbio.2005.10.003.
19 Bowen A, Wear M, Casadevall A. Antibody-Mediated Catalysis in Infection and Immunity. *Infect Immun.* 2017 Aug 18;85(9):e00202-17. doi: 10.1128/IAI.00202-17.

# CATALYTIC ANTIBODIES – ABZYMES

*I. P. Sutsko*

*Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Republic of Belarus*

**Background.** It is currently known that certain antibodies are capable of catalyzing chemical reactions, similar to enzymes. These antibodies, called abzymes, mediate catalysis by binding the transition state of the reaction. The data obtained confirm their potential significance for biomedical and biotechnological research.

**Objective**. To analyze the scientific literature on catalytic antibodies (abzymes), the current state of research in this area, and areas of their practical application in biomedicine and biotechnology.

**Materials and methods.** An analysis of current literature on catalytic antibodies (abzymes) was conducted.

**Results.** Data are presented on the nature of catalytic antibodies (abzymes) as a special class of immunoglobulins that combine antigen-binding function with catalytic activity. Their role is demonstrated both in normal conditions and in various pathological conditions, including autoimmune diseases.

**Conclusions.** A literature review demonstrates significant progress in understanding the mechanisms of abzyme formation, their structural and functional characteristics, and their biological role in both normal and pathological conditions. Current research confirms the promise of abzymes as potential therapeutic agents, diagnostic markers, and next-generation biocatalysts.

**Keywords:** catalytic antibodies, abzymes, autoimmune diseases, catalytic vaccines.

**For citation:** Sutsko IP. Catalytic antibodies – abzymes. *Biochemistry and molecular biology.* 2026, vol. 5, no. 1(8). pp. 125–130. (in Russian)

*Поступила 04.03.2026*

УДК 612.111.11:612.23

# РОЛЬ ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ В ИЗМЕНЕНИЯХ МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ И МЕХАНИЗМОВ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА КРОВЬЮ

*В. В. Зинчук[1], А. Е. Луговцов[2], А. В. Приезжев[2], А. В. Муравьев[3], И. А. Тихомирова[3], Е. В. Узлова[4]*

*[1]Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь*

*[2]Московской государственный университет имени М. В. Ломоносова, г. Москва, Российская Федерация*

*[3]Ярославский государственный педагогический университет имени К. Д. Ушинского, г. Ярославль, Российская Федерация*

*[4]Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, г. Гродно, Республика Беларусь*

**Введение.** Эритроциты традиционно рассматриваемые как пассивные переносчики кислорода и углекислого газа, долгое время считались просто заполненными гемоглобином мешочками, неспособными к экспрессии генов или выполнению функций, выходящих за рамки газообмена.

**Цель исследования.** Провести анализ собственных и литературных данных о роли газотрансмиттеров в изменениях микрореологических свойств эритроцитов и механизмов транспорта кислорода кровью.

**Материалы и методы.** Выполнен анализ научных публикаций с использованием баз данных: PubMed, MDPI, CyberLeninka, ЭБС Лань и результатов собственных исследований по теме газотрансмиттеры и механизмы транспорта кислорода кровью.

**Результаты.** Анализируется роль газотрансмиттеров в изменениях микрореологических свойств эритроцитов и механизмов транспорта кислорода кровью. Обсуждается значение монооксида азота и сероводорода в формировании вязкостных свойств эритроцитов и кислородсвязующих свойств гемоглобина в опытах in vitro и в условиях действия различных факторов, в частности озона.

**Заключение.** Система газотрансмиттеров влияет на функциональное состояние эритроцитов, в частности, на их микрореологические свойства и механизмы транспорта кислорода кровью.

**Ключевые слова:** кровь, эритроцит, гемоглобин, газотрансмиттеры.

**Для цитирования:** Роль газотрансмиттеров в изменениях микрореологических свойств эритроцитов и механизмов транспорта кислорода кровью / В. В. Зинчук, А. Е. Луговцов, А. В. Приезжев [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2026. – Т. 5, № 1(8). – С. 131–141.

## Введение

Эритроциты, или красные кровяные клетки, являются важными компонентами крови позвоночных, составляя приблизительно 45 % объема крови человека. Их отличительные особенности, включая небольшой размер, двояковогнутую форму, длительный срок жизни (около 120 суток) и отсутствие ядра или других мембранных органелл, делают их уникальными среди типов клеток млекопитающих [1]. Традиционно рассматриваемые как пассивные переносчики кислорода и углекислого газа, эритроциты долгое время считались просто заполненными гемоглобином мешочками, неспособными к экспрессии генов или выполнению функций, выходящих за рамки газообмена [2]. Эти клетки крови, помимо газообмена, играют важную роль в регулировании регионального кровотока и микроциркуляции, транспортируют аминокислоты между тканями и поддерживают водный гомеостаз. Кроме того, новые технологии позволили перепрофилировать эритроциты в качестве носителей лекарственных препаратов, открывая новые возможности для терапевтического применения при доставке лекарств [3].

**Цель исследования.** Провести анализ собственных и литературных данных о роли газотрансмиттеров в изменениях микрореологических свойств эритроцитов и механизмов транспорта кислорода кровью.

## Материалы и методы

Выполнен анализ научных публикаций с использованием баз данных: PubMed, MDPI, CyberLeninka, ЭБС Лань и результатов собственных исследований по теме газотрансмиттеры и механизмы транспорта кислорода кровью.

## Результаты и их обсуждение

Анализируется роль газотрансмиттеров в изменениях микрореологических свойств эритроцитов и механизмов транспорта кислорода кровью. Обсуждается значение монооксида азота и сероводорода в формировании вязкостных свойств эритроцитов и кислородсвязующих свойств гемоглобина в опытах *in vitro* и в условиях действия различных факторов, в частности озона.

В данном обзоре рассматривается расширяющийся функциональный ландшафт эритроцитов, проанализирована роль регуляции микрореологических свойств эритроцитов и микрососудистого русла газотрансмиттерами и состояние кислородтранспортной функции крови в этих условиях (рис. 1).

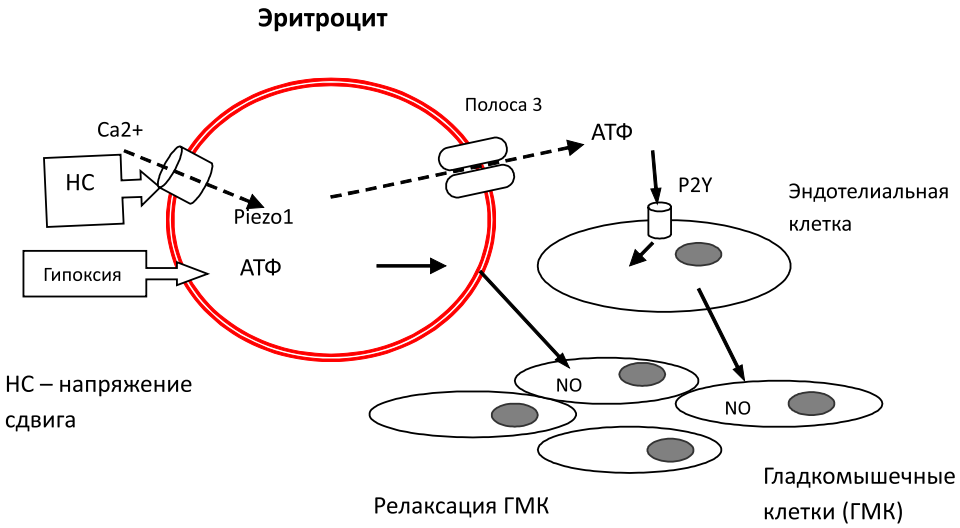



Рисунок 1 – Внутри – и внеклеточные сигнальные пути при регуляции эритроцитами эндотелиальных и гладкомышечных клеток сосудов, при использовании АТФ и оксида азота (NO)

Figure 1 – Intra- and extracellular signaling pathways in the regulation of vascular endothelial and smooth muscle cells by red blood cells using ATP and nitric oxide (NO)

### *Роль микрореологических свойств эритроцитов в транспорте кислорода*

Реологические свойства эритроцитов играют важную роль в микроциркуляции. Они могут эластично деформироваться в ответ на механические силы, чтобы проходить через нутритивные капилляры для эффективного газообмена в периферических тканях [4]. Эритроциты, не только являются переносчиками кислорода, они также участвуют в регуляции локальных процессов микроциркуляции, соответствующих запросу на потребление этого дыхательного газа. Это становится возможным благодаря способности эритроцитов высвобождать вазоактивные соединения такие, как аденозинтрифосфат (АТФ) и оксид азота (NO) в ответ на снижение парциального напряжения $O_2$ в эритроцитах и плазме, а также на другие адъювантные метаболические и механические стимулы [5].

Сосудистая система реагирует на низкое напряжение кислорода отвечает вазодилатацией, дополнительно привлекая кровоток и переносящие кислород эритроциты. В этой классической гипоксической вазодилататорной реакции задействовано несколько механизмов, с участием вазодилататорных молекул, полученных из эритроцитов, таких как оксид азота, S-нитрозотиолы и АТФ эритроцитов [6, 7]. Согласно этим гипотезам, эритроциты выделяют вазодилататорные молекулы при низком давлении кислорода.

Кровь представляет собой двухфазную суспензию, состоящую из форменных элементов (эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов) и комплекса органических молекул, белков и солей, входящих в состав жидкой части крови, называемой плазмой [8]. Эта композиция из форменных элементов и плазмы в значительной мере определяет текучесть крови (как величину обратную ее вязкости) и ее транспортные возможности. Кроме этого, на величину вязкости крови влияют: гематокрит, вязкость плазмы, деформируемость и агрегация эритроцитов [9]. Важно заметить, что эритроциты обладают высокой деформируемостью, и это их физическое свойство вносит значительный вклад в улучшение

кровотока и обеспечивает эффективность многочисленных капиллярных транзитов в течение всей жизни этих клеток. Проявление обратимой агрегации является важным фактором, определяющим кажущуюся вязкость. Она влияет на текучесть крови *in vivo*, особенно в областях низкого уровня сдвигового течения, на уровне венул и мелких коллекторных вен [10].

Реологический профиль крови изменяется при различных патологических процессах, заболеваниях и в некоторых экстремальных физиологических состояниях [11]. Особый интерес в этой связи, представляют микрореологические свойства эритроцитов. Так, например, способность эритроцитов транспортировать газы, продолжительность их жизни, а также их микромеханические характеристики неизменно зависят от деформируемости, гидратации и стабильности мембран этих клеток [12]. Таким образом, деформируемость эритроцитов имеет решающее значение для оптимальной реологии и функциональности газообмена во время капиллярного потока, что лучше всего достигается, когда объем каждого эритроцита человека поддерживается на уровне примерно 0,55–0,60 от максимального сферического объема, допускаемого площадью его мембраны. Это диапазон оптимального соотношения объемов.

Наряду с нормальным состоянием микрореологического статуса, возникающие микромеханические нарушения и, следовательно, кислородтранспортные отклонения эритроцитов могут быть результатом генетических трансформаций или вызваны такими факторами, как аномальный локальный метаболизм тканей, окислительный стресс и активированные лейкоциты [13]. Что касается другой микрореологической характеристики – агрегации эритроцитов, то ее величина в основном определяется составом белков плазмы, их соотношением и поверхностными свойствами эритроцитов. При этом возрастание концентрации в плазме острофазных реагентов при воспалительных заболеваниях является частой причиной повышенной агрегации эритроцитов [9]. Кроме того, тенденция к повышению агрегации эритроцитов может быть связана изменениями свойств поверхности клеток из-за их старения in vivo, действия свободных радикалов кислорода или протеолитических ферментов.

Известно, что эритроциты при выполнении кислородтранспортной функции должны реализовать свои микрореологические свойства – деформируемость и агрегацию [14]. Было показано, что эти клеточные характеристики положительно изменяются под влиянием донора NO, нитропруссида натрия или при активации эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) с помощью L-аргинина [15, 16]. Что касается других газотрансмиттеров, таких как монооксид углерода (CO) и сульфид водорода ($H_2S$), то имеются лишь только данные о снижающем агрегацию тромбоцитов эффекте сероводорода [17].

### *Влияние оксида азота на микрореологические характеристики ритроцитов: in vitro данные*

Мембрана зрелых эритроцитов и цитоплазма содержат активные элементы молекулярных сигнальных каскадов, в том числе G-белки, аденилатциклазу, гуанилатциклазу, цАМФ и цГМФ, мембранные рецепторы и ионные каналы, ряд типов фосфодиэстераз, протеинкиназы и фосфатазы [18]. То есть как раз те молекулярные мишени, на которые могут действовать газовые медиаторы или газотрансмиттеры [19, 20].

Исследования последних десятилетий показали, что как внешне генерируемый, так и внутренне синтезируемый NO может влиять на микрореологические характеристики эритроцитов [15]. Последующее изучение этой проблемы позволили выяснить, что эритроциты имеют активные механизмы синтеза NO. Было продемонстрировано наличие функционально активной NO-синтазы (NOS) в эритроцитах и это может играть роль в поддержании их нормальных механических свойств [21]. NOS эритроцитов использует L-аргинин в качестве субстрата и обладает свойствами, аналогичными эндотелиальной NO-синтазы (eNOS). Хотя активность eNOS еще не была специально продемонстрирована для этого фермента эритроцитов, однако была показана ее зависимость от наличия кислорода [22]. С другой стороны, известно, что гемоглобин в эритроцитах является мощным поглотителем NO. При этом оксигемоглобин поглощает NO быстрее, чем дезоксигемоглобин [23]. Это можно объяснить разным поведением гемоглобина в условиях оксигенации и дезоксигенации, а также влиянием разной величины парциального давления кислорода на активность NO-синтазы (NOS) [24]. Поэтому важно учитывать состояние оксигенации внутриклеточного гемоглобина при изучении роли NO как регулятора механических свойств эритроцитов.

Кроме ключевой роли в регуляции тонуса гладкой мускулатуры сосудов, оксид азота реализует многие другие регуляторные функции и, в том числе, оказывает существенное влияние на микрореологические свойства эритроцитов [25, 16]. Ранее было показано, что благодаря эффективному поглощению NO гемоглобином, взаимодействие эритроцитов с NO является важным фактором, опре-

деляющим локальную доступность NO в сосудистой системе [26]. Однако реакция NO с гемоглобином, инкапсулированным в эритроциты, происходит на три порядка медленнее, чем со свободным гемоглобином [24], причем это различие связано с диффузионным барьером, вокруг мембраны эритроцитов и различными факторами, которые могут модулировать функционирование этого барьера [27]. Было высказано предположение, что S-нитрозилирование гемоглобина приводит к образованию S-нитрозогемоглобина (SNO-Hb). Это является способом сохранения NO, который затем высвобождается из гемоглобина для доставки в сосудистое русло, где и служит вазодилататором [28].

Что касается механизмов микрореологических ответов эритроцитов на оксид азота, то ингибирование активности растворимой гуанилатциклазы (р-ГЦ) с помощью ODQ (1H-[1,2,4]-оксадиазоло[4,3-α][хиноксалин-l-OH) практически полностью устраняло положительное влияние донора NO, нитропруссида натрия на деформируемость эритроцитов [29]. Активация р-ГЦ повышает уровень цГМФ. Далее этот второй мессенджер модулирует ионные каналы мембраны или цГМФ-зависимую протеинкиназу для регуляции физиологических функций, включая вазодилатацию, агрегацию тромбоцитов [30]. Такое разнообразие эффектов цГМФможет объяснить разные ответы клеток на ингибирование ее активности.

### *Влияние сероводорода на микрореологические свойства эритроцитов и их транспортный потенциал: in vitro данные*

Недавние исследования показали, что сероводород ($H_2S$) вырабатывается в стенке сосуда из L-цистеина и регулирует сосудистый гомеостаз и агрегацию тромбоцитов, однако молекулярные механизмы, лежащие в основе сосудорасширяющего действия $H_2S$, все еще находятся в стадии изучения. [31]. Сероводород и оксид азота в настоящее время признаны важными регуляторами сердечно-сосудистой системы, хотя исторически они считались токсичными газами. Как газообразные медиаторы, $H_2S$ и NO имеют широкий спектр физических свойств и физиологических функций: они свободно проникают в мембрану; они эндогенно продуцируются специальными ферментами, стимулируют ангиогенез эндотелиальных клеток, регулируют тонус сосудов, защищают от повреждения сердца и регулируют активность белка-мишени посредством посттрансляционной модификации [32]. Растущее количество доказательств определило, что эти два газа не являются независимыми регуляторами, но имеют существенно перекрывающиеся патофизиологические функции и пути передачи сигналов. $H_2S$ и NO не только влияют на биосинтез друг друга, но и создают новые виды путем химического взаимодействия. Они играют регулирующую роль в сердечно-сосудистой системе, задействуя сходные сигнальные механизмы или молекулярные мишени. Действия $H_2S$ и NO сходятся в цГМФ; хотя сероводород не активирует напрямую растворимую гуанилатциклазу, он ингибирует фосфодиэстеразу-5, тем самым задерживая деградацию цГМФ. Совместное действие двух газотрансмиттеров на увеличение и поддержание внутриклеточного цГМФ имеет важное значение для активации протеинкиназы G и влияние последней на спектриновый цитоскелет эритроцитов, ответственный за деформируемость эритроцитов [19]. Таким образом, два газотрансмиттера: NO и $H_2S$ взаимно необходимы для физиологического контроля сосудистой функции [33], а также, вероятно, для регулирования микрореологических свойств клеток крови, и эритроцитов, в том числе. Так было показано, что деформируемость эритроцитов была достоверно повышена после применения отдельного доноров NO (нитропруссид натрия), на 7% и $H_2S$ (гидросульфид натрия) – на 8%. При их совместном применении (гидросульфид натрия + нитропруссид натрия) прирост этой микрореологической характеристики составил 12% и был статистически достоверно большим, чем действие этих отдельных соединений [34].

Таким образом, оксид азота и сероводород являются двумя газотрансмиттерами, которые способствуют регуляции сосудистого тонуса и клеток крови [17]. При этом механизм действия NO связан, главным образом, сигнальным каскадом рГЦ/цГМФ, а эффекты $H_2S$ в основном реализуются за счет активации АТФ-зависимых калиевых каналов [35], при этом оба приводят к расслаблению гладкомышечных клеток сосудов. Важно заметить, что нарушение гомеостаза NO/$H_2S$ участвует в патогенезе различных сердечно-сосудистых заболеваний, особенно артериальной гипертензии [36]. В настоящее время становится все более очевидным, что существуют важные взаимодействия между NO и $H_2S$ и которые оказывают глубокое влияние на сосудистый тонус [33].

### *Роль газотрансмиттера монооксида азота в изменении механизмов транспорта кислорода кровью*

Газотрансмиттеры NO, монооксид углерода (CO) и $H_2S$ выполняют множество важных функций и играют значительную роль в патогенезе ряда заболеваний [37]. Цикл NO включает два компо-

нента: NO-синтазные реакции, заключающиеся в трансформации L-аргинина в L-цитруллин, и NO, который далее окисляется до нитритов и нитратов; нитритредуктазную реакцию, катализируемую электронодонорными системами с участием котинамидадениндинуклеотида, флавопротеинов, дезоксигемоглобина и цитохрома P450 [38]. L-аргинин-NO система эритроцитов поддерживает постоянство внутренней среды организма, в частности обеспечивает КТФ крови. С использованием спектроскопии электронного парамагнитного резонанса и абсорбционной спектроскопии установлена высокая способностью эритроцитов к поглощению NO [39]. Значительную роль в процессах депонирования и высвобождения NO играют окислители, в том числе и $O_3$, на что указывает их влияние на формирование S-нитротиолов [38]. Существенное снижение агрегации эритроцитов под воздействием NO ведет к уменьшению вязкости крови при низких скоростях сдвига, что характерно для венул и вен, и тем самым способствует увеличению текучести крови, что обеспечивает эффективный венозный возврат [29].

Установлена обратно пропорциональная зависимость между средней концентрацией гемоглобина в эритроците и его способностью к поглощению NO, а также выявлена роль аминокислотного состава и структуры гемоглобина на функционирование NO-системы эритроцитов [39]. Инкубация крови с озонированным физиологическим раствором в концентрациях 2, 6, 10 мг/л при экспозиции 30 и 60 мин обуславливает изменение кислородсвязывающих свойств крови, проявляющееся в росте $pO_2$, $SO_2$ и уменьшении сродства гемоглобина к кислороду, выраженность которых дозозависимо усиливается с увеличением концентрации $O_3$. Показатель $p50_{реал}$ при максимальной концентрации $O_3$ 10 мг/л и экспозиции 60 мин возрастает до 40,78 [38,34; 41,94] ($p < 0,05$) в сравнении с контролем 28,4 [27,3; 29,3] мм рт. ст. Действие озона приводит к увеличению содержания нитрат/нитритов и сероводорода, что отражает взаимосвязь системы газотрансмиттеров и ассоциируется с модификацией кислородсвязывающих свойств крови. В группе экспериментальных образцов с концентрацией $O_3$ 10 мг/л концентрация нитрат/нитритов и сероводорода увеличивается [40]. Внесение донора NO нитроглицерина усиливает эффект озона (в концентрации 6 мг/л) на кислородсвязывающие свойства крови: показатели $pO_2$ на 24,47% ($p < 0,05$), $SO_2$ на 14,2% ($p < 0,05$), $p50_{реал}$ на 13,9% ($p < 0,05$).

При использовании ингибитора фермента NO-синтазы, L-аргинина и их комбинации подобный эффект не отмечается. При добавлении нитроглицерина концентрация нитрат/нитритов и сероводорода увеличивается, что отражает взаимосвязь газотрансмиттеров в модификации кислородсвязывающих свойств крови. [41]. Инкубация суспензии эритроцитов с озонированным изотоническим раствором натрия хлорида приводит к росту показателей, характеризующих ее кислородсвязывающие свойства, а именно наблюдается увеличение параметра $p50_{реал}$ и, соответственно, сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо, что отражает механизм действия озона на кровь, реализуемый непосредственно на уровне эритроцитарного компонента [42, 43].

Сероводород в низких концентрациях вызывает цитопротекторные реакции антиоксидантного типа, тогда как более высокие концентрации могут приводить к митохондриальному ингибированию и даже к гибели клеток. Важно, что, в то время как низкие концентрации $H_2S$ обычно обладают противовоспалительным действием, более высокие могут стимулировать различные провоспалительные механизмы [44]

Гемовые структуры играют важную роль в регуляции ферментов синтеза NO и $H_2S$, а сигнальные пути могут взаимно влиять на функции разных органов. Показано, что доноры $H_2S$ увеличивают активность эндотелиальной NOC через фосфорилирование Ser1177 и протеинкиназы B, а следовательно, увеличивают продукцию NO. Вероятно, $H_2S$ взаимодействует с окисленными формами NO (•NO) или активными формами азота ($ONOO^-$) в присутствии клеточных оксидантов, таких как молекулярный $O_2$, АФК (например, $H_2O_2$) и оксидазы, при этом могут образовываться новые молекулы – нитрозотиол, азотно-серная кислота [45]. Ингибитор синтеза сероводорода приводит к снижению эффекта озона (в концентрации 6 мг/л) на показатель сродства гемоглобина к кислороду: $p50_{реал}$ уменьшается, соответственно, кривая диссоциации оксигемоглобина сдвигается влево, а добавление натрия гидросульфида не изменяет воздействие этого фактора на данные параметры. Модуляция синтеза $H_2S$ (применение, как ингибитора, так и донора) не влияет на активность процессов перекисного окисления липидов при введении озона. Добавление пропаргилглицина в условиях действия озона снижает уровень нитрат/нитритов, а натрия гидросульфид увеличивает их концентрацию. Натрия гидросульфид и нитроглицерин при совместном применении в образцах крови, подвергнутых воздействию озона, способствуют росту сероводорода в плазме крови [46].

### *Роль газотрансмиттера сероводорода в изменении механизмов транспорта кислорода кровью*

Данные газотрансмиттеры (NO и $H_2S$) за счёт сходных механизмов воздействия, как правило, регулируют схожие функции [47]. Показано, что NO или $H_2S$ также могут влиять на концентрацию друг друга [48]. В связи с этим, наряду с изучением эффектов, которые проявляют NO и $H_2S$ изолированно, особый интерес вызывает «перекрестное взаимодействие» между данными молекулами [49, 50]. В ряде работ установлено, что газотрансмиттеры (NO, CO и $H_2S$) взаимодействуют, оказывая влияние на биодоступность и реакционную способность [50].

$H_2S$ и NO могут не только ингибировать синтез друг друга, но и активировать. NO увеличивает эндогенную продукцию $H_2S$ за счет повышения экспрессии цистатионин-γ-лиазы и цистатионин-β-синтазы в гладкомышечных клетках сосудов [51]. Донор сероводорода NaSH усиливает синтез NO за счет активации индуцированной интерлейкин-1β экспрессии индуцибельной NOC [52]. Обнаружено, что добавление L-цистеина стимулирует продукцию NO в эндотелиальных клетках пупочной вены человека, в то время как ингибирование цистатионин-γ-лиазы блокирует ее – это подтверждает наличие корреляции между ферментативным синтезом $H_2S$ и NO [53].

При разных значениях парциального давления кислорода выявлены разнонаправленные эффекты озона и системы газотрансмиттеров на кислородсвязывающие свойства крови. Предварительная обработка крови газовой смесью с низким парциальным давлением кислорода уменьшает показатель $p50_{реал}$ на 14,6 % ($p < 0,05$), а нитроглицерин препятствует проявлению данного эффекта, в то время, как натрия гидросульфид подобного действия не оказывает. Инкубация крови в условиях высокого парциального давления кислорода усиливает влияние озона на ее кислородсвязывающие свойства, отмечается рост $SO_2$ – на 51,4 % ($p < 0,05$), $p50_{реал}$ – на 30,14 % ($p < 0,05$). Доноры сероводорода и монооксида азота увеличивают данный эффект, в особенности нитроглицерин. Действие $O_3$ при различных парциальных давлениях кислорода активирует систему газотрансмиттеров [54, 55]. В условиях низкого парциального давления углекислого газа эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови существенно увеличивается, наблюдается сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо. Воздействие нитроглицерином в этих условиях усиливает эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови в меньшей степени и сопровождается ростом содержания нитрат/нитритов и сероводорода. Натрия гидросульфид подобного действия на кислородсвязывающие свойства крови не оказывает. Эффект озона на кислородсвязывающие свойства крови усиливается и в условиях высокого парциального давления углекислого газа, тогда как добавление нитроглицерина и натрия гидросульфида не вызывает значимых изменений. Действие озона при высоком парциальном давлении углекислого газа приводит к усилению синтеза сероводорода на 59,2 % ($p < 0,05$), внесение нитроглицерина и натрия гидросульфида увеличивают концентрации нитрат/нитритов и сероводорода, соответственно. [56, 57]. Выявленные изменения кислородсвязывающих свойств крови под влиянием озона, а также в условиях модуляции системы газотрансмиттеров (монооксид азота, сероводород), разных значений парциального давления кислорода и углекислого газа обосновывают новые механизмы стабилизации и коррекции аффинитета гемоглобина к кислороду.

## Заключение

Таким образом, проведенный анализ научной литературы, посвященной характеристике эффектов системы газотрансмиттеров, демонстрирует влияние данных газовых мессенджеров на функциональное состояние эритроцитов при различных вариантах его использования для коррекции патологических состояний. Особый интерес представляет действие газотрансмиттеров на микрореологические свойства эритроцитов и механизмов транспорта кислорода кровью, что обосновывает целесообразность проведения исследований по этому направлению.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список использованных источников

1. Rogers, S. PIEZO1 and the mechanism of the long circulatory longevity of human red blood cells / S. Rogers, V. L. Lew // PLoS Comput Biol. – 2021. – Vol. 17, № 3. – P. 84–96. doi: 10.1371/journal.pcbi.1008496
2. Kuck, L. Piezo1 regulates shear-dependent nitric oxide production in human erythrocytes / L. Kuck, J. N. Peart, J. M. Immonds // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2022. – Vol. 323, № 1. – P. 24–37. doi: 10.1152/ajpheart.00185.2022
3. Emerging concepts in the molecular cell biology and functions of mammalian erythrocytes / S. D. Kumar, J. Ghosh, S. Ghosh, S. M Eswarappa // J Biol Chem. – 2025. – Vol. 301, № 4. – P. 8–31. doi: 10.1016/j.jbc.2025.108331
4. Nitric oxide bioavailability for red blood cell deformability in the microcirculation: A review of recent progress /

J. Kobayashi, K. Ohtake, I. Murata, K. Sonoda // Nitric Oxide. – 2022. – Vol. 129. – P. 25–29. doi: 10.1016/j.niox.2022.09.004
5. González-Alonso, J. ATP as a mediator of erythrocyte-dependent regulation of skeletal muscle blood flow and oxygen delivery in humans / J. González-Alonso // J Physiol. – 2012. – Vol. 590, № 20. – P. 5001–5013. doi: 10.1113/jphysiol.2012.235002
6. Endothelial nitric oxide synthase in the microcirculation / X. Shu, T. C. S. Keller, D. Begandt [et al.] // Cell Mol Life Sci. – 2015. – Vol. 72, № 23. – P. 4561–4575. doi: 10.1007/s00018-015-2021-0
7. Helms, C. C. Erythrocytes and Vascular Function: Oxygen and Nitric Oxide / C. C. Helms, M. T. Gladwin, D. B. Kim-Shapiro // Front Physiol. – 2018. – Vol. 9. – P. 125. doi: 10.3389/fphys.2018.00125
8. Baskurt, O. K. Blood rheology and hemodynamics / O. K. Baskurt, H. J. Meiselman // Semin Thromb Hemost. – 2003. – Vol. 29., № 5. – P. 435–450. doi: 10.1055/s-2003-44551
9. Popel, A. S. Microcirculation and Hemorheology / A. S. Popel, P. C. Johnson // Annu. Rev. Fluid. Mech. – 2005. – Vol. 37. – P. 43–69. doi: 10.1146/annurev.fluid.37.042604.133933
10. Baskurt, O. K. Hemodynamic effects of red blood cell aggregation / O. K. Baskurt, H. J. Meiselman // Indian J. Exp. Biol. – 2007. – Vol. 45, № 1. – P. 25–31.
11. Gashi, K. The impact of model assumptions on coronary blood flow computations / K. Gashi. – 2019. – 112 p. doi: 10.3929/ethz-b-000402106
12. Donor Age and Red Cell Age Contribute to the Variance in Lorrca Indices in Healthy Donors for Next Generation Ektacytometry: A Pilot Study / A. M. Van Cromvoirt, S. Fenk, A. Sadafi [et al.] // Front. Physiol. – 2021. – Vol. 12. – P. 63–72.doi: 10.3389/fphys.2021.639722
13. Relationship between erythrocyte aggregate size and flow rate in skeletal muscle venules / J. J. Bishop, P. R. Nance, A. S. Popel [et al.] // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2004. – Vol. 286. – P. 113–120. doi: 10.1152/ajpheart.00587.2003
14. Muravyov, A. V. Role molecular signaling pathways in changes of red blood cell deformability / A. V. Muravyov, I. A. Tikhomirova // Clin Hemorheol Microcirc. – 2013. – Vol. 53. – P. 45–59. doi: 10.3233/CH-2012-1575
15. Effects of nitric oxide on red blood cell deformability / M. Bor-Kucukatay, R. B. Wenby, H. J. Meiselman, O. K. Baskurt // Am. J. Physiol Heart Circ. Physiol. – 2003. – Vol. 284. – P. 1577–1584. doi: 10.1152/ajpheart.00665.2002
16. Гемореологические параметры у лиц с разным уровнем обеспечения организма кислородом: влияние оксида азота и сульфида водорода на микрореологические характеристики эритроцитов / А. В. Муравьев, П. В. Михайлов, В. В. Зинчук, И. А. Тихомирова [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2021. – № 4. – С. 22–29. doi. 1025555 / THR.2021.4.0993
17. Hydrogen sulfide inhibits human platelet aggregation in vitro in part by interfering gap junction channels: effects of ACS14, a hydrogen sulfide-releasing aspirin / L. Gao, C. Cheng, A. Sparatore [et al.] // Heart Lung Circ. – 2015. – Vol. 24, № 1. – P. 77–85. doi: 10.1016/j.hlc.2014.05.019
18. The Lyn-catalyzed Tyr phosphorylation of the transmembrane band 3 protein of human erythrocytes / M. Brunati, L. Bordin, G. Clari [et al.] // Eur. J. Biochem. – 1996. – Vol. 240, № 2. – P. 394–399. doi: 10.1111/j.1432-1033.1996.0394h.x
19. Role of Nitric Oxide Carried by Hemoglobin in Cardiovascular Physiology: Developments on a Three-Gas Respiratory Cycle / R. T. Premont, J. D. Reynolds, R. Zhang, J. S. Stamler // Circ Res. – 2020. – Vol. 126, № 1. – P. 129–158. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.315626
20. Proteomic Analysis of the Role of the Adenylyl Cyclase-cAMP Pathway in Red Blood Cell Mechanical Responses / E. Ugurel, E. Goksel, N. Cilek [et al.] // Cells. – 2022. – Vol. 11, № 7. – P. 12–50. doi: 10.3390/cells11071250
21. Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase / P. Kleinbongard, R. Schulz, T. Rassaf [et al.] // Blood. – 2006. – Vol. 107. – P. 43–51. doi: 10.1182/blood-2005-10-3992
22. Whorton, A. R. Regulation of nitric oxide synthesis by oxygen in vascular endothelial cells / A. R. Whorton, D. B. Simonds, C. A. Piantadosi // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. – 1997. – Vol. 16. – P. 61–66. doi: 10.1152/ajplung.1997.272.6.L1161
23. Uyuklu, M. Role of hemoglobin oxygenation in the modulation of red blood cell mechanical properties by nitric oxide / M. Uyuklu, H. J. Meiselman, O. K. Baskurt // Nitric Oxide. – 2009. – Vol. 2. – P. 20–26. doi:10.1016/j.niox.2009.03.004
24. Oxide Scavenging by Red Blood Cells as a Function of Hematocrit and Oxygenation / I. Azarov, K.T. Huang, S. Basu [er al.] // J. Biol. Chem. – 2005. – Vol. 280. – P. 24–32. doi: 10.1074/jbc.M509045200
25. Baskurt, O. K. Blood Rheology and Hemodynamics / O. K. Baskurt, H. J. Meiselman // Semin Thromb Hemost. – 2024. – Vol. 50, № 6. – P. 902–915. doi: 10.1055/s-0043-1777802
26. Intravascular flow decreases erythrocyte consumption of nitric oxide / J. C. Liao, T. W. Hein, M. W. Vaughn [et al.] // Proc. Nat. Acad Sci. USA. – 1999. – Vol. 96. – P. 57–61. doi: 10.1073/pnas.96.15.8757
27. Erythrocyte nitric oxide transport reduced by a submembrane cytoskeletal barrier / T. H. Han, A. Pelling, T. J. Jeon [et al.] // Biochim. Biophys. Acta-Gen. Subj. – 2005. – Vol. 1723. – P. 135–142. doi: 10.1016/j.bbagen.2005.01.013
28. Pawloski, J. R. Export by red blood cells of nitric oxide bioactivity / J. R. Pawloski, D. T. Hess, J. S. Stamler // Nature. – 2001. – Vol. 409. – P. 622–626. doi: 10.1038/35054560
29. Муравьев, А. В. Влияние доноров газотрансмиттеров (оксида азота, сульфида водорода и монооксида углерода) на микрореологические свойства эритроцитов /А. В. Муравьев, И. А. Тихомирова, Е. П. Петроченко // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2021. – № 1. – P. 68–73. doi: 10.25555/THR.2021.1.0964
30. Boo, Y. C. Flow-dependent regulation of endothelial nitric oxide synthase: role of protein kinases / Y. C. Boo, H. Jo // Am. J. Physiol. Cell Physiol. – 2003. – Vol. 285. – P. 499–508. doi: 10.1152/ajpcell.00122.2003
31. Hydrogen sulfide is an endogenous inhibitor of phosphodiesterase activity / M. Bucci, A. Papapetropoulos, V. Vellecco [et al.] // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2010. – Vol. 30, № 10. – P. 1998–2004. doi: 10.1161/ATVBAHA.110.209783
32. Wu, D. An Update on Hydrogen Sulfide and Nitric Oxide Interactions in the Cardiovascular System / D. Wu, Q. Hu, D. Zhu // Oxid Med Cell Longev. – 2018. – Vol. 2018. – P. 45–79. doi: 10.1155/2018/4579140
33. Hydrogen sulfide and nitric oxide are mutually dependent in the regulation of angiogenesis and endothelium-dependent vasorelaxation / C. Coletta, A. Papapetropoulos, K. Erdelyi [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2012. – Vol. 109, № 23. – P. 61–66. doi: 10.1073/pnas.1202916109
34. Прогнозирование вязкости и текучести крови: экспериментальное исследование на in vitro и in silico моделях / А. В. Муравьев, А. В. Приезжев, А. Е. Луговцов [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2025. – № 4. – P. 21–28.

35. ATP-sensitive K+ channels, adenosine, and nitric oxide-mediated mechanisms account for coronary vasodilation during exercise / Y. Ishibashi [et al.] Circ. Res. – 1998. – Vol. 82. – P. 346–359. doi: 10.1161/01.res.82.3.346
36. Exogenous H2S Attenuates Hypertension by Regulating Renin Exocytosis under Hyperglycaemic and Hyperlipidaemic Conditions / N. Liu, D. J. Duncker, J. Zhang [et al.] // Int J Mol Sci. – 2023. – Vol. 24, № 2. – P.16–90. doi: 10.3390/ijms24021690
37. Nitric oxide. Biology and pathobiology / ed. L. J. Ignarro. – London: Academic press, 2000. – 1023 p.
38. Мартусевич, А. К. Оксид азота как универсальный биорегулятор / А. К. Мартусевич // Биорадикалы и антиоксиданты. – 2019. – Т. 6, № 1. – С. 5–19.
39. Акулич, Н. В. Сравнительный анализ содержания монооксида азота в эритроцитсодержащих компонентах крови при ее хранении и их оптико-морфометрическая характеристика / Н. В. Акулич, В. В. Зинчук // Биофизика. – 2023. – Т. 68, № 1. – С. 79–86.
40. Зинчук, В. В. Эффект озона на кислородтранспортную функцию крови при различных режимах воздействия в опытах in vitro / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // Биофизика. – 2020. – Т. 65, № 5. – С. 915–919.
41. Зинчук, В. В. Особенности влияния озона на кислородзависимые процессы крови при гипоксических условиях / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // Регионарное кровообращение и микроциркуляция.– 2021. – Т. 20, № 3. – С.70–76.
42. Zinchuk, V. Effect of ozone on oxygen transport and pro-oxidant-antioxidant balance of red blood cell suspension / V. Zinchuk, E. Biletskaya // Acta Chim. Slov. – 2023. – Vol. 70, № 2. – P. 226–230. doi: 10.17344/acsi.2023.8032
43. Зинчук, В. В. Механизмы действия озона на функциональное состояние эритроцитов / В.В. Зинчук, Е.С. Билецкая; под ред. проф. В. В. Зинчука. – Гродно: ГрГМУ, 2025. – 140 с.
44. Wang, R. Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed / R. Wang // Physiol Rev. – 2012. – Vol. 92, № 2. – P. 791–896. doi: 10.1152/physrev.00017.2011
45. Молекулярные механизмы действия газотрансмиттеров NO, CO и H2S в гладкомышечных клетках и влияние no-генерирующих соединений (нитратов и нитритов) на среднюю продолжительность жизни / С. В. Гусакова [и др.] // Успехи физиологических наук. – 2017. – Т. 48, № 1. – С. 24–52.
46. Зинчук, В. В. Влияние озона на кислородсвязывающие свойства крови и ее прооксидантно-антиоксидантный баланс в условиях воздействия на H2S-генерирующую систему / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2023. – Т. 109, № 6. – С. 760–770.
47. Li, L. Actions and interactions of nitric oxide, carbon monoxide and hydrogen sulphide in the cardiovascular system and in inflammation-a tale of three gases / L. Li, A. Hsu, P. K. Moore // Pharmacol. Ther. – 2009. – Vol. 123, № 3. – P. 386–400. doi: 10.1016/j.pharmthera.2009.05.005
48. Способ коррекции липидного профиля у пожилых пациентов с облитерирующим атеросклерозом 2-ой стадии / И. В. Макаров, Ю. В. Щукин, А. В. Лукашова [и др.] // Тольяттинский медицинский консилиум. – 2015. – № 1–2. – С. 20–25.
49. Li, L. An overview of the biological significance of endogenous gases: New roles for old molecules / L. Li, P. K. Moore // Biochem. Soc. Trans. – 2007. – Vol. 35, № 5. – P. 1138–1141. doi: 10.1042/BST0351138
50. Subtle interplay of endogenous bioactive gases (NO, CO and H(2)S) in inflammation / H. O. Pae, Y. C. Lee, E. K. Jo, H. T. Chung // Arch. Pharm. Res. – 2009. – Vol. 32, № 8. – P. 1155–1162. doi: 10.1007/s12272-009-1806-9
51. Zhao, W. H2S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms / W. Zhao, R. Wang // Am J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2002. – Vol. 283, № 2. – P. 474–480. doi: 10.1152/ajpheart.00013.2002
52. Hydrogen sulfide potentiates interleukin-1beta-induced nitric oxide production via enhancement of extracellular signal-regulated kinase activation in rat vascular smooth muscle cells / S. O. Jeong, H. O. Pae, G. S. Oh [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2006. – Vol. 345, № 3. – P. 938–944. doi: 10.1016/j.bbrc.2006.05.002
53. Altaany, Z. Crosstalk between hydrogen sulfide and nitric oxide in endothelial cells / Z. Altaany, G. Yang, R. Wang // J. Cell. Mol. Med. – 2013. – Vol. 17., № 7. – P. 879–888. doi: 10.1111/jcmm.12077
54. Вклад газотрансмиттеров (NO, H2S) в эффект озона на кислородзависимые процессы крови в условиях оксигенации / Е. С. Билецкая, В. В. Зинчук, А. В. Муравьев [и др.] // Новости медико-биологических наук. – 2021. – Т. 21, № 2. – С.18–24.
55. Зинчук, В. В. Эффект озона на кислородтранспортную функцию и прооксидантно-антиоксидантный баланс крови в условиях воздействия на NO-генерирующую систему в опытах in vitro / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая, И. Э. Гуляй // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2021. – Т. 107, № 1. – С. 16–27.
56. Зинчук, В. В. Особенности действия озона на кислородзависимые процессы крови в условиях гиперкапнии / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая, И. Э. Гуляй // Биомедицинская химия. – 2022. – Т. 68, № 3. – С. 212–217.
57. Влияние газотрансмиттеров и озона на микрореологию эритроцитов и кислородтранспортную функцию крови / В. В. Зинчук, А. В. Муравьев, Е. С. Билекая [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2022. – № 2. – С. 73–83.

## References

1 Rogers S, Lew VL. PIEZO1 and the mechanism of the long circulatory longevity of human red blood cells. *PLoS Comput Biol*. 202;17(3):e1008496. doi: 10.1371/journal.pcbi.1008496
2 Kuck L, Peart JN, Simmonds MJ. Piezo1 regulates shear-dependent nitric oxide production in human erythrocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2022 Jul;323(1):H24-H37. doi: 10.1152/ajpheart.00185.2022
3 Kumar SD, Ghosh J, Ghosh S, Eswarappa SM. Emerging concepts in the molecular cell biology and functions of mammalian erythrocytes. *J Biol Chem*. 2025 Apr;301(4):108331. doi: 10.1016/j.jbc.2025.108331
4 Kobayashi J, Ohtake K, Murata I, Sonoda K. Nitric oxide bioavailability for red blood cell deformability in the microcirculation: A review of recent progress. *Nitric Oxide*. 2022 Dec;129:25-29. doi: 10.1016/j.niox.2022.09.004
5 González-Alonso J. ATP as a mediator of erythrocyte-dependent regulation of skeletal muscle blood flow and oxygen delivery in humans. *J Physiol*. 2012;590(20):5001-5013. doi: 10.1113/jphysiol.2012.235002
6 Shu X, Keller TC 4th, Begandt D, Butcher JT, Biwer L, Keller AS, Columbus L, Isakson BE. Endothelial nitric oxide synthase in the microcirculation. *Cell Mol Life Sci*. 2015 Dec;72(23):4561-4575. doi: 10.1007/s00018-015-2021-0
7 Helms CC, Gladwin MT, Kim-Shapiro DB. Erythrocytes and Vascular Function: Oxygen and Nitric Oxide. *Front Physiol*. 2018;9:125. doi: 10.3389/fphys.2018.00125
8 Baskurt OK, Meiselman HJ. Blood rheology and hemodynamics. *Semin Thromb Hemost*. 2003;29(5):435-450. doi: 10.1055/s-2003-44551

9 Popel AS, Johnson PC. Microcirculation and Hemorheology. *Annu Rev Fluid Mech*. 2005 Jan;37:43-69. doi: 10.1146/annurev.fluid.37.042604.133933
10 Baskurt OK, Meiselman HJ. Hemodynamic effects of red blood cell aggregation. *Indian J Exp Biol*. 2007 Jan;45(1):25-31.
11 Gashi K. The impact of model assumptions on coronary blood flow computations. – 2019. – 112 p. doi: 10.3929/ethz-b-000402106
12 van Cromvoirt AM, Fenk S, Sadafi A, Melnikova EV, Lagutkin DA, Dey K, Petrushanko IY, Hegemann I, Goede JS, Bogdanova A. Donor Age and Red Cell Age Contribute to the Variance in Lorrca Indices in Healthy Donors for Next Generation Ektacytometry: A Pilot Study. *Front Physiol*. 2021 Mar;12:639722. doi: 10.3389/fphys.2021.639722
13 Bishop JJ, Nance PR, Popel AS, Intaglietta M, Johnson PC. Relationship between erythrocyte aggregate size and flow rate in skeletal muscle venules. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004 Jan;286(1):H113-120. doi: 10.1152/ajpheart.00587.2003
14 Muravyov AV, Tikhomirova IA. Role molecular signaling pathways in changes of red blood cell deformability. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2013;53(1-2):45-59. doi: 10.3233/CH-2012-1575
15 Bor-Kucukatay M, Wenby RB, Meiselman HJ, Baskurt OK. Effects of nitric oxide on red blood cell deformability. *Am. J. Physiol Heart Circ. Physiol*. 2003;284:H1577-H1584. doi: 10.1152/ajpheart.00665.2002
16 Muravyov AV, Mihajlov PV, Zinchuk VV, Tihomirova IA, Ostroumov RS. Gemoreologicheskie parametry u lic s raznym urovnem obespecheniya organizma kislorodom: vliyanie oksida azota i sul'fida vodoroda na mikroreologicheskie harakteristiki eritrocitov [Hemorheological parameters in individuals with different levels of oxygen supply to the body: the effect of nitric oxide and hydrogen sulfide on the microrheological characteristics of erythrocytes] Tromboz gemostaz i reologiya [Thrombosis hemostasis and rheology]. 2021;4:22-29. (In Russian). doi. 1025555 / THR.2021.4.0993
17 Gao L, Cheng C, Sparatore A, Zhang H, Wang C. Hydrogen sulfide inhibits human platelet aggregation in vitro in part by interfering gap junction channels: effects of ACS14, a hydrogen sulfide-releasing aspirin. *Heart Lung Circ*. 2015 Jan;24(1):77-85. doi: 10.1016/j.hlc.2014.05.019
18 Brunati AM, Bordin L, Clari G, Moret V. The Lyn-catalyzed Tyr phosphorylation of the transmembrane band-3 protein of human erythrocytes. *Eur J Biochem*. 1996 Sep;240(2):394-939. doi: 10.1111/j.1432-1033.1996.0394h.x
19 Premont RT, Reynolds JD, Zhang R, Stamler JS. Role of Nitric Oxide Carried by Hemoglobin in Cardiovascular Physiology: Developments on a Three-Gas Respiratory Cycle. *Circ Res*. 2020 Jan;126(1):129-158. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.315626
20 Ugurel E, Goksel E, Cilek N, Kaga E, Yalcin O. Proteomic Analysis of the Role of the Adenylyl Cyclase-cAMP Pathway in Red Blood Cell Mechanical Responses. *Cells*. 2022 Apr;11(7):1250. doi: 10.3390/cells11071250
21 Kleinbongard P, Schulz R, Rassaf T, Lauer T, Dejam A, Jax T, Kumara I, Gharini P, Kabanova S, Ozüyaman B, Schnürch HG, Gödecke A, Weber AA, Robenek M, Robenek H, Bloch W, Rösen P, Kelm M. Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase. *Blood*. 2006 Apr;107(7):2943-2951. doi: 10.1182/blood-2005-10-3992
22 Whorton AR, Simonds DB, Piantadosi CA. Regulation of nitric oxide synthesis by oxygen in vascular endothelial cells. *Am J Physiol*. 1997 Jun;272(6 Pt 1):L1161-1166. doi: 10.1152/ajplung.1997.272.6.L1161
23 Uyuklu M, Meiselman HJ, Baskurt OK. Role of hemoglobin oxygenation in the modulation of red blood cell mechanical properties by nitric oxide. *Nitric Oxide*. 2009;21:20-26. doi:10.1016/j.niox.2009.03.004
24 Azarov I, Huang KT, Basu S, Gladwin MT, Hogg N, Kim-Shapiro DB. Nitric oxide scavenging by red blood cells as a function of hematocrit and oxygenation. *J Biol Chem*. 2005 Nov;280(47):39024-39032. doi: 10.1074/jbc.M509045200
25 Baskurt OK, Meiselman HJ. Blood Rheology and Hemodynamics. *Semin Thromb Hemost*. 2024 Sep;50(6):902-915. doi: 10.1055/s-0043-1777802
26 Liao JC, Hein TW, Vaughn MW, Huang KT, Kuo L. Intravascular flow decreases erythrocyte consumption of nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 Jul;96(15):8757-8761. doi: 10.1073/pnas.96.15.8757
27 Han TH, Pelling A, Jeon TJ, Gimzewski JK, Liao JC. Erythrocyte nitric oxide transport reduced by a submembrane cytoskeletal barrier. *Biochim Biophys Acta*. 2005 May;1723(1-3):135-142. doi: 10.1016/j.bbagen.2005.01.013
28 Pawloski JR, Hess DT, Stamler JS. Export by red blood cells of nitric oxide bioactivity. *Nature*. 2001 Feb;409(6820):622-626. doi: 10.1038/35054560
29 Muravyov AV, Tihomirova IA, Petrochenko EP. Vliyanie donorov gazotransmitterov (oksida azota, sul'fida vodoroda i monooksida ugleroda) na mikroreologicheskie svoĭstva eritrocitov [The influence of gasotransmitter donors (nitric oxide, hydrogen sulfide and carbon monoxide) on the microrheological properties of erythrocytes] *Tromboz gemostaz i reologiya* [Thrombosis hemostasis and rheology]. 2021;1:68-73. (In Russian). doi: 10.25555/THR.2021.1.0964
30 Boo YC, Jo H. Flow-dependent regulation of endothelial nitric oxide synthase: role of protein kinases. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2003 Sep;285(3):499-508. doi: 10.1152/ajpcell.00122.2003
31 Bucci M, Papapetropoulos A, Vellecco V, Zhou Z, Pyriochou A, Roussos C, Roviezzo F, Brancaleone V, Cirino G. Hydrogen sulfide is an endogenous inhibitor of phosphodiesterase activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010 Oct;30(10):1998-2004. doi: 10.1161/ATVBAHA.110.209783
32 Wu D, Hu Q, Zhu D. An Update on Hydrogen Sulfide and Nitric Oxide Interactions in the Cardiovascular System. *Oxid Med Cell Longev*. 2018 Sep;2018:4579140. doi: 10.1155/2018/4579140
33 Coletta C, Papapetropoulos A, Erdelyi K, Olah G, Módis K, Panopoulos P, Asimakopoulou A, Gerö D, Sharina I, Martin E, Szabo C. Hydrogen sulfide and nitric oxide are mutually dependent in the regulation of angiogenesis and endothelium-dependent vasorelaxation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 Jun;109(23):9161-9166. doi: 10.1073/pnas.1202916109
34 Muravyov AV, Priezzhev AV, Lugovcov AE, Tihomirova IA, Mihaĭlov PV, Osetrov IA, Zamyshlyaev AV. Prognozirovanie vyazkosti i tekuchesti krovi: eksperimental'noe issledovanie na in vitro i in silico modelyah [Prediction of blood viscosity and fluidity: experimental study using in vitro and in silico models] *Tromboz gemostaz i reologiya* [Thrombosis hemostasis and rheology]. 2025;(4):21-28. (In Russian)
35 Ishibashi Y, Duncker DJ, Zhang J, Bache RJ. ATP-sensitive K+ channels, adenosine, and nitric oxide-mediated mechanisms account for coronary vasodilation during exercise. *Circ Res*. 1998 Feb;82(3):346-359. doi: 10.1161/01.res.82.3.346
36 Liu N, Li M, Liu S, Kang J, Chen L, Huang J, Wang Y, Chen H, Zhang W. Exogenous H2S Attenuates Hypertension by Regulating Renin Exocytosis under Hyperglycaemic and

Hyperlipidaemic Conditions. *Int J Mol Sci*. 2023 Jan;24(2):1690. doi: 10.3390/ijms24021690
37 Ignarro LJ. Nitric oxide. Biology and pathobiology. – London: Academic press, 2000. – 1023 p.
38 Martusevich AK. Oksid azota kak universal'nyj bioregulyator [Nitric oxide as a universal bioregulator] *Bioradikaly i Antioksidanty* [Bioradicals and antioxidants]. 2019;6(1):5-19. (In Russian).
39 Akulich NV, Zinchuk VV. Sravnitel'nyj analiz soderzhaniya monooksida azota v eritrocitsoderzhashchih komponentah krovi pri ee hranenii i ih optiko-morfometricheskaya harakteristika [Comparative analysis of the nitrogen monoxide content and optical-morphometric characteristics of erythrocyte-containing blood components during storage]. *Biofizika* [Biophysics]. 2023;68(1):79-86. (In Russian). doi: 10.31857/S0006302923010088
40 Zinchuk VV, Bileckaya ES. Effekt ozona na kislorodtransportnuyu funkciyu krovi pri razlichnyh rezhimah vozdejstviya v opytah in vitro [Different Ozone Dosage Effects on Oxygen Transport in Blood, in vitro Experiments] *Biofizika* [Biophysics]. 2020;65(5): 915-919. (In Russian). doi: 10.31857/S0006302920050099
41 Zinchuk VV, Bileckaya ES. Osobennosti vliyaniya ozona na kislorodzavisimye processy krovi pri gipoksicheskih usloviyah [Features of ozone effect on oxygen-dependent processes in the blood under hypoxic conditions] *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrocirkulyaciya* [Regional blood circulation and microcirculation]. 2021;20(3):70-76. (In Russian). doi: 10.24884/1682-6655-2021-20-3-70-76
42 Zinchuk VV, Biletskaya ES. Effect of Ozone on Oxygen Transport and Pro-Oxidant-Antioxidant Balance of Red Blood Cell Suspension. *Acta Chim Slov*. 2023 Jun 1;70(2):226-230. doi: 10.17344/acsi.2023.8032
43 Zinchuk VV, Biletskaya ES. Mekhanizmy dejstviya ozona na funkcional'noe sostoyanie eritrocitov [Mechanisms of ozone action on the functional state of red blood cells]. Monografiya [Monograph]. 2025:140. (In Russian)
44 Wang R. Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed. *Physiol Rev*. 2012 Apr;92(2):791-896. doi: 10.1152/physrev.00017.2011
45 Gusakova SV, Smagliy LV, Birulina YG, Kovalev IV, Nosarev AV, Petrova IV, Reutov VP. Molekulyarnye mekhanizmy dejstviya gazotransmitterov NO, CO i H2S v gladkomyshechnyh kletkah i vliyanie no-generiruyushchih soedinenij (nitratov i nitritov) na srednyuyu prodolzhitel'nost' zhizni [Molecular mechanisms of action of gasotransmitters no, co and H2S in smooth muscle cells and effect of no-generating compounds (nitrates and nitrites) on average life expectancy] *Uspekhi fiziologicheskih nauk* [Advances in physiological sciences]. 2017;48(1):24-52. (In Russian).
46 Zinchuk VV, Bileckaya ES. Vliyanie ozona na kislorodsvyazyvayushchie svojstva krovi i ee prooksidantno-antioksidantnyj balans v usloviyah vozdejstviya na H2S-generiruyushchuyu sistemu [Effect of Ozone on Blood Oxygen Transport Function and Pro-Oxidant–Antioxidant Balance in under Conditions of Changing Nitrogen Monoxide Formation In Vitro Experiments]. *Rossijskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova* [I.M. Sechenov Russian Physiological Journal]. 2023;109(5):760-770. (In Russian). doi: 10.31857/S0869813921010106
47 Li L, Hsu A, Moore PK. Actions and interactions of nitric oxide, carbon monoxide and hydrogen sulphide in the cardiovascular system and in inflammation--a tale of three gases! *Pharmacol Ther*. 2009 Sep;123(3):386-400. doi: 10.1016/j.pharmthera.2009.05.005
48 Makarov IV, Shchukin YUV, Lukashova AV, Lopuhov ES. Sposob korrekcii lipidnogo profilya u pozhilyh pacientov s obliteriruyushchim aterosklerozom 2-oj stadii [A method for correcting the lipid profile in elderly patients with stage 2 obliterating atherosclerosis] *Tol'yattinskij medicinskij konsilium* [Tolyatti Medical Council]. 2015$1-2:20-25. (In Russian).
49 Li L, Moore PK. An overview of the biological significance of endogenous gases: new roles for old molecules. *Biochem Soc Trans*. 2007 Nov;35(Pt 5):1138-1141. doi: 10.1042/BST0351138
50 Pae HO, Lee YC, Jo EK, Chung HT. Subtle interplay of endogenous bioactive gases (NO, CO and H(2)S) in inflammation. *Arch Pharm Res*. 2009 Aug;32(8):1155-1162. doi: 10.1007/s12272-009-1806-9
51 Zhao W, Wang R. H(2)S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002 Aug;283(2):H474-480. doi: 10.1152/ajpheart.00013.2002
52 Jeong SO, Pae HO, Oh GS, Jeong GS, Lee BS, Lee S, Kim du Y, Rhew HY, Lee KM, Chung HT. Hydrogen sulfide potentiates interleukin-1beta-induced nitric oxide production via enhancement of extracellular signal-regulated kinase activation in rat vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006 Jul;345(3):938-944. doi: 10.1016/j.bbrc.2006.05.002
53 Altaany Z, Yang G, Wang R. Crosstalk between hydrogen sulfide and nitric oxide in endothelial cells. *J Cell Mol Med*. 2013 Jul;17(7):879-888. doi: 10.1111/jcmm.12077
54 Bileckaya ES, Zinchuk VV, Murav'ev AV, Gulyaj IE, Dorohin KM. Vklad gazotransmitterov (NO, H2S) v effekt ozona na kislorodzavisimye processy krovi v usloviyah oksigenacii [Contribution of gaseous transmitters (NO, H2S) to the effect of ozone on oxygen-dependent blood processes under oxygenation conditions]. *Novosti mediko-biologicheskih nauk* [Biomedical science news]. 2021;21(2):18-24. (In Russian).
55 Zinchuk VV, Bileckaya ES, Gulyaj IE. Effekt ozona na kislorodtransportnuyu funkciyu i prooksidantno-antioksidantnyj balans krovi v usloviyah vozdejstviya na NO-generiruyushchuyu sistemu v opytah in vitro [Effect of ozone on blood oxygen transport function and pro-oxidant–antioxidantbalance in under conditions of changing nitrogen monoxide formation in vitro experiments] *Rossijskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova* [I.M. Sechenov Russian Physiological Journal]. 2021;107(1):16-27. (In Russian).
56 Zinchuk VV, Bileckaya ES, Gulyaj IE. Osobennosti dejstviya ozona na kislorodzavisimye processy krovi v usloviyah giperkapnii [Features of ozone effect on the oxygen-dependent blood processes under hypercapnia conditions] *Biomedicinskaja himija* [Biomeditsinskaya Khimiya]. 2022;68(3):212-217. (In Russian). doi: 10.18097/PBMC20226803212
57 Zinchuk V.V., Murav'ev A.V., Bileckaya E.S., Mihajlov P.V., Tihomirova I.A., Ostroumov R.S., Zamyshlyaev A.V. Vliyanie gazotransmitterov i ozona na mikroreologiyu eritrocitov i kislorodtransportnuyu funkciyu krovi [The influence of gasotransmitters and ozone on the microrheology of erythrocytes and the oxygen transport function of blood]. *Tromboz, gemostaz i reologiya* [Tromboz, gemostaz i reologiya]. 2022;2:73-83. (In Russian).

# THE ROLE OF GASOTRANSMITTER IN CHANGES IN THE MICRORHEOLOGICAL PROPERTIES OF RED CYTES AND MECHANISMS OF OXYGEN TRANSPORT IN THE BLOOD

*V. V. Zinchuk[1], A. E. Lugovtsov[2], A. V. Priezzhev[2], A. V. Muravyov[3], I. A. Tikhomirova[3], E. V. Uzlova[4]*

*[1]Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus*

*[2]Moscow State University named after M.V. Lomonosov, Moscow, Russian Federation*

*[3]Yaroslavl State Pedagogical University named after K.D. Ushinsky, Yaroslavl, Russian Federation*

*[4]Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Republic of Belarus*

**Background.** Red blood cells, traditionally viewed as passive carriers of oxygen and carbon dioxide, were long considered simply hemoglobin-filled sacs, incapable of gene expression or functions beyond gas exchange.

**Objective.** To analyze our own and published data on the role of gasotransmitters in changes in the microrheological properties of red blood cells and the mechanisms of oxygen transport in the blood.

**Materials and methods.** We analyzed scientific publications using the following databases: PubMed, MDPI, CyberLeninka, EBS Lan, and our own research on gasotransmitters and the mechanisms of oxygen transport in the blood.

**Results.** The role of gasotransmitters in changes in the microrheological properties of red blood cells and the mechanisms of oxygen transport in the blood is analyzed. The importance of nitrogen monoxide and hydrogen sulfide in shaping the viscosity properties of red blood cells and the oxygen-binding properties of hemoglobin is discussed in vitro experiments and under the influence of various factors, particularly ozone.

**Conclusions.** The gasotransmitter system influences the functional state of red blood cells, specifically their microrheological properties and the mechanisms of oxygen transport in the blood.

**Keywords:** blood, erythrocyte, hemoglobin, gasotransmitters.

**For citation:** Zinchuk VV, Lugovtsov AE, Priezzhev AV, Muravyov AV, Tikhomirova IA. The role of gasotransmitters in changes in the microrheological properties of red cytes and mechanisms of oxygen transport in the blood. Biochemistry and molecular biology. 2026, vol. 5, no. 1(8). pp. 131–141 (in Russian).

*Поступила 23.03.2026*

*Антипина Екатерина Олеговна* – ассистент кафедры неврологии и нейрохирургии, Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь); email: catherine.antipina@gmail.com.

*Ekaterina O. Antipina* – Assistant Professor, Department of Neurology and Neurosurgery, Grodno State Medical University (80 Gorky St., Grodno, 230009, Belarus); email: catherine.antipina@gmail.com.

*Велеменчук Дарья Николаевна* – врач клинической лабораторной диагностики, Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Республика Беларусь); email: Velemenchuk_DN@rambler.ru.

*Darya N. Velemianchuk* – clinical laboratory diagnostics physician, Republican Scientific and Practical Center of Children's Oncology, Hematology and Immunology (43 Frunzenskaya str., 223053, Borovlyany, Republic of Belarus); email: Velemenchuk_DN@rambler.ru.

*Вертинская Наталья Чеславовна* – младший научный сотрудник научно-производственной лаборатории, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси (пл. Антония Тызенгауза 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: labpkc@grsmu.by.

*Natallia Ch. Vertinskaya* – junior researcher of the Scientific Laboratory, Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Belarus (7 Tysengauz sq., 230023, Grodno, Republic of Belarus); email: labpkc@grsmu.by.

*Горустович Ольга Анатольевна* – кандидат медицинских наук, доцент, заместитель декана по идеологической и воспитательной работе педиатрического факультета, Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь); email: gorustovich1206@gmail.com.

*Olga A. Gorustovich* – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Deputy Dean for Ideological and Educational Work of the Pediatric Faculty, Grodno State Medical University (80 Gorky St., 230009, Grodno, Republic of Belarus); email: gorustovich1206@gmail.com.

*Горчакова Ольга Владимировна* – врач клинической лабораторной диагностики, Гродненский областной клинический перинатальный центр (230009, ул. Горького 77, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: daniil_go@inbox.ru; https:// orcid.org/0000-0001-9998-4350

*Volha U. Harchakova* – clinical laboratory diagnostics physician, Grodno Regional Clinical Perinatal Center (77 Gorkogo str., 230009, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: daniil_go@inbox.ru; https:// orcid.org/0000-0001-9998-4350

*Емельянчик Сергей Владимирович* – доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой экологии, Гродненский государственный университет им. Янки Купалы (пер. Доватора 3/1, 230012, г. Гродно, Республика Беларусь), e-mail: semel@grsu.by, ORCID: 0009-0009-3032-8203.

*Sergey V. Emelyanchik* – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Ecology, Yanka Kupala State University of Grodno (Dovator lan. 3/1, 230012, Grodno, Republic of Belarus), e-mail: semel@grsu.by, ORCID: 0009-0009-3032-8203.

*Зиматкин Сергей Михайлович* – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии, Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: smzimatkin@mail.ru, ORCID: 0000-0001-5728-2588.

*Sergey M. Zimatkin* – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Grodno State Medical University (80 Gorky St., 230009, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: smzimatkin@mail.ru, ORCID: 0000-0001-5728-2588.

*Зинчук Виктор Владимирович* – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: zinchuk@grsmu.by; https://orcid.org/0000-0002-3077-0474.

*Viktor V. Zinchuk* – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Normal Physiology, Grodno State Medical University (80 Gorky St., Grodno, 230009, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: zinchuk@grsmu.by; https://orcid.org/0000-0002-3077-0474.

*Дарья Владимировна Климуть* – студентка 1-го курса медико-психологического факультета, Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: klimuts@yandex.ru.

*Darya Vl. Klimut* – 1st year student of the Faculty of Medical Psychology, Grodno State Medical

University (80 Gorky St., 230009, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: klimuts@yandex.ru.

*Татьяна Викторовна Климуть* – аспирант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: klimuts@yandex.ru, ORCID: 0009-0001-5670-9030.

*Tatyana V. Klimut* – Postgraduate student, Department of Histology, Cytology and Embryology, Grodno State Medical University (80 Gorky st., 230009, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: klimuts@yandex.ru, ORCID: 0009-0001-5670-9030.

*Костюк Светлана Андреевна* – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории, Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220083, г. Минск, Республика Беларусь); e-mail: s.kostiuk@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-3252-2626.

*Svetlana A. Kostiuk* – Doctor of Medical Sciences, Professor, Chief Researcher of the Research Laboratory of the Research Institute of Experimental and Clinical Medicine of the Belarusian State Medical University (83 Dzerzhinsky Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus); e-mail: s.kostiuk@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-3252-2626.

*Кузнецов Олег Евгеньевич* – кандидат биологических наук, доцент, директор Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси (пл. Ан. Тызенауза 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь), e-mail: olegkuznetsov@inbox. ru; https://orcid.org/0000-0002-1348-8688.

*Aleh Y. Kuzniatsou* – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Director of the Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (7 An. Tyzenauza sq., Grodno, 230023, Republic of Belarus), e-mail: olegkuznetsov@inbox.ru; https://orcid.org/0000-0002-1348-8688.

*Владимир Федорович Лазарев* – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории защитных механизмов клетки отдела клеточных культур Института цитологии РАН (Тихорецкий проспект 4, 194064, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация), e-mail: vl.lazarev@gmail.com.

*Vladimir F. Lazarev* – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Cell Defense Mechanisms, Department of Cell Cultures, Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences (4 Tikhoretsky Prospekt, 194064, St. Petersburg, Russian Federation), e-mail: vl.lazarev@gmail.com.

*Луговцов Андрей Егорович* – кандидат физико-математических наук, старший преподаватель физического факультета Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова (Ленинские горы, д. 11, 19991, г. Москва, Российская Федерация), e-mail: anlug@biomedphotonics.ru. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5222-8267.

*Andrey E. Lugovtsov* – Candidate of Physical and Mathematical Sciences, Senior Lecturer, Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University (Leninskie Gory, 11, 19991, Moscow, Russian Federation), e-mail: anlug@biomedphotonics.ru. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5222-8267.

*Лукша Александр Викторович* – кандидат медицинских наук, доцент 1-й кафедры детских болезней Гродненский государственный медицинский университет (230009, ул. Горького, 80, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: drluksha@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-3605-4495.

*Aliaksandr V. Luksha* – Candidate of Medical Sciences, Associate professor of the Department of Pediatrics I, Grodno State Medical University (230009, Gorkogo str, 80, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: drluksha@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-3605-4495.

*Ляликов Сергей Александрович* – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики и иммунологии, Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: lalikov@tut.by; https://orcid.org/0009-0007-0085-0661.

*Siarhey. A. Lialikau* – Doctor of Sciences (Medcine), Professor of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics and Immunology, Grodno State Medical University (80, Gorky str., 230009, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: lalikov@tut.by; https://orcid.org/0009-0007-0085-0661.

*Мойсеёнок Андрей Георгиевич* – доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент НАН Беларуси, заведующий отделом витаминологии и нутрицевтики Института биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси (пл. Ан. Тызенауза 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: andrey.moiseenok@tut.by.

*Andrei G. Moiseenok* – Doctor of Biological Sciences, Professor, Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belarus, Head of the Department of Vitaminology and Nutraceuticals at the Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Be-

larus (7 An. Tyzenauza sq., 230023, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: andrey.moiseenok@tut.by.

*Муравьев Алексей Васильевич* – доктор биологических наук, профессор кафедры медико-биологических основ спорта, Ярославский государственный педагогический университет им. К. Д. Ушинского (ул. Республиканская 108/1, 150000, г. Ярославль, Российская Федерация); e-mail: alexei.47@mail.ru. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5502-9164.

*Aleksey V. Muravyov* – Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Medical and Biological Foundations of Sports, Yaroslavl State Pedagogical University named after K.D. Ushinsky (108/1 Respublikanskaya St., 150000, Yaroslavl, Russian Federation); e-mail: alexei.47@mail.ru. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5502-9164.

*Нечипуренко Наталия Ивановна* – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки Республики Беларусь, заведующий лабораторией клинической патофизиологии нервной системы, Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь); e-mail: prof_nin@mail.ru; https://orcid.org/0000-0001-9882-2384.

*Nataliya I. Nechipurenko* – Doctor of Medical Sciences, Professor, Honored Scientist of the Republic of Belarus, Head of the Laboratory of Clinical Pathophysiology of the Nervous System, Republican Scientific and Practical Center of Neurology and Neurosurgery (24 Skoriny St., 220114, Minsk, Republic of Belarus); e-mail: prof_nin@mail.ru; https://orcid.org/0000-0001-9882-2384.

*Павлюковец Анастасия Юрьевна* – кандидат биологических наук, доцент, заведующий отраслевой лабораторией молекулярной медицины, Гродненский государственный медицинский университет (Бульвар Ленинского Комсомола, 50, 230030, г. Гродно, Республика Беларусь); email: anastasiayk@mail.ru; https://orcid.org/000000017995 5587.

*Anastasia Y. Pavlyukovets* – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Branch Laboratory of Molecular Medicine, Grodno State Medical University (50 Leninskogo Komsomol Boulevard, 230015, Grodno, Republic of Belarus); email: anastasiayk@mail.ru; https://orcid.org/0000000179955587.

*Пашковская Ирина Дмитриевна* – кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии нервной системы, Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Скорины 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь); e-mail: irenapass@mail.ru; https://orcid.org/0000-0001-9999-9341.

*Irina D. Pashkouskaya* – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Leading researcher of the Laboratory of Clinical Pathophysiology of Nervous System, Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F.Skoriny str., Minsk, Belarus, 220114) email: irenapass@mail.ru; https://orcid.org/0000-0001-9999-9341.

*Пинчук Полина Юрьевна* – аспирант кафедры химии и естественнонаучного образования, Витебский государственный университет имени П. М. Машерова (Московский проспект, 33, 210038 г. Витебск, Республика Беларусь); e-mail: polina_mileeva@mail.ru; https://orcid.org/0009-0006-1489-3016.

*Pinchuk P. Yurievna* – postgraduate student of the Department of Chemistry and Natural Science Education, Vitebsk State University named after P.M. Masherov (33, Moskovskiy Ave., 210038 Vitebsk, Republic of Belarus); email: polina_mileeva@mail.ru; https://orcid.org/0009-0006-1489-3016.

*Полуян Ольга Сергеевна* – кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории, Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского 83, 220083, г. Минск,); email: olga.poluyan@mail.ru; https://orcid.org/0000-0001-7130-2776.

*Olga S. Poluyan* – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Associate Professor, Leading researcher of Research Laboratory, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Belarusian State Medical University (83 Dzerzhinski Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus); email: olga.poluyan@mail.ru; https://orcid.org/0000-0001-7130-2776.

*Приезжев Александр Васильевич* – кандидат физико-математических наук, доцент физического факультета Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова (Ленинские горы, д. 11, 19991, г. Москва, Российская Федерация); e-mail: avp2@mail.ru. ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4216-7653.

*Aleksandr Vasilyevich Priezzhev* – Candidate of Physical and Mathematical Sciences, Associate Professor of the Physics Department of Lomonosov Moscow State University (Leninskie Gory, 11, 19991, Moscow, Russian Federation); email: avp2@mail.ru. ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4216-7653.

*Прокопенко Татьяна Анатольевна* – научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии нервной системы, Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь); email: tatiananovitskaya1108@mail.ru.

*Tatyana A. Prakapenka* – researcher of the Laboratory of Clinical Pathophysiology of Nervous System, Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24 F. Skoriny str., 220114, Minsk, Republic of Belarus) email: tatiananovitskaya1108@mail.ru.

*Савицкая Татьяна Владимировна* – кандидат биологических наук, доцент, врач клинической лабораторной диагностики, Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь); email: more_mensk@mail.ru.

*Tatyana V. Savitskaya* – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, the doctor of laboratory diagnostics, Republican Scientific and Practical Center of Children's Oncology, Hematology and Immunology (43 Frunzenskaya str., 223053, Borovlyany, Republic of Belarus); email: tat_savitskaya@mail.ru.

*Солнцева Анжелика Викторовна* – доктор медицинских наук, профессор, директор, Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь).

*Angelika V. Solntsava* – Doctor of Medical Sciences, Professor, director of the Republican Scientific and Practical Center of Children's Oncology, Hematology and Immunology (43 Frunzenskaya str., 223053, Borovlyany, Republic of Belarus); e-mail: ang_solntseva@mail.ru.

*Стаці Мікіта Віктаравіч* – аспірант кафедры экалагічнай хіміі і біяхіміі, Міжнародны дзяржаўны экалагічны інстытут імя А.Д.Сахарава Беларускага дзяржаўнага ўніверсітэта (вул. Даўгабродская 23/1, 220070, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь); e-mail: nik.dragomirov@yandex.ru.

*Mikita V. Statsi* – Postgraduate student of the Department of Environmental Chemistry and Biochemistry at the International Sakharov Ecological Institute BSU, lecturer at the International Sakharov Ecological Institute BSU (23/1 Dauhabrodskaya st., 220070, Minsk, Belarus); email: nik.dragomirov@yandex.ru.

*Тихомирова Ирина Александровна* – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой медицины, Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского (ул. Республиканская, д. 108/1, 150000, г. Ярославль, Российская Федерация); email: tikhom-irina@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9521-4017.

*Irina A. Tikhomirova*, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Medicine, Yaroslavl State Pedagogical University named after K.D. Ushinsky (Respublikanskaya St., 108/1, 150000, Yaroslavl, Russian Federation); email: tikhom-irina@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9521-4017.

*Тихон Наталья Михайловна* – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий 1-й кафедрой детских болезней, Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь); email: tsikhannat@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-7803-5460.

*Natallia M. Tsikhan* – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the 1st Department of Children's Diseases, Grodno State Medical University (80 Gorky St., 230009, Grodno, Republic of Belarus); email: tsikhannat@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-7803-5460.

*Узлова Елизавета Валентиновна* — кандидат биологических наук, заведующий кафедрой химии и биотехнологии, Гродненский государственный университет им. Янки Купалы (пер. Доватора 3/1, 230012, г. Гродно, Республика Беларусь), e-mail: uzlova_ev@grsu.by.

Elizaveta Valentinovna Uzlova — Candidate of Biological Sciences, Head of the Department of Chemistry and Biotechnology, Yanka Kupala State University of Grodno (Dovator lan. 3/1, 230012, Grodno, Republic of Belarus), e-mail: uzlova_ev@grsu.by.

*Усов Константин Ильич* – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры терапии, Государственный университет просвещения (ул. Радио 10А, 105005, г. Москва, Российская Федерация); email: konstausov@yandex. ru; https://orcid.org/0000-0001-9254-8847.

*Konstantin I. Usov* – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department State University of Education (st. Radio, 10A, 105005, Moscow, Russian Federation); email: konstausov@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0001-9254-8847.

*Шахаб Сіямак Насер* – доктар хімічных навук, прафесар, Міжнародны дзяржаўны экалагічны інстытут імя А.Д.Сахарава Беларускага дзяржаўнага ўніверсітэта (вул. Даўгабродская 23/1, 220070, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь); email: siyamakshahab@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-9019-6304.

*Siyamak N. Shahab* – Doctor of Chemical Sciences, Professor, ISEI BSU. Institute of Physical and Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus; (23/1 Dauhabrodskaya St., 220070, Minsk, Russian Federation); email: siyamakshahab@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-9019-6304.

# ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ ЖУРНАЛА «БИОХИМИЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ» / INFORMATION FOR AUTHORS OF THE «BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY» JOURNAL

Журнал «Биохимия и молекулярная биология» публикует оригинальные результаты исследований в области медицины и биологии, клинические исследования, научные обзоры и лекции, посвященные актуальным проблемам биохимии и биохимическим аспектам молекулярной биологии, биоорганической химии, микробиологии, иммунологии, физиологии и биомедицинских наук, хроники событий научной жизни, юбилеи. Статьи публикуются на белорусском, русском и английском языках.

В своей редакционной политике журнал «Биохи-мия и молекулярная биология» следует принципам и правилам международных ассоциаций Committee on Publication Ethics (COPE), Council of Science Editors (CSE), International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), World Association of Medical Editors (WAME), European Association of Science Editors (EASE), а также требованиям Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь.

Редакция журнала «Биохимия и молекулярная биология» просит авторов руководствоваться приведенными ниже правилами. Если рукопись им не соответствует, статья не будет принята к рассмот рению.

1. Текст статьи должен быть набран в редакторе Microsoft Word шрифтом Times New Roman, размером 14 пунктов с одинарным межстрочным интервалом без переносов. Ширина поля слева – 3 см, сверху и снизу – 2 см, справа – 1,5 см; абзацный отступ – 1 см, выравнивание – по ширине. Все страницы должны быть пронумерованы.

2. Объем научной статьи должен составлять не менее 0,35 авторского листа (14 000 знаков с пробелами). Общий объем оригинальных статей не должен превышать 10 страниц, включая рисунки, таблицы, список цитированных источников; научных обзоров и лекций – 15 страниц.

3. Статья должна иметь следующую структуру:

- индекс по Универсальной десятичной классификации (УДК);
- название статьи (до 10–12 слов, без аббревиатур);
- инициалы и фамилия автора (авторов);
- полное наименование учреждений, где работают авторы, с указанием города и страны;
- резюме (не более 1500 знаков с пробелами), которое должно быть структурировано (введение, цель исследования, материалы и методы, результаты, заключение, ключевые слова от 3 до 9) и кратко представлять результаты работы и быть понятным, в том числе и в отрыве от основного текста статьи;
- информация о статье на английском языке (для статей, предоставленных на белорусском (русском) языках): название статьи, фамилия и инициалы автора (авторов), полное наименование учреждений, где работают авторы, с указанием города и страны, резюме (англоязычная версия резюме статьи должна по смыслу и структуре (Background, Objective, Material and Methods, Results, Conclusions, Keywords) полностью соответствовать русскоязычной и быть грамотной с точки зрения английского языка (статьи, представленные на английском языке, должны содержать информацию о статье на белорусском (русском) языке);
- основной текст статьи;
- благодарности: если присутствует информация о финансировании (поддержке грантами проектов и т. п.), ее следует давать на русском (белорусском) и английском языках под заголовками «Благодарности» («Падзякі»), «Acknowledgements»;
- конфликт интересов (в случае его отсутствия необходимо указать: «Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов»);
- список цитированных источников;
- список цитированных источников в романском алфавите («References»);
- сведения об авторах на русском и английском языках: для каждого автора следует указать фамилию, имя и отчество (полностью), звание, должность, место работы с указанием полного адреса, адрес электронной почты, личный идентификатор ORCID (Open Researcher and Contributor ID). Для оперативной связи с редакцией указывается контактный номер телефона ответственного автора (в журнале не публикуется). Образец оформления статьи размещен на сайте журнала.

4. Основной текст статьи должен быть четко структурированным: введение, цель исследования, материалы и методы, результаты и их обсуждение, заключение (выводы). В русско- и белорусскоязычных статьях подрисуночные подписи, заголовки и примечания таблиц следует делать на двух языках – русском (белорусском) и английском. В подрисуночных подписях не должно быть аббревиатур. Внутририсуночные обозначения подписы-

ваются цифрами или латинскими буквами. Если рисунки ранее уже публиковались, необходимо указать оригинальный источник и представить письменное разрешение на их воспроизведение от держателя прав на публикацию. Рисунки представляются отдельными файлами (.tif, .jpg) с разрешением не менее 300 dpi.

5. В клинических и экспериментальных работах в разделе «Материалы и методы» необходимо указание на соответствие принципам экспериментальной и клинической биоэтики. Редакция вправе потребовать от авторского коллектива информацию об утверждении протокола исследования в этическом комитете с обязательным указанием названия комитета (и организации, при котором комитет создан), даты и номера протокола заседания, на котором проведение исследования было одобрено. Раздел «Материалы и методы» должен содержать подробное изложение используемой аппаратуры и методик исследования, критерии отбора животных и больных, количество и характеристику пациентов, с разбивкой их по полу и возрасту, если это требуется для исследования. Обязательно указывается принцип разбиения пациентов на группы, а также дизайн исследования. Следует назвать все используемые в ходе работы лекарственные препараты и химические вещества, включая их международное непатентованное (общепринятое) название, дозы, пути введения.

6. Список цитированных источников (для оригинальных статей – не более 25 источников, для обзоров – не более 50 источников) оформляется в соответствии с требованиями Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь, предъявляемых к диссертационным работам (приказ ВАК от 25.06.2014 № 159 (в редакции приказа ВАК 08.09.2016 № 206). Цитированная литература приводится общим списком по мере упоминания, ссылки в тексте даются порядковым номером в квадратных скобках (напр., [1]); ссылки на неопубликованные работы не допускаются). В список цитируемой литературы рекомендуется включать преимущественно работы, опубликованные в течение последних 5–7 лет, за исключением редких и высокоинформативных работ. Не рекомендуется ссылаться на тезисы конференций, съездов, учебники, учебные и методические пособия, справочники, неопубликованные работы, рукописи авторефератов диссертаций или сами диссертации.

7. Список цитированных источников в романском алфавите («References»). Библиографическое описание оформляется в соответствии со стандартом National Library of Medicine (NLM) (http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine). Статья, опубликованная на латинице (английском, немецком и др.) описывается на оригинальном языке; статья, опубликованная на кириллице (русский, белорусский, украинский язык) транслитерируется: http://translit.net. Название цитируемой работы указывается в транслитерации, а затем на английском языке (если есть официальный перевод) в квадратных скобках. Название цитируемого издания (журнала) указывается в транслитерации, а затем на английском языке (если есть официальный перевод) в квадратных скобках. Не допускается сокращение названия русскоязычного журнала. Названия иностранных журналов могут представляться в сокращенном варианте в соответствии с каталогом названий базы данных MEDLINE (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals). Если журнал не индексируется в MEDLINE, необходимо указывать его полное название. В описании статьи приводятся фамилии и инициалы всех (!) авторов. При наличии у цитируемого источника DOI (цифрового идентификатора объекта) его в обязательном порядке необходимо указать в конце библиографической ссылки.

8. Статья должна иметь сопроводительное письмо (образец размещен на сайте журнала), подписанное руководителем учреждения, в котором выполнена работа, а также экспертное заключение о возможности опубликования материалов в печати. В сопроводительном письме должно быть указано, является ли данная статья исследованием, выполненным в рамках диссертационной работы.

9. Статья и сопроводительные документы могут быть направлены на бумажном носителе в 2 экземплярах в адрес редакции (230009, пл. Тызенгауза, 7, г. Гродно, Республика Беларусь, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, редакция журнала «Биохимия и молекулярная биология»). Электронный вариант статьи обязателен и направляется по адресу journal@ibiochemistry.by с пометкой «Статья в журнал "Биохимия и молекулярная биология"» и указанием фамилии первого автора. Статья должна быть подписана всеми авторами.

10. Направление в редакцию ранее опубликованных или уже принятых к печати в других изданиях работ не допускается. За направление в редакцию уже ранее опубликованных статей или статей, принятых к печати другими изданиями, ответственность несут авторы. Не принимаются статьи с нарушением правил и норм гуманного обращения с биологическими объектами исследований.

11. Все научные статьи, поступившие в редакцию журнала, проходят обязательное рецензирование. Рецензирование статей осуществляется членами редакционной коллегии, а также приглашенными рецензентами.

12. Если по рекомендации рецензента рукопись возвращается автору на доработку, датой поступления считается день получения редакцией окончательного варианта рукописи вместе с ответом на все замечания рецензента.

13. Редакция оставляет за собой право сокращать и редактировать статьи. Рукописи, в которых будут обнаружены некорректные заимствования (плагиат), снимаются с рассмотрения.

14. Публикация статей осуществляется бесплатно. Возможна публикация статей во внеочередном порядке (за оплату, безналичный расчет, после согласования с редакцией).

15. Рассмотрение статей на предмет публикации осуществляется после предоставления копии квитанции о подписке на журнал. Статьи рекламного характера и иные виды рекламной информации публикуются после предварительной оплаты.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторы подтверждают, что материалы представленных статей ранее нигде не были опубликованы и не представлены на рассмотрение для публикации в другом журнале.

The authors have no conflicts of interest to declare.

The authors confirm that the materials of the presented papers have not been published elsewhere and have not been under consideration for publication in other journal.

Разработано Институтом биохимии
биологически активных соединений
НАН Беларуси

## Средство ранозаживляющее с обезболивающим и антисептическим эффектом

# РАНЛЕК-ПАНТЕНОЛ

**предназначено для ежедневного ухода за кожей, в том числе за очень сухой и склонной к шелушению, а также в качестве вспомогательного средства при солнечных и термических ожогах, для восстановления при повреждениях кожи (раны, ожоги, трофические и лучевые язвы), профилактики бактериальных осложнений и местного обезболивания**

***улучшает состояние кожи, обеспечивает защиту кожи от негативного воздействия окружающей среды, оказывает успокаивающее и смягчающее действие, способствует снятию покраснения***

*Состав:*

Один баллон содержит (действующее и вспомогательное вещество): декспантенол (2,5 г. или 5,0 г.), полигексаметиленгуанидина гидрохлорид (0,01%), бензокаин (1,0-2,0%), цетостеариловый спирт (тип А) эмульсионный, макрогол-7-глицерол кокоат, метилпарагидроксибензоат, пропиленгликоль, калия дигидрофосфат, динатрия фосфат додекагидрат, вода очищенная, пропелент R134a (1.1.1.2-тетрафторэтан)

*Назначение:*

Для наружного применения, средство ранозаживляющее, профилактика бактериальных осложнений и местное обезболивание. Для использования в медицинской практике и бытовых условиях

*Применение:*

РАНЛЕК-ПАНТЕНОЛ равномерно распылять на пораженный участок один или несколько раз в сутки.

Распыляя средство, держите контейнер вертикально, клапаном вверх. Чтобы получить качественную пену, нужно энергично встряхивать контейнер перед каждым применением, особенно если его не использовали в течение длительного времени. Если средство применяется впервые, сначала может распыляться пропеллент, прежде чем образуется пена.

Насадку-распылитель подводят к пораженному участку и плавно нажимают на нее, равномерно распыляя средство на пораженный участок с расстояния 10-20 см в течение 1-2 секунд.

Продолжительность использования зависит от вида и течения заболевания и определяется в процессе консультации со специалистом.

Для наружного применения. Пена белого цвета со слабым специфическим запахом. Средство ранозаживляющее с обезболивающим и антисептическим эффектом «РАНЛЕК-ПАНТЕНОЛ» предназначено для ежедневного ухода за кожей, в том числе за очень сухой и склонной к шелушению, а также в качестве вспомогательного средства при солнечных и термических ожогах, для восстановления при повреждениях кожи (раны, ожоги, трофические и лучевые язвы), профилактики бактериальных осложнений и местного обезболивания. Улучшает состояние кожи, обеспечивает защиту кожи от негативного воздействия окружающей среды, оказывает успокаивающее и смягчающее действие, способствует снятию покраснения. Продолжительность применения зависит от тяжести поражения кожи и может составлять от 2-3 дней до 3-4 недель.

Срок годности 24 месяца

Том / Vol. 5 • № 1(8)/2026

Биохимия и молекулярная биология • Biochemistry and Molecular Biology

**Подписные индексы:**
для индивидуальных подписчиков **00990**
для ведомственных подписчиков **009902**

**Subscription indexes**
For individuals **00990**
For legal entities **009902**

ISSN 2957-7349