



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. 4

1(6)2025

К 100-летию основателя Института биохимии АН БССР, Гродненской биохимической школы



Академик НАН Беларуси Ю. М. Островский

29.06.1925 (г. Минск) –
31.12.1991 (г. Гродно)



Окончил Минский медицинский институт	1950
Заведующий лабораторией Полоцкой областной СЭС	1950
Ассистент кафедры биохимии Витебского медицинского института	1957
Защита кандидатской диссертации	1958
Зав. кафедрой биохимии Гродненского медицинского института	1959
Защита докторской диссертации	1964
Ученое звание профессора	1965
Зав. Отделом регуляции обмена веществ АН БССР	1970
Избрание членом-корреспондентом АН БССР	1977
Присвоение звания «Заслуженный деятель науки БССР»	1978
Директор Института биохимии АН БССР	1985
Избрание действительным членом (академиком) АН БССР	1986

Автор 500 научных работ, в том числе 9 монографий, 15 изобретений.

БИОХИМИЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

БІАХІМІЯ 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»



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 09.06.2025.
Формат 60×84/8. Бумага офсетная.
Гарнитура TimesNewRoman. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 13,20. Уч.-изд. л. 10,38.
Тираж 50 экз. Заказ 137.
ЛП № 02330/89 от 3 марта 2014 г.
Ул. Кальварийская, 17, 220004, г. Минск.

В номере:

Памяти академика
Ю. М. Островского

Экспериментальные
и клинические исследования

Обзоры

Ученые Беларуси

Том 4

1 (6)/2025

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"



*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 09.06.2025
Format 60x84/8. Offset paper.
TimesNewRoman. Offset printing.
Printed pages 13,20.
Publisher's signatures 10,38.
Circulation 50 copies. Order 137.
LP № 02330/89 of 3 March 2014
17, Kalvaryiskaya str., Minsk 220004

In this issue:

**In memory of academician
Y. M. Ostrovsky**

**Experimental
and Clinical Research**

Reviews

Scientists of Belarus

Vol. 4

1 (6)/2025

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
- Anastasiya 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. Kostyuk** – 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

**ПАМЯТИ АКАДЕМИКА Ю. М. ОСТРОВСКОГО /
IN MEMORY OF ACADEMICIAN Y. M. OSTROVSKY**

<p style="text-align: center;">А.Г. Мойсеёнок АКАДЕМИК Ю. М. ОСТРОВСКИЙ – ПУТЬ И СТАНОВЛЕНИЕ В НАУКЕ</p>	6	<p style="text-align: center;">A.G. Moiseenok ACADEMICIAN Y. M. OSTROVSKY – THE PATH AND FORMATION IN SCIENCE</p>
---	---	--

<p style="text-align: center;">А.А. Чиркин ВИТЕБСКАЯ ВЕТВЬ БИОХИМИЧЕСКОЙ ШКОЛЫ АКАДЕМИКА Ю. М. ОСТРОВСКОГО</p>	12	<p style="text-align: center;">A.A. Chirkin VITEBSK BRANCH OF THE BIOCHEMICAL SCHOOL OF ACADEMICIAN Y. M. OSTROVSKY</p>
---	----	--

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

<p>К.И. Усов, А.Г.Мойсеенок, М.М. Расулов БИОХИМИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ И НЕ СОДЕРЖАЩИХ ВИТАМИН В6</p>	19	<p>K.I. Usov, A.G. Moiseenok, M.M. Rasulov BIOCHEMICAL CONTROL OF THE EFFECT OF ANTI-TUBERCULOSIS DRUGS CONTAINING AND NOT CONTAINING VITAMIN B6</p>
---	----	---

<p>С.С. Осочук, К.Р. Григорьева НЕКОТОРЫЕ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ АБДОМИНАЛЬНОГО СЕПСИСА И ИХ КОРРЕКЦИЯ ЛИПОСОМАЛЬНЫМ ХОЛЕСТЕРОЛОМ</p>	27	<p>S.S. Osochuk, K.R. Grigorieva¹ SOME PATHOGENETIC MECHANISMS OF ABDOMINAL SEPSIS AND THEIR CORRECTION WITH LIPOSOMAL CHOLESTEROL</p>
--	----	--

<p>О.В. Ишутина, Т.В. Костюк, А.И. Потапович, В.А. Костюк ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ НАТИВНОГО И ВКЛЮЧЕННОГО В СОСТАВ МИКРОЧАСТИЦ КВЕРЦЕТИНА ПРИ ИНИЦИИРОВАНИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В КЕРАТИНОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА</p>	32	<p>O.V. Ishutina, T.V. Kostyuk, A.I. Potapovich, V.A. Kostyuk PROTECTIVE EFFECT OF NATIVE AND MICROPARTICLE-INCLUDED QUERCETIN UPON INITIATION OF OXIDATIVE STRESS IN HUMAN KERATINOCYTES</p>
--	----	--

<p>Е.А. Поплавская ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ, ВВЕДЁННЫХ САМЦАМ КРЫС, НА АНТЕ- И ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ОНТОГЕНЕЗ ПОЛУЧЕННОГО ОТ НИХ ПОТОМСТВА</p>	39	<p>E.A. Poplavskaya INFLUENCE OF BACTERIAL LIPOPOLYSACCHARIDES ADMINISTERED TO MALE RATS ON ANTE- AND POSTNATAL ONTOGENESIS OF THEIR PRODUCED PROGENY</p>
---	----	--

<p>Е.Г. Бадун, А.В. Шуриберко, О.Е. Кузнецов ВЗАИМОСВЯЗЬ ЭТАНОЛОКИСЛЯЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ С МАКРО- И МИКРОЭЛЕМЕНТНЫМ СТАТУСОМ МИТОХОНДРИЙ В МИОКАРДЕ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ</p>	45	<p>E.G. Badun, A.V. Shuriberko, A.E. Kuzniatsou RELATIONSHIP OF ETHANOL- OXIDIZING ENZYMES WITH MACRO- AND MICROELEMENT STATUS OF MITOCHONDRIA IN THE MYOCARDIUM OF RATS UNDER CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION</p>
---	----	--

<p>П.Ю. Пинчук МОЛЕКУЛЯРНО-БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗЫ У ЭВОЛЮЦИОННО УДАЛЕННЫХ МОДЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ</p>	50	<p>P.Yu. Pinchuk MOLECULAR AND BIOCHEMICAL ANALYSIS OF ALCOHOL DEHYDROGENASE IN EVOLUTIONARILY DIVERGENT MODEL ORGANISMS</p>
<p>И.Д. Шилейко, Ю.Г. Походня, Л.Н. Боровикова АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ НАРКОТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ И ПСИХОТРОПНЫХ ВЕЩЕСТВ, ВЫЯВЛЕННЫХ В ХИМИКО- ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЯХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ</p>	56	<p>I.D. Shileiko, Y.G. Pakhadnia, L.N. Borovikova ANALYSIS OF THE STRUCTURE OF NARCOTIC DRUGS AND PSYCHOTROPIC SUBSTANCES IDENTIFIED IN CHEMICAL AND TOXICOLOGICAL LABORATORIES OF THE REPUBLIC OF BELARUS</p>
<p>И.И. Степуро, Е.Г. Бадун, А.А. Токарева, А.В. Шуриберко, В.Ю. Смирнов, В.И. Степуро ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АЦЕТАЛЬДЕГИДА И АЛИФАТИЧЕСКИХ АЛЬДЕГИДОВ С АМИНОПИРИМИДИНОВЫМ КОМПОНЕНТОМ ТИАМИНА С ОБРАЗОВАНИЕМ ЦИКЛИЧЕСКИХ АДДУКТОВ</p>	62	<p>I.I. Stepuro, E.G. Badun, A.A. Tokareva, A.V. Shuriberko, V.Yu. Smirnov, V.I. Stepuro INTERACTION OF ACETALDEHYDE AND ALIPHATIC ALDEHYDES WITH THE AMINOPYRIMIDINE COMPONENT OF THIAMINE RESULTING IN THE FORMATION OF CYCLIC ADDUCTS</p>
<p>Л.И. Надольник, Т.А. Бородина, И.А. Кузьмицкая, А.В. Романчук, А.В. Туманов, В.Ч. Полубок, Е.Б. Белоновская ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ КОМПОЗИЦИИ ХЛОРОГЕНОВОЙ КИСЛОТЫ И НАРИНГИНА IN VITRO И ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ АЛКОГОЛЬНОЙ КАРДИОМИОПАТИИ</p>	69	<p>L.I. Nadolnik, T.A. Borodina, I.A. Kuzmitskaya, A.V. Romanchuk, A.V. Tumanov, V.Ch. Polubok, E.B. Belonovskaya STUDY OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF A COMPOSITION OF CHLOROGENIC ACID AND NARINGIN IN VITRO AND IN MODELING ALCOHOL CARDIOMYOPATHY</p>

ОБЗОРЫ / REVIEWS

<p>С.А. Костюк, А.К. Лямцева, О.С. Полуян ОСНОВЫ ПЛАНИРОВАНИЯ НАУЧНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА ПРИ ПРОВЕДЕНИИ СИКВЕНС-АНАЛИЗА ПРОКАРИОТИЧЕСКИХ ГЕНОМОВ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ</p>	78	<p>S.A. Kostiuk, A.K. Lyamtseva, O.S. Poluyan BASICS OF SCIENTIFIC EXPERIMENT PLANNING FOR SEQUENCING ANALYSIS OF PROKARYOTIC GENOMES AND BACTERIAL COMMUNITIES</p>
<p>А.Г. Шляхтун, Ж.В. Мотылевич, Е.Ф. Радута, Ф.М. Турсунходжаева РОЛЬ ЦИНКА, МЕДИ И ЖЕЛЕЗА ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</p>	88	<p>A.H. Shlyahtun, Zh.V. Motylevich, A.F. Raduta, F.M. Tursunkhodzhaeva THE ROLE OF ZINC, COPPER, AND IRON IN ISCHEMIC STROKE. LITERATURE REVIEW</p>

УЧЕНЫЕ БЕЛАРУСИ / SCIENTISTS OF BELARUS

<p>Из старшего лаборанта в профессора (к 95-летию со Дня рождения Раисы Васильевны Требухиной)</p>	99	<p>From Senior Lab Assistant to Professor (on the 95th Anniversary of Raisa Vasilievna Trebukhina's Birthday)</p>
--	----	---

**АКАДЕМИК Ю. М. ОСТРОВКИЙ –
ПУТЬ И СТАНОВЛЕНИЕ В НАУКЕ**

А. Г. Мойсеёнок

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

29 июня 2025 года исполняется 100 лет со дня рождения выдающегося советского и белорусского ученого-биохимика, витаминолога, педагога и организатора науки, основателя Гродненской биохимической школы Юрия Михайловича Островского [1–4]. По месту рождения – он минчанин, из семьи студентов Белгосуниверситета, создавших семью в 1924 году. Отец Михаил Андреевич изучал языковедение на лингвистическом факультете, а мать – Попеня Екатерина Васильевна – медицину, одновременно работая не один год в приютах и детских домах. Молодым родителям, уже получившим университетские дипломы, пришлось пережить почти десятилетие неустраиваемости, смены мест работы, но на будущее они смотрели с оптимизмом, появились на свет и второй сын Вячеслав, и первые литературные публикации Михаила Андреевича. К несчастью, он, как и многие белорусские литераторы того времени, был подвергнут преследованию, заключен в лагерь в 1940 г., из которого благодаря благосклонности судьбы освобожден с началом Великой Отечественной войны. Юрий, 16-летний выпускник Минской десятилетки, стал свидетелем горящего, разрушенного и разграбленного Минска, уничтоженного родного жилища и имущества в первые дни войны. Востребованность врачебного долга Екатерины Васильевны давали шанс выживания, но ненадолго, так как остальные члены семьи не смогли трудоустроиться.

Тяжелое и голодное время войны и безнадёжное положение в оккупированном Минске вынудили Островских перебраться в относительно благополучный Слоним, где глава семьи трудился в местной прогимназии и семинарии, а его супруга в родительном доме. Нашлось рабочее место и Юрию Михайловичу – он учитель начальной школы, помощник зубного техника и, наконец, работник радиоузла. Этому способствовало знание немецкого языка, которое по воспоминаниям Юрия Михайловича было приобретено в довоенное время благодаря общению с детьми и семьями немецких эмигран-

тов и заинтересованному чтению романа «Тихий Дон», изданного на немецком языке в канун войны. Это вызывало доверие оккупантов и открыло возможности сотрудничества с советскими партизанами, и оказывать посильное сопротивление оккупационному режиму. В гимназии и семинарии укрывалась молодежь от вывоза в Германию, через связных передавали в партизанский отряд типографскую бумагу, медикаменты и радиодетали. Жестокое время не обошло их стороной – погиб младший брат Вячеслав, раздавленный немецким грузовиком. В дни освобождения Слонима – Екатерина Васильевна – член комиссии по установлению злодеяний немецко-фашистских захватчиков, восстанавливает советскую систему здравоохранения Слонимского района, трудится главврачом медучилища. Юрий призван в ряды РККА. Михаил Андреевич был подвергнут наказанию за педагогическую работу в условиях оккупации – 10 лет лагерей. Это не могло не отразиться на судьбе его сына и «каинова» печать останется в судьбе будущего ученого на долгие годы.

Юрий Михайлович почти год на армейской службе и по демобилизации в ноябре 1945 года поступил в Минский медицинский институт. Он, участник Великой Отечественной войны, награжден медалью «За победу над Германией». С первых дней учебы проявляет блестящие способности в постижении медицинской науки и склонность к проведению научных исследований. Этому способствовала активная деятельность заведующего кафедрой общей химии доцента В. А. Бандарина и общая атмосфера энтузиазма в деле подготовки научно-педагогических кадров, опосредованная научно-студенческим обществом МГМИ.

Однокурсник Юрия Михайловича, будущий академик НАН Беларуси Сидоренко Георгий Иванович, также прошел школу этого выдающегося биохимика: «я, вспоминая В. А. Бандарина, назвал обязательные качества, которыми должен обладать лектор – три «Э» – эрудиция, эмоциональность,

эстетика. Именно благодаря им можно увлечь студенческую аудиторию и завоевать ее внимание» (из интервью газете «Медицинские новости», 2004 г.). Не удивительно, Юрий Михайлович считал себя принадлежащим к школе В. А. Бандарина.

Из многочисленных воспоминаний бывших «бандаринцев» известно, что уже с 1-ого курса Юрий Михайлович самоотверженно трудился в кружке при кафедре общей химии, совмещая учебу с лаборантской работой, в частности, в институте теоретической медицины АН БССР. Научная перспектива мотивировала к изучению английского языка – он в 1945–1947 гг. учится на заочных курсах в Москве и успешно их заканчивает. Нелегкое материальное положение студентов того времени он преодолевал вместе с супругой, его избранницей стала однокурсница Сперанская Ирина Анатольевна, разделившая с ним тяготы ухода за новорожденной дочерью, страдающей от нескольких тяжелых заболеваний. Не ослабевал пресс со стороны репрессивных органов, многократные допросы и угрозы исключения из-за находившегося в заключении отца и нежелания сына от него отказаться. Исключение из ВЛКСМ в 1947 г. оказалось меньшим из зол. Но благоразумие в руководстве институтом взяло вверх (вероятно, сыграло роль и заступничество В. А. Бандарина) поскольку выпускник продемонстрировал качества будущего незаурядного врача и ученого. В результате – лишение «красного» диплома с отличием, с «четверкой» по марксизму-ленинизму и (вместо аспирантуры) направление на периферию, в Полоцкую область. Попытка поступления в московскую аспирантуру также не удалась, ответ «не прошел по конкурсу» при отсутствии самого конкурса был многозначным, но не остановил стремления молодого врача приобщиться к научной работе.

С августа 1950 г. семья Ю. М. Островского в г. Полоцке, тогдашнем областном центре, он трудится на должности заведующего отделом санитарно-эпидемиологической станции, где создает биохимическую лабораторию и в лаборатории областной (впоследствии городской) больницы. Выезжает в районные центры, где поднимает уровень лабораторной службы. Рождение второго ребенка (сын Владимир, 1951 г.) обострило квартирный вопрос. Переехавшая на работу в г. Полоцк Екатерина Андреевна оказывает помощь сыну, за счёт кредитования строят свой дом, куда в 1954 г. возвращается по амнистии отец, впоследствии реабилитированный. Все члены семьи трудятся не покладая рук, при том, что Юрий Михайлович не оставляет научных исследований, он сосредоточен на изучении обмена витамина В1 у больных туберкулезом и в 1954 г. сделал научный доклад на научной сессии Минского медицинского института. В условиях чрезвычайной врачебной занятости и её отягощёния решением бытовых проблем Юрий Михайлович верил в свое научное призвание и, в меру сил и возможностей, постепенно приобщался к научному поиску.

Исключительная сплоченность семьи Островских, неоценимая помощь матери, авторитетного врача акушера-гинеколога, и неисчерпаемая энергия Юрия Михайловича помогли преодолеть все невзгоды и неурядицы противоречивых послесталинских времен. Он, будучи слушателем института марксизма-ленинизма в Полоцке подвергался осуждению за критику взглядов Лысенко/Вильямса, непродуманных реформ в сельском хозяйстве и других волюнтаристских решений директивных органов. В результате учился в этом идеологическом учреждении не 2, а 5 лет. При этом по линии



Рисунок 1. Первые сотрудники кафедры биохимии ГГМИ (отсутствует А. Н. Разумович)

общества «Знание» успевая читать лекции, которые привлекали много слушателей, отдававшим дань его ораторским способностям. Работа над диссертацией и семейное благополучие оставались «базисами» его многосторонней и неутомимой жизни. Наступивший 1955 г. оказался ознаменован двумя событиями – появлением на свет второго сына (Сергей, 1955 г.р.) и докладом на научной сессии Института питания АМН СССР, на которой он был признан состоявшимся исследователем и получил поддержку в дальнейшей разработке этого направления витаминологии, была сформирована концепция биохимического контроля лекарственных осложнений противотуберкулезной терапии (и химиотерапии в целом).

В 1956 г. Юрий Михайлович был приглашен на должность ассистента кафедры Витебского медицинского института (ВГМИ), чем незамедлительно воспользовался. Началась жизнь в общезнании, в чрезвычай-

но стесненных условиях, т.к. за ним последовала семья, но открылась возможность полноценного научно-педагогического труда и, главное, завершение диссертации. Приобщение к педагогическому труду, обязанности ассистентской работы постигались без всяких трудностей. Доклад на научной сессии ВГМИ в 1957 г. был высоко оценен зав. кафедрой биохимии, профессором Шапотом Владимиром Сергеевичем, пострадавшим в недавние годы борьбы с космополитизмом. Для молодого ассистента сотрудничество и общение с В. С. Шапотом, крупным специалистом в области биохимии опухолей и выдающимся интеллектуалом, оказалось благотворным и результативным.

Первоочередная задача была изначально очевидной – подготовка к защите кандидатской диссертации. Остепененность давала шанс приобщения к серьёзной науке. Клинический материал был под рукой – это больные туберкулезом, заболеваемость галопировала, а результаты лечения (внедрялась комплексная терапия стрептомицином, фтивазидом, ПАСК) были далеко не удовлетворительными. Родилась идея, что не только сама патология, но и противотуберкулезная терапия несут в себе неблагоприятные для организма последствия, в частности, дефицит витамина В1. Не в этом ли смысл усиления диетического компонента в лечении пациентов и что может быть индикатором его статуса? Естественно, это должен быть незаменимый фактор питания и был избран витамин В1. Пришлось поработать и над усовершенствованием (если не над оригинальной разработкой) метода определения тиамин в биологических жидкостях, а, параллельно, и над анализом антитуберкулезных препаратов, проанализировать витаминную ценность больничного питания.

Из 15 опубликованных работ периода 1954–1958 гг. методическим вопросам посвящено 7 публикаций. Остальные – это обстоятельный и разносторонний материал, включающий результаты исследования витамина В1, пировиноградной кислоты и бисульфитсвязывающих веществ в биологических жидкостях в группах взрослых пациентов и детей с различными факторами туберкулеза (от 54 до 151 пациента). Сделан важный научно-практический вывод – нарушение обмена тиамин определяется не формой туберкулезного процесса, а лишь его распространённостью и тяжестью, а характер применяемого лечения изменяет картину витаминного баланса (стрептоми-



Рисунок 2. Продолжение традиции Гродненских витаминологических симпозиумов на берегу Байкала (Иркутск, 1983 г.). На снимке вместе с академиком Островским Ю. М. его коллеги по изучению проблем витаминологии и биохимии алкоголизма:

В. Б. Спиричев, И. А. Сытинский, М. А. Рыбалко, А. Г. Мойсеёнок, А. Я. Розанов, С. Н. Федченко, А. А. Дмитровский, В. М. Борец

цин улучшает, фтивазид его усугубляет), за счёт воздействия на процесс фосфорилирования. Доказано эффективное действие тиаминдифосфата по сравнению с витамином В1. Это – приоритетное апробирование известной «кокарбоксылазы». Работа над диссертацией заняла более 5 лет и была представлена к защите в институт экспериментальной медицины АН Латвийской ССР в виде обстоятельного труда из 333 страниц (4 рисунка и 77 таблиц) с цитированием 153 работ отечественных и 332 иностранных авторов.

Завершение работы и её представление состоялось от кафедры биохимии Витебского мединститута (зав. кафедрой, профессор В. С. Шапот) и Полоцкой городской больницы (главный врач Е. М. Польшина). Оппонировали работу академик АН Латвийской ССР, д.м.н. Шмидт А. А. и д.м.н. Столыгво Н. С. Защита состоялась 10-го мая 1958 г. и была высоко оценена членами Совета. Таким образом, работа в Витебском мединституте дала возможность завершения диссертационного труда и представления его к защите. Тревожное ожидание утверждения защищенной работы завершилось утверждением ВАК СССР 21-го января 1959 г.

Диплом кандидата наук послужил формальным основанием для дальнейшего роста талант-

ливого учёного и педагога. Приказом МЗ БССР Ю. М. Островский переведён из ВГМИ на должность заведующего кафедрой биохимии вновь организованного Гродненского медицинского института (ГГМИ). Первый день работы к.м.н. Островского Ю. М. в ГГМИ это день основания кафедры биохимии молодого ВУЗа (16.01.1959 г.). Его первыми ассистентами и сотрудниками стали Н. К. Лукашик, А. Г. Мажуль, А. Н. Разумович, А. И. Балаклеевский, Г. А. Доста, Р. В. Требухина. Все они, наряду с налаживанием учебного процесса, стали немыми участниками научных исследований, монотематично связанными с биохимией витамина В1 и одновременно структурированных в темы диссертационных работ. Все ассистенты в период с 1963 г. (А. Н. Разумович) до 1970 г. (А. Г. Мажуль) стали кандидатами наук.

В становлении коллектива реальную помощь оказал доц. В. А. Бандарин, который в 1958–1960 гг. преподавал в ГГМИ химические дисциплины. Бандаринские традиции привлечения студентов к научной работе в полной мере были реализованы Ю. М. Островским как для укрепления исследовательского потенциала кафедры, так и последующего его развития в структуру академического учреждения.



Рисунок 3. Ничто не предвещало близкой трагедии. Последний известный прижизненный снимок академика Ю. М. Островского 24-го декабря 1991 г. Рождественский вечер в Институте биохимии Фрайбургского университета в Германии. На снимке рядом с Ю. М. Островским директор ФЕБО и Института, академик, профессор Карл Дэйкер с молодыми сотрудниками

Расширенному изучению биохимических функций тиамин предвзяло опубликование Ю. М. Островским двух фундаментальных обзоров, посвященных коферментным функциям тиаминдифосфата (Укр. биохим. журнал, 1959 г.) и метаболизму тиаминфосфатов (там же, 1960 г.).

С участием А. И. Балаклеевского и Г. А. Доста впервые раскрыт механизм взаимопревращения тиамин и тиохрома, раскрыта природа тиаминдегидразной реакции и ее связь с патогенезом гипертонической болезни и обмена холестерина (1961 г.), выявлен феномен воздействия производных витамина В1 на окислительное фосфорилирование (совместно с А. Н. Разумовичем, 1962 г.), раскрыты новые механизмы воздействия тиамин на углеводный обмен, обоснована модель окситиаминного авитаминоза витамина В1 (совместно с Н. К. Лукашиком, Р. В. Требухиной, 1962–1964 гг.). Соавторами ряда опубликованных работ стали первые студенты–кружковцы (Б. П. Комарова, Ф. С. Ларин, С. Н. Карпуть). Массив полученных данных укрепил у Юрия Михайловича, возникшее предположение в период работы в Полоцке о том, что ряд патологических состояний сопровождается не недостатком, а повышенным метаболизмом тиамин. На сессии Института витаминологии МЗ СССР в 1963 г. им был сделан доклад на тему «Существует ли гипervитаминоз В1?».

В результате дискуссий с коллегами и учениками эта идея реализовалась в тему докторской диссертации «Обменные сдвиги при различной обеспеченности организма тиамин», защищенной в 1964 г. в Киевском медицинском институте име-

ни А. А. Богомольца. Его оппонентами стали профессора Е. Ф. Шамрай, А. П. Пелешук, Е. Ф. Сопин. Диссертация утверждена ВАК СССР 4-го сентября 1965 г. А в 1966 г. д.м.н. Ю. М. Островскому присуждено звание профессора (аттестат от 16-го февраля 1966 г.).

Деятельность Юрия Михайловича как популяризатора науки, известная с 50-х годов, получила свое развитие в конце 60-х и в 70-е годы. Его лекции собирали многочисленные аудитории, а издания пользовались большой популярностью. Среди них «Биохимия о происхождении жизни» (1979 г.), обосновывающая доклеточный период самовоспроизводства живой материи. Его публицистическая активность в постчернобыльские годы была яркой и убедительной и сопровождалась рядом инициатив в преодолении последствий радиационной трагедии. Он был популяризатором здорового образа жизни и поддержал антиалкогольную кампанию. Его поэтическое творчество и публицистика были частично опубликованы посмертно [5].

Дальнейшее развитие научных идей проф. Ю. М. Островского, формирование его научной школы, организация академического учреждения и его превращение в институт биохимии АН БССР детально изучены и материалы опубликованы учениками, сотрудниками и историками науки. Следует упомянуть несколько публикаций [6–18], играющих ключевую роль в раскрытии вклада Ю. М. Островского в развитие биологической и медицинской науки страны, отображению его титанических усилий в достижении поставленных целей в интересах научной истины и научного прогресса.

Список цитированных источников

1. Юрий Михайлович Астроўскі (да 60-годдзя з дня нараджэння) / Л.М. Сушчэня [и др.] // Вес. Акад. навук Беларускай ССР. Сер. біял. навук. – 1985. – №4. – С. 114–116.
2. Ларин, Ф. С. Научные и кадровые предпосылки открытия в Гродно отдела регуляции обмена веществ АН БССР / Ф. С. Ларин, А. Г. Мойсеёнок, И. В. Пантюк // История медицины и здравоохранения гродненщины: материалы науч. конф., посвящ. 125-летию Общества врачей Гродн. губернии / министерство здравоохранения РБ. Гродненский государственный медицинский институт. Управление здравоохранения Гродненского облисполкома. Гродненское научное общество историков медицины; редкол.: Д.А. Маслаков (гл. ред.) [и др.]. – Гродно, 1995. – С. 48–50.
3. Ларын Ф.С., Майсяёнак А.Г. Юрий Михайлович Астроўскі (да 70-годдзя з дня нараджэння) / Ф.С. Ларын, А.Г. Майсяёнак // Вес. Акадэміі навук Беларускай ССР. Сер. біял. навук. – 1995. – №4. – С. 115–116.
4. Ларин, Ф.С. 70 лет академику Ю. М. Островскому. 25 лет Институту биохимии АН Беларуси / Ф.С. Ларин, А.Г. Мойсеёнок, В.А. Аверин // Витамины и здоровье населения Беларуси и смежных регионов: тез. докл. междунар. симпозиума, посвящ. 70-летию со дня рожд. академика Ю. М. Островского и 25-летию основания Института биохимии. – Гродно. – 1995. – С. 6–8.
5. Астроўскі Юрый. Душу раскрыўшы насцеж. Паэзія і публіцыстыка / Укладальнікі – Д. Бічэль-Загнетава, Д. Кісель/Падрэд. Ф. Ігнатвіча. – Гродна: 1998. – 58 с. з партр.
6. Майсяёнак, А.Г. Астроўскі Юрый Михайлович / А.Г. Майсяёнак // Памяць: Гіст.-дакум. хроніка горада Гродна. – Мн.: БелЭн, 1999. – С. 676–678.
7. Мойсеёнок, А.Г. Межвитаминные взаимоотношения – развитие идеи академика Ю. М. Островского в медицинской науке / А.Г. Мойсеёнок // Биологически активные соединения в регуляции метаболического гомеостаза: материалы междунар. науч. конф. – Гродно: ГрГУ, 2000. – Ч.2. – С. 52–56.
8. Развитие научных идей академика Ю. М. Островского в гродненской биохимической школе (к 80-летию со дня рождения) / А.Г. Мойсеёнок [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2006. – №2. – С. 119–123.
9. Чиркин, А.А. Белорусский биохимик академик Ю. М. Островский / А.А. Чиркин // Веснік ВДУ. – 2013, №5. – С.43–49.
10. Мойсеёнок, А.Г. У истоков Гродненской научной биохимической школы / А.Г. Мойсеёнок // Журнал Гродненского государственного медицинского университета – 2019. – Т. 17, №3. – С. 340–347.
11. Лелевич, В.В. Кафедра биохимии ГрГМУ 60 лет – прошлое и настоящее / В.В. Лелевич // Журнал Гродненского

- государственного медицинского университета – 2019. – Т. 17, №3. – С. 234–239.
12. Лелевич, В.В. Ю. М. Островский – яркий ученый, мудрый педагог, талантливый организатор/ В.В. Лелевич // Биохимия и молекулярная биология. Сб. статей, посвященный 95-летию основателя Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси академика Ю. М. Островского; редкол.: И.Н. Семененя (гл. ред.) [и др.]. – Мн.: ИВЦ «Минфина», 2020. Вып. 4. – С. 8–13.
 13. Чиркин, А.А. Белорусский биохимик и публицист академик Ю. М. Островский / А.А. Чиркин // Биохимия и молекулярная биология. Сб. статей, посвященный 95-летию основателя Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси академика Ю. М. Островского; редкол.: И.Н. Семененя (гл. ред.) [и др.]. – Мн.: ИВЦ «Минфина», 2020. Вып. 4. – С.14–19.
 14. Семененя, И.Н. 50 лет Институту биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси / И.Н. Семененя // Биологически активные вещества природного происхождения в регуляции процессов жизнедеятельности. Сб. статей Международной научно-практической конференции, посвященной 50-летию Института биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси; г. Гродно, 5–6 октября 2021 г.; редкол.: И.Н. Семененя (гл. ред.) [и др.]. – Мн.: ИВЦ «Минфина», 2021. – С. 13–62.
 15. Мойсеёнок, А.Г. Из академического отдела в академический институт / А.Г. Мойсеёнок // Биологически активные вещества природного происхождения в регуляции процессов жизнедеятельности. Сб. статей Международной научно-практической конференции, посвященной 50-летию Института биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси; г. Гродно, 5–6 октября 2021 г.; редкол.: И.Н. Семененя (гл. ред.) [и др.]. – Мн.: ИВЦ «Минфина», 2021. – С. 63–68.
 16. Лелевич, В.В. Научное направление по изучению алкоголизма в институте биохимии НАН Беларуси / В.В. Лелевич // Биологически активные вещества природного происхождения в регуляции процессов жизнедеятельности. Сб. статей Международной научно-практической конференции, посвященной 50-летию Института биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси; г. Гродно, 5–6 октября 2021 г.; редкол.: И.Н. Семененя (гл. ред.) [и др.]. – Мн.: ИВЦ «Минфина», 2021. – С. 69–73.
 17. Черникевич И.П. Становление и развитие энзимологических исследований в институте биохимии / И.П. Черникевич // Биологически активные вещества природного происхождения в регуляции процессов жизнедеятельности. Сб. статей Международной научно-практической конференции, посвященной 50-летию Института биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси; г. Гродно, 5–6 октября 2021 г.; редкол.: И.Н. Семененя (гл. ред.) [и др.]. – Мн.: ИВЦ «Минфина», 2021. – С. 74–78.
 18. Степура, И.И. Метаболоника витаминов группы В. Биохимические свойства продуктов окислительной трансформации витаминов и коферментов и их роль в клеточном метаболизме / И.И. Степура [и др.] // Биологически активные вещества природного происхождения в регуляции процессов жизнедеятельности. Сб. статей Международной научно-практической конференции, посвященной 50-летию Института биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси; г. Гродно, 5–6 октября 2021 г.; редкол.: И.Н. Семененя (гл. ред.) [и др.]. – Мн.: ИВЦ «Минфина», 2021. – С. 291–522.

ВИТЕБСКАЯ ВЕТВЬ БИОХИМИЧЕСКОЙ ШКОЛЫ АКАДЕМИКА Ю. М. ОСТРОВСКОГО

А. А. Чиркин

*Витебский государственный университет имени П.М. Машерова,
г. Витебск, Республика Беларусь*

Введение. В статье представлены данные о взаимосвязанных пяти направлениях научных исследований Витебской биохимической научной школы с 1983 по 2025 годы.

Цель исследования – обобщение результатов исследований витебских биохимиков в связи с деятельностью биохимической научной школы академика Ю. М. Островского.

Материал и методы. В работе использованы данные биохимических исследований показателей обмена веществ и его регуляции у людей и экспериментальных животных на базах Республиканского липидного лечебно-диагностического центра метаболической терапии, ряда научных центров Республики Беларусь и России, а также – кафедральных лабораторий.

Результаты. Научные исследования проводились по пяти направлениям: зависимые от типа стрессового воздействия многолетние исследования по эволюции нарушений обмена холестерина и глюкозы; создание препарата природного происхождения для борьбы с развитием инсулинорезистентности; формирование возрастных и половых особенностей возрастной динамики показателей обмена липидов, углеводов и др. в диапазоне менее 15 лет – 79 лет; биохимическая оценка рисков занятия спортом в периоде полового созревания; обоснование использования легочных пресноводных моллюсков в качестве модельных организмов для биофармацевтических доклинических исследований.

Заключение. Проведенные исследования позволили обеспечить функционирование научной школы «Биохимия здорового образа жизни» как ветви биохимической научной школы академика Ю. М. Островского.

Ключевые слова: научные биохимические школы, биохимия стресса, метаболический синдром, лабораторные исследования, модельные организмы.

Для цитирования: Чиркин, А. А. Витебская ветвь биохимической школы академика Ю. М. Островского / А. А. Чиркин // Биохимия и молекулярная биология. – 2025. – Т. 4, № 1(6). – С. 12–18.

Введение

В послевоенном периоде в Витебском государственном медицинском институте (ВГМИ) работали преподаватели, обладавшие опытом и методами военной медицины, а также остепененные преподаватели из ведущих вузов СССР. Это был успешный институт, включенный в список экспериментальных медицинских вузов страны. Поэтому в Центральной научно-исследовательской лаборатории в 60–70-е годы уже были ультрацентрифуга L2-65B «Спинко», спектрофлуориметр МРФ-А «Хита-чи», двухлучевой спектрофотометр, гистохимическое оборудование и др. В апреле 1953 года кафедрой биохимии стал заведовать приехавший из Ленинграда профессор В.С. Шапот. Здесь он открыл «эффект Шапота», согласно которому опухолевые клетки жадно захватывают глюкозу и аминокислоты из окружающей среды. Летом 1956 года из Полоцка на кафедру прибыл новый ассистент Ю. М. Островский, который завершал работу над кандидатской диссертацией. В это же время на кафедре биохимии подрабатывал лаборантом студент Н.К. Лукашик – будущий профессор и заведующий кафедрой биохимии Гродненского государственного медицинского инсти-

тута, который называл В.С. Шапота и Ю. М. Островского «Учителями с большой буквы». В.С. Шапот уехал в Москву на работу во Всесоюзный онкологический научный центр АМН СССР в 1960 году и стал членом-корреспондентом АМН, а Ю. М. Островский – в г. Гродно в 1959 г., создал институт биохимии и стал академиком НАН Республики Беларусь в 1986 году. В эти годы автор статьи учился на лечебном факультете Витебского государственного медицинского института, и работал в кружке при кафедре биохимии, где сохранялись принципы научных биохимических исследований этих великих ученых. Свою первую монографию (Тиамин. Избранные главы по биохимии витамина В₁, 1971 г.) Ю. М. Островский начал с посвящения «Соратникам по работе, белорусским биохимикам посвящается. Автор». Этот принцип видеть в каждом человеке от студента до академика, работающем по биохимической тематике, соратника был основным стержнем педагогической и научной деятельности Ю. М. Островского. Под руководством профессора Ю. М. Островского в 1968 г. автор статьи защитил кандидатскую диссертацию, а в 1979 году – докторскую диссертацию. До 1991 года я поддерживал связи с Ю. М. Остров-

ским; все свои крупные научные проекты всегда обсуждались с ним, поэтому считаю возможным говорить о Витебской ветви научной биохимической школы Ю. М. Островского.

Целью статьи явилось обобщение некоторых результатов исследований биохимиков Витебска по медико-биологической тематике, связанным с научной школой Ю. М. Островского.

Материал и методы

Научные исследования ряда биохимиков г. Витебска осуществлялись в рамках научной школы «Биохимия здорового образа жизни», в функционировании которой было два этапа. На первом этапе (1983–2002 годы, ВГМИ) докторами наук стали Данченко Е.О., Доценко Э.А., Козин В.М., Коневалова Н.Ю., Чиркин А.А., Осочук С.С., Щупакова А.Н.; кандидатские диссертации защитили Борисов В.А., Воронов Г.Г., Гребенников И.Н., Григорьев И.В., Гурин А.А., Егоров К.Н., Куликов В.А., Луд Л.Н., Сараев Ю.В., Филиппенко Г.В., Цикунова И.В., Аль Бов Бакер и др. На втором этапе (2003–2025 годы, ВГУ имени П.М. Машерова) в процессе работы биохимической научной школы кандидатские диссертации защитили Балаева-Тихомирова О.М., Степанова Н.А., Толкачева Т.А., Чиркина А.А., Алтани Мершид Сулеман. На этом этапе в ВГУ имени П.М. Машерова было подготовлено более 40 магистерских диссертаций, а также комплексы учебно-методической литературы для двух ступеней высшего образования по биохимии для медицинских и немедицинских специальностей, ксенобиологии, биотехнологии, клеточной биологии, молекулярным механизмам биосигналинга, молекулярной биологии раковой клетки, анализу запрограммированной клеточной гибели и аутофагии, биохимии мембран и межмембранных коммуникаций и др.

Сотрудники научной школы в разные периоды решали актуальные практико-ориентированные задачи по взаимосвязанным пяти направлениям: создание Республиканского липидного лечебно-диагностического центра метаболической терапии (РЛЛДЦМТ) и формирование физиологических значений лабораторных тестов у населения северо-восточного региона Республики Беларусь; неопределимую роль в создании и функционировании этого учреждения сыграл главный врач Медсанчасти строительного треста №9 В.В. Батов; формулирование концепции радиационно-индуцированного атеросклероза и изучение отдаленных биохимических и медицинских последствий у лиц, участвовавших в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС и боевых действий в Афганистане; изучение биохимии метаболического синдро-

ма и создание препарата природного происхождения для борьбы с развитием инсулинорезистентности, биохимическая оценка рисков занятия спортом в периоде полового созревания; ксенотрансплантация островковых клеток поджелудочной железы и обоснование использования новых модельных организмов для биофармацевтических доклинических исследований.

Исследованию подвергнуты более 40 тысяч образцов сыворотки крови людей, а также сыворотка крови и ткань печени крыс, гемолимфа и ткани куколок дубового шелкопряда и легочных пресноводных моллюсков. Биохимическое исследование сыворотки крови людей включало 20–24 рутинных биохимических лабораторных показателей, а также гормональных показателей (лептин, проинсулин, С-пептид, трийодтиронин, кортизол), 15 ферментов обмена углеводов. Был обоснован пятиэтапный алгоритм выявления метаболического синдрома (МС) у мужчин [1]. В экспериментальных исследованиях были использованы белые крысы линии Вистар, куколки районированного в Витебской области дубового шелкопряда *Antheraea pernyi* G.-M., легочные пресноводные моллюски *Lymnaea stagnalis* L., *Planorbis corneus* L. и *Biomphalaria glabrata* S. Методами биоинформатики была исследована гомология более 200 ферментов легочных пресноводных моллюсков, крыс, свиней и человека [2]. Цифровой материал обработан методами параметрической и непараметрической вариационной статистики.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что биохимическими признаками МС у ликвидаторов аварии на ЧАЭС являются гипергликемия, гиперлептемия и пограничная триацилглицеролемия при наличии сниженной концентрации кортизола в сыворотке крови. Устойчивым маркером имевшегося в прошлом радиационного воздействия является уменьшение концентрации ЛПВП. Осуществлено разграничение биохимических показателей метаболических изменений в зависимости от характера экстремального воздействия в прошлом: действие хронического стресса – повышение ЛПВП и нормальные значения индекса атерогенности (участники войны в Афганистане); сочетанное действие хронического стресса и радиации – снижение ЛПВП и повышение индекса атерогенности (ликвидаторы аварии на ЧАЭС). Развитие адаптационных процессов включает активацию систем синтеза инсулина, лептина и эндогенных антиоксидантов (мочевая кислота и билирубин). Такие изменения обмена веществ являются ключевыми для понимания причин более частого выявления МС у лик-

видаторов по сравнению с воинами-интернационалистами и развития заболеваний атеросклеротической природы, когда увеличение индекса атерогенности сопряжено со снижением концентрации ЛПВП. Впервые установлено, что в группе риска развития МС в результате проведенного скрининга входит 735 постоянных жителей г. Витебска, 222 участника войны в Афганистане и 1110 ликвидаторов на 10 тысяч обследованных лиц [3].

Разработана технология получения средства, содержащего гидрофильные компоненты куколок дубового шелкопряда, которое предназначено для использования в медицине, ветеринарии и растениеводстве. Этот препарат (экстракт куколок дубового шелкопряда) применен для модуляции действия антибиотиков с целью использования в сельском хозяйстве и лесоводстве (борьба с микробной контаминацией культур растительных тканей). Препарат стандартизован по содержанию суммы свободных аминокислот 700 мг/л с целью оптимизации действия антибиотиков и стимуляции роста и развития культивируемых растительных тканей. В разработку механизмов действия препарата на культурах различных клеток неоценимый вклад внесли О.Ю. Абакумова (Институт био-медицинской химии имени В.Н. Ореховича, г. Москва) и М.М. Зафранская (МГЭУ имени А.Д. Сахарова БГУ). Рекомендовались следующие направления использования средств, содержащих экстракт куколок дубового шелкопряда: как иммуномодулятора на уровне нейтрофильных лейкоцитов и макрофагов; как противовоспалительного средства за счет подавления генерации активных метаболитов кислорода; как средства, для предотвращения негативных реакций на метаболизм и гиперпродукции гомоцистеина; как источника незаменимых (эссенциальных) субстанций для регуляции метаболизма. Было обосновано использование экстракта в гомеопатических дозировках (порядка 7–70 мкг свободных аминокислот на 1 кг массы тела) для профилактики МС [4]; коррекция действия урсодезоксихолевой кислоты использованием экстракта куколок дубового шелкопряда в качестве гепатопротектора; применение экстракта куколок дубового шелкопряда как модулятора функции коркового вещества надпочечников и щитовидной железы; разработка йодированных препаратов из гемолимфы куколок дубового шелкопряда для коррекции гипотиреоидного состояния и гипоальфахолестеролемии; мониторинг жидкого содержимого куколок дубового шелкопряда как способ долговременной оценки экологических особенностей региона [5, 6]. Важный комплекс перспективных научных исследований, посвященных биомедицинскому использованию урсодезоксихолевой

и тауроурсодезоксихолевой кислот, был выполнен ныне профессором Е.О. Данченко в Институте патобиохимии, Йена, Германия.

Наибольшее практическое значение имели исследования на адекватной модели развития признаков МС у крыс. С участием сотрудников лаборатории профессора В.У. Буко и при финансировании ООО «Рубикон» было показано, что 1) высокожировая диета у крыс в течение 3-х месяцев вызывала развитие инсулинорезистентности в эксперименте; 2) установлена гипергликемия на фоне увеличения уровня инсулина на 87% и критерия Нота в 2,1 раза в условиях активации гликогенолиза, активации глюконеогенеза и неокислительной ветви пентозофосфатного пути и снижения активности гликолиза и окислительной ветви пентозофосфатного пути. Такая экспериментально вызванная инсулинорезистентность сопровождалась увеличением содержания в сыворотке крови общего холестерина и триацилглицеролов в 1,4 раза и снижение ЛПВП в 1,2 раза на фоне увеличения содержания ТБК-реагирующих субстанций в 1,9 раза и снижением уровня, восстановленного глутатиона в печени в 4,4 раза. Для профилактики развития инсулинорезистентности использовали комплекс эндогенных антиоксидантов из гемолимфы куколок дубового шелкопряда. Одномесечное введение водного экстракта куколок дубового шелкопряда в процессе воспроизведения инсулинорезистентности уменьшало проявления инсулинорезистентности на 20–30%, увеличивало уровни восстановленного глутатиона и ЛПВП до уровня нормы. Эти исследования были защищены 4 патентами совместно с гродненскими учеными: «Способ получения средства для профилактики инсулинорезистентности». Патент РБ 15645; «Средство для снижения уровня гомоцистеина при гипергомоцистеинемии». Патент РБ №12608; «Средство, обладающее иммуномодулирующей активностью». Патент РБ №12504; «Йодсодержащее средство для восстановления тиреоидной функции при йоддефицитных состояниях». Патент РБ № 18724 (Е.М. Дорошенко, Л.И. Надольник, А.В. Наумов, В.М. Шейбак и др.). Электронномикроскопические исследования выполнялись Р.И. Кравчук и морфо-биологические консультации оказывал профессор С.М. Зиматкин [7].

В 1992–1994 годах был издан «Диагностический справочник терапевта» [8], в котором впервые был представлен раздел клинико-лабораторных исследований (с. 455–663). Начиная с 2004 года, было выпущено несколько справочных изданий для врача «Клинический анализ лабораторных данных». Второе переработанное и дополненное издание было опубликовано

в 2019 году [9]. В 2010 году было издано справочное руководство для медицинских работников по анализу биохимических исследований 21754 жителей северо-восточного региона Республики Беларусь под редакцией академика В.С. Улащика, которое может рассматриваться «как эталонные значения нормы для населения Республики Беларусь» [10].

В последние годы проблеме возрастных изменений обмена веществ был посвящен целый ряд многоцентровых исследований: CALIPERstudy в Канаде, KiGGS-программа в Германии, HELENAsudy в Европе и др. Анализ таких исследований показал, что существуют региональные границы биохимических показателей у лиц пубертатного возраста. В отчетах и публикациях по аналогичным исследованиям указывается, что данные изменения отображают метаболические процессы, обеспечивающие рост и развитие опорно-двигательного аппарата, системы внутрисосудистого транспорта веществ, обеспечения исходными молекулами процесса образования стероидных гормонов, увеличения мощности эндогенных антиоксидантных систем. В связи с этим исследовались вопросы влияния спортивных нагрузок на биохимические параметры здоровья подростков. На протяжении 2011–2019 годов под наблюдением было 1245 подростков, из них 375 – женского пола и 870 подростков мужского пола. Установлены сохраняющиеся на постоянном уровне биохимические показатели сыворотки крови у лиц пубертатного возраста, а также были выявлены специфические биохимические изменения в зависимости от пола и вида физических нагрузок. Установлены биохимические показатели, которые свидетельствуют о большей чувствительности женского организма к физическим нагрузкам, по сравнению с мужским. Кроме того, были обнаружены критерии «спортивного выгорания» у подростков 12–15 лет, при которых они не могут преодолеть спортивные нормы «Мастер спорта». По результатам этих исследований выпущена монография в форме 67 таблиц, которые позволяют по антропометрическим, биохимическим и квалификационным спортивным параметрам оценить состояние обмена веществ подростка [11].

В Республике Беларусь на кафедрах общей хирургии Белорусского и Витебского государственных медицинских институтов в 80–90-х годах прошлого века практически синхронно развивалось научное направление коррекции нарушенных функций организма больных диабетом путем ксенотрансплантации клеток поджелудочной железы. Источником эндокринной ткани для культивирования в РЛДЦМТ служила поджелудочная же-

леза новорожденных несосавших поросят согласно патенту RU2135193C1 (при участии автора патента профессора В.Н. Блюмкина, заведовавшего в ВГМИ кафедрой гистологии в 50-х годах прошлого века, а затем работавшего в Институте трансплантологии и искусственных органов МЗ СССР под руководством академика В.И. Шумакова). С 1994 по 1999 год в г. Витебске были проведены ксенотрансплантации культур островковых клеток поджелудочной железы 56 пациентам, в том числе 30 больным с инсулинзависимым сахарным диабетом и 26 больным с инсулиннезависимым сахарным диабетом [12]. В г. Минске был использован малоинвазивный метод путем трансплантации микроинкапсулированной ксеногенной клеточной культуры в сосудистое русло реципиента без применения иммуносупрессивной терапии под руководством ныне академика С.И. Третьяка. В РЛДЦМТ ксенотрансплантация островковых клеток поджелудочной железы была направлена на введение гормон-продуцирующих клеток в паренхиму печени, что переводило систему управления метаболизмом на уровень беспозвоночных, у которых гепатопанкреас отвечает за обменные и регуляторные функции метаболизма. Дальнейшая разработка этих методов является актуальной задачей, поскольку в России в декабре 2024 года впервые провели уникальную операцию по пересадке островков Лангерганса после удаления поджелудочной железы в печень. Хирурги Приволжского исследовательского медицинского университета (ПИМУ) выполнили аутотрансплантацию островков Лангерганса пациентам с хроническим панкреатитом. Эта инновационная методика позволяет бороться с тяжелым болевым синдромом и снижает риск развития панкреатогенного диабета, сохраняя остаточную функцию эндокринной системы. Операция включала полное удаление поджелудочной железы у двух пациентов, страдающих от невыносимой боли, и пересадку собственных островков Лангерганса в печень [13].

В связи с этим на протяжении 5 лет интенсивно разрабатывались вопросы гомологии ферментов беспозвоночных – легочных пресноводных моллюсков, обладающих гепатопанкреасом, и человека. В качестве сравниваемых животных и возможных модельных организмов избраны широко распространенные в водоемах легочные пресноводные моллюски – прудовик обыкновенный (*Lymnaea stagnalis*), также катушка роговая (*Planorbis corneus*). Ближайшим родственником последней является хорошо изученная *Biomphalaria glabrata*, в частности известен ее полный аннотированный геном. Учитывая это, был проведен сравнительный

биоинформатический анализ гомологии 75 протеолитических ферментов человека (*Homo sapiens*) и *Biomphalaria glabrata*. В ходе исследования установлено, что гомология ферментов по нуклеотидным последовательностям у человека и легочных пресноводных моллюсков при анализе нерегулируемого протеолиза составляет 66–68%; регулируемого протеолиза – 69–76 %; убиквитин-подобных модификаторов – 78–83%; внеклеточных ферментов – 67–76% и внутриклеточных ферментов – 65–72% [14]. Эволюционный консерватизм протеолитических ферментов позволяет использовать этих животных в качестве дешевых и удобных в содержании тест-организмов и обосновывает целесообразность формирования аквакультуры моллюсков, для получения из их тканей белковых ферментативных препаратов протеолитического действия в рамках задач биофармацевтики, косметики и пищевой промышленности.

Последние 8 лет были посвящены разработке методических подходов к использованию легочных пресноводных моллюсков для биоиндикации качества поверхностных вод и как модельных организмов для воспроизведения патологических состояний человека. В Европейском Союзе в 2010 году в качестве тест-организма для биоиндикации химического и иного загрязнения природных вод принят легочной пресноводный моллюск *Lymnaea stagnalis*, у которого многие метаболические процессы, например, синтез стероидных гормонов, близки к таковым у человека [15]. Недостатком этого тест-организма является то, что транспорт кислорода в гемолимфе осуществляется медь-содержащим гемоцианином, который обладает худшими по сравнению с железо-содержащим гемоглобином свойствами. Поэтому был разработан способ оценки биоэкологического состояния водоемов посредством анализа биохимических показателей гемолимфы и гепатопанкреаса двух видов легочных пресноводных моллюсков *Lymnaea stagnalis* и *Planorbis corneus*. У последнего вида гидробионтов транспорт кислорода в гемолимфе осуществляется железо-содержащим гемоглобином, т.е. как у человека. Было проведено одновременное биохимическое исследование образцов гемолимфы и тканей гепатопанкреаса у этих двух видов легочных пресноводных моллюсков с последующей оценкой биоэкологического состояния водоемов путем их ранжирования в зависимости от биохимических показателей гемолимфы и гепа-

топанкреаса в пределах 7 рангов (от 1 – самое низкое значение показателя до 7 – самое высокое значение показателя). В результате обследованные озера Витебской и Гомельской областей можно было сравнить по суммарной величине рангов группы показателей т.е. оценить возможное долговременное радиационное загрязнение в некоторых из них [16]. При исследовании моллюсков из различающихся по антропогенной нагрузке водоемов удалось обнаружить у некоторых из них признаки метаболического синдрома, вероятно, связанные с хроническим действием химических стрессоров загрязнений. Поэтому был начат цикл исследований по воспроизведению признаков нарушений обмена углеводов, белков и липидов у легочных пресноводных моллюсков [17]. Параллельно методами биоинформатики путем оценки степени гомологии ферментов и регуляторных белков выяснялась возможная однотипность реакций обмена веществ моллюсков и млекопитающих [18–20].

Заключение

В статье представлены основные результаты работы витебской научно-практической школы «Биохимия здорового образа жизни» как ветви гродненской биохимической научной школы академика Ю. М. Островского по взаимосвязанным и последовательно развивающимся пяти направлениям: зависимые от типа стрессового воздействия многолетние исследования по эволюции нарушений обмена холестерина и глюкозы у людей → создание препарата природного происхождения для борьбы с развитием инсулинорезистентности → формирование возрастных и половых особенностей возрастной динамики показателей обмена липидов, углеводов и др. в диапазоне менее 15 лет – 79 лет (с 5-летними интервалами) значений лабораторных тестов у населения Белорусского Поозерья → биохимическая оценка рисков занятия спортом в периоде полового созревания → в связи с этическими требованиями обоснование использования легочных пресноводных моллюсков в качестве модельных организмов для ксенотрансплантации островковых клеток поджелудочной железы в печень человека и биофармацевтических доклинических исследований. Биохимики Витебской научной школы получали поддержку при опубликовании результатов своих исследований в материалах конференций, организуемых Институтом биохимии НАНБ, а также профессорами В.В. Зинчук и В.В. Лелевичем.

Благодарности

Автор выражает глубокую благодарность ученым научных и педагогических учреждений г. Гродно за неоценимую помощь в выполнении научных исследований представителями научной биохимической школы г. Витебска.

Acknowledgements

The author of the reproduction expresses deep gratitude to the scientific and pedagogical institutions of Grodno for invaluable assistance in conducting scientific research, observations of the scientific biochemical school of Grodno and Vitebsk.

Список цитированных источников

1. Степанова, Н.А. Создание и апробация алгоритма выявления метаболического синдрома Х / Н. А. Степанова // Вестник ВГМУ. – 2006. – Т.5, №2. – С. 37–42.
2. Чиркин, А.А. Молекулярно-структурная гомология протеолитических ферментов в изучении механизма протеолиза и его регуляции / А.А. Чиркин, О.М. Балаева-Тихомирова, В.В. Долматова, И.О. Семенов // Вестні Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя хімі. Навук. – 2021. – Т. 57, №. 2. – С. 206–221. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-2-206-217>
3. Чиркин, А.А. Дислипидемии радиационного генеза: 25-летний опыт изучения // Веснік ВДУ. – 2011. – №2 (62). – С. 32–39.
4. Chirkin, A.A. Biological effects of C200 Oak Silkworm Pupae's hydrophilic components / A.A. Chirkin, A.J. Katin, E.O. Danchenko [et al.] // Homoeopathic Lincs. Internat. Journ. Classical Homoeopathy. – 2011. – Vol. 24, N 3/11. – P. 195–197.
5. Толкачева, Т.А. Гистолитиз: теория и практика: монография / Т.А. Толкачева. – Витебск: ВГУ имени П. М. Машерова, 2015. – 135 с.
6. Чиркин, А.А. Биологическая активность продуктов гистолитиза: монография / А.А. Чиркин, Е.И. Коваленко, Т.А. Толкачева. – Saarbruecken: Lambert Academic Publishing GmbH, 2012. – 155 p.
7. Балаева-Тихомирова, О. М. Гормонально-метаболические взаимосвязи при развитии синдрома инсулинорезистентности: монография / О. М. Балаева-Тихомирова. – Витебск: ВГУ имени П. М. Машерова, 2013. – 177 с.
8. Чиркин, А.А. Диагностический справочник терапевта: клинические симптомы, программы обследования больных, интерпретация данных / А.А. Чиркин, А.Н. Окорков, И.И. Гончарик. – Мн.: Беларусь, 1992. – 688 с.
9. Чиркин, А.А. Клинический анализ лабораторных данных, второе изд., перераб и доп. / А.А. Чиркин – М.: Мед. лит., 2019 – 368 с.
10. Чиркин, А.А. Физиологические значения лабораторных тестов у населения Республики Беларусь: справ. пособие / А.А. Чиркин, Э.А. Доценко, В.С. Камышников, В.С. Улащик, Г.М. Костин, С.П. Козловская, А.А. Чиркина, Е.Н. Нехайчик, Н.Н. Васильева, А.А. Сидо; под ред. В.С. Улащика. – Минск: Адукацыя і выхаванне, 2010. – 88 с.
11. Степанова, Н. А. Антропометрические и биохимические показатели спортсменов пубертатного возраста: монография // Н. А. Степанова, М.С. Алтани, А.А. Чиркина, А.А. Чиркин; под ред. проф. А.А. Чиркина – Чебоксары: ИД «Среда», 2020. – 112 с.
12. Подолинский, С.Г. Ксенотрансплантация культуры островковых клеток в лечении сахарного диабета и его осложнений / С.Г. Подолинский, Ю.Б. Мартов, А.А. Чиркин, Э.А. Доценко, Т.А. Путилина // Актуальные вопросы эндокринологии. – Минск, 1999. – С. 147–148.
13. <https://медуниверситет.рф/news/pervaya-v-rossii-transplantatsiya-ostrovkovov-langergansa-chto-eto-znachit-dlya-patsientov>. Доступ 30 декабря 2024 года.

14. Чиркин, А.А. Молекулярно-структурная гомология протеолитических ферментов: монография / А.А. Чиркин, О.М. Балаева-Тихомирова. – Чебоксары: Издательский дом «Среда», 2022. – 124 с.
15. Detailed review paper (DRP) on molluscs life-cycle toxicity testing Environment Directorate // Series on Testing and Assessment. – Paris: OECD Environment, Health and Safety Publications. – №. 121. – 2010. – 182 p.
16. Чиркин, А.А. Место биохимических исследований в экологическом ранжировании водоемов / А.А. Чиркин, О.М. Балаева-Тихомирова, Е.О. Данченко, Е.И. Кацнельсон, Т.А. Толкачева // Новости медико-биологических наук. – 2018. – Т. 17, №2. – С. 45–49.
17. Чиркин, А.А. Моделирование биохимических признаков сахарного диабета у легочных пресноводных моллюсков / А.А. Чиркин, Е.О. Данченко, Т.А. Толкачева, О.М. Балаева-Тихомирова, С.С. Стугарева // Новости медико-биологических наук, 2016. – том. 14, №3. – С. 28–32.
18. Чиркин, А.А. Исследования медико-биологического характера на кафедре химии и естественнонаучного образования за последние 20 лет / А.А. Чиркин, Е.О. Данченко, О.М. Балаева-Тихомирова, Т.А. Толкачева, Н.А. Степанова, Е.И. Кацнельсон // Веснік ВДУ. – 2022. – №4 (117). – С. 27–32.
19. Чиркин, А.А. Молекулярно-структурная гомология ферментов обмена углеводов человека и модельных организмов / А.А. Чиркин, О.М. Балаева-Тихомирова, П.Ю. Пинчук // Новости медико-биологических наук. – 2023. – Том 23, №4. – 58–63.
20. Чиркин, А.А. 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. – Том 24, №2. – 90–97.

References

1. Stepanova NA. Sozdanie i aprobacija algoritma vyjavlenija metabolicheskogo sindroma H. Vestnik VGMU. 2006;5(2):37–42. (in Russian).
2. Chirkin AA, Balaeva-Tihomirova OM, Dolmatova VV, Semenov IO. Molekuljarno-strukturnaja gomologija proteoliteskih fermentov v izuchenii mehanizma proteoliza i ego reguljacji. Vesci Nacyjanal'naj akadzemii navuk Belarusi. Seryja him. Navuk. 2021; 57(2): 206–221. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-2-206-217> (in Russian).
3. Chirkin AA. Dislipidemii radiacionnogo geneza: 25-letnij opyt izuchenija. Vesnik VDU. 2011; 2 (62): 32–39. (in Russian).
4. Chirkin AA, Katin AJ, Danchenko EO. Biological effects of C200 Oak Silkworm Pupae's hydrophilic components Homoeopathic Lincs. Internat. Journ. Classical Homoeopathy. 2011; 24(3): 195–197. (in Russian).
5. Tolkacheva TA. Gistoliz: teorija i praktika: monografija. Vitebsk: VGU imeni Masherova PM, 2015: 135. (in Russian).
6. Chirkin AA, Kovalenko EI, Tolkacheva TA. Biologicheskaja aktivnost' produktov gistoliza: monografija. Saarbruecken:

- Lambert Academic Publishing GmbH, 2012: 155. (in Russian).
- 7 Balaeva-Tihomirova OM. Gormonal'no-metabolicheskie vzaimosvjazi pri razvitii sindroma insulinorezistentnosti: monografija. Vitebsk: VGU imeni Masherova PM, 2013: 177. (in Russian).
 - 8 Chirkin AA, Okorokov AN, Goncharik II. Diagnosticheskij spravochnik terapevta: klinicheskie simptomy, programmy obsledovanija bol'nyh, interpretacija dannyh. Mn.: Belarus', 1992: 688. (in Russian).
 - 9 Chirkin, AA. Klinicheskij analiz laboratornyh dannyh, vtoroje izd., pererab i dop. M.: Med. lit., 2019: 368. (in Russian).
 - 10 Chirkin AA, Docenko JeA, Kamyshnikov VS, Ulashhik VS, Kostin GM, Kozlovskaja SP, Chirkina AA, Nehajchik EN, Vasil'eva NN, Sido AA.; pod red. V.S. Ulashhika. Fiziologicheskie znachenija laboratornyh testov u naselenija Respubliki Belarus': sprav. Posobie. Minsk: Adukacyja i vyhavanne, 2010: 88. (in Russian).
 - 11 Stepanova NA, Altani MS, Chirkina AA, Chirkin AA.; pod red. prof. Chirkina AA. Antropometricheskie i biohimicheskie pokazateli sportsmenov pubertatnogo vozrasta: monografija. Cheboksary: ID «Sreda», 2020:112. (in Russian).
 - 12 Podolinskij SG, Martov JuB, Chirkin AA, Docenko JeA, Putilina TA. Ksenotransplantacija kul'tury ostrovkovyh kletok v lechenii saharnogo diabeta i ego osloznenij. Aktual'nye voprosy jendokrinologii. Minsk, 1999: 147–148. (in Russian).
 - 13 <https://meduniversitet.rf/news/pervaya-v-rossii-transplantatsiya-ostrovkov-langergansa-chto-eto-znachit-dlya-patsientov>. Dostup 30 dekabrya 2024 goda.
 - 14 Chirkin AA, Balaeva-Tihomirova OM. Molekuljarno-strukturnaja gomologija proteoliticheskikh fermentov: monografija. Cheboksary: Izdatel'skij dom «Sreda», 2022: 124. (in Russian).
 - 15 Detailed review paper (DRP) on molluscs life-cycle toxicity testing Environment Directorate. Series on Testing and Assessment. – Paris: OECD Environment, Health and Safety Publications. 2010;121:182.
 - 16 Chirkin AA, Balaeva-Tihomirova OM, Danchenko EO, Kacnel'son EI, Tolkacheva TA. Mesto biohimicheskikh issledovanij v jekologicheskom ranzhirovanii vodoemov. Novosti mediko-biologicheskikh nauk. 2018;17(2):45–49. (in Russian).
 - 17 Chirkin AA, Danchenko EO, Tolkacheva TA, Balaeva-Tihomirova OM, Stugareva SS. Modelirovanie biohimicheskikh priznakov saharnogo diabeta u legochnyh presnovodnyh molljuskov. Novosti mediko-biologicheskikh nauk, 2016; 14(3): 28–32. (in Russian).
 - 18 Chirkin AA, Danchenko EO, Balaeva-Tihomirova OM, Tolkacheva TA, Stepanova NA, Kacnel'son EI. Issledovanija mediko-biologicheskogo haraktera na kafedre himii i estestvennonauchnogo obrazovanija za poslednie 20 let. Vesnik VDU. 2022;4 (117):27–32. (in Russian).
 - 19 Chirkin AA, Balaeva-Tihomirova OM, Pinchuk PJu. Molekuljarno-strukturnaja gomologija fermentov obmena uglevodov cheloveka i model'nyh organizmov. Novosti mediko-biologicheskikh nauk. 2023; 23(4):58–63. (in Russian).
 - 20 Chirkin AA, Pinchuk PJu, Vishnevskaja MV, Balaeva-Tihomirova OM. Ispol'zovanie legochnyh presnovodnyh molljuskov dlja izuchenija narushenij obmena veshhestv. Novosti mediko-biologicheskikh nauk. 2024;24(2):90–97. (in Russian).

VITEBSK BRANCH OF THE BIOCHEMICAL SCHOOL OF ACADEMICIAN Y. M. OSTROVSKY

A. A. Chirkin

Vitebsk State University named after P. M. Masherov, Vitebsk, Republic of Belarus

Background. The article presents data on five interconnected areas of scientific research of the Vitebsk biochemical scientific school from 1983 to 2025.

Objective. The purpose of the article is to summarize the research results of Vitebsk biochemists in connection with the activities of the biochemical scientific school of Academician Yu. M. Ostrovsky.

Material and methods. The work uses data from biochemical studies of metabolic parameters and their regulation in humans and experimental animals at the Republican Lipid Diagnostic and Treatment Center for Metabolic Therapy, a number of scientific centers of the Republic of Belarus and Russia, as well as department laboratories.

Results. Scientific research was conducted in five areas: long-term studies on the evolution of cholesterol and glucose metabolism disorders dependent on the type of stress exposure; creation of a natural drug to combat the development of insulin resistance; formation of age and gender characteristics of the age dynamics of lipid, carbohydrate, etc. metabolism parameters in the range of less than 15 years – 79 years; biochemical assessment of the risks of playing sports during puberty; justification for the use of pulmonary freshwater mollusks as model organisms for biopharmaceutical preclinical studies.

Conclusions. The conducted studies allowed to ensure the functioning of the scientific school “Biochemistry of a Healthy Lifestyle” as a branch of the biochemical scientific school of Academician Yu.M. Ostrovsky.

Key words: scientific biochemical schools, stress biochemistry, metabolic syndrome, laboratory studies, model organisms.

For citation: Chirkin AA. Vitebsk branch of the biochemical school of academician y. M. Ostrovsky. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2025, vol. 4, no. 1(6). pp. 12–18 (in Russian).

Поступила 03.04.2025

БИОХИМИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ И НЕ СОДЕРЖАЩИХ ВИТАМИН В6

К. И. Усов¹, А. Г. Мойсеенок², М. М. Расулов³

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

*²Институт биохимии биологически активных соединений национальной академии наук
Беларуси, г. Гродно, Республика Беларусь;*

*³Государственный научно-исследовательский институт химии
и технологии элементоорганических соединений,
г. Москва, Российская Федерация*

Введение. В последние годы во всём мире отмечается развитие мультирезистентности возбудителя туберкулеза к противотуберкулезным препаратам (ПТП). Отказ или прекращение от химиотерапии вследствие плохой переносимости ПТП способствует усугублению проблем, связанных с резистентностью возбудителя.

Цель исследования. Оценить роль пиридоксина гидрохлорида в снижении токсичности при остром отравлении современным комбинированным ПТП, содержащим и не содержащим пиридоксина гидрохлорид.

Материалы и методы. Исследования выполнены на экспериментально-биологических моделях (нелинейные белые крысы: самцы и самки). В эксперименте изучали переносимость ПТП: «Протуб-4», «Протуб-4 плюс» по данным биохимического контроля.

Результаты. Были получены результаты сравнительного экспериментального исследования двух современных комбинированных противотуберкулезных препаратов ПТП в составе единой лекарственной формы: изониазид, пиразинамид, рифампицин, этамбутола гидрохлорид, но отличающихся по наличию в составе пиридоксина гидрохлорида (витамина В₆).

Заключение. Полученные данные биохимического контроля позволили установить факт снижения токсичности при введении препарата, содержащего пиридоксина гидрохлорид по отношению к препарату без пиридоксина гидрохлорида.

Ключевые слова: биохимический контроль, острая токсичность, противотуберкулезный препарат, витамин В₆, ксантуреновая кислота.

Для цитирования: 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.

Введение

В последние годы во всём мире отмечается развитие мультирезистентности возбудителя туберкулеза к противотуберкулезным препаратам (ПТП) [1 – 6], а также прогрессирующее течение туберкулеза, что является основанием для вынужденного перехода на режим химиотерапии с применением комбинированных препаратов, содержащих от 2 до 6 активных веществ, обладающих минимальной токсичностью, в составе единой формы ПТП, поскольку ПТП обладают определённой токсичностью и зачастую вызывают побочные реакции. В этом плане отметим, что определение токсично-

сти каждого из активных веществ в составе комбинированных ПТП проблематично, поскольку дозирование препарата осуществляется, как правило, по активному веществу, обладающему наибольшей токсичностью, либо по количеству активного вещества, выбирая максимальное. Эта проблема существенно усложняется, когда объектом токсикологического исследования безопасности являются комбинированные ПТП, содержащие несколько активных веществ в форме единой лекарственной формы. Поэтому выяснение токсичности комбинаций ПТП является актуальной задачей, определившей цель нашего исследования.

Цель исследования – оценить роль пиридоксина гидрохлорида в снижении токсичности при остром отравлении современным комбинированным ПТП содержащим (препарат «Протуб-4 плюс») и не содержащим пиридоксина гидрохлорид (препарат «Протуб-4»).

Материалы и методы исследования

Объектом исследования служили половозрелые нелинейные самцы и самки белых крыс массой 180–200 г. Эксперименты проведены в соответствии с этическими требованиями МЗ РФ [7, 8, 9] по работе с экспериментальными животными.

Предметом исследования явились физиологические функции животных в условиях получения комбинированных ПТП в таблетках с фиксированными дозами активных веществ – «Протуб-4» (без пиридоксина гидрохлорида), содержащий активные вещества в таблетке: изониазид (75 мг), рифампицин (150 мг), пиперазин (400 мг), этамбутола гидрохлорид (275 мг) и ПТП «Протуб-4 плюс» (с пиридоксина гидрохлоридом), содержащий активные вещества: изониазид (75 мг), рифампицин (150 мг), пиперазин (400 мг), этамбутола гидрохлорид (275 мг) и пиридоксина гидрохлорид (10 мг), производства ОАО «Фармасинтез». Включение пиридоксина гидрохлорида (витамина В₆) в состав препарата «Протуб-4 плюс», обусловлено тем, что входящий в состав препарата изониазид обладает нейротоксическим действием и, соответственно – рядом побочных эффектов [7, 10, 11]. При этом известно, что применение изониазида в токсических дозах приводит к снижению синтеза ГАМК путем ингибирования декарбоксилазы глутаминовой кислоты и как следствие этого – к повышению возбудимости на свет, звук, развитию генерализованных клонико-тонических судорог [12].

Острую токсичность устанавливали по методу Кербера [13]. Животные были разделены на группы: 1) получавшие ПТП без пиридоксина гидрохлорида (n=6M, n=6F), 2) получавшие ПТП, содержащий пиридоксина гидрохлорид (n=6M, n=6F). Рандомизацию крыс на группы проводили также и по принципу диапазона доз вводимого препарата.

Препараты «Протуб-4» и «Протуб-4 плюс» испытывали в дозах от 6000 до 16000 мг/кг с гра-

диентом дозы на 1000 мг. Животным вводили препарат однократно, внутривенно в виде суспензии с дистиллированной водой через атравматичный зонд. Дозирование проводили по количеству изониазида в таблетке. Перед введением препарата таблетки растирались в ступке. Однократный объем вводимой суспензии для крыс не превышал 5 мл. Препарат вводили дробно в течение 6 часов, начиная с 9 часов утра. Сразу после произведенного первого дробного введения препаратов «Протуб-4» и «Протуб-4 плюс» в установленной дозе DL₅₀ визуально оценивали особенности поведения крыс, определяли время латентного периода наступления судорог, проявления эпистатуса и продолжительность нахождения крыс в коме. Тяжесть судорог оценивали по пятибалльной шкале Мареша [2]. Определяли среднюю продолжительность жизни погибших крыс. Наблюдение за животными продолжалось в течение 14 суток [9].

На 2-е сутки с момента введения Протуб-4» и «Протуб-4 плюс» в полубаллетальной дозе в группах опыта и контроля у животных регистрировали: внешний вид, выделения, наличие уплотнений – пальпаторно, массу тела в граммах (г), диурез в миллилитрах (мл).

На 3-е сутки от момента введения препаратов Протуб-4» и «Протуб-4 плюс» в полубаллетальных дозах, в группах опыта и контроля регистрировали гематологические и биохимические показатели крови. Это определяли с помощью биохимических анализаторов FP-901M (Labsystems, Финляндия) и «EuroLysер» (EUROLab, Instruments GmbH; Австрия), гематологического анализатора Hemolux-19 (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd; Китай) с использованием стандартных наборов реактивов, согласно приложенным к ним инструкциям; также, как биомаркер измененного обмена триптофана при применении ПТП, содержащих изониазид, по методике [14]; определяли ксантуреновую кислоту в суточной моче; методом [15] определяли наличие изониазида.

Для обработки полученных данных применялись методы математической статистики, реализованные в процессоре Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft Co., США). Вычисляли среднее ариф-

Таблица 1 – Дозы препаратов «Протуб-4 плюс» и «Протуб-4»

Table 1 – Dosage of the drugs “Protube-4 plus” and “Protube-4”

Исследуемые ПТП	DL ₅₀ , г/кг		DL ₁₀₀ , г/кг	
	M	F	M	F
«Протуб-4»	9,9 ± 0,69	9,3 ± 0,69	13	13
«Протуб-4 плюс»	13,8 ± 0,38*	13,2 ± 0,49*	16	16
Коэффициент достоверности	4,9	4,6		

Примечание: * – p<0.05 по сравнению с «Протуб-4».

Note: * – p<0.05 compared to “Protube-4”.

метическое значение (M), его стандартную ошибку (m), производили оценку значимости различий средних величин, по t-критерию [16].

Результаты и их обсуждение

Полученные данные токсикометрии острого отравления при введении препарата «Протуб-4 плюс» и препарата «Протуб-4» без пиридоксина гидрохлорида приведены в таблице 1.

Из таблицы 1, следует, что при введении исследуемых препаратов величина DL_{100} , характерная для введения препарата «Протуб-4», сместилась в сторону DL_{50} препарата «Протуб-4 плюс», что свидетельствует о лучшей переносимости препарата, содержащего пиридоксина гидрохлорид и о достоверности факта снижения токсичности препарата «Протуб-4 плюс» в условиях однократного перорального введения крысам.

После 2–3-го дробного введения ПТП животные находились в состоянии тревоги, «втягивали» воздух, «умывались», затем забивались в угол клетки, затаивались. Глазные щели крыс были сужены. Проявляемая симптоматика оценивалась по шкале Мареша в 0,5 балла. Через 3–4 часа после дробного введения исследуемых ПТП в установленных DL_{50} у крыс наблюдались одиночные миоклонические спазмы, вздрагивания ушей и головы, быстро пере-

ходящие в слабые вздрагивания всего тела, что соответствовало 2 баллам по шкале Мареша.

Вскоре после окончания дробного введения исследуемых ПТП в 50 % случаев формировался эпистатус при введении препарата «Протуб-4» и значительно реже – при введении препарата «Протуб-4 плюс», судорожная активность оценена по шкале Мареша в 4 балла. Судороги четвертой стадии имели циклическую смену чередования с более слабыми судорожными пароксизмами, оцениваемыми в 3 балла. В последующем дыхание крыс учащалось, а при дозе 8000–12000 мг/кг, все животные теряли контроль позы и занимали боковое положение, реакция на внешние раздражители отсутствовала, и в таком состоянии крысы впадали в состояние комы (таблица 2).

Представленные в таблице 2 данные свидетельствуют о нейропротекторной защите ЦНС с помощью включенного в состав ПТП «Протуб-4 плюс» пиридоксина гидрохлорида.

После выхода из комы отмечалась положительная динамика, на следующие сутки некоторые крысы начинали принимать корм, подходить к поилке, хоть и реагировали на внешние раздражители заторможенно. На 3–4 сутки животные по внешнему виду практически не отличались от контрольных, но еще сохранялась определяемая заторможенность в поведении и диарей.

Таблица 2 – Развитие судорожного синдрома и комы у крыс при и после окончания введения «Протуб-4» и «Протуб-4 плюс» в среднесмертельных дозах

Table 2 – Convulsive syndrome and coma development in rats under and after the “Protub-4” and “Protub-4 plus” administration in median lethal dosages

Показатели	«Протуб-4»		«Протуб-4 плюс»		(t)
	M (1)	F (3)	M (2)	F (4)	
Латентный период, минут	50,9±2,1	53,0±2,2	58,1±2,4	55,1±1,5	$t_{1-2} = 2,3$ $t_{3-4} = 0,8$
Длительность эпистатуса до наступления комы, мин.	55,1±2,5	63,4±4,9	35,6±2,3	32,1±3,0	$t_{1-2} = 5,7$ $t_{3-4} = 5,4$
Проявление эпистатуса, %	53	50	33	37	–
Длительность комы, часы	6,39±0,2	5,96±0,3	4,02±0,3	4,2±0,1	$t_{1-2} = 6,5$ $t_{3-4} = 5,5$
Летальность без выхождения из комы, %	17	20	10	7	–

Таблица 3 – Сроки жизни крыс после однократного введения препаратов «Протуб-4» и «Протуб-4 плюс» в дозах DL_{50} и DL_{100} . Срок наблюдения – 14 суток *

Table 3 – Rats lifetime after a single the “Protub-4” and “Protub-4 plus” administration in DL_{50} and DL_{100} . Observation period – 14 days

Препараты	Продолжительность жизни крыс (часы, минуты)			
	DL_{50} , мг/кг		DL_{100} , мг/кг	
	Крысы M	Крысы F	Крысы M	Крысы F
«Протуб-4»	56:50±3,5	47:30±5,2	30:22±4,1	34:50±5,2
«Протуб-4 плюс»	67:10±3,3	65:13±4,3	48:10±3,8	47:15±2,9
Коэффициент достоверности (t)	2,2	2,7	3,2	2,1

Примечание: * – сроки жизни погибших животных за время наблюдения.

Note: * – the lifetime of animals died during the observation period.

Средняя продолжительность жизни крыс представлена в таблице 3.

Гибель 80–90 % крыс, получавших DL₅₀ ПТП «Протуб-4» и «Протуб-4 плюс», наступала на 2–3 сутки. При проведении некропии павших животных – гемодинамические расстройства, геморрагические очаги в легких, в желудке и кишечнике обнаружено оранжево-окрашенное содержимое; в легких – небольшие участки кровоизлияний; печень вишневого цвета, умеренно полнокровная; очаги некроза в корковом слое почек.

На 2-е сутки после введения DL₅₀ препаратов «Протуб-4» и «Протуб-4 плюс» у животных наблюдалось статистически достоверное «водное» голодание, суточный диурез был усилен. В группах опыта у крыс наблюдалась диарея на фоне значительного снижения потребления пищи и воды, а также снижалась масса тела (таблица 4).

На 14-е сутки от введения крысам препаратов «Протуб-4» и «Протуб-4 плюс», в полулетальных дозах, происходило практически полное восстановления массы тела крыс, суточного потребления воды и суточного диуреза.

Гематологические исследования, проведенные на 3 сутки после введения сравниваемых препаратов в полулетальных дозах, свидетельствуют о том, что оба препарата вызывали изменения в крови по сравнению с контролем. Так, у животных обеих подопытных групп возрастало количество гемоглобина, эритроцитов, а у животных, получавших препарат без пиридоксина гидрохлорида (препарат «Протуб-4»), отмечалось более интенсивное снижение количества ретикулоцитов (таблица 5).

Гематологические показатели, полученные в группах опытов с использованием крыс-самок,

Таблица 4 – Изменение массы тела, суточного потребления воды и диуреза у крыс на 2 сутки обследования, после введения препаратов «Протуб-4» и «Протуб-4 плюс» в полулетальных дозах

Table 4 – Changes in body weight, daily water consumption, and diuresis in rats on the 2nd examination day, after the “Protube-4” and “Protube-4 plus” administration in semi-lethal dosages

Показатель	Пол, М/Ф	Контроль (1)	«Протуб-4» (2)	«Протуб-4 плюс» (3)
Масса тела, г	М	172,4±0,5	158,2±0,7*	163,4±0,6* **
	Ф	169,3±0,5	155,7±0,8*	161,6±0,7* **
Потребление воды за 24 ч, мл	М	20,1±0,1	8,2±0,1*	8,1±0,1*
	Ф	20,1±0,1	8,1±0,1*	7,8±0,1*
Диурез за 24 ч, мл	М	8,4±0,7	16,9±0,8*	15,2±1,1*
	Ф	7,4±0,4	18,2±1,0*	17,9±0,2*

Примечание: * – отличие по сравнению с контролем при p<0.05

** – отличие по сравнению с «Протуб-4» при p<0.05

Note: * – difference compared to control at p<0.05

** – difference compared to “Protube-4” at p<0.05

Таблица 5 – Изменение гематологических показателей на 3 сутки введения крысам-самцам DL₅₀ препаратов «Протуб-4» и «Протуб-4 плюс»

Table 5 – Changes in hematological parameters on the 3rd day of “Protube-4” and “Protube-4 plus” DL50 administration to male rats

Показатели	Группа контроля	Группы опыта		
		«Протуб-4»	«Протуб-4 плюс»	
Гемоглобин, г/л	143,3±3,75	161,0±3,85*	170,67±4,25*	
Эритроциты, 10 ¹² /л	5,12±0,09	5,85±0,1*	6,02±0,14*	
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	16,18±1,56	10,7±0,6*	10,08±1,47*	
Ретикулоциты, ‰	77,0±2,9	52,7±1,96*	63,3±0,9* **	
Нейтрофилы	метамиелоциты, ·10 ⁹ /л	0,04±0,03	0,02±0,02	0,07±0,02
	палочкоядерные, ·10 ⁹ /л	0,7±0,2	0,4±0,07*	0,55±0,1
	сегментоядерные, 10 ⁹ /л	2,98±0,66	2,10±0,38	2,42±0,48
Эозинофилы, 10 ⁹ /л	0,72±0,16	1,16±0,14*	1,0±0,28	
Базофилы, 10 ⁹ /л	0	0	0	
Моноциты, 10 ⁹ /л	0,25±0,06	0,21±0,09*	0,24±0,06	
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	8,44±0,97	5,81±0,56*	5,78±0,97*	
Плазмциты, 10 ⁹ /л	0,03±0,03	0	0	
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	595,2±3,1	631,1±1,8*	622,4±3,0* **	

Примечание: * – различия достоверны по сравнению с контролем (p < 0,05);

** – различия достоверны между подопытными группами (p < 0,05).

Note: * – differences are reliable compared to the control (p < 0.05);

** – differences are reliable between experimental groups (p < 0.05).

имели одинаковые изменения показателей, приведенных в таблице 5 для крыс-самцов.

В целом, представленные в таблице 5 результаты позволяют полагать наличие у животных групп опыта гемоконцентрации следствием диареи и водной депривации. Выявленная лимфопения может быть следствием супрессорного влияния компонентов изучаемых препаратов на клетки лимфоцитарного ростка. Определённые изменения в периферической крови согласуются с данными литературы [15].

Биохимические исследования сыворотки крови крыс на 3 сутки после введения сравниваемых препаратов в полулетальных дозах иллюстрирует таблица 6.

Оценивая, данные, приведенные в таблице 6, можно полагать, что увеличение содержания общего белка и его фракций является следствием обезвоживания организма, изменения реологии крови, а не активации процессов синтеза. Снижение активности АЛТ, по-видимому, можно объяснить, способностью компонентов изучаемых препаратов оказывать ингибирующее действие на фермент. В частности, известно, что многие сое-

динения гидразина угнетают аминотрансферазы [17]. Известно также, что при длительном применении пиразинамида, рифампицина, изониазида возможно нарушение функций печени [11, 18]; полученные нами данные согласуются с этими представлениями. Снижение содержания глюкозы в сыворотке крови крыс, получавших «Протуб-4». Этот эффект логично объяснить воздействием изониазида, который наблюдается обычно при воздействии гидразина и ряда его производных, угнетающих, согласно [17] глюконеогенез.

Количественное определение наличия экскреции ксантуреновой кислоты в суточной моче крыс на 2 сутки от введения DL₅₀ ПТП «Протуб-4» и «Протуб-4 плюс», выявила значимые различия у групп животных (таблица 7).

К окончанию срока наблюдения (с 7 по 14 сутки обследования) признаков интоксикации у выживших крыс подопытных групп визуально не обнаружено.

Заключение

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об ингибирующем влиянии пиридоксина гидрохлорида на нейротоксичность препарата

Таблица 6 – Изменение биохимических показателей сыворотки крови на 3 сутки введения крысам-самцам препаратов «Протуб-4» и «Протуб-4 плюс» в полулетальных дозах

Table 6 – Changes in biochemical parameters of blood serum on the 3rd day of the “Protube-4” and “Protube-4 plus” administration in semi-lethal doses to male rats

Показатели	Группа контроля	Группы опыта	
		«Протуб-4»	«Протуб-4 плюс»
Глюкоза, ммоль/л	5,96±0,21	4,07±0,4*	5,25±0,31
Общий холестерин, ммоль/л	2,47±0,08	2,33±0,05	2,48±0,15
Мочевина, ммоль/л	7,83±0,32	9,22±0,59	8,73±0,36
Общий белок, г/л	76,75±3,2	90,32±3,98*	94,06±1,01*
Альбумины, г/л	36,7±0,7	47,19±2,06*	43,0±0,82*
Глобулины, г/л	40,02±2,6	49,18±2,3*	51,07±1,0*
АЛТ, ед/л	108,2±6,9	74,15±4,8*	75,37±6,7*
АСТ, ед/л	384,7±26,5	334,2±41,8	326,5±24,6
Общий билирубин, мU/ мл	6,54±0,6	14,34±2,79*	16,44±1,99*
Прямой билирубин, мU/ мл	4,62±0,61	9,87±3,12*	9,17±2,40*

Примечание: * – различия по сравнению с группой контроля (p<0,05).

Note: * – differences compared to the control group (p<0.05).

Таблица 7 – Экскреция в мочу крыс ксантуреновой кислоты на 2 сутки обследования, после введения DL₅₀ препаратов «Протуб-4» и «Протуб-4 плюс»

Table 7 – Excretion of xanthurenic acid in the rat urine on the 2nd examination day, after the “Protube-4” and “Protube-4 plus” DL50 administration

Пол крыс	Содержание ксантуреновой кислоты в суточной моче, мкг/мл		
	Контроль	«Протуб-4»	«Протуб-4 плюс»
М	0	11,1 ± 0,4	6,7 ± 0,2* **
Ф	0	10,6 ± 0,3	7,2 ± 0,2* **

Примечание: * – различия по сравнению с контролем (p < 0,05);

** – различия между подопытными группами (p < 0,05).

Note: * – differences compared to control (p < 0.05);

** – differences between experimental groups (p < 0.05).

«Протуб-4», проявляющемся в уменьшении продолжительности эпистатуса, времени нахождения животных в коме, а в целом – на увеличение продолжительности жизни при пероральном введении крысам комбинированного препарата «Протуб-4 плюс» в среднесмертельной дозе по сравнению с комбинированным препаратом «Протуб-4 плюс», в аналогичной дозе, но не содержащим пиридок-

сина гидрохлорид. Наряду с этим отметим, что полученные данные существенно дополняют ранее проведенный ряд исследований [5, 12, 14, 15, 18 – 24] и могут быть использованы при формировании рациональной программы химиотерапии больных туберкулезом, указывая на правильность выбора препаратов, содержащих пиридоксина гидрохлорид.

Список использованных источников

1. Клиническая эффективность лечения туберкулеза легких множественной лекарственной устойчивости возбудителя / Л. Е. Паролина, Т. И. Морозова, О. Н. Отпущенникова [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2015. – № 5. – С. 138–139.
2. Редкозубова, О. М. Особенности развития эпилептического статуса и способов его купирования у крыс разного возраста на литий-пилокарпиновой модели: дис. канд. биол. наук / О. М. Редкозубова – М.: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2007. – 200 с.
3. Пути получения новых противотуберкулезных препаратов / К. И. Усов, М. М. Расулов, И. А. Кузнецов [и др.] // Медицина и высокие технологии. – 2019. – № 4. – С. 6–14.
4. Усов, К. И. Современная фармакотерапия туберкулеза легких с множественной лекарственной устойчивостью / К. И. Усов // Современные технологии и научно-технический прогресс. – 2022. – № 9. – С. 285–286.
5. Усов, К. И. Влияние циркадных ритмов на токсичность изониазида и рифампицина при комбинированном применении в условиях эксперимента / К. И. Усов // Биофармацевтический журнал. – 2023. – Т. 15. – № 6. – С. 25–33.
6. WHO bulletin. Guidelines for treatment of drug-susceptible tuberculosis and patient care. – Geneva, 2017. – Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255052/9789241550000-eng.pdf?sequence=1>
7. Иванова, Д. А. Нежелательные побочные реакции при лечении больных туберкулезом: общие вопросы / Д. А. Иванова // Туберкулез и социально-значимые заболевания. – 2013. – № 1. – С. 57–65.
8. Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP): Рук. норматив. док.: РД 64-126-91 / [Разраб. Всесоюз. науч. центром по безопасности биол. актив. веществ]. – 2. изд., (без внесения изм.). – Москва: Центр по биотехнологии, медицине и фармации, 2000. – 78, [1] с.
9. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – Москва: Гриф и К, 2012. – 944 с.
10. Иванова, Д. А. Периферическая полиневропатия на фоне противотуберкулезной химиотерапии / Д. А. Иванова, Ж. Х. Заруди, Т. И. Иванова // Туберкулез и социально-значимые заболевания. – 2014. – № 3. – С. 58–64.
11. Машковский, М. Д. Лекарственные средства. 16-е изд., перераб., испр. и доп. / М. Д. Машковский / – М.: Новая Волна, 2012. – 1216 с.
12. Влияние хронобиологических ритмов на токсичность противотуберкулезного препарата «Изониазид» в условиях эксперимента / К. И. Усов, Т. А. Гуськова, Г. Г. Юшков, А. В. Машанов // Токсикологический вестник. – 2016. – № 2. – С. 31–32.
13. Лойт, А. О. Профилактическая токсикология: руководство для токсикологов-экспериментаторов / А. О. Лойт, М. Ф. Савченков / – Иркутск: Изд-во Иркут. ун-та, 1996. – 288 с.
14. О нецелесообразности применения собак в качестве экспериментально-биологической модели при доклинических исследованиях комбинированных препаратов, содер-

- жащих изониазид / К. И. Усов, Г. Г. Юшков, А. А. Гущина, А. В. Машанов. // Лабораторные животные как основа экспериментальной медицины: мат. научно-практ. конф. – Томск: Печатная мануфактура, 2009. – С. 104–106.
15. Усов, К. И. Токсикологическая оценка комбинированного противотуберкулезного препарата «Протуб-2®» / К. И. Усов, Г. Г. Юшков, Ю. Ю. Шаура, А. С. Гущин // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. № 4–2 (86). – С. 201–205.
16. Гланц, С. Медико-биологическая статистика (пер. с англ.) / С. Гланц, / – М.: Практика, 1999. – 459 с.
17. Портяная, Н. И., Биохимия гидразинов / Н. И. Портяная, В. В. Соколовский, Б. Г. Осипенко / – Ангарск: Изд-во Ангарской государственной технической академии, 2005. – 92 с.
18. Оценка значимости побочных реакций противотуберкулезных препаратов при лечении туберкулеза / Ю. И. Фещенко, С. А. Черенько, В. И. Мальцев, А. П. Викторов // Украинский медицинский часопис. – 2008. – № 3 (65). – С. 117–125.
19. Пиридоксина гидрохлорид – фактор, уменьшающий токсичность противотуберкулезных препаратов / М. М. Расулов, К. И. Усов, П. А. Стороженко, Г. Г. Юшков // Энциклопедия инженера-химика. – 2014. – № 6. – С. 20–23.
20. Оценка опасности противотуберкулезных препаратов, содержащих и не содержащих пиридоксина гидрохлорид / К. И. Усов, П. А. Стороженко, М. М. Расулов [и др.] // Энциклопедия инженера-химика. – 2014. – № 4. – С. 7–11.
21. Установление параметров острой токсичности противотуберкулезных препаратов, содержащих и не содержащих пиридоксина гидрохлорид / К. И. Усов, Г. Г. Юшков, М. М. Расулов, А. С. Гущин // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 107, № 8. – С. 38–41.
22. Острая токсичность противотуберкулезных препаратов содержащих и не содержащих пиридоксина гидрохлорид / К. И. Усов, Г. Г. Юшков, М. М. Расулов, А. С. Гущин // Паллиативная медицина и реабилитация. – 2012. – № 2. – С. 30–32.
23. Биозэквивалентность препарата «Протуб-4®» аналогу «Комбитуб®» / К. И. Усов, Г. Г. Юшков, М. М. Расулов, А. С. Гущин // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2012. – № 8. – С. 43–47.
24. Взаимодействие комбинаций изониазида с пиридоксина гидрохлоридом / К. И. Усов, М. М. Расулов, П. А. Стороженко [и др.] // Энциклопедия инженера-химика. – 2014. – № 5. – С. 2–6.

References

1. Parolina LE, Morozova TI, Otpushennikova ON, Razina AY, Doktorova NP. Klinicheskaya effektivnost' lecheniya tuberkuleza legkikh pri mnozhestvennoy lekarstvennoy ustoychivosti vozbuditelya [Clinical efficacy of pulmonary tuberculosis treatment with multiple drug resistance of microbacteria]. Tuberkulez i bolezni legkikh. 2015;(5):138–139. (in Russian)
2. Redkozubova OM. Osobennosti razvitiya epilepticheskogo statusa i sposobov ego kupirovaniya u kry's raznogo vozrasta na

- lityi-pilokarpinovoy modeli: dis. kand. biol. nauk [Features of development of epileptic status and its treatment in rats of different ages on a lithium-pilocarpine model: PhD thesis]. Moscow: MGU im. M.V. Lomonosova; 2007. 200 p. (in Russian)
- 3 Usov KI, Rasulov MM, Kuznetsov IA, Gukasov VM, Myakinkova LL. Puty polucheniya novykh protivotuberkuleznykh preparatov [Methods for producing new anti-tuberculosis drugs]. *Meditsina i vysokie tekhnologii*. 2019;(4):6–14. (in Russian)
 - 4 Usov KI. Sovremennaya farmakoterapiya tuberkuleza legkikh s mnozhestvennoy lekarstvennoy ustoychivost'yu [Modern pharmacotherapy of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis]. *Sovremennye tekhnologii i nauchno-tekhnicheskii progress*. 2022;(9):285–286. (in Russian)
 - 5 Usov KI. Vliyaniye tsirkadnykh ritmov na toksichnost' izoniazida i rifampitsina pri kombinirovannom primeneni v usloviyakh eksperimenta [The effect of circadian rhythms on the toxicity of isoniazid and rifampicin when combined in experimental conditions]. *Biofarmatsevticheskiy zhurnal*. 2023;15(6):25–33. (in Russian)
 - 6 WHO. Guidelines for treatment of drug-susceptible tuberculosis and patient care (2017) [Internet]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255052/9789241550000-eng.pdf?sequence=1>
 - 7 Ivanova DA. Nezhelatel'nye pobochnye reaktsii pri lechenii bol'nykh tuberkulezom: obshchie voprosy [Adverse drug reactions during treatment of tuberculosis: the main questions]. *Tuberkulez i sotsial'no-znachimye zabolevaniya*. 2013;(1):57–65. (in Russian)
 - 8 Pravila doklinicheskoy otsenki bezopasnosti farmakologicheskikh sredstv (GLP): Ruk. normativ. dok.: RD 64-126-91 [Guidelines for preclinical safety assessment of pharmacological agents]. Moscow: Tsentr po biotekhnologii, meditsine i farmatsii; 2000. 79 p. (in Russian)
 - 9 Rukovodstvo po provedeniu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya [Guidance on conducting preclinical drug studies. Part one]. Moscow: Grif i K; 2012. 944 p. (in Russian)
 - 10 Ivanova DA, Zarudi JH, Ivanova TI. Perifericheskaya polinevropatiya na fone protivotuberkuleznoi khimioterapii [Peripheral polyneuropathy during antitubercular chemotherapy]. *Tuberkulez i sotsial'no-znachimye zabolevaniya*. 2014;(3):58–64. (in Russian)
 - 11 Mashkovskiy MD. Lekarstvennye sredstva [Medicinal products]. 16-e izd., pererab., ispr. i dop. Moscow: Novaya Volna; 2012. 1216 p. (in Russian)
 - 12 Usov KI, Gus'kova TA, Yushkov GG, Mashanov AV. Vliyaniye khronobiologicheskikh ritmov na toksichnost' protivotuberkuleznogo preparata "Isoniazid" v usloviyakh eksperimenta. *Toksikologicheskii vestnik*. 2016;(2):31–32. (in Russian)
 - 13 Loit AO, Savchenkov MF. Profilakticheskaya toksikologiya: rukovodstvo dlya toksikologov-eksperimentatorov [Preventive toxicology: A guide for experimental toxicologists]. Irkutsk: Izdatel'stvo Irkutskogo universiteta; 1996. 288 p. (in Russian)
 - 14 Usov KI, Yushkov GG, Gushchina AA, Mashanov AV. O netseleobraznosti primeneniya sobak v kachestve eksperimental'no-biologicheskoy modeli pri doklinicheskikh issledovaniy kombinirovannykh preparatov, soderzhashchikh izoniazid [On the inexpediency of using dogs as an experimental biological model in preclinical studies of combined preparations containing isoniazid]. In: *Laboratornye zhivotnye kak osnova eksperimental'noy meditsiny: materialy nauchno-prakticheskoy konferentsii*. Tomsk: Pechatnaya manufaktura; 2009. p. 104–106. (in Russian)
 - 15 Usov KI, Yushkov GG, Shaura YY, Gushchin AS. Toksikologicheskaya otsenka kombinirovannogo protivotuberkuleznogo preparata "Protub-2®". *Byulleten' VSNTS SO RAMN*. 2012;4–2(86):201–205. (in Russian)
 - 16 Glantz S. Mediko-biologicheskaya statistika [Biostatistics]. Moscow: Praktika; 1999. 459 p. (in Russian)
 - 17 Portyanaya NI, Sokolovskiy VV, Osipenko BG. Biokhimiya gidrazinov [Biochemistry of hydrazines]. Angarsk: Izdatel'stvo Angarskoy gosudarstvennoy tekhnicheskoy akademii; 2005. 92 p. (in Russian)
 - 18 Feschenko YI, Cherenko SA, Maltsev VI, Viktorov AP. Otsenka znachimosti pobochnykh reaktsiy protivotuberkuleznykh preparatov pri lechenii tuberkuleza [Assessment of the significance of adverse reactions of antitubercular drugs in tuberculosis treatment]. *Ukrains'kyi medychnyi chasopys*. 2008;3 (65):117–125. (in Russian)
 - 19 Rasulov MM, Usov KI, Storozhenko PA, Yushkov GG. Pirodoksina gidrokhlid – faktor, umenshayushchiy toksichnost' protivotuberkuleznykh preparatov. *Entsiklopediya inzhenera-khimiika*. 2014;(6):20–23. (in Russian)
 - 20 Usov KI, Storozhenko PA, Rasulov MM, Yushkov GG, Gushchin AS, Kizlikov IG. Otsenka opasnosti protivotuberkuleznykh preparatov, soderzhashchikh i ne soderzhashchikh pirodoksina gidrokhlid. *Entsiklopediya inzhenera-khimiika*. 2014;(4):7–11. (in Russian)
 - 21 Usov KI, Yushkov GG, Rasulov MM, Gushchin AS. Ustanovlenie parametrov ostroy toksichnosti protivotuberkuleznykh preparatov, soderzhashchikh i ne soderzhashchikh pirodoksina gidrokhlid. *Sibirskiy medicinskij zhurnal*. 2011;107(8):38–41. (in Russian)
 - 22 Usov KI, Yushkov GG, Rasulov MM, Gushchin AS. Ostraya toksichnost' protivotuberkuleznykh preparatov soderzhashchikh i ne soderzhashchikh pirodoksina gidrokhlid [Sharp toxicity of the antitubercular preparations containing and not containing pyridoxine the hydrochloride]. *Palliativnaya meditsina i reabilitatsiya*. 2012;(2):30–32. (in Russian)
 - 23 Usov KI, Yushkov GG, Rasulov MM, Gushchin AS. Bioekvivalentnost' preparata "Protub-4®" analogu "Kombitub®" [Equivalence of the preparation "Protub-4®" to analogue "Kombitub®"]. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*. 2012;(8):43–47. (in Russian)
 - 24 Usov KI, Rasulov MM, Storozhenko PA, Snisarenko TA, Yushkov GG. Vzaimodeystvie kombinatsiy izoniazida s pirodoksina gidrokhlidom. *Entsiklopediya inzhenera-khimiika*. 2014;(5):2–6. (in Russian)

BIOCHEMICAL CONTROL OF THE EFFECT OF ANTI-TUBERCULOSIS DRUGS CONTAINING AND NOT CONTAINING VITAMIN B6

K.I. Usov¹, A. G. Moiseenok², M. M. Rasulov³

¹State University of Education,
Moscow, Russian Federation;

²Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy
of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus;

³State Research Institute of Chemistry and Technology of Organoelement Compounds,
Moscow, Russian Federation

Background. In recent years, there has been a global increase in the development of multidrug resistance of tuberculosis pathogens to anti-tuberculosis drugs (ATDs). Discontinuation or cessation of chemotherapy due to poor tolerance of ATDs exacerbates issues related to pathogen resistance.

Objective. To assess the role of pyridoxine hydrochloride in reducing toxicity in acute poisoning with modern combined ATDs, both containing and not containing pyridoxine hydrochloride.

Materials and Methods. The studies were conducted on experimental biological models (nonlinear white rats: males and females). The experiment studied the tolerance of ATDs: “Protub-4” and “Protub-4 plus” based on biochemical monitoring data.

Results. Results were obtained from a comparative experimental study of two modern combined anti-tuberculosis drugs in a single dosage form: isoniazid, pyrazinamide, rifampicin, ethambutol hydrochloride, but differing in the presence of pyridoxine hydrochloride (vitamin B6).

Conclusions. The biochemical monitoring data obtained allowed establishing the fact of reduced toxicity when administering the drug containing pyridoxine hydrochloride compared to the drug without pyridoxine hydrochloride.

Keywords: biochemical monitoring, acute toxicity, anti-tuberculosis drug, vitamin B6, xanthurenic acid.

For citation: Usov KI, Moiseeno AG, Rasulov MM. Biochemical control of the effect of anti-tuberculosis drugs containing and not containing vitamin B6. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2025, vol. 4, no. 1(6). pp. 19–26 (in Russian).

Поступила 09.12.2024

НЕКОТОРЫЕ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ АБДОМИНАЛЬНОГО СЕПСИСА И ИХ КОРРЕКЦИЯ ЛИПОСОМАЛЬНЫМ ХОЛЕСТЕРОЛОМ

С. С. Осочук, К. Р. Григорьева

*Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
г. Витебск, Республика Беларусь*

Введение. Общая смертность от абдоминального сепсиса (АС) варьирует от 24 до 98% в зависимости от тяжести патологического процесса, что определяет важность исследования закономерностей его развития и путей коррекции его течения.

Цель исследования. Настоящая работа посвящена изучению зависимости тяжести течения экспериментального АС от синтеза холестерина и применения холестеролзаместительной терапии липосомами с холестерином.

Материалы и методы. Эксперимент проводили на 75 беспородных крысах самцах. Моделировали абдоминальный сепсис внутрибрюшинным введением золотистого стафилококка, абдоминальный сепсис на фоне гипохолестеролемии – предварительным 2-ух недельным введением Аторвастатина внутривентрикулярно, а также после заражения с целью терапии вводили внутрибрюшинно и внутривенно липосомальный холестерин.

Результаты. В ходе экспериментального исследования установлено, что смертность животных от экспериментального абдоминального сепсиса на фоне ингибирования синтеза холестерина аторвастатином составила 100%. Введение холестерина в составе липосом снижало смертность от абдоминального сепсиса на 80–86,7% в зависимости от пути введения липосомального холестерина. Внутрибрюшинное введение липосомального холестерина сопровождалось снижением содержания общего холестерина в крови животных.

Заключение. Из эксперимента следует, что введение Аторвастатина негативно влияет на выживаемость крыс. Статины обладают плейотропными эффектами. Площадь кровоизлияний в надпочечниках при инициации абдоминального сепсиса не зависит от введения Аторвастатина и не влияет на смертность экспериментальных животных. Внутрибрюшинное и внутривенное введение липосом обогащенных холестерином уменьшает смертность животных на 80–86,7%.

Ключевые слова: абдоминальный сепсис, гипохолестеролемия, холестерин, липосомы.

Для цитирования: Осочук, С. С. Некоторые патогенетические механизмы абдоминального сепсиса и их коррекция липосомальным холестерином / С. С. Осочук, К. Р. Григорьева // Биохимия и молекулярная биология. – 2025. – Т. 4, № 1(6). – С. 27–31.

Введение

Под термином «абдоминальный сепсис» (АС) в научной литературе понимается как патологический процесс, характеризующийся наличием синдрома системной воспалительной реакции в ответ на генерацию деструктивных процессов в забрюшинном пространстве и (или) брюшной полости, сопровождающийся системным эндотоксикозом и полиорганной недостаточностью [1]. Ежегодно в развитых странах регистрируется около 18 млн случаев АС, летальность при этом составляет не менее 500 тысяч пациентов [2]. Общая смертность варьирует от 24% до 98% в зависимости от тяжести течения патологического процесса.

Одним из показателей тяжести и негативного прогноза сепсиса является описанная еще около 100 лет назад гипохолестеролемия [3], развивающаяся, как правило, на поздних стадиях критических состояний, и коррелирующая с высоким

уровнем смертности [4,5]. В настоящее время низкий уровень холестерина (ХС) рассматривается как маркер начинающейся полиорганной недостаточности [6,7].

Ранее нами была опубликовано исследование липидтранспортной системы крови пациентов, выживших и умерших при развитии абдоминального сепсиса (перитонит) [8], в котором показано, что у умерших пациентов уровень общего ХС, ХС ЛПНП и ХСЛПВП были значительно ниже, чем у здоровых людей, однако у умерших пациентов на 3 сутки после оперативного вмешательства содержание ХС ЛПОНП было выше, чем у здоровых людей. Такая картина свидетельствует о нарушении внутрисосудистой трансформации ЛПОНП в острофазные ЛПВП [9], которые способны доставлять ХС надпочечникам через посредство SRB-1 (скавенджер) рецепторов, продукция которых стимулируется адренкортикотропным гормо-

ном (АКТГ) [10]. В результате проведенной работы было сделано предположение, что в при АС, завершающемся летальным исходом, нарушается острофазная доставка холестерина надпочечникам. В последующей работе [11] данное предположение было подтверждено. У крыс двухнедельное введение «Ловахола» (ингибитор ключевого фермента синтеза холестерина β -окси- β -метил-глутарил-кофермента А-редуктазы, КФ 1.1.1.88) вызывало преходящую гипохолестеролемию, а также морфологически подтвержденное кровоизлияния в надпочечники у крыс с внутрибрюшинным введением штамма S581 золотистого стафилококка. Однако, среди экспериментальных животных летального исхода не наблюдалось, что могло быть следствием недостаточной дозировки «Ловахола» и быстрым восстановлением уровня холестерина в крови экспериментальных животных.

Цель исследования. Изучить смертность, морфологическую картину надпочечников и показатели липидтранспортной системы (ЛТС) крови при АС, вызванном внутрибрюшинным введением возбудителя в эксперименте на крысах с гипохолестеролемией, индуцированной введением повышенной дозы статинов и влияние на изучаемые показатели внутрибрюшинного и внутривенного введения обогащенных холестерином липосом.

Материалы и методы

Эксперимент проведен на 75 беспородных крысах самцах, разделенных на 5 экспериментальных групп в соответствии Правилам обращения с лабораторными животными по Разрешению комиссии по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными.

1. Интактные животные.

2. Двухнедельное введение «Аторвастатина» с внутрибрюшинным введением золотистого стафилококка.

3. Внутрибрюшинное введение золотистого стафилококка интактным животным.

4. Двухнедельное введение «Аторвастатина» с внутрибрюшинным введением золотистого стафилококка и внутрибрюшинным введением обогащенных холестерином липосом.

5. Двухнедельное введение «Аторвастатина» с внутрибрюшинным введением золотистого стафилококка и внутривенным введением обогащенных холестерином липосом.

Животные 1 группы использованы в качестве интактного контроля без каких-либо воздействий.

Животным второй экспериментальной группы (n=5) внутривенно вводили «Аторвастатин» (ATV) 2 раза в день (утром и вечером) в течение 2-х недель. На 15-ый день через час после введе-

ния ATV внутрибрюшинно вводили золотистый стафилококк (штамм S581), в концентрации 6 млрд. микробных тел. Доза ATV определена по формуле перерасчета суточной дозы с человека на крысу и составила 6 мг/кг. [12].

Животным 3 группы (n=15) без предварительного введения аторвастатина, в/брюшинно вводили золотистый стафилококк (штамм S581), в концентрации 6 млрд. микробных тел одновременно со 2 экспериментальной группой.

Животным четвертой группы вводили ATV и золотистый стафилококк аналогично животным 2 группы и дополнительно, через 4 часа после введения стафилококка внутрибрюшинно вводили 1,6 мл обогащенных холестерином липосом.

Животным пятой группы вводили ATV и золотистый стафилококк аналогично животным 2 группы и дополнительно, через 4 часа после введения стафилококка внутрибрюшинно вводили 0,8 мл обогащенных холестерином липосом.

Доза обогащенных холестерином липосом рассчитывалась на основании полученных результатов снижения уровня холестерина в предыдущем исследовании [11].

Для подтверждения наличия АС осуществляли посев крови животных через 7 часов после введения золотистого стафилококка, последовательно на питательную среду СМО405 и агар Мюллера –Хинтона II.

Липосомы готовили смешивая 12,5 мг лецитина с 12,5 мг ХС соответственно в колбе объемом 25 мл растворяя в 5 мл смеси хлороформ-метанол (2:1, об./об.). Растворитель удаляли на ротормном испарителе Heidolph, Hei-VAP Expert Control, (Germany) при 40°C. После получения липидной пленки к ней добавляли 5 мл физиологического раствора, перемешивали на ротормном испарителе без вакуума при 30 об./мин. для гидратации липидной пленки с образованием многослойных везикул. Полученный раствор экстрадировали 10 циклов через фильтры 1000 нм. На лабораторном экструдоре Avanti Polar Lipids, Inc, (USA). Определение размера липосом и индекса полидисперсности осуществляли с использованием метода динамического светорассеяния на Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd, Malvern, Worcestershire, UK).

Концентрацию холестерина измеряли ферментативным набором «Холестерин» (ООО «Арвит-медикл» Республика Беларусь).

Животных выводили из эксперимента декапитацией под эфирным наркозом через 24ч после заражения золотистым стафилококком. Кровь собирали в стеклянные пробирки и после получения сыворотки последнюю хранили до обработки

в морозильной камере при температуре -20°C . Извлеченные надпочечники фиксировали в 10% нейтральном формалине. Срезы надпочечников окрашивали гематоксилин-эозином. Площадь кровоизлияния рассчитали с помощью программного обеспечения «Image Score M» автоматическим выделением объектов в 8 полях зрения среза надпочечника для каждого животного, предварительно сфотографированных на микроскопе Leica, с увеличением 40.

Содержание общего холестерина оценивали с использованием биохимических наборов ООО «Артвитмедикл» (республика Беларусь). Количество кортизола определяли с использованием иммуноферментных наборов Вектор БЕСТ (РФ).

Предварительная обработка и статистический анализ данных выполнен при помощи пакета прикладных программ R version 4.2.2 (2022-10-31 ucrt). Распределение исследуемых признаков оценивали согласно критерию Шапиро-Уилка, и при условии наличия Гауссовского распределения для сравнения использовались методы параметрической статистики, в обратном случае – непараметрические методы. Множественное сравнение выполняли при помощи ANOVA (в случае гетерогенности дисперсий исследуемых признаков применяли поправку Уэлча) или H-критерия Краскела-Уоллиса. Анализ post hoc выполняли согласно критерию Тьюки или критерия H-критерия Краскела-Уоллиса в модификации Данна с поправкой на множественные сравнения по методу Бенджамини-Иекутиели. В связи с небольшой выборкой использовали Бутстрэп-анализ.

Результаты и их обсуждение

Анализ посевов крови показал наличие возбудителя в крови экспериментальных животных, что свидетельствует о наличии септического процесса. Оценка смертности животных в экспериментальных группах показала (Таблица 1), что АС вызванный введением золотистого стафилококка вызывал гибель 13,33% экспериментальных животных. Двухнедельное введение ATV увеличивало смертность животных до 100%. Внутривенное и внутрибрюшинное введение обогащенных холе-

стеролом липосом снижало смертность на 86,7 и 80% при внутривенном и внутрибрюшинном введении, что подтверждает нашу гипотезу о первопричинности недостатка ХС в патогенез летального исхода при АС.

Таблица 1 – Анализ смертности животных

Table 1 – Analysis of animal mortality

Группа	Всего голов	Выжило	Погибло
1	15	15 (100.00%)	0 (0.00%)
2	15	13 (86.67%)	2 (13.33%)
3	6	0 (0.00%)	6 (100.00%)(**)
4	15	12 (80.00%)	3 (20.00%)(***)
5	15	13 (86.67%)	2 (13.33%)(***)

Примечания: Статистически значимо по сравнению с * – интактными ** – АС без ATV, *** – АС с ATV

Notes: Statistically significant compared to * – intact, ** – speakers without ATV, *** – speakers with ATV

Анализ морфологической картины надпочечников не выявил статистически значимых отличий в площади кровоизлияний в группах с введением стафилококка на фоне ATV и без него (Таблица 2).

Таблица 2 – Площадь кровоизлияния в надпочечники

Table 2 – Area of hemorrhage in the adrenal glands

Группа	Площадь кровоизлияния, %	Летальность, %
ATV + стафилококк	7.97±4.95	100
Стафилококк	8.57±4.50	13,33

Полученный результат свидетельствует о ведущей роли холестерина а не кровоизлияний в надпочечник в летальном исходе при АС. Однако данный вывод требует дополнительных исследований и возможно зависит от площади кровоизлияний и степени развивающейся гипохолестеремии.

Оценка концентрации общего холестерина и кортизола сыворотки показала (таблица 3), что моделирование АС у интактных животных не вызвало статистически значимого снижения общего ХС, также отсутствовали изменения и при АС на фоне введения ATV. Вместе с тем, в/брюшинное введение липосом содержащих холестерол статистически значимо снижало концентрацию общего ХС ($p=0,043$). Учитывая значительное падение

Таблица 3 – Изменения содержания общего холестерина и кортизола крови

Table 3 – Changes in the content of total cholesterol and cortisol in the blood

	Интактные	Стафилококк	ATV+ Стафилококк	ATV+ Стафилококк + в/в 0,8	ATV+ Стафилококк + в/б 1,5
Общий холестерол мм/л	1.57±0.46	1.25±0.51	1.39±0.46	0.94±0.28	0.84±0.38*
Кортизол нМ/л	46.39±18.18	52.77±17.07	58.03±8.56	49.61±15.89	43.87±11.76

Примечание: * – статистически значимо по сравнению с интактными животными

Note: * – statistically significant compared to intact animals

смертности после введения липосом с ХС, можно предположить, что их введение вызвало рост потребления ХС как для надпочечников, так и для репарации поврежденных АС тканей.

Оценка содержания кортизола не выявила статистически значимых изменений, однако суммарная оценка всех экспериментальных групп показала, что группы имеют отличия с вероятностью ошибки равной 5% ($p=0,05$). Отсутствие отличий при парных сравнениях может обуславливаться малым объемом статистической выборки и обосновывает необходимость дополнительных исследований. Вероятно, доза вводимого аторвастатина не достаточна для того чтобы вызвать снижение уровня ХС достаточное для нарушения продукции кортизола. Возможно 100% летальный исход у животных с АС на фоне вводимого ATV связан не только с недостатком ХС, но и с нарушением использования его предшественников необходимых для синтеза убихинона или изопренилирования метаболически активных белков.

Заключение

Таким образом исходя из представленного материала можно сделать следующие выводы:

1. Внутривентриальное введение 6 млрд микробных тел золотистого стафилококка приводит к раз-

витию абдоминального сепсиса, что подтверждается высеванием возбудителя из крови экспериментальных животных.

2. Экспериментальный абдоминальный сепсис на фоне введения аторвастатина в 100% случаев завершается летальным исходом, что свидетельствует о ведущей роли обмена холестерина в исходах абдоминального сепсиса.

3. Площадь кровоизлияний в надпочечниках при инициации абдоминального сепсиса не зависит от введения аторвастатина и не влияет на смертность экспериментальных животных, что подтверждает ведущую роль холестерина как причины летального исхода экспериментальных животных.

4. Внутривентриальное и внутривенное введение липосом обогащенных холестерином уменьшает смертность животных на 80-86,7%, при этом внутривентриальное введение липосом в объеме 1,5 мл снижает содержание общего холестерина крови, что позволяет предположить возможность его более активного использования для синтетических и репаративных целей и подтверждает значимость холестерина для исхода абдоминального сепсиса.

Список использованных источников

1. Алиев, С.А. Абдоминальный сепсис: состояние проблемы, интегральные системы оценки тяжести течения и критерии прогнозирования исхода / С. А. Алиев, Э. С. Алиев // Вестник хирургии – 2018. – Т.177, №5. С.108–112.
2. Кочетков, А.В. Клинико-лабораторная диагностика и мониторинг гнойно-септических осложнений после операций на органах брюшной полости / А.В. Кочетков, М.С. Гудилев. // Новости хир – 2015. – Т. 23, №1. – С. 105–111.
3. Macadam, W. The Cholesterol Content of the Blood in Relation to Genito-urinary Sepsis / W. Macadam, C. Shiskin // Proc R Soc Med – 1924. – №17. – P.53–55.
4. Ulevitch R. J. New function for high density lipoproteins. Isolation and characterization of a bacterial lipopolysaccharide – high-density lipoprotein complex formed in rabbit plasma / R. J. Ulevitch, A R Johnston, D B Weinstein // J Clin Invest. – 1981. – Vol.67, №3. – P.827–837.
5. Changes in plasma free fatty acid levels in septic patients are associated with cardiac damage and reduction in heart rate variability / A. C. Nogueira, V. Kawabata, P. Biselli [et al.] // Shock. – 2008. – Vol.29, №3. – P.342–348.
6. Прогностическая ценность уровня холестерина у больных в критическом состоянии / А.Л. Липницкий [и др.] // Здравоохранение – 2012. – Т. 1. – С. 8–11.
7. Никифорова, Ю.Г. Сравнительная оценка информативности определения прокальцитонина, с-реактивного белка и холестерина как лабораторных маркеров сепсиса / Ю.Г. Никифорова, С.А. Точило С, А.В. Марочков // Вестник анестезиологии и реаниматологии – 2016. – Т. 13. – С.47–52.
8. Косинец А.Н. Сравнительная характеристика изменений липидтранспортной системы у умерших и оставшихся

в живых больных разлитым гнойным перитонитом / А.Н. Косинец, С.С.Осочук, Н.Ю. Коневалова // Вестник ВГМУ. – 2004. – Т. 3, №3. – С.19–22.

9. Marghaug, G. Serum amyloid A: an acute phase apolipoprotein and precursor of SAA amyloid / G. Marghaug, S.B. Dowton // Baillieres. Clin. Rheumatol. – 1994. – Vol. 8, №3. – P.556–557.
10. Rigotti, A. The Role of the High-Density Lipoprotein Receptor SR-BI in the Lipid Metabolism of Endocrine and Other Tissues / A. Rigotti, H.E. Miettinen, M. Krieger // Endocrine Reviews. – 2003. – Vol. 24, №3. – P. 357–387.
11. Осочук, С.С. Гипохолестеремия как причина кровоизлияния в надпочечники при экспериментальном перитоните / С.С. Осочук, В.Н. Грушин, Л.Л. Якименко // Бюллетень восточно-сибирского научного центра СО РАМН. – 2011. – Т. 1, №1. – С. 231–234.
12. Выбор дозы препарата для доклинического исследования: межвидовой перенос доз / Е.В. Шекунова, М. А. Ковалева, М. Н. Макарова, В. Г. Макаров // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2020. – Т.10, №1. – С. 19–28.

References

1. Aliev SA. Aliev ES. Abdominal sepsis: state of the problem, integral systems for assessing the severity of the course and criteria for predicting the outcome. *Bulletin of Surgery*. 2018;177(5):108–112.
2. Kochetkov AV. Gudilov MS. Clinical and laboratory diagnosis and monitoring of purulent-septic complications after operations on the abdominal organs. *News of the surgeon* 2015;23(1):105–111.
3. Macadam W. Shiskin C. The Cholesterol Content of the Blood in Relation to Genito-urinary Sepsis. *Proc R Soc Med* 1924;17:53–55.
4. Ulevitch R. J. et al. New function for high density lipoproteins. Isolation and characterization of a bacterial

- lipopolysaccharide – high-density lipoprotein complex formed in rabbit plasma *J Clin Invest.* 1981;67(3):P.827–837. doi:10.1172/JCI110100
- 5 Nogueira AC, Kawabata V, Biselli P, et al. Changes in plasma free fatty acid levels in septic patients are associated with cardiac damage and reduction in heart rate variability. *Shock.* 2008;29(3):342–348. doi:10.1097/shk.0b013e31815abbc6
 - 6 Lipnitsky A.L. et al. Prognostic value of cholesterol levels in patients in critical condition. *Healthcare.* 2012;1:8–11.
 - 7 Nikiforova YuG, Tochilo SA., Marochkov AV. Comparative assessment of the informativeness of determining procalcitonin, c-reactive protein and cholesterol as laboratory markers of sepsis. *Bulletin of Anesthesiology and Reanimatology.* 2016;13:47–52.
 - 8 Kosinets A.N, Osochuk SS, Konevalova NYu. Comparative characteristics of changes in the lipid transport system in deceased and surviving patients with diffuse purulent peritonitis. *Bulletin of VSMU.* 2004;3(3):19–22.
 - 9 Marghaug G, Dowton SB. Serum amyloid A: an acute phase apolipoprotein and precursor of SA amyloid. *Baillieres. Clin. Rheumatol.* 1994;8(3):556–557.
 - 10 Attilio Rigotti, Helena E, Miettinen and Monty Krieger. The Role of the High-Density Lipoprotein Receptor SR-BI in the Lipid Metabolism of Endocrine and Other Tissues. *Endocrine Reviews.* 2003;24(3):357–387.
 - 11 Osochuk, SS, Grushin VN, Yakimenko LL. Hypocholesterolemia as a cause of hemorrhage into the adrenal glands in experimental peritonitis. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2011;1(1):231–234.
 - 12 Shekunova EV, Kovaleva MA, Makarova MN, Makarov VG. Selecting a drug dose for a preclinical study: interspecies transfer of doses. *Bulletin of the Scientific Center for Expertise of Medical Products.* 2020;10(1):19–28.

SOME PATHOGENETIC MECHANISMS OF ABDOMINAL SEPSIS AND THEIR CORRECTION WITH LIPOSOMAL CHOLESTEROL

S. S. Osochuk, K. R. Grigorieva

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Background. Overall mortality from abdominal sepsis (AS) varies from 24 to 98% depending on the severity of the pathological process, which determines the importance of studying the patterns of its development and ways to correct its course.

Objective. This work is devoted to studying the dependence of the severity of experimental AS on cholesterol synthesis and the use of cholesterol replacement therapy with liposomes containing cholesterol.

Material and methods. The experiment was carried out on 75 outbred male rats. Abdominal sepsis was modeled by intraperitoneal injection of *Staphylococcus aureus*, abdominal sepsis against the background of hypocholesterolemia by a preliminary 2-week administration of Atorvastatin intragastrically, and after infection, liposomal cholesterol was administered intraperitoneally and intravenously for therapy.

Results. During the experimental study, it was established that the mortality of animals from experimental abdominal sepsis against the background of inhibition of cholesterol synthesis by atorvastatin was 100%. The administration of cholesterol as part of liposomes reduced mortality from abdominal sepsis by 80–86.7%, depending on the route of administration of liposomal cholesterol. Intraperitoneal administration of liposomal cholesterol was accompanied by a decrease in the content of total cholesterol in the blood of animals.

Conclusions. From the experiment it follows that the administration of Atorvastatin negatively affects the survival of rats. Statins have pleiotropic effects. The area of hemorrhages in the adrenal glands during the initiation of abdominal sepsis does not depend on the administration of Atorvastatin and does not affect the mortality of experimental animals. Intraperitoneal and intravenous administration of liposomes enriched with cholesterol reduces animal mortality by 80–86.7%.

Key words: abdominal sepsis, hypocholesterolemia, cholesterol, liposomes.

For citation: Osochuk SS, Grigorieva KR. Some pathogenetic mechanisms of abdominal sepsis and their correction with liposomal cholesterol. *Biochemistry and Molecular Biology.* 2025, vol. 4, no. 1(6). pp. 27–31 (in Russian).

Поступила 27.11.2024

ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ НАТИВНОГО И ВКЛЮЧЕННОГО В СОСТАВ МИКРОЧАСТИЦ КВЕРЦЕТИНА ПРИ ИНИЦИИРОВАНИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В КЕРАТИНОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА

*О. В. Ишутина, Т. В. Костюк, А. И. Потапович, В. А. Костюк
Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь*

Введение. Микро и наночастицы, загруженные растительными полифенолами, показали высокую фармакологическую активность, что делает создание таких частиц, а также исследование их биологических эффектов весьма актуальными.

Цель исследования. Сравнить защитное действие нативного и микроструктурированного кверцетина при иницировании окислительного стресса в кератиноцитах человека трет-бутилгидропероксидом (tBHP).

Материалы и методы. Использовался кверцетин, загруженный в микроконтейнеры из полиаллиламин гидрохлорид/полистиролсульфата (PAH/PSS)₄ или хитозан/декстран сульфата (Hit/DS)₄, со средним размером (1,1 ± 0,3) мкм. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью реагента PrestoBlue™, повреждение кератиноцитов – по выходу лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Анализ повреждений ДНК проводили с помощью метода ДНК-комет.

Результаты. Установлено, что кверцетин и его микроструктурированные формы эффективно предотвращали повреждение ДНК в ядрах кератиноцитов, подвергнутых воздействию tBHP. Максимальная эффективность мембранопротекторного действия микроструктурированного кверцетина наблюдалась при добавлении непосредственно перед tBHP, тогда как для проявления максимальной эффективности нативного кверцетина была необходима преинкубация.

Заключение. Покрытие кверцетина оболочкой (PAH/PSS)₄ или (Hit/DS)₄ повышает биодоступность и не препятствует реализации его антиоксидантных свойств.

Ключевые слова: кератиноциты, трет-бутилгидропероксид, кверцетин, микроструктуры, окислительный стресс, ДНК-кометы.

Для цитирования: Защитное действие нативного и включенного в состав микрочастиц кверцетина при иницировании окислительного стресса в кератиноцитах человека / О. В. Ишутина, Т. В. Костюк, А. И. Потапович [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2025. – Т. 4, № 1(6). – С. 32–38.

Введение

Нанотехнологии представляют собой перспективный подход к лекарственной терапии и, в первую очередь, к таргетной терапии, позволяющий повысить устойчивость, биодоступность и специфичность терапевтических средств. Различные наноструктуры, созданные на основе неорганических, органических, металлоорганических, биологических и полимерных материалов, показали себя многообещающими в качестве средств доставки лекарств [1]. При создании микро/наноконтейнеров для фармакологических агентов важны форма, размер, поверхностный заряд самих наноструктур, а также учет характеристик и поверхностной плотности транспортируемых агентов [2]. Несомненно, в системах доставки лекарств предпочтительнее использовать биосовместимые и биоразлагаемые полимеры из-за их меньшей токсичности, к которым относятся синтетические полимеры, такие как поли(D, L-молочная-гликолевая кислота), и природные полимеры, такие как хитозан [3]. Количество статей, посвященных исследованию воз-

можности использования микро/нанолекарств для терапии рака и других заболеваний, значительно возросло за последние годы [4]. Путем загрузки в полимерную матрицу можно повысить биодоступность и селективность фармакологического действия вторичных растительных полифенольных метаболитов, среди которых наиболее часто инкапсулируются катехины, кверцетин, эвгенол, эпигаллокатехин, эпигаллокатехин-галлат, куркумин [5]. Наночастицы, загруженные полифенолами, показали высокую фармакологическую активность (противораковую, противовоспалительную и антиоксидантную), что делает создание таких частиц, а также исследование их биологических эффектов весьма актуальными [6].

Хорошо известно, что негативное воздействие различных факторов окружающей среды на аэробные организмы во многих случаях реализуется через активацию продукции активных форм кислорода (АФК) и инициацию окислительного стресса. Структурно-функциональные нарушения и гибель клеток в результате окислительного

стресса и избыточного образования АФК могут быть важным патогенетическим фактором возникновения и прогрессирования различных заболеваний [7]. В этой связи весьма актуально создание клеточных моделей, позволяющих изучать последствия воздействия окислительного стресса на структурно-функциональное состояние клеток и защитную эффективность наноформул и нативных лекарственных средств. tBHP широко используется в качестве модельного вещества для оценки механизмов клеточных изменений, возникающих в результате окислительного стресса в клетках и тканях [8]. Кверцетин является одним из наиболее распространенных флавоноидов в рационе человека, однако его плохая растворимость в воде обуславливает низкую биодоступность. Ранее нами было показано, что свободный и микроструктурированный кверцетин обладает цитопротекторным действием в условиях окислительного стресса, инициированного прямым повреждением ядерной ДНК ультрафиолетом С [9].

Цель исследования. Сравнить защитное действие нативного и микроструктурированного кверцетина при инициировании окислительного стресса в кератиноцитах человека трет-бутилгидропероксидом.

Материалы и методы

В исследовании использовались модифицированная среда Игла (DMEM), акридиновый оранжевый (АО), этидиум бромид (ЭБ), кверцетин (Кв), tBHP (Sigma-Aldrich, Германия); изотонический фосфатный буфер (ИФБ), pH = 7,4 (Lonza, Бельгия); эмбриональная бычья сыворотка (FBS) (Capricorn, Польша). Микроструктуры Кв(PAN/PPS)₄ и Кв(Hit/DS)₄ со средним размером (1,1 ± 0,3) мкм, полученные методом послойной сборки в водных растворах, были любезно предоставлены Т. Г. Шутовой, ведущим научным сотрудником Института химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси. Суспензии микроструктур в 0,9 % NaCl содержали кверцетин в количестве 10 мг/мл.

Иммортализованная клеточная линия кератиноцитов человека HaCaT предоставлена доктором N. E. Fusenig (Гейдельберг, Германия). Клетки культивировали во флаконах T25 (Sarstedt, США) в среде DMEM, содержащей 10 % FBS в стандартных условиях (37 °C, 5 % CO₂). Экспозицию с исследуемыми веществами проводили в 96- и 24-луночных планшетах (Sarstedt, США). Растворы препаратов добавляли к среде инкубации, не содержащей сыворотки, для получения необходимой концентрации за 30 мин или непосредственно перед внесением tBHP.

Анализ жизнеспособности клеток проводили с помощью реагента PrestoBlue™ (Introvigen, США) согласно инструкции. Величину флуоресценции измеряли через 2 ч инкубации клеток с реагентом при 37 °C, λ_{Ex} = 560 нм, λ_{Em} = 590 нм (Cary Eclipse fluorescence spectrophotometer, Австралия). Усредненную интенсивность флуоресценции лунок, содержащих контрольные клетки, принимали за 100 %.

При анализе целостности клеток критерием повреждения была степень выхода из клеток ЛДГ. Активность ЛДГ измеряли прямым спектрофотометрическим методом в 1 мл ИФБ (pH = 7,4), содержащем 30 мкМ пирувата и 30 мкМ НАДН, и характеризовали величиной изменения оптической плотности при 340 нм за 1 мин. Процент повреждения клеток рассчитывали путем деления активности ЛДГ в среде культивирования на сумму активности ЛДГ в среде и лизатах адгезированных клеток.

При проведении теста на живые и мертвые клетки через 15 мин после добавления смеси красителей АО и ЭБ клетки дважды отмывали ИФБ, визуализировали и фотографировали, используя инвертированный флуоресцентный микроскоп Axiovert 25 (Zeiss, Германия).

Анализ повреждений ДНК проводили, используя щелочную версию метода ДНК-комет [10]. Предметные стекла с нанесенной клеточной суспензией помещали в лизирующий буфер и выдерживали в темноте в течение 20 ч (4 °C), затем помещали в щелочной буфер, pH = 13 (0,3 М NaOH и 1 мМ ЭДТА) на 20 мин и проводили электрофорез в течение 20 мин при 300 мА. Образцы фиксировали в этаноле и окрашивали ЭБ. Кометы наблюдали при 200-кратном увеличении с помощью флуоресцентного микроскопа Axiovert 25 (Zeiss, Германия) и документировали с помощью цифровой камеры. Содержание ДНК в хвосте кометы, характеризующее степень её повреждения, определяли по формуле:

$$\% \text{ ДНК в хвосте кометы} = \frac{(S_k \cdot I_k - S_g \cdot I_g)}{S_k \cdot I_k \cdot 100 \%}$$

где: S_g – площадь головы кометы в пикселях, S_k – площадь кометы в пикселях, I_g – усредненная интенсивность свечения головы кометы, I_k – усредненная интенсивность свечения кометы. Данные параметры получали, используя программу ImageJ.

Содержание восстановленного глутатиона (GSH) определяли, используя реагент ThioGlo-1 (SaBiosciences, Италия) [11]. При анализе образцов в лунки добавляли 200 мкл раствора ThioGlo-1. Планшет инкубировали на шейкере в темноте при

комнатной температуре в течение 5 мин и измеряли интенсивность флуоресценции в лунках при $\lambda_{\text{Ex}} = 355 \text{ нм}$, $\lambda_{\text{Em}} = 535 \text{ нм}$ (Cary Eclipse fluorescence spectrophotometer, Австралия). Тиолы белка определяли как дополнительную флуоресценцию через 60 мин после добавления додецилсульфата натрия (4 мМ). Содержание GSH и тиолов белков выражали в процентах по отношению к их уровню в контрольных образцах, флуоресценцию которых принимали за 100 %.

Полученные данные были проанализированы с использованием программы Excel. Результаты представлены как среднее \pm стандартное отклонение. Статистическую значимость оценивали с использованием двустороннего непарного критерия Стьюдента, а значения $p < 0,05$ считались значимыми.

Результаты и их обсуждение

Внесение tBHP в среду культивирования кератиноцитов человека линии HaCaT приводит к дозозависимому повреждению клеток через 24 ч инкубации, о чем свидетельствует: снижение количества метаболически-активных клеток, способных осуществлять энергозатратную реакцию восстановления индикатора жизнеспособности клеток резазурина в красный флуоресцентный пигмент резорурфин (таблица 1); нарушение целостности плазматических мембран и выход из клеток цитоплазматического фермента ЛДГ (таблица 1); ядерная фрагментация (рисунок 1), выявленная при окрашивании ядер в красный цвет интеркалирующим красителем ЭБ, характерная для апоптотического пути гибели клеток.

Повреждению клеток предшествовало снижение уровня GSH и SH-групп белков через 4 ч инкубации с tBHP. Как следует из данных, приведенных на рисунке 2, указанный эффект зависел от дозы tBHP и при внесении в культуральную среду 0,5 мМ tBHP содержание GSH снижалось почти на 90 %, а SH-групп белков – почти на 70 %.

Одним из ранних признаков апоптоза является активация в клетке процессов, приводящих к расщеплению ДНК различными ДНК-эндонуклеазами, включая каспазонезависимую эндонуклеазу G [12]. Повреждение ДНК может быть также результатом окислительных реакций в условиях окислительного стресса [13]. Среди методов исследования повреждений структуры ДНК, одним из наиболее чув-

Таблица 1 – Цитотоксическое действие трет-бутил-гидропероксида в отношении кератиноцитов HaCaT через 24 ч инкубации

Table 1 – Cytotoxic effect of tert-butyl hydroperoxide on HaCaT keratinocytes after 24 h of incubation

Условия эксперимента	Количество поврежденных клеток, в %	
	Метод с PrestoBlue™	Оценка по выходу ЛДГ
Контроль	0,0 \pm 11,0	16,0 \pm 7,0
tBHP, 0,25 мМ	48,0 \pm 8,0	51,0 \pm 9,0
tBHP, 0,5 мМ	96,0 \pm 4,0	95,0 \pm 4,0
tBHP, 1,0 мМ	96,0 \pm 4,0	96,0 \pm 3,0

ствительных и специфичных является метод ДНК-комет [10], позволяющий выявлять и анализировать повреждения ДНК как *in vitro*, так и *in vivo*. Используя метод ДНК-комет, было исследовано состояние ядерной ДНК кератиноцитов челове-

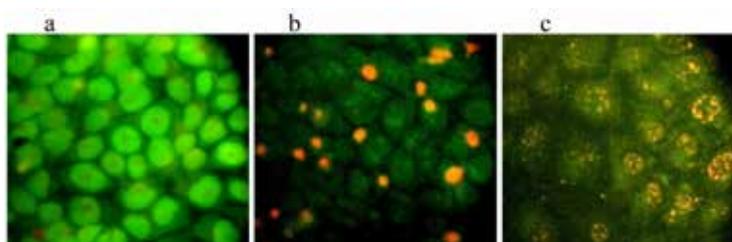


Рисунок 1 – Репрезентативные флуоресцентные микрофотографии контрольных клеток HaCaT (а), клеток через 24 ч инкубации с трет-бутилгидропероксидом в концентрации 0,25 мМ (b) и 0,5 мМ (с). Окрашивание акридиновым оранжевым и этидиум бромидом

Figure 1 – Representative fluorescence micrographs of control HaCaT cells (a), cells after 24 h of incubation with tert-butyl hydroperoxide at a concentration of 0.25 mM (b) and 0.5 mM (c). Staining with acridine orange and ethidium bromide

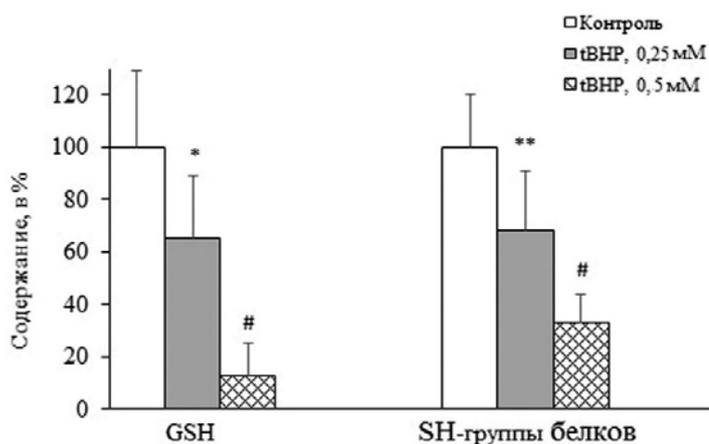


Рисунок 2 – Содержание восстановленного глутатиона и SH-групп белков в кератиноцитах через 4 ч инкубации с трет-бутилгидропероксидом. * $p \leq 0,01$, ** $p \leq 0,001$, # $p \leq 0,000001$ в сравнении с контролем

Figure 2 – Content of reduced glutathione and SH-groups of proteins in keratinocytes after 4 h of incubation with tert-butyl hydroperoxide. * $p \leq 0,01$, ** $p \leq 0,001$, # $p \leq 0,000001$ vs. the control

ка через 1 и 2 ч инкубации с tBHP в концентрации 0,5 мМ. Как можно видеть из представленных на рисунке 3 флуоресцентных микрофотографий ДНК-комет, инкубация кератиноцитов с tBHP в течение 1 ч приводит к повреждению ДНК, о чем свидетельствует появление в результате гель-электрофореза ДНК-комет, характеризующихся наличием круглой головы (неповрежденная часть ДНК) и варьирующего по размеру и интенсивности свечения хвоста (поврежденная ДНК) (рисунок 3b). При увеличении продолжительности инкубации кератиноцитов с tBHP до 2 ч возрастает степень расщепления ядерной ДНК, и в результате гель-электрофореза выявляются так называемые атипичные ДНК-кометы, которые характеризуются практически полностью отсутствующей головой и широким диффузным хвостом, в котором содержится более 90 % всего ядерного ДНК (рисунок 3c). Следует отметить, что атипичные ДНК-кометы считают характерным признаком апоптоза [12].

Полученные результаты согласуются с существующими представлениями о способности tBHP инициировать в клетках и тканях образование активных радикалов, снижать уровень антиоксидантов и, в первую очередь, восстановленного глутатиона, и активировать развитие перекисного окисления липидов полиненасыщенных жирных кислот в клеточных мембранах, что приводит их повреждению, ингибированию клеточного метаболизма и снижению количества жизнеспособных клеток в результате апоптоза [8].

С целью количественной оценки цитопротекторного действия нативного кверцетина и его микроструктурированных форм оценивали их влияние на выход из клеток цитоплазматического фермента ЛДГ через 24 ч инкубации кератиноцитов с 0,5 мМ tBHP. Как следует из рисунка 4a, мембранопротекторное действие кверцетина существенно возрастало в случае добавления его в среду инкубации за 30 мин до внесения tBHP. В отличие от нативного кверцетина для проявления максимального эффекта его микроструктурированных форм не требовалась преинкубация, и при добавлении к клеткам одновременно с tBHP мембранопротекторное действие как Кв(РАН/PPS)₄ (рисунок 4b), так и Кв(Hit/DS)₄ (рисунок 4c) было сравнимо с эффективностью нативного кверцетина после 30 мин преинкубации. Следует отметить, что при увеличении концентрации нативного и микроструктурированного кверцетина до 100 мкМ эффективность их мембранопротекторного действия не возрастала.

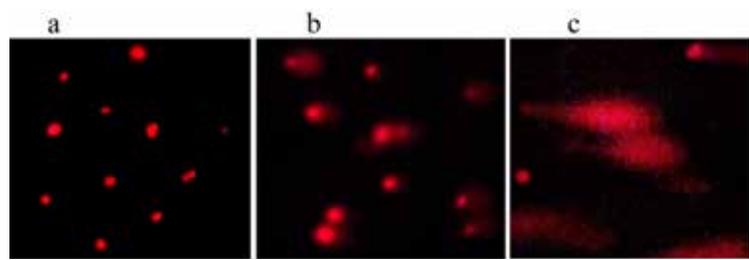


Рисунок 3 – Репрезентативные флуоресцентные микрофотографии ДНК-комет, полученных из контрольных клеток HaCaT (a), клеток через 1 ч (b) и 2 ч (c) инкубации с 0,5 мМ трет-бутилгидропероксида. Окрашивание этидиум бромидом

Figure 3 – Representative fluorescence micrographs of DNA comets obtained from control HaCaT cells (a), cells after 1 h (b) and 2 h (c) incubation with 0.5 mM tert-butyl hydroperoxide. Ethidium bromide staining

Для количественной оценки генопротекторного действия нативного и микроструктурированного кверцетина использовали метод ДНК-комет, с помощью которого определяли степень повреждения ядерной ДНК кератиноцитов через 1 ч инкубации с tBHP в концентрации 0,5 мМ без и в присутствии 50 мкМ исследуемых препаратов. Для увеличения внутриклеточной концентрации препаратов в момент воздействия на клетки tBHP их преинкубировали с кератиноцитами в течение 30 мин. Установлено, что нативный кверцетин и его микроструктурированные формы Кв(РАН/PSS)₄ и Кв(Hit/DS)₄ оказывают существенное влияние на форму ДНК-комет, характерных для кератиноцитов, подвергнутых воздействию tBHP (рисунок 5). А именно, если ДНК-кометы tBHP-поврежденных клеток (рисунок 5b) характеризовались наличием четко выраженного диффузного хвоста и по визуальному ранжированию [14] относились к категории «2»

Таблица 2 – Содержание ДНК в хвосте комет через 1 ч инкубации кератиноцитов с 0,5 мМ трет-бутилгидропероксида без и в присутствии 50 мкМ исследуемых препаратов

Table 2 – DNA content in the comet tail after 1 h of incubation of keratinocytes with 0.5 mM tert-butyl hydroperoxide without and in the presence of 50 μM of the studied drugs

Условия эксперимента	Содержание ДНК в хвосте комет, в %
Контроль	1,9 ± 0,1
tBHP, 0,5 мМ	68,9 ± 14,9 ^a
Кверцетин, 50 мкМ + tBHP	27,7 ± 10,2 ^b
Кв(РАН/PSS) ₄ , 50 мкМ + tBHP	30,7 ± 8,4 ^b
Кв(Hit/DS) ₄ , 50 мкМ + tBHP	30,7 ± 13,0 ^b

Примечание: а – $p < 0,00001$ в сравнении с контролем; б – $p < 0,00001$ в сравнении с трет-бутилгидропероксидом

Note: ^a – $p < 0,00001$ vs. the control; ^b – $p < 0,00001$ vs. the tert-butyl hydroperoxide

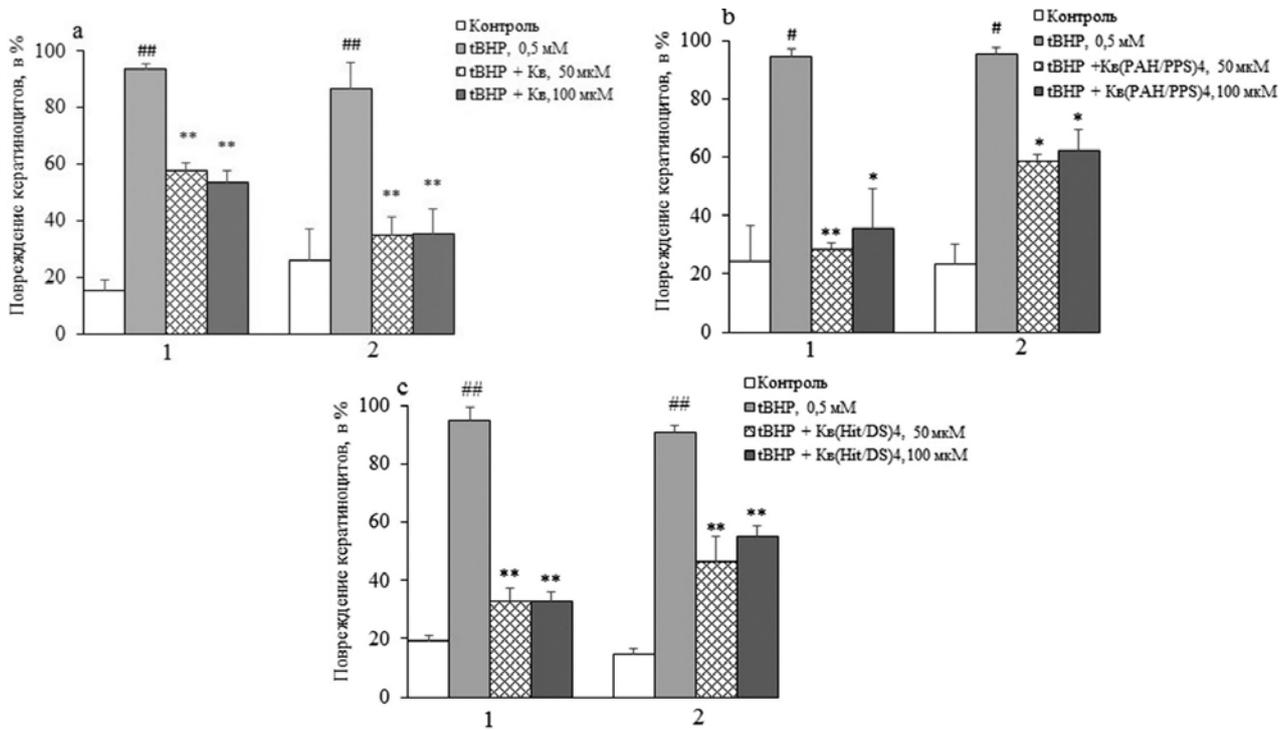


Рисунок 4 – Влияние нативного (а) и микроструктурированного кверцетина (b, c) на повреждение кератиноцитов, оцениваемое по выходу из клеток фермента лактатдегидрогеназы через 24 ч инкубации с 0,5 мМ трет-бутилгидропероксида: 1 – без преинкубации, 2 – преинкубация 30 мин. $p \leq 0,005$; $##p \leq 0,001$ в сравнении с контролем, $*p \leq 0,01$, $**p \leq 0,001$ в сравнении с трет-бутилгидропероксидом

Figure 4 – Effect of native (a) and microstructured quercetin (b, c) on keratinocyte damage assessed by the release of the enzyme lactate dehydrogenase from the cells after 24 h of incubation with 0.5 mM tert-butyl hydroperoxide: 1 – without preincubation, 2 – preincubation for 30 min. $\#p \leq 0.005$; $##p \leq 0.001$ vs. the control, $*p \leq 0.01$, $**p \leq 0.001$ vs. the tert-butyl hydroperoxide

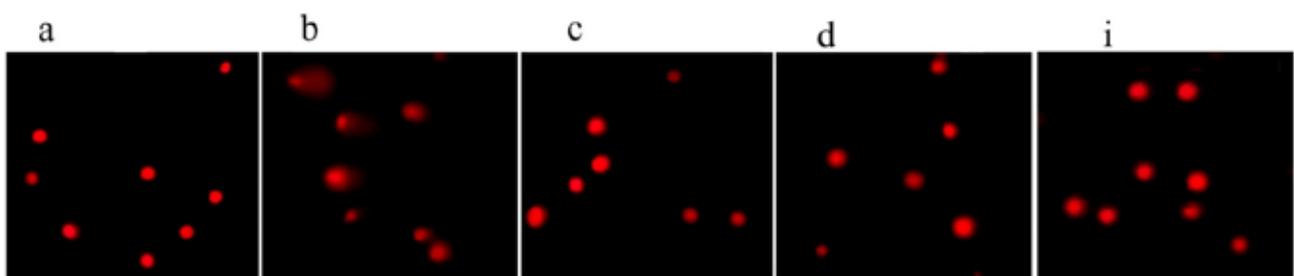


Рисунок 5 – Репрезентативные флуоресцентные микрофотографии ДНК-комет, полученных из контрольных клеток HaCaT (a), клеток через 1 ч инкубации с 0,5 мМ трет-бутилгидропероксида (b) и совместной инкубации 50 мкМ кверцетина (c), Kv(PAH/PSS)₄ (d) или Kv(Hit/DS)₄ (e) с трет-бутилгидропероксидом. Окрашивание этидиум бромидом

Figure 5 – Representative fluorescence micrographs of DNA comets obtained from control HaCaT cells (a), cells after 1 h incubation with 0.5 mM tert-butyl hydroperoxide (b) and co-incubation 50 μM of quercetin (c), Kv(PAH/PSS)₄ (d) and Kv(Hit/DS)₄ (e) with tert-butyl hydroperoxide. Ethidium bromide staining

и «3», то в случае преинкубации клеток с нативным (рисунок 5c) или микроструктурированным (рисунки 5d, 5e) кверцетином ДНК-кометы через 1ч после добавления tBHP характеризовались отсутствием выраженного хвоста и по визуальному ранжированию относились к категории «0» и «1».

Полученные в результате анализа флуоресцентных микрофотографий ДНК-комет данные представлены в таблице 2, из которых следует, что в хвосте ДНК-комет клеток, подвергнутых воз-

действию 0,5 мМ tBHP, содержание ДНК превышало 70 %, тогда как в клетках, которые предварительно преинкубировали с нативным или микроструктурированным кверцетином содержание ДНК в хвостах комет было менее 30 %.

Заклучение

Полученные данные свидетельствуют, что кверцетин и его микроструктурированные формы уменьшают цито- и генотоксическое действие

tВНР. Поскольку кверцетин является эффективным антиоксидантом [7], а негативное действие tВНР обусловлено иницированием окислительного стресса, можно допустить, что выявленные в данной работе эффекты кверцетина и его микро-размерных форм обусловлены способностью ней-

трализовать АФК и ингибировать свободнорадикальные процессы, ведущие к развитию окислительного стресса и апоптозу. Таким образом, покрытие кверцетина оболочкой (РАН/PSS)₄ или (Hit/DS)₄ повышает биодоступность и не препятствует реализации его антиоксидантных свойств.

Благодарности

Авторы выражают глубокую благодарность Т. Г. Шутовой, ведущему научному сотруднику Института химии новых материалов НАН Беларуси, за предоставленные образцы микроструктурированного кверцетина.

Работа выполнена в рамках задания 3.03.11. ГПНИ «Конвергенция-2025».

Acknowledgements

The authors express their deep gratitude to T. G. Shutova, leading researcher at the Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus, for providing samples of microstructured quercetin.

The work was carried out within the framework of task 3.03.11. State Program for Scientific Research "Convergence-2025".

Список цитированных источников

1. Drug delivery vehicles on a nano-engineering perspective / B. Felice, M.P. Prabhakaran, A.P. Rodríguez, S. Ramakrishna // *Mater. Sci. Eng.: C.* – 2014. – Vol. 41. – P. 178–195. – doi: 10.1016/j.msec.2014.04.049.
2. Advances in nanotechnology-based delivery systems for curcumin / M. Sun, X. Su, B. Ding, [et al.] // *Nanomedicine.* – 2012. – Vol. 7. – P. 1085–1100. – doi: 10.2217/nnm.12.80.
3. Curcumin nanoformulations: A review of pharmaceutical properties and preclinical studies and clinical data related to cancer treatment / O. Naksuriya, S. Okonogi, R. M. Schiffelers, W. E. Hennink // *Biomaterials.* – 2014. – Vol. 35, № 10. – P. 3365–3383. – doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.12.090.
4. Cancer Nanomedicine: Emerging Strategies and Therapeutic Potentials / M. Xu, X. Han, H. Xiong [et al.] // *Molecules.* – 2023. – Vol. 28, № 13. – P. 5145. – doi: 10.3390/molecules28135145.
5. Application of Polyphenol-Loaded Nanoparticles in Food Industry / D.D. Milinčić, D.A. Popović, S.M. Lević [et al.] // *Nanomaterials.* – 2019. – Vol. 9, № 11. – P. 1629. – doi: 10.3390/nano9111629.
6. Enhancing the antitumor activity of tea polyphenols encapsulated in biodegradable nanogels by macromolecular self-assembly / C. Liu, Z. Zhang, Qi. Kong [et al.] // *R. S. C. Adv.* – 2019. – Vol. 9, № 18. – P. 10004–10016. – doi: 10.1039/c8ra07783e.
7. Костюк, В. А. Биорадикалы и биоантиоксиданты / В. А. Костюк, А. И. Потопович // Минск: БГУ, 2004. – 179 с.
8. tert-Butyl Hydroperoxide (tBHP)-Induced Lipid Peroxidation and Embryonic Defects Resemble Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) Deficiency in *C. elegans* / H.-C. Yang, H. Yu, T.-H. Ma [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 22. – P. 8688. – doi: 10.3390/ijms21228688.
9. Effects of native and particulate polyphenols on DNA damage and cell viability after UV-C exposure / A. I. Potapovich, T. V. Kostyuk, O. V. Ishutina [et al.] // *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* – 2023. – Vol. 396. – P. 1923–1930. – doi: 10.1007/s00210-023-02443-3.
10. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing / R. R. Tice, E. Agurell, D. Anderson [et al.] // *Environ. Mol. Mutagen.* – 2000. – Vol. 35. – P. 206–221. – doi: 10.1002/(sici)1098-2280(2000)35:3<206::aid-em8>3.0.co;2-j.

11. 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.x.
12. Феномен атипичных ДНК-комет / А.К. Жанатаев, Е.А. Анисина, З.В. Чайка [и др.] // *Цитология.* – 2017. – Т. 59, № 3. – С. 163–168.
13. Poetsch, A. R. The genomics of oxidative DNA damage, repair, and resulting mutagenesis / A. R. Poetsch // *Comput. Struct. Biotechnol. J.* – 2020. – Vol. 18. – P. 207–219. – doi: 10.1016/j.csbj.2019.12.013.
14. Филиппов, Э. В. Использование метода «ДНК-комет» для детекции и оценки степени повреждений ДНК клеток организмов растений, животных и человека, вызванных факторами окружающей среды / Э. В. Филиппов // *Наука и образование.* – 2014. – № 2. – С. 72–78.

References

1. Felice B, Prabhakaran MP, Rodríguez AP, Ramakrishna S. Drug delivery vehicles on a nano-engineering perspective. *Mater Sci Eng: C.* 2014 Aug;41:178–95. Doi: 10.1016/j.msec.2014.04.049.
2. Sun M, Su X, Ding B, He X, Liu X, Yu A, Lou H, Zhai G. Advances in nanotechnology-based delivery systems for curcumin. *Nanomedicine.* 2012 Jul;7(7):1085–100. doi: 10.2217/nnm.12.80.
3. Naksuriya O, Okonogi S, Schiffelers RM, Hennink WE. Curcumin nanoformulations: A review of pharmaceutical properties and preclinical studies and clinical data related to cancer treatment. *Biomaterials.* 2014 Mar;35(10):3365–83. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.12.090.
4. Xu M, Han X, Xiong H, Gao Y, Xu B, Zhu G, Li J. Cancer Nanomedicine: Emerging Strategies and Therapeutic Potentials. *Molecules.* 2023 Jun;28(13):5145. doi: 10.3390/molecules28135145.
5. Milinčić DD, Popović DA, Lević SM, Kostić AŽ, Tešić ŽL, Nedović VA, Pešić MB. Application of Polyphenol-Loaded Nanoparticles in Food Industry. *Nanomaterials.* 2019 Nov;9(11):1629. doi: 10.3390/nano9111629.
6. Liu C, Zhang Z, Kong, Q, Zhang R, Yang X. Enhancing the antitumor activity of tea polyphenols encapsulated in biodegradable nanogels by macromolecular self-assembly. *RSC Adv.* 2019 Mar;9(18):10004–16. doi: 10.1039/c8ra07783e.
7. Kostyuk VA, Potapovich AI. Bioradikalny i bioantioksidanty. Minsk: BGU; 2004. –179 s. Russian.

- 8 Yang HC, Yu H, Ma TH, Tjong WY, Stern A, Chiu DT. tert-Butyl Hydroperoxide (tBHP)-Induced Lipid Peroxidation and Embryonic Defects Resemble Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) Deficiency in *C. elegans*. *Int J Mol Sci*. 2020 Nov;21(22):8688. doi: 10.3390/ijms21228688.
- 9 Potapovich AI, Kostyuk TV, Ishutina OV, Shutava TG, Kostyuk VA. Effects of native and particulate polyphenols on DNA damage and cell viability after UV-C exposure. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2023 Sep;396(9):1923–30. doi: 10.1007/s00210-023-02443-3.
- 10 Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, Miyamae Y, Rojas E, Ryu JC, Sasaki YF. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environ Mol Mutagen*. 2000 35(3):206–21. doi: 10.1002/(sici)1098-2280(2000)35:3<206::aid-em8>3.0.co;2-j.
- 11 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):2178–89. doi: 10.1046/j.1471-4159.2000.0752178.x.
- 12 Zhanatayev AK, Anisina YEA, Chayka ZV, Miroshkina IA, Durnev AD. Fenomen atipichnykh DNK-komet. *Tsitologiya*. 2017 59(3):163–8. Russian.
- 13 Poetsch AR. The genomics of oxidative DNA damage, repair, and resulting mutagenesis. *Comput Struct Biotechnol J*. 2020 Jan;18:207–9. doi: 10.1016/j.csbj.2019.12.013
- 14 Filippov EV. Ispol'zovaniye metoda «DNK-komet» dlya detektsii i otsenki stepeni povrezhdeniy DNK kletok organizmov rasteniy, zhivotnykh i cheloveka, vyzvannykh faktorami okruzhayushchey sredy. *Nauka i obrazovaniye*. 2014 2:72–8. Russian.

PROTECTIVE EFFECT OF NATIVE AND MICROPARTICLE- INCLUDED QUERCETIN UPON INITIATION OF OXIDATIVE STRESS IN HUMAN KERATINOCYTES

O. V. Ishutina, T. V. Kostyuk, A. I. Potapovich, V. A. Kostyuk
Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

Introduction. Micro and nanoparticles loaded with plant polyphenols have shown high pharmacological activity, which makes the creation of such particles, as well as the study of their biological effects, very relevant.

Objective. To compare the protective effect of native and microstructured quercetin on the initiation of oxidative stress in human keratinocytes by tert-butyl hydroperoxide (tBHP).

Materials and methods. Quercetin was loaded into polyallylamine hydrochloride/polystyrene sulfate (PAH/PSS)₄ or chitosan/dextran sulfate (Hit/DS)₄ microcontainers with an average size of (1.1 ± 0.3) μm. Cell viability was assessed using the PrestoBlue™ reagent, keratinocyte damage was assessed by the release of lactate dehydrogenase (LDH). DNA damage was analyzed using the comet assay.

Results. It was found that quercetin and its microstructured forms effectively prevented DNA damage in keratinocyte nuclei exposed to tBHP. The maximum membrane-protective effect of microstructured quercetin was observed when added immediately before tBHP, whereas preincubation was necessary for native quercetin to exhibit its maximum effectiveness.

Conclusion. Coating quercetin with (PAH/PSS)₄ or (Hit/DS)₄ increases bioavailability and does not interfere with the implementation of its antioxidant properties.

Keywords: keratinocytes, tert-butyl hydroperoxide, quercetin, microstructures, oxidative stress, DNA comets.

For citation: Ishutina OV, Kostyuk TV, Potapovich AI, Kostyuk VA. Protective effect of native and microparticle-included quercetin upon initiation of oxidative stress in human keratinocytes. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2025, vol. 4, no. 1(6). pp. 32–38 (in Russian).

Поступила 11.11.2024

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ, ВВЕДЁННЫХ САМЦАМ КРЫС, НА АНТЕ- И ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ОНТОГЕНЕЗ ПОЛУЧЕННОГО ОТ НИХ ПОТОМСТВА

Е.А. Поплавская

Гродненский государственный медицинский университет г. Гродно, Республика Беларусь

Введение. Известно, что отцовский вклад в сохранение беременности не уступает, а по некоторым параметрам превосходит роль женского фактора. Функция спермы не ограничена лишь передачей генетической информации – она играет важную роль не только в оплодотворении, но и в процессах имплантации и эмбриогенезе. Научные открытия в эмбриологии, цитологии, андрологии позволили сформировать представление о важной роли мужского фактора. Сегодня мы начинаем лучше понимать, что эпигенетические изменения в сперме могут играть иницирующую роль в этиопатогенезе бесплодия и невынашивания. Нарушение целостности хроматина и ДНК сперматозоидов занимает далеко не последнее место в структуре причин репродуктивных потерь, что объясняет важность изучения различных воздействий на мужские половые клетки, в том числе и липополисахаридов грамотрицательных бактерий.

Цель исследования – определить эмбриотоксичность бактериальных липополисахаридов после воздействия на самцов крыс перед спариванием.

Материалы и методы. Самцам беспородных белых крыс половозрелого возраста внутрибрюшинно однократно вводили липополисахариды *Escherichia coli* или *Serratia marcescens* в дозе 50 мкг/кг массы, контрольные – не подвергались воздействию, с последующей объективной оценкой полученных результатов.

Результаты. Однократное внутрибрюшинное введение бактериальных липополисахаридов самцам крыс до спаривания с контрольными самками, приводит к статистически достоверному увеличению предимплантационной внутриутробной гибели зародышей, при этом постимплантационная гибель находится в пределах нормы и не приводит к нарушениям процессов фетогенеза в постимплантационный период.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о нарушении генома сперматозоида, так как доимплантационная гибель потомства связывается с изменениями в генетическом коде, приводящими к несовместимым с жизнью нарушениям процессов развития зародыша.

Ключевые слова: невынашивание беременности, мужской фактор, сперматогенез, липополисахариды.

Для цитирования: Поплавская, Е. А. Влияние бактериальных липополисахаридов, введённых самцам крыс, на анте- и постнатальный онтогенез полученного от них потомства / Е. А. Поплавская // Биохимия и молекулярная биология. – 2025. – Т. 4, № 1(6). – С. 39–44.

Введение

Роль мужского фактора в невынашивании беременности многие годы была вне поля зрения специалистов репродуктивной медицины. По результатам исследований мужской фактор в сохранении беременности не уступает, а по некоторым параметрам превосходит роль женского.

Согласно результатам проспективных когортных исследований, только около 1/3 желанных зачатий завершается рождением живых детей. Менее 1/3 зародышей гибнут до имплантации и еще столько же – после nidации плодного яйца, на 3–4-й неделе беременности, но до задержки менструации. Такие концепционные потери называют доклиническими. Частота ранней клинической потери беременности составляет около 15% от числа зачатий и увеличивается с возрастом, а поздние выкидыши (12–22 неделя) случаются реже и составляют около 4% [3–7].

Спорадическое прерывание беременности наиболее часто осложняет ранние сроки гестации и обыч-

но свидетельствует о спонтанных мутациях и выраженных аномалиях эмбриона. Принято считать, что случайные потери беременности до 6–8 недель представляют собой «генетический сброс», предотвращающий рождение детей с серьезными аномалиями, несовместимыми с жизнью. Это подтверждено результатами клинических исследований: в 75% случаев абортус имел аномальный кариотип, у 85% зародышей были зарегистрированы мальформации [8].

Обычно привычное невынашивание беременности (прерывание 3 беременностей подряд и более) имеет множественную этиологию. Наиболее изученными причинами являются хромосомные аберрации, тромбофилия, иммунная дисфункция и различные эндокринопатии у матери. Однако многие такие случаи (50–60%) врачами оцениваются как идиопатические, когда установить точную причину потери беременности не удается [10]. В ходе эпидемиологических и генетических исследований появились новые теории о механизмах спорадического

и рецидивирующего прерывания беременности: было показано, что самопроизвольный аборт может быть связан с изменениями морфологии сперматозоидов и целостности их ДНК.

Ранее господствовало мнение, что единственная роль сперматозоида – доставка генетического кода в яйцеклетку, потомство наследует от отца только последовательность ДНК, при этом особенности упаковки ДНК сперматозоида не влияют на зиготу. Исследования в области эпигенетики и бесплодия по причине мужского фактора пролили свет на эту давнюю, а теперь и спорную догму [10]. К настоящему времени стало известно, что функция спермы состоит не только в снабжении ооцита отцовскими генами, но и вносит вклад в программу дальнейшего развития эмбриона. Помимо ДНК, сперматозоиды доставляют в яйцеклетку регуляторные элементы, необходимые для активации генов или для их «молчания» (фактор активации, центросомы, множественные матричные РНК и микроРНК и т.д.). По современным представлениям, экспрессия отцовских генов стартует на стадии 4–8 бластомеров [11,12]. На этой ранней стадии эмбриогенеза даже минимальные нарушения в организации хроматина сперматозоида могут негативно сказаться на активации генов отца [13].

Эпигенетические изменения, такие как метилирование ДНК, модификация гистонов, включение протамина в хроматин, оказывают большое влияние на развивающуюся клетку спермы, на зиготу и, как результат, на репродуктивные исходы [10,16]. Любые сбои в эпигенетических модификациях или в механизмах, защищающих ДНК от фрагментации, приводят либо к повреждению самой ДНК, либо к изменению структуры хроматина. Когда эти изменения затрагивают значительную часть популяции сперматозоидов, формируется мужской фактор репродуктивных потерь. Фрагментация ДНК сперматозоидов и ее эпигенетическая модификация обуславливают появление гамет со сниженной способностью к оплодотворению и/или общей жизнеспособностью. Однако даже при условии, что поврежденные сперматозоиды все-таки оплодотворяют яйцеклетку, вероятным результатом любого из вышеуказанных сценариев становится снижение протеолитической способности и неудачи имплантации, врожденные пороки развития и снижение общей жизнеспособности зародышевой клетки [21, 17–19]. В экспериментах на животных показано, что получить эмбрионы высокого качества на ранних стадиях развития можно даже при оплодотворении яйцеклетки сперматозоидом с поврежденной ДНК, но в дальнейшем развитие зародыша прекращается [21–23].

Следовательно, «отцовский материал» имеет важнейшее значение не только для возможности

оплодотворения, но и для вынашивания беременности и рождения здорового ребенка [16].

Сперматогенез более уязвим перед действием многих физических, химических и биологических факторов, чем оогенез. Мутации (как генетические, так и эпигенетические) в мужских половых клетках происходят значительно чаще, чем в ооците. Гаметогенез у мужчин, стартуя в пубертатном возрасте, продолжается до глубокой старости, не прекращаясь ни на секунду. В семенных канальцах пролиферируют десятки тысяч клеток-предшественников сперматозоидов, и этот процесс чрезвычайно чувствителен ко многим негативным воздействиям.

Большая часть мутаций приводит либо к снижению оплодотворяющей способности гамет, либо к их гибели. Но генетические и эпигенетические изменения могут и не повлиять на жизнеспособность и подвижность сперматозоидов. В такой ситуации изменения ДНК могут быть переданы «по наследству». Большинство плодов с выраженными пороками развития погибает антенатально [23], но некоторые анеуплоидии не препятствуют выживанию (например, трисомия по 21-й паре хромосом). Крайне редко мутации оказываются полезными для человека как вида – в этом и состоит реализация эволюционных законов.

Бактериальные липополисахариды (ЛПС) – это постоянный структурный компонент клеточных мембран грамотрицательных бактерий, интерес к которым обусловлен не только их уникальной структурой и широким разнообразием вызываемых эффектов, но и тем, что организм человека постоянно контактирует с достаточно большим количеством этого токсина, обеспечивая поддержание гомеостаза, адаптацию организма к стрессовым воздействиям, способствуя предотвращению проникновения потенциально патогенной флоры в кровоток, стимулируя иммунитет и неспецифическую резистентность организма, при этом, обладая выраженным токсическим эффектом [1].

В связи с вышеизложенным, целью исследования являлось определение эмбриотоксичности бактериальных липополисахаридов *Escherichia coli* (*E. coli*) или *Serratia marcescens* (*S. marcescens*) после воздействия на самцов крыс перед спариванием.

Материал и методы исследования

Исследования проведены на 18 самцах половозрелого возраста (было сформировано 3 группы по 6 самцов в каждой группе – 2 опытные и 1 контрольная), 78 беременных самках и 235 плодах беспородных белых крыс. Все животные содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище, на одинаковом пищевом рационе в соответствии с нормами содержания ла-

бораторных животных, 12/12-часовом ритме освещения и темноты с соблюдением требований, изложенных в Хельсинской декларации о гуманном обращении с животными. Все этапы исследования проводились с разрешения комиссии по биоэтической этике учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет».

Самцам опытных групп внутрибрюшинно однократно вводили ЛПС *E. coli* или *S. marcescens* (производство фирмы «Sigma») в дозе 50 мкг/кг массы (данная доза ЛПС вызывает состояние обратимого воспаления (провоспаления), которое длится около 3 дней, с минимальными последствиями для животных). В качестве контроля использовались интактные животные. Самцов экспериментальных групп спаривали с интактными самками, начиная с 45-го дня после введения на протяжении 10 дней (для нивелирования индивидуальных особенностей самок каждого самца из опытной группы спаривали с 6-ю самками, а каждого самца из контрольной группы – с 1-й самкой). Беременных самок опытной и контрольной групп декапитировали под эфирным наркозом на 20-й день беременности. Влияние бактериальных ЛПС на процессы развития беспородных белых крыс оценивали с помощью показателей пре- и постимплантационной гибели зародышей, а также по изменению массы плодов, плацент и плодно-плацентарному коэффициенту. По одному плоду от каждой самки фиксировали в 96 % этаноле и окрашивали костный скелет ализариновым красным по методу Вильсона-Дыбана и измеряли кранио-каудальные размеры [2].

Результаты и их обсуждение

В результате исследования установлено, что введение липополисахаридов *E. coli* и *S. marcescens* самцам крыс за 45–55 суток до спаривания с контрольными самками, приводит к увеличению предимплантационной внутриутробной гибели зародышей. Различия при этом статистически достоверны. При воздействии липополисахарида *E. coli* этот показатель выше в 1,6 раз, чем при воздействии липополисахарида *S. marcescens* (Таблица 1).

Показатели постимплантационной гибели плодов независимо от вида ЛПС практически от контрольных показателей не отличались (Таблица 2).

Масса живых плодов на 20-й день беременности, полученных в результате оплодотворения самцами, получавшими ЛПС *E. coli* и *S. marcescens* не отличалась от контрольных показателей и составляла 2,19 и 2,25 грамм соответственно. Масса плацент у самок, оплодотворённых вышеупомянутыми самцами так же, как и массы плодов, не отличались от контрольных показателей – 0,56 и 0,65 грамм соответственно. При таких соотношениях массы плодов и плацент, плодно-плацентарный коэффици-

ент в группе самок, оплодотворённых опытными самцами, также достоверно от контрольных показателей не отличался (Таблица 3).

Кранио-каудальные размеры плодов, полученных от самцов, которым вводились бактериальные липополисахариды *E. coli* и *S. marcescens*, не отличались от контрольных показателей и составляли 31,55 мм – в случае липополисахарида *E. coli*; 32,34 мм – в случае липополисахарида *S. marcescens* и 31,97 мм у контрольных животных (Таблица 4).

Таблица 1 – Показатели предимплантационной гибели зародышей животных экспериментальных групп

Table 1 – Preimplantation mortality rates of embryos in animals of experimental groups

Воздействие	Me (Q ₁ ; Q ₂)
Контроль	0,00 (0,00; 1,00)
ЛПС <i>E.coli</i>	5,60* (4,90; 7,70)
ЛПС <i>S.marcescens</i>	3,45* (3,20; 3,80)

Примечание – * – p< 0,05 при сравнении с контролем;

Note – * – p< 0,05 when compared with control

Таблица 2 – Показатели постимплантационной гибели зародышей животных экспериментальных групп

Table 2 – Postimplantation mortality rates of embryos in animals of experimental groups

Воздействие	Me (Q ₁ ; Q ₂)
Контроль	0,00 (0,00; 0,00)
ЛПС <i>E.coli</i>	0,00 (0,00; 0,30)
ЛПС <i>S.marcescens</i>	0,20 (0,20; 0,30)

Таблица 3 – Масса плодов и плацент, плодно-плацентарное отношение животных экспериментальных групп (Me (Q₁; Q₂))

Table 3 – Weight of fetuses and placentas, fetal-placental ratio of animals in experimental groups (Me (Q₁; Q₂))

Масса, г	Контроль	ЛПС <i>E. coli</i>	ЛПС <i>S. marcescens</i>
плода	2,26 (2,15; 2,51)	2,19 (2,09; 2,29)	2,25 (2,16; 2,53)
плаценты	0,61 (0,58; 0,70)	0,56 (0,56; 0,66)	0,65 (0,60; 0,68)
Плодно-плацентарный коэффициент (ППК)			
ППК	3,68 (3,59; 3,78)	3,75 (3,36; 3,86)	3,81 (3,17; 4,11)

Таблица 4 – Кранио-каудальные размеры плодов животных экспериментальных групп, мм

Table 4 – Craniocaudal dimensions of fetuses of animals of experimental groups, mm

Воздействие	Me (Q ₁ ; Q ₂)
Контроль	31,97 (30,88; 32,74)
ЛПС <i>E.coli</i>	31,55 (31,91; 32,25)
ЛПС <i>S.marcescens</i>	32,34 (31,55; 32,61)

При внешнем осмотре плодов с помощью лупы МБС-1 не выявлено признаков уродств и следов кровоизлияний у плодов как опытных, так и контрольной групп.

Заключение

Введение ЛПС грамотрицательных бактерий как *E. coli*, так и *S. marcescens* самцам крыс в дозе 50 мкг/кг массы за 44–46 суток до начала спаривания с контрольными самками приводит к резкому достоверному увеличению предимплантационной гибели потомства. При медиане показателя предимплантационной гибели у контрольных животных равной 0, медиана показателя предимплантационной гибели при воздействии ЛПС *E. coli* равна 5,60, а медиана показателя предимплантационной гибели при воздействии ЛПС *S. marcescens* равна 3,45. При этом показатели постимплантационной гибели потомства, полученного от опытных самцов, находятся в пределах нормы. Плоды, полученные как от опытных, так и от контрольных самцов достоверно не отличаются по массе и кранио-кау-

дальным размерам, массы плацент также не имеют достоверных различий.

Известно, что ЛПС грамотрицательных бактерий вызывают целый ряд эффектов, одним из которых является оксидативный (окислительный) стресс с появлением активных форм кислорода (АФК). Оксидативный стресс – один из основных механизмов повреждения ДНК, выработки морфологически аномальных сперматозоидов. Свободные радикалы наносят удар по клеточной мембране, инициируют митохондриальные мутации и повреждение ядерной ДНК (фрагментация и денатурация) [24,25].

Вышеизложенные факты свидетельствуют о нарушении генома сперматозоида, так как доимплантационная гибель потомства связывается с изменениями в генетическом коде, приводящими к несовместимым с жизнью нарушениям процессов развития зародыша. Прямое воздействие ЛПС в данном случае исключается, так как единственным связующим звеном между самцом и самкой является сперматозоид.

Список цитированных источников

1. Бондаренко, В.М. Молекулярные аспекты повреждающего действия бактериальных липополисахаридов / В.М. Бондаренко, Е.В. Рябиченко, Л.Г. Веткова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2004. – №3. – С. 98–105.
2. Дыбан, А.П. Основные методические подходы к тестированию тератогенной активности химических веществ / А.П. Дыбан, В.С. Баранов, И.М. Акимова // Арх. анат., гистол. и эмбр. – 1970. – №10. – С. 89–100.
3. New insights into mechanisms behind miscarriage / E.C. Larsen, O.B. Christiansen, A.M. Kolte, N. Macklon // BMC Med. – 2013. – №11. – P.154.
4. Conception, early pregnancy loss, and time to clinical pregnancy: a population-based prospective study / X. Wang, C. Chen, L. Wang [et al.] // Fertil Steril. – 2003. – Vol. –79, №3. – P.577–584.
5. Macklon, N.S. Conception to ongoing pregnancy: the ‘black box’ of early pregnancy loss / N.S. Macklon, J.P. Geraedts, B.C. Fauser // Hum Reprod Update. – 2002. – Vol. 8, №4. – P.333–343.
6. Cytogenetic, Y chromosome microdeletion, sperm chromatin and oxidative stress analysis in male partners of couples experiencing recurrent spontaneous abortions / S. Venkatesh, J. Thilagavathi, K. Kumar [et al.] // Arch Gynecol Obstet. – 2011. – Vol. 284, №6. – P.1577–1584.
7. Puscheck, E.E. The impact of male factor on recurrent pregnancy loss / E.E. Puscheck, R. Jeyendran // Curr Opin Obstet Gynecol. – 2007. – Vol. 19, №3. – P.222–228.
8. Embryoscopic and cytogenetic analysis of 233 missed abortions: factors involved in the pathogenesis of developmental defects of early failed pregnancies / T. Philipp, K. Philipp, A. Reiner, F. Beer [et al.] // Hum Reprod. – 2003. – №18. – P.1724–1732.
9. Embryonic karyotype of abortions in relation to the number of previous miscarriages / M. Ogasawara, K. Aoki, S. Okada, K. Suzumori // Fertil Steril. – 2000. – №73. – P.300–304.
10. Sperm DNA damage and oxidative stress in recurrent spontaneous abortion (RSA) / M.B. Shamsi, S. Venkatesh, D. Pathak [et al.] // Indian J Med Res. – 2011. – №133. – P.550–551.
11. Relationship between sperm aneuploidy, sperm DNA integrity, chromatin packaging, traditional semen parameters, and recurrent pregnancy loss / I. Zidi-Jrah, A. Hajlaoui, S. Mougou-Zerelli [et al.] // Fertil Steril. – 2016. – Vol.105. – №1. – P.58–64.
12. Sperm DNA fragmentation: paternal effect on early post-implantation embryo development in ART / A. Borini, N. Tarozzi, D. Bizzaro [et al.] // Hum Reprod. – 2006. – Vol.21. – №11. – P.2876–2881.
13. Hofmann, N. Use of aniline blue to assess chromatin condensation in morphologically normal spermatozoa in normal and infertile men / N. Hofmann, B. Hilscher // Hum Reprod. – 1991. – Vol.6, №7. – P.979–982.
14. The H19 methylation imprint is erased and re-established differentially on the parental alleles during male germ cell development / T.L. Davis, G.J. Yang, J.R. Mc Carrey, M.S. Bartolomei // Hum Mol Genet. – 2000. – Vol.9, №19. – P.2885–2894.
15. Timing of establishment of paternal methylation imprints in the mouse / J.Y. Li, D.J. Lees-Murdock, G.L. Xu, C.P. Walsh // Genomics. – 2004. – Vol.84, №6. – P.952–960.
16. Jenkins, T.G. The paternal epigenome and embryogenesis: poisoning mechanisms for development / T.G. Jenkins, D.T. Carrell // Asian J Androl. – 2011. – Vol.13, №1. – P.76–80.
17. Aitken, R.J. Biological and clinical significance of DNA damage in the male germ line / R.J. Aitken, G.N. De Iulius, R.I. McLachlan // Int J Androl. – 2009. – Vol.32, №1. – P.46–56.
18. Aitken, R.J. Seeds of concern. Nature / R.J. Aitken, P. Koopman, S.E. Lewis // – 2004. – Vol.432, №7013. – P.48–52.
19. Potential adverse effect of sperm DNA damage on embryo quality after ICSI / A. Zini, J. Meriano, K. Kader [et al.] // Hum Reprod. – 2005. – Vol.20, №12. – P.3476–3480.
20. DNA damage in bovine sperm does not block fertilization and early embryonic development but induces apoptosis after the first cleavages / A.N. Fatehi, M.M. Bevers, E. Schoevers [et al.] // J Androl. – 2006. – Vol.27, №2. – P.176–188.

21. Sperm global DNA methylation level: association with semen parameters and genome integrity / D. Montjean, A. Zini, C. Ravel [et al.] // *Andrology*. – 2015. – Vol.3, №2. – P.235–240.
22. The novel surveillance mechanism of the Trp53-dependent s-phase checkpoint ensures chromosome damage repair and preimplantation-stage development of mouse embryos fertilized with x-irradiated sperm / T. Shimura, M. Toyoshima, M. Taga [et al.] // *Radiat Res*. – 2002. – Vol.158, №6. – P.735–742.
23. Molecular basis of maternal age-related increase in oocyte aneuploidy / H. Kurahashi, M. Tsutsumi, S. Nishiyama [et al.] // *Congenit Anom*. – 2012. №52. – P.8–15.
24. Pro-oxidative and antioxidative imbalance in human semen and its relation with male fertility / N. Garrido, M. Meseguer, C. Simon [et al.] // *Asian J Androl*. – 2004. – Vol.6, №1. – P. 59–65.
25. Li, E. DNA methylation in mammals / E. Li, Y. Zhang // *Cold Spring Harb Perspect Biol*. – 2014. – Vol.6, №5. – P.1–21.

References

- 1 Bondarenko V.M., Ryabichenko E.V., Vekova L.G. Molekulyarnye aspekty povrezhdayushchego dejstviya bakterial'nyh lipopolisaharidov. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2004;(3):98–105.
- 2 Dyban A.P., Baranov B.C., Akimova I.M. Osnovnye metodicheskie podhody k testirovaniyu teratogennoj aktivnosti himicheskikh veshchestv. *Arh. anat., gistol. i embr*. 1970;(10): 89–100.
- 3 Larsen E.C., Christiansen O.B., Kolte A.M., Macklon N. New insights into mechanisms behind miscarriage. *BMC Med*. 2013; (11):154.
- 4 Wang X., Chen C., Wang L., Chen D., Guang W., French J. Conception, early pregnancy loss, and time to clinical pregnancy: a population-based prospective study. *Fertil Steril*. 2003;79(3):577–584.
- 5 Macklon N.S., Geraedts J.P., Fauser B.C. Conception to ongoing pregnancy: the 'black box' of early pregnancy loss. *Hum Reprod Update*. 2002; 8(4):333–343.
- 6 Venkatesh S., Thilagavathi J., Kumar K., Deka D., Talwar P., Dada R. Cytogenetic, Y chromosome microdeletion, sperm chromatin and oxidative stress analysis in male partners of couples experiencing recurrent spontaneous abortions. *Arch Gynecol Obstet*. 2011; 284(6):1577–1584.
- 7 Puscheck E.E., Jeyendran R. The impact of male factor on recurrent pregnancy loss. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2007;19(3):222–228.
- 8 Philipp T., Philipp K., Reiner A., Beer F., Kalousek D.K. Embryoscopic and cytogenetic analysis of 233 missed abortions: factors involved in the pathogenesis of developmental defects of early failed pregnancies. *Hum Reprod*. 2003; (18):1724–1732.
- 9 Ogasawara M., Aoki K., Okada S., Suzumori K. Embryonic karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages. *Fertil Steril*. 2000; (73):300–304.
- 10 Shamsi M.B., Venkatesh S., Pathak D., Deka D., Dada R. Sperm DNA damage and oxidative stress in recurrent spontaneous abortion (RSA). *Indian J Med Res*. 2011; (133):550–551.
- 11 Zidi-Jrah I., Hajlaoui A., Mougou-Zerelli S., Kammoun M., Meniaoui I., Sallem A., Brahem S., Fekih M., Bibi M., Saad

- A., Ibala-Romdhane S. Relationship between sperm aneuploidy, sperm DNA integrity, chromatin packaging, traditional semen parameters, and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*. 2016;105(1):58–64.
- 12 Borini A., Tarozzi N., Bizzaro D., Bonu M.A., Fava L., Flamigni C., Coticchio G. Sperm DNA fragmentation: paternal effect on early post-implantation embryo development in ART. *Hum Reprod*. 2006;Vol.21, №11. – P. 2876–2881.
- 13 Hofmann N., Hilscher B. Use of aniline blue to assess chromatin condensation in morphologically normal spermatozoa in normal and infertile men. *Hum Reprod*. 1991;Vol.6, №7. – P. 979–982.
- 14 Davis T.L., Yang G.J., Mc Carrey J.R., Bartolomei M.S. The H19 methylation imprint is erased and re-established differentially on the parental alleles during male germ cell development. *Hum Mol Genet*. 2000;Vol.9, №19. – P. 2885–2894.
- 15 Li J.Y., Lees-Murdock D.J., Xu G.L., Walsh C.P. Timing of establishment of paternal methylation imprints in the mouse. *Genomics*. 2004;Vol.84, №6. – P. 952–960.
- 16 Jenkins T.G., Carrell D.T. The paternal epigenome and embryogenesis: poisoning mechanisms for development. *Asian J Androl*. 2011;Vol.13, №1. – P. 76–80.
- 17 Aitken R.J., De Luliis G.N., McLachlan R.I. Biological and clinical significance of DNA damage in the male germ line. *Int J Androl*. 2009;Vol.32, №1. – P. 46–56.
- 18 Aitken R.J., Koopman P., Lewis S.E. Seeds of concern. *Nature*. 2004;Vol.432, №7013. – P. 48–52.
- 19 Zini A., Meriano J., Kader K., Jarvi K., Laskin C.A., Cadesky K. Potential adverse effect of sperm DNA damage on embryo quality after ICSI. *Hum Reprod*. 2005;Vol.20, №12. – P. 3476–3480.
- 20 Fatehi A.N., Bevers M.M., Schoevers E., Roelen B.A.J., Colenbrander B., Gadella B.M. DNA damage in bovine sperm does not block fertilization and early embryonic development but induces apoptosis after the first cleavages. *J Androl*. 2006;Vol.27, №2. – P. 176–188.
- 21 Montjean D., Zini A., Ravel C., Belloc S., Dalleac A., Copin H., Boyer P., McElreavey K., Benkhalifa M. Sperm global DNA methylation level: association with semen parameters and genome integrity. *Andrology*. – 2015;Vol.3, №2. P. 235–240.
- 22 Shimura T., Toyoshima M., Taga M., Shiraishi K., Uematsu N., Inoue M., Niwa O. The novel surveillance mechanism of the Trp53-dependent s-phase checkpoint ensures chromosome damage repair and preimplantation-stage development of mouse embryos fertilized with x-irradiated sperm. *Radiat Res*. 2002;Vol.158, №6. – P.735–742.
- 23 Kurahashi H., Tsutsumi M., Nishiyama S., Kogo H., Inagaki H., Ohye T. Molecular basis of maternal age-related increase in oocyte aneuploidy. *Congenit Anom*. 2012; №52. – P.8–15.
- 24 N. Garrido, M. Meseguer, C. Simon, A. Pellicer, J. Remohi Pro-oxidative and antioxidative imbalance in human semen and its relation with male fertility. *Asian J Androl*. 2004; – Vol.6, №1. – P. 59–65.
- 25 Li, E. DNA methylation in mammals. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. – 2014. – Vol.6, №5:ID a019133.

INFLUENCE OF BACTERIAL LIPOPOLYSACCHARIDES ADMINISTERED TO MALE RATS ON ANTE- AND POSTNATAL ONTOGENESIS OF THEIR PRODUCED PROGENY

E.A. Poplavskaya

Grodno State Medical University Grodno, Republic of Belarus

Introduction. It is known that the father's contribution to the maintenance of pregnancy does not diminish, and in some parameters exceeds the role of the female factor. The function of sperm is not limited to the transmission of genetic information – it plays an important role not only in fertilization, but also in implantation processes and embryogenesis. Scientific discoveries in embryology, cytology, andrology allowed to form an idea of the important role of the male factor. Today, we are beginning to understand better that epigenetic changes in sperm may play an initiating role in the etiopathogenesis of infertility and infertility. The disruption of chromatin and sperm DNA integrity is by no means the last place in the structure of reproductive losses, which explains the importance of studying various effects on male sex cells, including lipopolysaccharide from gram-negative bacteria.

Objective: was to determine the embryonic toxicity of bacterial lipopolysaccharides after exposure to male rats before mating.

Materials and methods. Males of unbred white rats of the pubertal age were injected once in the abdomen with *Escherichia coli* or *Serratia marcescens* lipopolysaccharide at a dose of 50 µg/kg weight, the controls were not exposed and the results were evaluated objectively.

Results. One-time intra-abdominal administration of bacterial lipopolysaccharides to male rats before mating with control females leads to a statistically significant increase in preimplantation intrauterine death of embryos, at the same time postimplantation death is within normal limits and does not lead to disturbances in fetogenesis processes in the postimplantation period.

Conclusion. The results obtained indicate a disruption of the sperm genome, as pre-implantation death of the offspring is associated with changes in the genetic code leading to life-incompatible disruptions of the embryo development.

Key words: pregnancy failure, male factor, spermatogenesis, lipopolysaccharides.

For citation: Poplavskaya EA. Influence of bacterial lipopolysaccharides administered to male rats on ante- and postnatal ontogenesis of their produced progeny. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2025, vol. 4, no. 1(6). pp. 39–44 (in Russian).

Поступила 22.04.2025

ВЗАИМОСВЯЗЬ ЭТАНОЛОКИСЛЯЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ С МАКРО- И МИКРОЭЛЕМЕНТНЫМ СТАТУСОМ МИТОХОНДРИЙ В МИОКАРДЕ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Е. Г. Бадун, А. В. Шуриберко, О. Е. Кузнецов

*Институт биохимии биологически активных соединений
Национальной академии наук Беларуси, г. Гродно, Беларусь*

Введение. Основными ферментами, участвующими в метаболизме этанола, являются алкогольдегидрогеназа (АЛД) и альдегиддегидрогеназа (АльДГ). Изучение активности АДГ, АльДГ в миокарде крыс при хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) отражает, как метаболизм алкоголя влияет на макро-/микроэлементный гомеостаз в кардиомиоцитах, что в значительной степени определяет функции митохондрий.

Цель исследования: оценка активности АДГ, АльДГ и их взаимосвязи с макро-/микроэлементным статусом митохондрий миокарда при ХАИ с изучением возможности коррекции установленных нарушений.

Материалы и методы. Выполнены экспериментальные модели на 40 крысах-самках линии Wistar (3 опытных группы, контроль). Проведены исследования активности ферментов АДГ, АльДГ. Для коррекции метаболических нарушений при ХАИ, животным вводилась композиция глутамина и аргинина с цинком и магнием.

Результаты. ХАИ приводит к снижению активности АДГ, АльДГ на 33% и 28,1%, соответственно, в миокарде крыс, что способствует накоплению ацетальдегида и индуцирует нарушение гомеостаза макро- и микроэлементов в митохондриях миокарда. Использование предложенной композиции аминокислот с цинком и магнием сохраняет активность этанолокисляющих ферментов.

Заключение. ХАИ приводит к снижению активности АДГ, АльДГ в миокарде крыс, что способствует накоплению ацетальдегида и индуцирует нарушение гомеостаза макро- и микроэлементов в митохондриях миокарда. Использование предложенной композиции аминокислот с цинком и магнием сохраняет активность этанолокисляющих ферментов.

Ключевые слова: алкогольдегидрогеназа, альдегиддегидрогеназа, хроническая алкогольная интоксикация, аминокислоты, митохондрии, миокард.

Для цитирования: Бадун, Е. Г. Взаимосвязь этанолокисляющих ферментов с макро- и микроэлементным статусом митохондрий в миокарде крыс при хронической алкогольной интоксикации / Е. Г. Бадун, А. В. Шуриберко, О. Е. Кузнецов // Биохимия и молекулярная биология. – 2025. – Т. 4, № 1(6). – С. 45–49.

Введение

Употреблением алкоголя является одной из ведущих причин метаболических нарушений, приводящих к повреждению клеток, тканей, органов и систем. Ключевыми ферментами, участвующими в метаболизме этанола, являются алкогольдегидрогеназа (АЛД), альдегиддегидрогеназа (АльДГ), каталаза и цитохром P450 (цитохром 2E1). Алкогольдегидрогеназа превращает этанол в ацетальдегид, который преобразуется альдегиддегидрогеназой в ацетат (уксусную кислоту). Ацетальдегид, наиболее изученный метаболит алкоголя, может способствовать повреждению миокарда, нарушая взаимодействие актина и миозина и вызывая митохондриальную дисфункцию кардиомиоцитов. Кроме того, ацетальдегид может оказывать прямое токсическое воздействие на миокард или реагировать с amino-, гидроксильными и сульфгидрильными группами, изменяя структу-

ру и функцию макромолекул, таких как белки и ферменты [1]. В ряде работ [2] показано, что цитохром P450 играет ключевую роль в метаболизме этанола в сердце, производя реактивные формы кислорода, в отличие от АЛД, чья активность незначительна.

Макро- и микроэлементы (Mg, Ca, Zn, Cu, Se, Mn и др.) играют критическую роль в работе митохондрий. Они являются кофакторами ферментов энергетического обмена, компонентами антиоксидантной защиты (Zn, Cu, Mn в супероксиддисмутазе, Se в глутатионпероксидазе), участвуют в регуляции ионного гомеостаза и мембранной проницаемости (Ca). Показано [3,4], что ацетальдегид подавляет сократительную амплитуду кардиомиоцитов, максимальную скорость сокращения/расслабления и продлевает продолжительность релаксации и внутриклеточный клиренс Ca²⁺ [5]. Хроническая алкогольная интоксикация приводит к нарушениям

баланса этих элементов (дефициту или избытку) [6], что может усугублять митохондриальную дисфункцию и повреждение миокарда.

Участие редокс-активных металлов железа и меди в реакции Фентона, генерируют •ОН и повышают уровни свободного железа и меди в кардиомиоцитах, что усиливает окислительный стресс [7].

Таким образом, изучение активности АДГ, АльДГ в миокарде крыс при ХАИ позволит раскрыть метаболизм алкоголя и степень его влияния на гомеостаз микро- и микроэлементов в митохондриях миокарда, что в значительной степени расширяет оценку функции митохондрий. Актуальным является изучение и поиск возможных механизмов, направленных на коррекцию митохондриальной дисфункции и элементного дисбаланса при терапии последствий алкогольной интоксикации и связанных с ней осложнений.

Цель работы: оценка активности АДГ, АльДГ и их взаимосвязи с макро-/микроэлементным статусом митохондрий миокарда при ХАИ с изучением возможности коррекции установленных нарушений.

Материалы и методы

Исследование проведено в отделе медико-биологических проблем алкоголизма ГП «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси». Эксперименты выполнены на 40 крысах-самках линии Wistar с массой тела в начале эксперимента $182 \pm 1,94$ г, содержащихся в стандартных условиях вивария на стандартном рационе питания, в соответствии с соблюдением требований Директивы ЕС №2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, использующихся для научных целей. Длительность эксперимента составила 28 недель.

Все животные были разделены на 4 группы:

– группа 1 (контроль, $n=10$) – интактные животные, не подвергавшиеся алкогольной интоксикации, получавшие в качестве питья воду на протяжении всего эксперимента;

– группа 2 (контроль + композиция, $n=10$) – животные контрольной группы, получающие разработанную композицию аминокислот и микроэлементов. Животные, не подвергавшиеся алкогольной интоксикации, получавшие в качестве питья воду на протяжении всего эксперимента, с 14 недели животным дополнительно интрагастрально ежедневно вводили разработанную композицию L-глутамина, L-аргинина гидрохлорида (каждого в дозе по 250 мг/кг массы тела) с семиводным сульфатом цинка (15,4 мг/кг) и безводным сульфатом магния (62 мг/кг);

– группа 3 (ХАИ, $n=10$) – животные получали в качестве единственного источника питья 20 %-й

водный раствор этанола на протяжении 28 недель эксперимента [8];

– группа 4 (ХАИ + разработанная композиция, $n=10$) – животные, получающие в качестве единственного источника питья 20 %-й раствор этанола на протяжении 28 недель, с 14 недели животным дополнительно интрагастрально ежедневно вводили разработанную композицию L-глутамина, L-аргинина гидрохлорида (каждого в дозе по 250 мг/кг массы тела) с семиводным сульфатом цинка (15,4 мг/кг) и безводным сульфатом магния (62 мг/кг).

Для исследования использованы: ткань миокарда, митохондрии миокарда крыс.

Исследуемые показатели: активность ферментов алкогольдегидрогеназы и альдегиддегидрогеназы. Исследование выполняли по общепринятым методикам [9] на спектрофотометре «Cary-100 Scan» (Varian, Австрия).

Статистическая обработка данных выполнена с помощью пакета прикладных статистических программ (StatSoft STATISTICA 13.0). Использованы критерии Шапиро-Уилка (определяли нормальность распределения). Данные представляли в виде медианы (Me) и рассеяния (Q1 и Q3 процентиля). Для анализа взаимосвязи признаков применяли корреляционный анализ с применением коэффициентов корреляции Спирмена. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

При исследовании метаболизма этанола установлено, что ХАИ сопровождается достоверным снижением активности АДГ в миокарде крыс на 33 % и АльДГ в митохондриях миокарда на 28,1 % в сравнении с контрольной группой.

Исследования, проведенные в нашей лаборатории [6], выявили нарушение биоэнергетических функций и активацией свободнорадикальных процессов в миокарде на фоне ХАИ, кроме того, установлены достоверное увеличение уровня цитохрома P450 в миокарде и кальция, железа и меди в митохондриях миокарда крыс. Исходя из этого, можно предположить, что снижение активности АДГ и увеличение количества цитохрома P450 при хронической алкогольной интоксикации, потенциально активизирует свободнорадикальные процессы и накопление ацетальдегида в миокарде крыс, а окислительный стресс снижает активность альдегиддегидрогеназы в митохондриях миокарда.

В работах J. Caballería [11] показано, что снижение активности АДГ и АльДГ находится в обратной зависимости от степени поражения пече-

Таблица 1 – Активность АДГ и АльДГ в миокарде крыс при хронической алкогольной интоксикации

Table 1 – ADH and ALDH activity in the myocardium of rats with chronic chronic alcohol intoxication

Исследуемый параметр	Контроль	Контроль +композиция	ХАИ	ХАИ +композиция
АДГ, нмоль*мин/мг белка	53,59 [49,49; 57,16]	55,34 [50,09; 59,12]	35,93 [32,68; 45,29] ***	52,19 [49,38; 56,42] ##
АльДГ, нмоль*мин/ мг белка	13,48 [11,62; 14,29]	16,45 [15,25; 17,69]	9,69 [8,74; 10,93] **	14,83 [12,77; 19,73] ##

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с контролем; ** – $p < 0,01$ в сравнении с контролем; *** – $p < 0,001$ в сравнении с контролем; # – $p < 0,05$ по сравнению с группой ХАИ; ## – $p < 0,01$ в сравнении с группой ХАИ; ### – $p < 0,001$ в сравнении с группой ХАИ;

Note: * – $p < 0.05$ compared to control; ** – $p < 0.01$ compared to control; *** – $p < 0.001$ compared to control; # compared with the CAI group; ## – $p < 0.01$ compared with the CAI group; ### – $p < 0.001$ compared with the CAI group;

ни. Схожие результаты были получены в работе J. Wang [12], где показано, что снижение активности АльДГ положительно коррелировало со снижением функции сердца. Эти изменения нарушают клеточные процессы, включая регуляцию ионов металлов, таких как кальций, железо и медь, которые имеют решающее значение для функционирования миокарда [10].

Применение исследуемой композиции при ХАИ способствовало сохранению АльДГ в митохондриях и АДГ в миокарде крыс, что предположительно способствовало ускорению распада ацетальдегида и смягчало его токсическое воздействие на миокард.

Проведенный корреляционный анализ при ХАИ выявил взаимосвязь АльДГ и макро- / микроэлементов в митохондриях миокарда (таблица 2). Наиболее значимая ($R = -0,927$) и достоверная ($p = 0,0001$) отрицательная взаимосвязь выявлена АльДГ с кальцием.

Таблица 2 – Коэффициенты корреляции Спирмена между уровнем макро- / микроэлементов в митохондриях и альдегиддегидрогеназой в миокарде

Table 2 – Spearman correlation coefficients between the level of macro-/microelements in mitochondria and aldehyde dehydrogenase in the myocardium

Химический элемент	АльДГ	Достоверность
Кальций	-0,927	$p = 0,0001$
Железо	-0,709	$p = 0,02$
Медь	-0,636	$p = 0,04$

Кальций необходимый для сокращения миокарда и внутриклеточной сигнализации контролируется саркоплазматической ретикулумной Ca^{2+} -АТФаза и митохондриальными унипортерами кальция. Как видно из таблицы 2, окислительный стресс из-за сниженной активности АльДГ повреждает эти системы, что приводит к нарушению обмена кальция. В результате внутриклеточный уровень кальция повышается по мере снижения активности АДГ, устанавливая отрицательную корреляционную зависимость. Эта

дисрегуляция может способствовать ухудшению сократимости кардиомиоцитов и способствовать повреждению клеток.

Низкая активность АльДГ, обусловленная окислительным стрессом и увеличением цитохрома P450, дестабилизирует железосвязывающие белки, высвобождая свободное железо в цитоплазму. По мере снижения активности АльДГ образующаяся окислительная среда увеличивает доступность свободного железа, что подтверждается отрицательной корреляцией (таблица 2). Таким образом, в результате метаболических процессов избыток железа усиливает окислительное повреждение в миокарде при ХАИ, а избыток меди (при высвобождении из поврежденных клеток) провоцирует реакцию Фентона, генерируя высокотоксичные гидроксильные радикалы $\bullet OH$. Полученные результаты о снижении активности АльДГ в митохондриях и АДГ в миокарде крыс на фоне накопления редокс-активных металлов (железо и медь) в митохондриях миокарда могут быть следствием активации свободнорадикальных процессов в миокарде.

Корреляционный анализ АДГ и макро- / микроэлементов на фоне ХАИ и ХАИ с применением корректирующей композиции не выявил достоверных взаимосвязей. Данный факт свидетельствует о снижении активности этанолюкисляющих ферментов, что сопровождается нарушением гомеостаза исследуемых макро- и микроэлементов в митохондриях миокарда крыс при ХАИ.

Заключение

Полученные результаты позволяют заключить, что ХАИ сопровождается нарушениями в работе этанолюкисляющих ферментов в миокарде крыс. Одним из отклонений является снижение активности АльДГ в митохондриях и АДГ в миокарде, что активирует свободнорадикальные процессы и накопление ацетальдегида. В качестве возможного механизма подобных изменений является нарушение гомеостаза макро- и микроэлементов

в митохондриях миокарда, в пользу чего говорят выявленные взаимосвязи (с кальцием, железом и медью).

Введение исследуемой композиции при ХАИ восстанавливает уровень концентраций АльДГ

в митохондриях и АДГ в миокарде крыс, увеличивает скорость распада ацетальдегида и, следовательно, ослабляет токсическое воздействие на гомеостаз исследуемых макро- и микроэлементов в митохондриях миокарда.

Список использованных источников

1. Ethanol and acetaldehyde in alcoholic cardiomyopathy: from bad to ugly en route to oxidative stress / X. Zhang, S.-Y. Li, R. A. Brown, J. Ren // *Alcohol*. – 2004. – Vol. 32, №3. – P. 175–86.
2. Guengerich, F. G. Roles of Cytochrome P450 in Metabolism of Ethanol and Carcinogens / F. P. Guengerich, N. G. Avadhani // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2019. – Vol. 1032. – P. 15–35.
3. Aberle II, N. S. Experimental Assessment of the Role of Acetaldehyde in Alcoholic Cardiomyopathy / N. S. Aberle, J. Ren // *Biol. Proced. Online*. – 2003. – Vol. 17, №5. – P.1–12.
4. Inhibition of cardiac myocyte contraction by 4-hydroxy-trans-2-nonenal / N. S. Aberle, M. J. Picklo, V. Amarnath [et al.] // *Cardiovasc. Toxicol.* – 2004. – Vol. 1. – P. 21–28.
5. Ren, J. Mechanisms of alcoholic heart disease / J. Ren, L. E. Wold // *Ther. Adv. Cardiovasc. Dis.* – 2008. – Vol. 2, №6. – P. 497–506.
6. Функциональная активность и элементный статус митохондрий миокарда крыс при хронической алкогольной интоксикации / Е. Г. Бадун, А. В. Шуриберко, Е. О. Казинец [и др.] // *Биохимия и молекулярная биология*. – 2024. – Т. 3, №1(4). – С. 186–195.
7. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging / K. Jomova, R. Raptova, S. Y. Alomar [et al.] // *Arch. Toxicol.* – 2023. – Vol. 97, No. 10. – P. 2499–2574.
8. Wrzołkova, T. Effects of ethanol on the development of experimental atherosclerosis and cardioneclerosis in rats / T. Wrzołkova, T. Rudzińska-Kisiel // *Alcohol*. – 1990. – Vol. 7, №4. – P. 299–306.
9. Tottmar, O. Determination of acetaldehyde in rat blood by the use of rat liver aldehyde dehydrogenase / O. Tottmar, H. Marchner, H. Pettersson // *Anal. Biochem.* – 1978. – Vol. 91, №1. – P. 241–249.
10. Checa, J. Reactive Oxygen Species: Drivers of Physiological and Pathological Processes / J. Checa, J. M. Aran // *J. Inflamm. Res.* – 2020. – Vol. 13. – P. 1057–1073.
11. Caballería, J. Current concepts in alcohol metabolism / J. Caballería // *Ann. Hepatol.* – 2003. – Vol. 2, №2. – P. 60–68.
12. Inhibition of Aldehyde Dehydrogenase 2 by Oxidative Stress Is Associated with Cardiac Dysfunction in Diabetic Rats / J. Wang, Ha. Wang, P. Hao [et al.] // *Mol. Med.* – 2011. – Vol. 3, №4. – P. 172–179.

References

1. Zhang X, Li SY, Brown RA, Ren J. Ethanol and acetaldehyde in alcoholic cardiomyopathy: from bad to ugly en route to oxidative stress. *Alcohol*. 2004 Apr;32(3):175-86. doi: 10.1016/j.alcohol.2004.01.005.
2. Peter Guengerich F, Avadhani NG. Roles of Cytochrome P450 in Metabolism of Ethanol and Carcinogens. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1032:15-35. doi: 10.1007/978-3-319-98788-0_2.
3. Aberle II NS, Ren J. Experimental Assessment of the Role of Acetaldehyde in Alcoholic Cardiomyopathy. *Biol Proced Online*. 2003;5:1-12. doi: 10.1251/bpo41. Epub 2003 Feb 17.
4. Aberle NS 2nd, Picklo MJ Sr, Amarnath V, Ren J. Inhibition of cardiac myocyte contraction by 4-hydroxy-trans-2-nonenal. *Cardiovasc Toxicol*. 2004;4(1):21-8. doi: 10.1385/ct:4:1:21.
5. Ren J, Wold LE. Mechanisms of alcoholic heart disease. *Ther Adv Cardiovasc Dis*. 2008 Dec;2(6):497–506. doi: 10.1177/1753944708095137.
6. Badun E.G., Shuriberko A. V., Kazinets E. O., Razvodovsky Y. E., Shulga A. V., Kuznetsov O. E. Functional activity and elemental status of rat myocardial mitochondria during chronic alcohol intoxication. *Biochemistry and molecular biology*. 2024; 3/1(4):186–195. (In Russian)
7. Jomova K, Raptova R, Alomar SY, Alwasel SH, Nepovimova E, Kuca K, Valko M. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Arch Toxicol*. 2023 Oct;97(10):2499–2574. doi: 10.1007/s00204-023-03562-9.
8. Wrzołkova T, Rudzińska-Kisiel T. Effects of ethanol on the development of experimental atherosclerosis and cardioneclerosis in rats. *Alcohol*. 1990 Jul-Aug;7(4):299–306. doi: 10.1016/0741-8329(90)90086-r.
9. Tottmar O, Marchner H, Pettersson H. Determination of acetaldehyde in rat blood by the use of rat liver aldehyde dehydrogenase. *Anal Biochem*. 1978 Nov;91(1):241–9. doi: 10.1016/0003-2697(78)90837-0.
10. Checa J, Aran JM. Reactive Oxygen Species: Drivers of Physiological and Pathological Processes. *J Inflamm Res*. 2020 Dec 2;13:1057–1073. doi: 10.2147/JIR.S275595.
11. Caballería J. Current concepts in alcohol metabolism. *Ann Hepatol*. 2003 Apr-Jun;2(2):60–8. PMID: 15041893.
12. Wang J, Wang H, Hao P, Xue L, Wei S, Zhang Y, Chen Y. Inhibition of aldehyde dehydrogenase 2 by oxidative stress is associated with cardiac dysfunction in diabetic rats. *Mol Med*. 2011 Mar-Apr;17(3–4):172–9. doi: 10.2119/molmed.2010.00114. Epub 2010 Oct 15.

RELATIONSHIP OF ETHANOL-OXIDIZING ENZYMES WITH MACRO- AND MICROELEMENT STATUS OF MITOCHONDRIA IN THE MYOCARDIUM OF RATS UNDER CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION

E. G. Badun, A. V. Shuriberko, A. E. Kuzniatsou

Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus

Background. The main enzymes involved in ethanol metabolism are alcohol dehydrogenase (ALD) and aldehyde dehydrogenase (ALDH). The study of the activity of ADH, ALDH in the myocardium of rats with chronic alcohol intoxication (CAI) can show how alcohol metabolism affects macro-/microelement homeostasis in cardiomyocytes, which largely determines the functions of mitochondria.

Objective: assessment of the activity of ADH, ALDH and their relationship with the macro-/microelement status of myocardial mitochondria in CAI with a study of the possibility of correcting the established disorders.

Materials and methods. Experimental models were performed on 40 female Wistar rats (3 experimental groups, control). Studies of the activity of the enzymes ADH, ALDH were conducted. To correct metabolic disorders in CAI, the animals were administered a composition of glutamine and arginine with zinc and magnesium.

Results. CAI leads to a decrease in the activity of ADH, ALDH by 33% and 28.1%, respectively, in the myocardium of rats, which contributes to the accumulation of acetaldehyde and induces a violation of the homeostasis of macro- and microelements in the mitochondria of the myocardium. The use of the proposed composition of amino acids with zinc and magnesium preserves the activity of ethanol-oxidizing enzymes.

Conclusions. CAI leads to a decrease in the activity of ADH, ALDH in the rat myocardium, which contributes to the accumulation of acetaldehyde and induces a violation of the homeostasis of macro- and microelements in the myocardial mitochondria. The use of the proposed composition of amino acids with zinc and magnesium preserves the activity of ethanol-oxidizing enzymes.

Keywords: alcohol dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase, chronic alcohol intoxication, amino acids, mitochondria, myocardium.

For citation: Badun EG, Shuriberko AV, Kuzniatsou AE. Relationship of ethanol-oxidizing enzymes with macro- and microelement status of mitochondria in the myocardium of rats under chronic alcohol intoxication. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2025, vol. 4, no. 1(6). pp. 45–49 (in Russian).

Поступила 22.04.2025

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗЫ У ЭВОЛЮЦИОННО УДАЛЕННЫХ МОДЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ

П. Ю. Пинчук

Витебский государственный университет имени П.М. Машерова,
Витебск, Республика Беларусь

Введение. Понимание межвидовых различий в метаболизме этанола имеет важное значение для различных областей знаний, включая токсикологию, фармакологию и эволюционную биологию. В данной статье представлены результаты исследования, направленные на изучении биохимических параметров ключевого фермента этого процесса – алкогольдегидрогеназы (АДГ).

Цель исследования. Определить зависимость показателей активности АДГ от молекулярной структуры, а также установить эволюционные взаимосвязи у исследуемых организмов для выявления механизмов, лежащих в основе межвидовых различий в метаболизме этанола.

Материал и методы. Для множественного выравнивания аминокислотных последовательностей АДГ, построения филогенетического дерева и моделирования трехмерных структур фермента использовались общедоступные базы данных (UniProt, NCBI) и онлайн-инструменты (BLAST, MEGA X, PhyML, Clustal Omega, TranslatorX, ProtParam, ТМНММ 2.0, SWISS-MODEL). Активность алкогольдегидрогеназы определяли в тканях печени крыс и гепатопанкреасе моллюсков спектрофотометрическим методом.

Результаты. Сравнительный анализ алкогольдегидрогеназы у шести модельных организмов и человека выявил межвидовые различия в активности фермента, его аминокислотном составе и молекулярном строении, что указывает на эволюционные изменения метаболических процессов этанола к изменяющимся условиям среды у живых организмов.

Заключение. Полученные данные расширяют понимание механизмов метаболизма этанола и подчеркивают роль структурных особенностей АДГ в формировании видовой специфичности, что имеет важное значение для токсикологии, фармакологии и эволюционных процессов. Ключевые аминокислотные замены в активном центре фермента, установленные во время сравнительного анализа, могут служить молекулярной основой адаптации к видовым особенностям детоксикации ксенобиотиков. Кроме того, филогенетические данные указывают на дивергенцию гена ADH, связанную с экологическими факторами, что подтверждает роль естественного отбора в эволюции ферментативной системы.

Ключевые слова. Алкогольдегидрогеназа, молекулярная эволюция, филогенетический анализ, модельные организмы, метаболизм этанола.

Для цитирования: 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–

Введение

Алкогольная зависимость остается глобальной медицинской проблемой, приводящей к тяжелым соматическим и психическим нарушениям. Несмотря на достижения в изучении метаболизма этанола, патогенез алкоголь-ассоциированных заболеваний требует дальнейшего исследования. Токсическое действие этанола на организм определяется его фармакокинетикой: после перорального приема 80 % алкоголя абсорбируется в тонком кишечнике путем пассивной диффузии, достигая пиковой концентрации в крови через 30–90 мин. Метаболизм 95–98 % этанола осуществляется в печени при участии ферментативных систем, включая алкогольдегидрогеназу (АДГ), альдегиддегидрогеназу (АЛДГ), цитохром р450 2Е1 (СУР2Е1) и каталазу [1].

Алкогольдегидрогеназа – цинк-зависимый фермент, локализованный в цитоплазме. Он окисляет этанол до ацетальдегида с использованием NAD^+ в качестве кофермента. У человека выделяют пять классов АДГ, среди которых ключевую роль в метаболизме этанола выполняют изоформы класса I (ADH1A, ADH1B и ADH1C), кодируемые полиморфными генами, влияющими на скорость окисления спирта [2]. Класс II (АДГ4), экспрессируемый в печени, обладает низкой аффинностью к этанолу, в отличие от класса III (АДГ5), для которого характерно структурное сходство с глутатион-зависимыми формальдегиддегидрогеназами растений и дрожжей, что подчеркивает его эволюционную консервативность [3].

При хронической интоксикации активируется микросомальный цитохром СУР2Е1, окисляющий

этанол до ацетальдегида с генерацией реактивных кислородных радикалов. Детоксикация ацетальдегида осуществляется митохондриальной альдегиддегидрогеназой 2 (АЛДГ2), которая превращает его в ацетат с образованием NADH [4].

Токсичность этанола обусловлена действием его метаболитов и нарушением клеточного гомеостаза. Ацетальдегид образует ковалентные аддукты с белками, нарушая их функцию, и участвует в синтезе сальсоинола – соединения, потенциально способствующего развитию зависимости. Накопление NADH нарушает функционирование цикла трикарбоновых кислот, что приводит к жировой дистрофии гепатоцитов. Ацетат, метаболизируемый в периферических тканях до углекислого газа, в высоких концентрациях угнетает активность центральной нервной системы и модулирует печеночный кровоток через вазодилатацию. Комплексное взаимодействие этих механизмов лежит в основе патогенеза алкоголь-индуцированных поражений, включая гепатомегалию, кардиомиопатию и нейродегенеративные изменения [5].

Таким образом, изучение молекулярных основ токсичности этанола остается критически важным для разработки терапевтических методов.

Цель исследования. Установить, как различия в структуре и свойствах алкогольдегидрогеназы III класса у эволюционно удаленных организмов влияют на ее функцию, определяя адаптацию к разным экологическим условиям.

Материалы и методы

Для проведения филогенетического анализа фермента были использованы аминокислотные последовательности человека (*Homo sapiens*) и шести модельных организмов: *Rattus norvegicus*, *Danio rerio*, *Biomphalaria glabrata*, *Lymnaea stagnalis*, *Drosophila melanogaster* и *Caenorhabditis elegans*.

Аминокислотная последовательность человека была получена из базы данных UniProt (ID: P11766) и использовалась в качестве шаблона. Для отбора гомологичных последовательностей других организмов был проведен поиск в базе данных Национального центра биотехнологических информационных ресурсов (NCBI) с использованием инструмента BLAST и его алгоритмов blastp и tblastn. Для обеспечения высокой достоверности результатов пороговое значение ожидаемого числа (E-value) установлено на уровне 1×10^{-5} .

При проведении филогенетического анализа руководствовались следующими методами [6]:

Метод соседнего присоединения (Neighbor joining, NJ). Филогенетическое дерево было построено в программе MEGA X с использованием p-distance для оценки расстояния, скорректирован-

ного по Пуассону для учета множественных замен. Надежность ветвей оценивалась с помощью бутстреп-анализа (1000 реплик).

Метод максимального или наибольшего правдоподобия (Maximum likelihood estimation, ML). Филогенетическое дерево было построено в программе PhyML. Поддержка ветвей оценивалась с помощью приближенного теста отношения правдоподобия (aLRT).

Множественное выравнивание аминокислотных последовательностей проводилось на сервере Clustal Omega. Использование программы TranslatorX позволило устранить несоответствия между выравниваниями нуклеотидных и аминокислотных последовательностей.

Физико-химические свойства АДГ анализировали с использованием инструмента ProtParam (ExPASy) [7]. Для каждого организма вводили его аминокислотную последовательность, полученную ранее из базы данных NCBI. Программа автоматически рассчитывала молекулярную массу (мол. масса), теоретическую изоэлектрическую точку (pI), индекс нестабильности, алифатический индекс и индекс гидропатичности (GRAVY). Стабильность белка определяли на основе порогового значения индекса нестабильности, где значения <40 соответствовали стабильной форме, а ≥ 40 – нестабильной.

Изучение структурных особенностей АДГ5 включало анализ трансмембранных доменов для подтверждения цитоплазматической локализации фермента. Данный анализ проводили с использованием программы TMHMM 2.0 у семи исследуемых организмов. Критерием цитоплазматической локализации считалось отсутствие предсказанных ТМН (Transmembrane Helices) и низкую вероятность N-концевой локализации внутри мембраны (N-in $<0,5$).

Моделирование третичной структуры алкогольдегидрогеназы выполнено в автоматическом режиме на платформе SWISS-MODEL с использованием структуры фермента человека (AlphaFold: AF-P11766-F1-v4), как шаблон. Качество моделей оценено по параметрам MolProbity: общая оценка, доля благоприятных областей Рамачандрана, наличие цис-пептидов и отклонение β -углеродов.

Биохимический анализ активности фермента проведен на двух группах животных: 10 половозрелых самцов крыс (*Rattus norvegicus*) и 10 особей моллюска *Lymnaea stagnalis*. Ткани печени крыс и гепатопанкреаса моллюсков гомогенизировали в следующих буферах: для крыс – 0,1М глицин-NaOH (pH 9,0), для моллюсков – 0,02М Трис-HCl (pH 7,5) с добавлением 0,01М ЭДТА и 0,25М сахарозы. Центрифугировали гомогенаты при 10 000 g, 4 °C, 15 мин. Надосадочную жид-

кость (супернатант) использовали для измерения активности фермента. Объем реакционной смеси составил 3,0 мл. У крыс реакционная смесь содержала 0,1М Глицин-NaOH буфер (pH 9,0), 0,04М NAD⁺, 0,75М этанол, 0,001М CaCl₂ и супернатант [8]. Для моллюсков смесь включала 0,02М Трис-HCl буфер (pH 7,5), 1М этанол, 0,1М NAD⁺ и супернатант. Активность фермента измеряли спектрофотометрическим методом при длине волны 340 нм, температура 30 °С за 1 минуту (превращение 1 мкмоль NAD⁺ в NADH за 1 мин = 1 Ед). Статистическая обработка данных выполнена в программе GraphPad Prism. Нормальность распределения проверена тестом Шапиро-Уилка (p > 0,05). Для сравнения групп использовали непарный t-критерий Уэлча с уровнем значимости p < 0,05. Эффект размера рассчитан по Коэну. Данные представлены как среднее стандартное отклонение (SD).

Результаты и их обсуждение

Филогенетический анализ алкогольдегидрогеназы III класса выявил статистически значимое разделение исследуемых видов на две эволюционные группы: позвоночные (Bootstrap = 96–100 %, aLRT > 0,95) и беспозвоночные животные (Bootstrap = 100 %), что подтверждается двумя методами (NJ и ML) (рисунок 1).

Низкая поддержка узла, объединяющего эти группы (Bootstrap = 49 %), свидетельствует о сложностях в реконструкции их эволюционных связей, вероятно связанных с ускоренной дивергенцией АДГ у *Drosophila melanogaster* и *Caenorhabditis elegans* (длина ветвей равна 0,125–0,150), что коррелирует с экстремально высоким GC-составом третьей позиции кодонов (78,49 % и 57,06 % соответственно). У *Biomphalaria glabrata* зафиксирован минимальный GC-состав (34,14 %), характерный для AT-богатых геномов.

Физико-химические свойства фермента показали сохранение длины аминокислотных последовательностей

и молекулярной массы у всех исследуемых видов (таблица).

Наиболее выраженные межвидовые различия выявлены по показателю изоэлектрической точки. У млекопитающих pI находится в нейтральном диапазоне (7,2–7,5), когда у моллюсков (5,89–6,34) и нематоды (5,96) наблюдалось смещение в кислую область, что соответствует особенностям физиологической среды их тканей. Все исследуемые белки стабильны (индекс нестабильности < 32), при этом максимальные значения устойчивости зафиксированы у *Drosophila melanogaster* (20,72), а минимальные у *Caenorhabditis elegans* (31,78). Показатель гидрофобности находится в диапазоне от 0,033 (*Lymnaea stagnalis*) до 0,158 (*Homo sapiens*), что свидетельствует о преобладании гидрофильных свойств у АДГ.

Анализ трансмембранных доменов с использованием алгоритма ТМНММ 2.0 подтвердил, что АДГ у всех исследуемых организмов является растворимым цитоплазматическим ферментом. Во всех случаях количество предсказанных трансмембранных доменов (TMN) равно 0, а вероятность N-концевой локализации внутри мембраны (N-in) была низкой (0,085–0,032). Наибольшее количество TMN отмечено у человека (10,15), у моллюсков и нематоды значения ниже (3,88–5,77), что дополнительно подтверждает отсутствие трансмембранных структур.

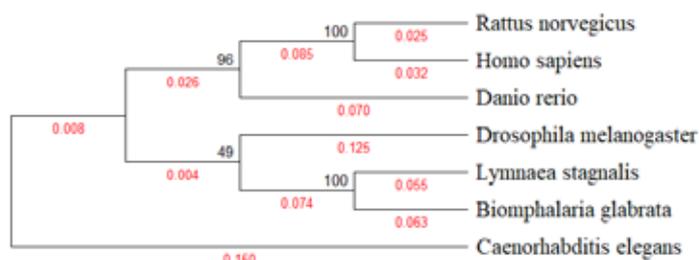


Рисунок 1 – Филогенетическое дерево, построенное методом соседнего присоединения

Figure 1 – Phylogenetic tree reconstructed using the Neighbor-Joining method

Таблица – Показатели физико-химических свойств алкогольдегидрогеназы у эволюционно удаленных организмов

Table – Physicochemical properties of alcohol dehydrogenase in evolutionarily divergent organisms

Организмы	Мол. масса (кДа)	pI	Индекс нестабильности	GRAVY	Алифатический индекс
<i>Homo sapiens</i>	39,7	7,45	30,50	0,158	91,47
<i>Rattus norvegicus</i>	39,6	7,45	27,28	0,142	88,61
<i>Danio rerio</i>	39,5	7,21	21,49	0,058	84,85
<i>Biomphalaria glabrata</i>	39,8	6,34	29,85	0,052	83,33
<i>Lymnaea stagnalis</i>	39,9	5,89	28,96	0,033	82,55
<i>Drosophila melanogaster</i>	39,6	6,50	20,72	0,071	91,21
<i>Caenorhabditis elegans</i>	40,3	5,96	31,78	0,053	86,29

Структурное сходство алкогольдегидрогеназы III класса лабораторной крысы и человека составило 94,4 %, с полным сохранением Zn²⁺-связывающих сайтов (Cys45, His67, Cys174) и NAD⁺-связывающего домена (His46, Gly270, Val294). У *Biomphalaria glabrata* (гомология 71,77 %) и *Lymnaea stagnalis* (гомология 73,39 %) выявлены ключевые адаптации: замена Tyr93→Ser и модификация Leu110, расширяющая спектр метаболизируемых субстратов и меньшее значение активности фермента по сравнению с млекопитающими. Качество моделей, оцененное по MolProbity соответствует критериям достоверности: оценка MolProbity <2,0 (0,86–1,21), доля благоприятных областей Рамачандрана >96 %, отклонение β-углеродов ≤4. Наилучшие показатели у моллюска *Biomphalaria glabrata* (MolProbity = 0,86, отклонение β-углеродов = 1) указывают на эволюционную стабилизацию структуры фермента, когда у *Lymnaea stagnalis* обнаружен непролиновый цис-пептид (1/709), что может отражать адаптацию к альтернативным субстратам.

В ходе статистического анализа были определены достоверные различия в активности алкогольдегидрогеназы между исследуемыми группами. Активность фермента в тканях печени крыс (48,04±1,887 Ед) значительно превышает активность в тканях гепатопанкреаса моллюсков (37,37±4,207 Ед) по результатам двустороннего t-критерия Уэлча (p = 0,033). Разница между средними составила 10,76 Ед (95 % ДИ: 0,99–20,36), что объясняет 22,9 % общей вариабельности данных (R² = 0,229). Тест Левена подтвердил неравенство дисперсий между группами (F = 4,972, p = 0,026), что потре-

бовало применения поправки t-критерия Уэлча (рисунок 2а).

Распределение данных в обеих группах соответствовало нормальному (тест Шапиро-Уилка: p = 0,852 для крыс, p = 0,177 для моллюсков). У крыс значения активности более однородные (SD = 5,966), тогда как у моллюсков наблюдался значительный разброс (SD = 13,33). Медианные значения АДГ составили 48,98 Ед (крысы) и 38,42 Ед (моллюски), что соответствует выявленной разнице средних значений. Согласно данным гистограмм, 75 % данных (крысы) находятся в диапазоне 43,29–51,37 Ед, когда у моллюсков 75 % значений находятся между 23,11 и 49,49 Ед (рисунок 2б). Максимальное значение активности у крыс (58,36 Ед) почти вдвое превышает минимальное значение активности фермента у моллюсков (20,22 Ед). Это может быть связано с изменением гидрофобности активного центра, выявленным при моделировании третичной структуры фермента.

Заключение

Полученные данные позволяют определить ключевые закономерности, связывающие структуру фермента, его функцию и адаптацию к различным условиям среды. Филогенетический анализ показал четкое разделение исследуемых организмов на две группы: позвоночные животные с высокой стабильностью АДГ и беспозвоночные животные с выраженной изменчивостью в активном центре. У млекопитающих фермент сохраняет нейтральный заряд и высокую активность в отношении этанола, что обеспечивает его эффективный метаболизм. У моллюсков и нема-

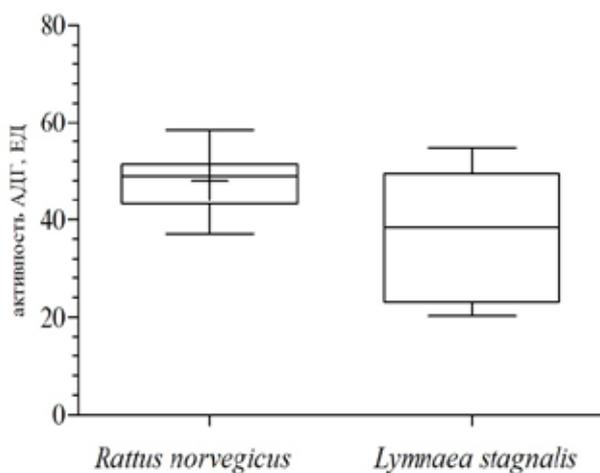


Рисунок 2а – Результаты двустороннего t-критерия Уэлча (p = 0,033)

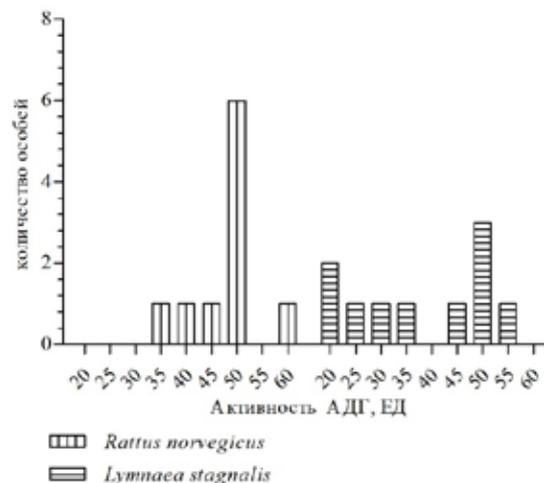


Рисунок 2б – Гистограммы распределения активности АДГ

Figure 2a – Results of the two-tailed Welch's t-test (p = 0,033) Figure 2b – Histograms of ADH activity distribution

тод смещение заряда в кислую область связан с их физиологическими особенностями, что позволяет адаптироваться к иным биохимическим условиям.

Структурные изменения АДГ у моллюсков, например, замена Tyr93→Ser приводят к снижению активности, но при этом увеличивают его способность взаимодействия с разными субстратами. Отсутствие трансмембранных доменов у всех исследуемых видов подтверждает цитоплазматическую локализацию фермента, а различия в GC-составе гена (от 34,14 % до 78,49 %) отражают адаптивные

механизмы: устойчивость к стрессу у *Drosophila melanogaster* и стабильность АТ-богатых геномов у моллюсков.

Установленная связь между гидрофобностью активного центра (GRAVY 0,033–0,158) и субстратной специфичностью объясняет метаболическую адаптацию в разных средах. Результаты исследования не только углубляют понимание молекулярной адаптации, но и открывают возможности для прикладного использования: от разработки биокатализаторов до изучения метаболических нарушений этанола у человека.

Список использованных источников

1. Lehner, T. Alcohol metabolism in alcohol use disorder: a potential therapeutic target / T. Lehner, B. Gao, B. Mackowiak // *Alcohol and Alcoholism*. – 2024. – Vol. 59, № 1. – Art. agad077. DOI: 10.1093/alcalc/agad077.
2. Tsermpini, E. E. Alcohol-induced oxidative stress and the role of antioxidants in alcohol use disorder: a systematic review / E. E. Tsermpini, A. Plemenitaš Ilješ, V. Dolžan // *Antioxidants*. – 2022. – Vol. 11, № 7. – P. 11. DOI: 10.3390/antiox11071374.
3. Class III Alcohol Dehydrogenase Plays a Key Role in the Onset of Alcohol-Related/-Associated Liver Disease as an S-Nitrosoglutathione Reductase in Mice / T. Haseba, M. Maruyama, T. Akimoto [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24, № 15. – P. 12102. DOI: 10.3390/ijms241512102.
4. Finelli, R. Impact of alcohol consumption on male fertility potential: a narrative review / R. Finelli, F. Mottola, A. Agarwal // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2021. – Vol. 19, № 1. – P. 328. DOI: 10.3390/ijerph19010328.
5. Mitochondrial fusion and Bid-mediated mitochondrial apoptosis are perturbed by alcohol with distinct dependence on its metabolism / S. Naghdi, W. S. Slovinsky, M. Madesh [et al.] // *Cell Death & Disease*. – 2018. – Vol. 9, № 10. – P. 1028. DOI: 10.1038/s41419-018-1070-3.
6. Costa, K. C. Model organisms to study methanogenesis, a uniquely archaeal metabolism / K. C. Costa, W. B. Whitman // *Journal of Bacteriology*. – 2023. – Vol. 205, № 8. – Art. e00115-23. DOI: 10.1128/jb.00115-23.
7. Expasy, the Swiss Bioinformatics Resource Portal, as designed by its users / S. Duvaud, C. Gabella, F. Lisacek [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2021. – Vol. 49, № W1. – P. W216–W227. DOI: 10.1093/nar/gkab225.
8. Зимин, Ю. В. Способ определения активности алкогольдегидрогеназы: пат. РФ № 2036968 C1 / Ю. В. Зимин ; заявитель и патентообладатель Ю. В. Зимин. – № 5036302/14 ; заявл. 24.02.1992 ; опубл. 09.06.1995. – МПК C12N 9/02, C12Q 1/26 // Бюл. изобретений. – 1995. – № 16.

References

1. Lehner T, Gao B, Mackowiak B. Alcohol metabolism in alcohol use disorder: a potential therapeutic target. *Alcohol*. 2024;59(1):agad077. doi:10.1093/alcalc/agad077.
2. Tsermpini EE, Plemenitaš Ilješ A, Dolžan V. Alcohol-induced oxidative stress and the role of antioxidants in alcohol use disorder: a systematic review. *Antioxidants*. 2022;11(7):11. doi:10.3390/antiox11071374.
3. Haseba T, Sumida M, Ohno Y, Ishimaru Y, Matsuo Y, Kameyama Y. Class III Alcohol Dehydrogenase Plays a Key Role in the Onset of Alcohol-Related/-Associated Liver Disease as an S-Nitrosoglutathione Reductase in Mice. *Int J Mol Sci*. 2023;24(15):12102. doi:10.3390/ijms241512102.
4. Finelli R, Mottola F, Agarwal A. Impact of alcohol consumption on male fertility potential: a narrative review. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;19(1):328. doi:10.3390/ijerph19010328.
5. Naghdi S, Hajnóczky G, Csordás G. Mitochondrial fusion and Bid-mediated mitochondrial apoptosis are perturbed by alcohol with distinct dependence on its metabolism. *Cell Death Dis*. 2018;9(10):1028. doi:10.1038/s41419-018-1070-3.
6. Costa KC, Whitman WB. Model organisms to study methanogenesis, a uniquely archaeal metabolism. *J Bacteriol*. 2023;205(8):e00115-23. doi:10.1128/jb.00115-23.
7. Duvaud S, Gabella C, Lisacek F, Stockinger H, Ioannidis V, Durinx C. Expasy, the Swiss Bioinformatics Resource Portal, as designed by its users. *Nucleic Acids Res*. 2021;49(W1):W216–W227. doi:10.1093/nar/gkab225.
8. Zimin YV. Способ определения активности алкогольдегидрогеназы [Method for determining alcohol dehydrogenase activity]. Patent RU 2036968 C1. 1995 Jun 9.

MOLECULAR AND BIOCHEMICAL ANALYSIS OF ALCOHOL DEHYDROGENASE IN EVOLUTIONARILY DIVERGENT MODEL ORGANISMS

P. Yu. Pinchuk

Vitebsk State University named after P.M. Masharov, Vitebsk, Republic of Belarus

Background. Understanding interspecies differences in ethanol metabolism is critical for fields such as toxicology, pharmacology and evolutionary biology. This study investigates the biochemical parameters of alcohol dehydrogenase (ADH), a key enzyme in this process.

Objective. To determine the relationship between ADH activity molecular structure and to establish evolutionary relationships among the studied organisms, elucidating mechanisms behind interspecific differences in ethanol metabolism.

Material and Methods. Multiple amino acid sequence alignments of ADH, phylogenetic tree construction, and 3D structure modeling were performed using public databases (UniProt, NCBI) and bioinformatic tools (BLAST, MEGA X, PhyML, Clustal Omega, TranslatorX, ProtParam, TMHMM 2.0, SWISS-MODEL). ADH activity was measured spectrophotometrically in rat liver tissue and the hepatopancreas of common pond snail (*Lymnaea stagnalis*).

Results. A comparative analysis of alcohol dehydrogenase in six model organisms and humans revealed interspecies differences in enzyme activity, amino acid composition and molecular structure, indicating evolutionary adaptation in the ethanol metabolic processes to changing environmental conditions organisms.

Conclusions. The obtained data broaden the understanding of ethanol metabolism mechanisms and emphasize the role of structural features of ADH in shaping species specificity, which holds significant implications for toxicology, pharmacology and evolutionary processes. Key amino acid substitutions in the enzyme's active center, identified during the comparative analysis, may serve as a molecular basis for adaptation to species-specific xenobiotic detoxification. Furthermore, phylogenetic data highlight ADH gene divergence linked to ecological factors, supporting the role of natural selection in the evolution of enzymatic systems.

Keywords. Alcohol dehydrogenase, molecular evolution, phylogenetic analysis, model organisms, ethanol metabolism.

For citation: Pinchuk PYu. Molecular and biochemical analysis of alcohol dehydrogenase in evolutionarily divergent model organisms. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2025, vol. 4, no. 1(6). pp. 50–55 (in Russian).

Поступила 06.05.2025

АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ НАРКОТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ И ПСИХОТРОПНЫХ ВЕЩЕСТВ, ВЫЯВЛЕННЫХ В ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЯХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

И. Д. Шилейко¹, Ю. Г. Походня¹, Л. Н. Боровикова²

¹*Национальная антидопинговая лаборатория, Минск, Беларусь;*

²*Городская клиническая больница скорой медицинской помощи, Минск, Беларусь*

Введение. Мероприятия по выявлению лиц, употребляющих психоактивные вещества, состоят в проведении химико-токсикологического анализа. В Республике Беларусь 7 химико-токсикологических лабораторий выполняют исследования, направленные на идентификацию наркотических средств и психотропных веществ.

Цель исследования. Проанализировать структуру наркотических средств и психотропных веществ, выявленных в организациях здравоохранения Республики Беларусь при проведении медицинского освидетельствования и оказании медицинской помощи.

Материалы и методы. Проанализированы результаты исследований биологических жидкостей организма человека, выполненных в химико-токсикологических лабораториях организаций здравоохранения Республики Беларусь.

Результаты. В Республике Беларусь в 2024 году в ходе химико-токсикологического анализа выявлялись преимущественно опиоиды, синтетические катионы и вещества, включенные в Список 3 Республиканского перечня. Наибольшее количество случаев употребления фенобарбитала выявлено в городской клинической больнице скорой медицинской помощи г. Минска.

Заключение. В Республике Беларусь среди потребителей наркотиков наибольшей популярностью пользуются синтетические наркотические средства и психотропные вещества. Актуальной проблемой является немедицинское употребление безрецептурных лекарственных препаратов, содержащих фенобарбитал.

Ключевые слова: наркотические средства, психотропные вещества, химико-токсикологические исследования.

Для цитирования: Шилейко, И. Д. Анализ структуры наркотических средств и психотропных веществ, выявленных в химико-токсикологических лабораториях Республики Беларусь / И. Д. Шилейко, Ю. Г. Походня, Л. Н. Боровикова // Биохимия и молекулярная биология. – 2025. – Т. 4, № 1(6). – С. 56–61.

Введение.

Применение наркотических средств в медицине необходимо для облегчения боли и страданий, но в то же время наркомания является серьезным злом для отдельных лиц и чревата социальной и экономической опасностью для человечества. Так говорится в Единой конвенции о наркотических средствах 1961 года. И, несмотря на то, что от момента ее принятия прошло уже более полувека, проблема немедицинского употребления наркотических средств не только остается нерешенной, но вызывает еще большую озабоченность у мировой общественности. Это связано с активным использованием возможностей сети Интернет в распространении наркотиков, что делает наркотические средства более доступными.

В Республике Беларусь проблеме нелегального распространения и употребления наркотических средств и психотропных веществ уделяется особое внимание. Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от

11.02.2015 г. № 19 «Об установлении республиканского перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих государственному контролю в Республике Беларусь» утвержден перечень веществ, которые отнесены к наркотическим или психотропным и подлежат государственному контролю в Республике Беларусь (далее – Республиканский перечень). Республиканский перечень включает в себя 5 списков веществ, разделенных по степени опасности и возможности использования их в медицинских целях [1]. Так, Список 1 включает в себя перечень особо опасных наркотических средств и психотропных веществ, не используемых в медицинских целях, Список 2 – особо опасных наркотических средств и психотропных веществ, разрешенных к контролируемому обороту, Список 3 – опасных психотропных веществ, разрешенных к контролируемому обороту. Список 4 содержит перечень прекурсоров наркотических средств и психотропных веществ, а Спи-

сок 5 – перечень опасных наркотических средств, не используемых в медицинских целях.

Одним из направлений государственной политики Республики Беларусь в сфере оборота и противодействия незаконному обороту наркотических средств и психотропных веществ является профилактика их употребления. К числу профилактических мероприятий относится выявление потребителей наркотических средств, а также их учет в Единой системе учета лиц, потребляющих наркотические средства, психотропные вещества. Одной из форм реализации этих задач является химико-токсикологический анализ биологических жидкостей организма человека, выполняемый в специализированных лабораториях организаций здравоохранения. Химико-токсикологическое исследование проводится не только с целью выявления состояния, вызванного потреблением наркотических средств, психотропных, других одурманивающих веществ, или факта их употребления, но и с лечебно-диагностической целью – для установления этиологии химической интоксикации и оценки эффективности, проводимой детоксикационной терапии.

В настоящее время в системе Министерства здравоохранения Республики Беларусь функционируют 14 лабораторий, выполняющих химико-токсикологические исследования биологических жидкостей организма человека, из которых исследования по выявлению наркотических средств, психотропных веществ и их метаболитов выполняют 7 лабораторий, причем две из них – для города Минска: централизованная химико-токсикологическая лаборатория учреждения здравоохранения «Минский городской клинический наркологический центр» и клиническая химико-токсикологическая лаборатория учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи».

Цель исследования. Проанализировать структуру наркотических средств и психотропных веществ, выявленных в организациях здравоохранения Республики Беларусь при проведении медицинского освидетельствования и оказании медицинской помощи.

Материалы и методы

Представленный анализ данных базируется на результатах исследования биологических жидкостей организма человека (мочи, крови), выполненных в 7 химико-токсикологических лабораториях (ХТЛ) организаций здравоохранения Республики Беларусь в 2024 году в рамках проведения медицинского освидетельствования или оказания медицинской помощи. Общее количество исследований

для идентификации наркотических средств и психотропных веществ, выполненных в ХТЛ в 2024 году методами газовой хроматографии с масс-спектрометрией, жидкостной и тонкослойной хроматографии, составило 70516.

В рамках исследования в статистическую обработку были включены вещества, содержащиеся в Республиканском перечне, которые были распределены на следующие группы.

Опиоиды – группа веществ, действующих на опиоидные рецепторы, в которую включены как вещества растительного происхождения (опийные алкалоиды), входящие в состав сока мака снотворного (*Papaver somniferum*) (морфин, кодеин, тебаин, неопин и др.), так и синтетические опиоиды (метадон, трамадол, фентанил, промедол и др.) [2]. Представители этой группы содержатся практически в каждом списке Республиканского перечня. Так, например, в Список 1 внесены орипавин, тебакон, ацетилфентанил, в Список 2 – морфин, кодеин, тебаин, метадон, фентанил, в Список 3 – трамадол. Маковая солома и опий, в том числе медицинский, включены в Список 5.

Каннабиноиды – группа биологически активных веществ, действующих на каннабиноидные рецепторы, содержащихся в растениях рода *Cannabis*. Их психоактивный эффект, состоящий в стимулирующем и седативном действии, дополняемый при приеме высоких доз галлюциногенным эффектом, главным образом, обусловлен изомерами основного действующего вещества дельта-9-тетрагидроканнабинола (ТГК) [3]. Изомеры ТГК внесены в Список 1 Республиканского перечня, а наркотические средства, получаемые из растения рода *Cannabis*, – в Список 5.

Кокаин – психостимулятор, природный алкалоид, содержащийся в листьях кустарникового растения из рода *Erythroxylon*. Кокаин включен в Список 2, а растения рода *Erythroxylon* – в Список 1 Республиканского перечня.

Производные фенилалкиламина – группа психотропных веществ, являющихся синтетическими аналогами эфедрина, включающая амфетамин, метамфетамин, а также их производные (3,4-метилендиоксиамфетамин (MDA), 3,4-метилендиоксиметамфетамин (MDMA) и др.). Все производные фенилалкиламина представлены в Списке 1 Республиканского перечня.

Синтетические катиноны – производные β -кето- α -метил-фенилалкиламина, который несколько схож по химической структуре с метамфетамин и MDMA. Но синтетические катиноны, являясь мощными ингибиторами обратного захвата серотонина, дофамина и норадреналина, обладают более выраженным психостимулирующим действи-

ем [4]. В Республиканском перечне все вещества этой группы представлены в Списке 1.

В отдельную группу «лекарственные средства» выделены вещества, включенные в Список 3 Республиканского перечня, которые применяются в медицине в качестве лекарственных средств (производные барбитуровой кислоты, производные бензодиазепаина и др.).

Статистическая обработка данных производилась с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel.

Результаты

Анализ структуры выявленных в ХТЛ организаций здравоохранения наркотических средств и психотропных веществ представлен на рисунке 1.

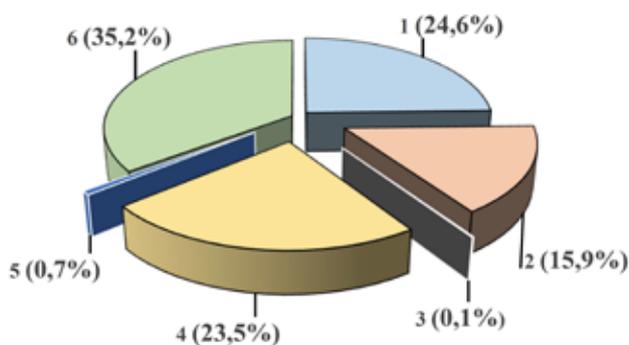


Рисунок 1. Структура наркотических средств и психотропных веществ, выявленных в химико-токсикологических лабораториях Республики Беларусь в 2024 году: 1 – опиоиды, 2 – каннабиноиды, 3 – кокаин, 4 – синтетические катиноны, 5 – производные фенилалкиламина, 6 – лекарственные средства

Figure 1. Structure of narcotic drugs and psychotropic substances identified in chemical and toxicological laboratories of the Republic of Belarus in 2024: 1 – opioids, 2 – cannabinoids, 3 – cocaine, 4 – synthetic cathinones, 5 – phenylalkylamine derivatives, 6 – medicinal substances

Данные, представленные на рисунке 1, показывают, что в структуре выявленных веществ в Беларуси в 2024 году наибольший удельный вес (35,2%) пришелся на лекарственные средства, включенные в Республиканский перечень. Популярностью у потребителей наркотиков пользуются опиоиды, доля которых в общей структуре составила 24,6%, а также производные катинона – 23,5%. При этом среди синтетических катинонов наиболее распространен альфа-PVP: его удельный вес среди всех производных катинона составил 63%. Остальные 37% пришлось на мефедрон и 4-СМС. Как видно из рисунка 1, на нелегальном рынке в Республике Беларусь распространяются и наркотические средства природного происхождения, например, получаемые из

растений рода Cannabis: удельный вес выявленных в 2024 году каннабиноидов составил 15,9% в общей структуре наркотических средств и психотропных веществ. А вот производные фенилалкиламина выявлялись крайне редко – их доля составила всего 0,7% в общей структуре выявленных веществ. То же можно сказать и о кокаине, который относится к так называемым «элитным» наркотикам: он в 2024 году выявлялся в биологических жидкостях в единичных случаях (0,1%).

Структура наркотических средств и психотропных веществ, выявленных по результатам химико-токсикологических исследований в городе Минске, представлена на рисунке 2.

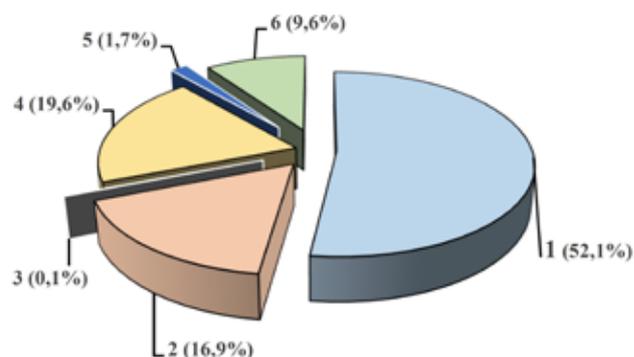


Рисунок 2. Структура наркотических средств и психотропных веществ, выявленных в химико-токсикологических лабораториях города Минска в 2024 году: 1 – опиоиды, 2 – каннабиноиды, 3 – кокаин, 4 – синтетические катиноны, 5 – производные фенилалкиламина, 6 – лекарственные средства

Figure 2. Structure of narcotic drugs and psychotropic substances identified in chemical and toxicological laboratories of the city of Minsk in 2024: 1 – opioids, 2 – cannabinoids, 3 – cocaine, 4 – synthetic cathinones, 5 – phenylalkylamine derivatives, 6 – medicinal substances

Как видно из представленной на рисунке 2 диаграммы, структура выявленных в 2024 году в городе Минске наркотических средств и психотропных веществ несколько отличается от аналогичных данных по республике. Так, в городе Минске наибольший удельный вес в общей структуре наркотических средств и психотропных веществ пришелся на группу опиоидов – 52,1%, среди которых доля синтетических опиоидов составила 68,3%. Для сравнения: по Республике Беларусь удельный вес синтетических веществ в общей структуре выявленных опиоидов составил 75,5%. Второе место в городе Минске, равно как и в целом по стране, заняли синтетические катиноны (альфа-PVP, мефедрон, 4-СМС), хотя доля этих веществ в городе Минске оказалась несколько ниже, чем по республике, и составила 19,6%. Каннабиноиды также

прочно удерживают свою позицию на нелегальном рынке и по результатам химико-токсикологических исследований, проведенных в городе Минске, их доля составила 16,9%, что на 1% выше, чем в целом по стране. Отмечен низкий удельный вес выявленных в столице производных фенилалкиламина и кокаина: 1,7% и 0,1% соответственно. Также в городе Минске в 3,5 раза меньше выявлено лекарственных средств, включенных в Республиканский перечень.

Следует отметить, что за последние 16 лет структура потребляемых наркотических средств и психотропных веществ существенно изменилась. На рисунке 3 представлены сравнительные данные по городу Минску за 2008 год и за 2024 год. Выявленные вещества структурированы следующим образом: к психостимуляторам отнесены производные фенилалкиламина и синтетические катиноны, к прочим психоактивным веществам – кокаин, а также вещества из Списка 3 Республиканского перечня (производные бензодиазепина, барбитуровой кислоты, клофелин и др.) [5].

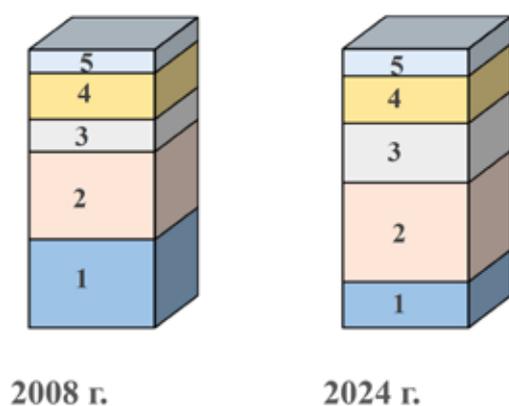


Рисунок 3. Соотношение наркотических средств и психотропных веществ, выявленных в г. Минске в 2008 году и 2024 году: 1 – опиийные алкалоиды, 2 – синтетические опиоиды, 3 – психостимуляторы, 4 – каннабиноиды, 5 – прочие психоактивные вещества

Figure 3. The ratio of narcotic drugs and psychotropic substances detected in Minsk in 2008 and 2024:
1 – opium alkaloids, 2 – synthetic opioids,
3 – psychostimulants, 4 – cannabinoids,
5 – other psychoactive substances

Как видно из рисунка 3, к настоящему времени (в сравнении с данными 2008 года) в общей структуре выявленных наркотических средств и психотропных веществ почти в 2 раза снизился удельный вес опиийных алкалоидов, в то же время на 4% увеличилось количество потребляемых синтетических опиоидов и на 10% – синтетических психостимуляторов, причем если в 2008 году группа психостимуляторов была представлена в основ-

ном производными фенилалкиламина (преимущественно амфетамином), то в 2024 году ее составили синтетические катиноны (альфа-PVP, мефедрон, 4-СМС).

Представленные данные свидетельствуют о высокой популярности в среде накопотребителей наркотических средств и психотропных веществ, полученных путем синтеза – синтетических опиоидов и синтетических катинонов. Преимущества таких веществ в сравнении с природными наркотиками для производителей и поставщиков нелегальной продукции очевидны, поскольку в ходе синтеза могут использоваться доступные химические вещества, усовершенствованные методы синтеза способны увеличивать выход продукции или приводить к созданию новых соединений, более сильных действующих, чем традиционные наркотики. Все это делает синтетические наркотические средства и психотропные вещества более дешевыми и, соответственно, более доступными для потребителей [6]. Но, к сожалению, последствия употребления синтетических веществ достаточно серьезны. Некоторые из них значительно превосходят по силе действия наркотики растительного происхождения и нередко обладают более высокой токсичностью. Наркотики, продаваемые на нелегальном рынке, часто содержат примеси или разбавители, нередко не менее токсичные, чем само вещество. Кроме этого, в ходе синтеза могут разрабатываться новые соединения, которые не подпадают под действие существующих мер контроля [6].

Следует отметить, что в 2024 году в Республике Беларусь не было выявлено веществ, относящихся к классу психоделиков. Наиболее известными из них являются ЛСД (диэтиламид d-лизергиновой кислоты) и псилоцибин [6,7]. В настоящее время в разных странах мира активно ведутся исследования по возможности применения психоделических веществ в медицинской практике в качестве антидепрессантов [7]. И, например, уже в некоторых штатах Соединенных Штатов Америки разрешен регулируемый доступ к отдельным психоделикам, в частности, к псилоцибину [6]. В Республике Беларусь ЛСД и псилоцибин внесены в Список 1 Республиканского перечня как запрещенные к использованию в медицинских целях.

Как уже отмечалось выше, в Республике Беларусь наряду с проблемой зависимости от наркотических средств, остро стоит вопрос о немедицинском употреблении лекарственных препаратов, компоненты которых включены в Список 3 Республиканского перечня. Речь идет в первую очередь о фенобарбитале. Несмотря на то, что это вещество внесено в Республиканский перечень как опасное психотропное вещество, некоторые лекарственные

препараты, содержащие фенobarбитал (капли для приема внутрь «Корвалол» и «Валокордин») в Республике Беларусь отпускаются без рецепта, что сопряжено с определенными рисками, поскольку фенobarбитал обладает достаточно высоким аддитивным потенциалом, является высокотоксичным препаратом, а также усиливает действие алкоголя и других подавляющих активность центральной нервной системы средств, приводя к нарушениям сознания. На рисунке 4 представлены данные по выявлению фенobarбитала в ХТЛ в 2024 году.

Как видно из представленного рисунка, в 2024 году в Республике Беларусь фенobarбитал был выявлен в 16,5% случаев от общего количества наркотических средств и психотропных веществ. По данным централизованной ХТЛ Минского го-

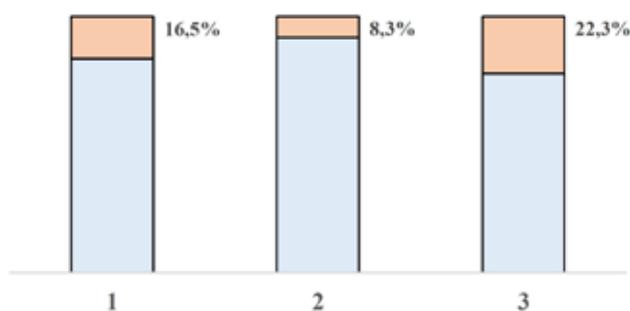


Рисунок 4. Удельный вес фенobarбитала в структуре веществ, включенных в Республиканский перечень, выявленных в 2024 году в химико-токсикологических лабораториях организаций здравоохранения Республики Беларусь (1), Минского городского клинического наркологического центра (2), городской клинической больницы скорой медицинской помощи (3)

Figure 4. The share of phenobarbital in the structure of substances included in the Republican List, identified in 2024 in the chemical and toxicological laboratories of healthcare organizations of the Republic of Belarus (1), Minsk City Clinical Narcology Center (2), City Clinical Emergency Hospital (3)

Список использованных источников

- Об установлении республиканского перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих государственному контролю в Республике Беларусь [Электронный ресурс] : постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь, 11 февраля 2015 г., №19 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – Режим доступа: <https://pravo.by/document/?guid=12551&pr0=W21529651&p1=1> – Дата доступа: 24.02.2025.
- Токсикологическая характеристика дизайнерских наркотиков из группы синтетических опиоидов / А.И. Головки, М. Б. Иванов, В. Л. Рейнюк [и др.] // Токсикологический вестник. – 2019. – Т. 154, №1. – С. 3–11.
- Фармакологические аспекты каннабиноидов / А.В. Сафроненко, Н. Ю. Саенко, В. П. Землякова, [и др.] // Южно-Российский журнал терапевтической практики. – 2023. – Т. 3, №4. – С. 27–35. DOI: 10.21886/2712-8156-2023-4-3-27-35.

родского клинического наркологического центра удельный вес выявленного фенobarбитала составил всего 8,3%. Однако данные клинической ХТЛ городской клинической больницы скорой медицинской помощи города Минска свидетельствуют о высоком риске развития состояний интоксикации при неконтролируемом употреблении этого вещества: в 2024 году в общей структуре наркотических средств и психотропных веществ фенobarбитал был выявлен в 22,3% случаев и преимущественно в рамках оказания медицинской помощи при острых отравлениях.

Заключение

В Республике Беларусь в 2024 году при проведении химико-токсикологических исследований в организациях здравоохранения среди наркотических средств и психотропных веществ наиболее часто выявлялись опиоиды, преимущественно синтетического происхождения (метадон, трамадол), а также синтетические катиноны (альфа-PVP, мефедрон, 4-СМС). Это свидетельствует о росте популярности и активном распространении на нелегальном рынке в Республике Беларусь синтетических наркотиков, более токсичных и обладающих более выраженным аддитивным потенциалом, что усугубляет проблему наркотической зависимости.

Актуальной проблемой в Республике Беларусь является немедицинское употребление лекарственных препаратов, содержащих в своем составе вещества, включенные в Республиканский перечень, среди которых наиболее доступным является фенobarбитал, входящий в состав препаратов безрецептурного отпуска. Как показывают данные клинической ХТЛ городской клинической больницы скорой медицинской помощи, неконтролируемый прием фенobarбитала создает высокие риски для развития состояний острой интоксикации.

- Синтетические катиноны и каннабиноиды – новые психоактивные вещества (обзор) / А.В. Ларченко, М.А. Суворов, В.И. Андрухин [и др.] // Современные технологии в медицине. – 2019. – Т. 9, №1. – С. 185–197. DOI: 10.17691/stm2017.9.1.23
- Шилейко, И.Д. Изучение динамики распространенности психоактивных веществ среди наркопотребителей г. Минска / И.Д. Шилейко, А.М. Чубуков, П.А. Александров // Психиатрия. – 2010 – №1. – С. 34–40.
- Всемирный доклад о наркотиках за 2023 год / Организация Объединенных Наций. Нью-Йорк, 2023. – Режим доступа: https://www.unodc.org/res/WDR-2023/WDR23_ExSum_Russian.pdf. – Дата доступа: 21.02.2025.
- Применение психоделиков в качестве средства для лечения депрессивных расстройств / К.Г. Еговцева, В.В. Русановский, А.О. Зверева, М.А. Жданова // Молодежный инновационный вестник. – 2024. – Т. 13, №S1. – С. 551–554.

References

- 1 Ob ustanovlenii respublikanskogo perechnya narkoticheskikh sredstv, psikhotropnykh veshchestv i ikh prekursorov, podlezhashchikh gosudarstvennomu kontrolyu v Respublike Belarus' [Elektronnyi resurs] : postanovlenie Ministerstva zdravookhraneniya Respubliki Belarus', 11 fevralya 2015 g., №19. Natsional'nyi pravovoi Internet-portal Respubliki Belarus'. Rezhim dostupa: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=W21529651&p1=1>. Data dostupa: 24.02.2025.
- 2 Golovko A.I., Ivanov M.B., Reinyuk V.L., Ivnikitskii Yu.Yu., Barinov V.A., Borodavko V.K. Toksikologicheskaya kharakteristika dizainerskikh narkotikov iz gruppy sinteticheskikh opioidov [Toxicological characteristic of designer drugs from the group of synthetic opioids]. Toksikologicheskii vestnik. 2019;154(1):3–11.
- 3 Safronenko A.V., Saenko N.Yu., Zemlyakova V.P., Kvaratskheliya S.K., Dol'nikova M.V. Farmakologicheskie aspekty kannabinoidov [Pharmacological aspects of cannabinoids]. Yuzhno-Rossiiskii zhurnal terapevticheskoi praktiki [South Russian Journal of Therapeutic Practice]. 2023;4(3)27–35. DOI: 10.21886/2712-8156-2023-4-3-27-35.
- 4 Larchenko A.V., Suvorov M.A., Andryukhin V.I., Kaurov Ya.V., Suvorov A.V. Sinteticheskie katinony i kannabinoidy – novye psikhoaktivnye veshchestva (obzor) [Synthetic cathinones and cannabinoids are new psychoactive substances (review)]. Sovremennye tekhnologii v meditsine [Modern Technologies in Medicine]. 2019;9(1)185–197. DOI: 10.17691/stm2017.9.1.23.
- 5 Shileiko I.D., Chubukov A.M., Aleksandrov P.A. Izuchenie dinamiki rasprostranennosti psikhoaktivnykh veshchestv sredi narkopotrebitelei g. Minska. Psikhiatriya. 2010;(1):34–40.
- 6 Vsemirnyi doklad o narkotikakh za 2023 god. Organizatsiya Ob"edinennykh Natsii [United Nations Organization]. N'yu-Iork, 2023. Rezhim dostupa: https://www.unodc.org/res/WDR-2023/WDR23_ExSum_Russian.pdf. Data dostupa: 21.02.2025.
- 7 Egovtseva K.G., Rusanovskii V.V., Zvereva A.O., Zhdanova M.A. Primenenie psikhodelikov v kachestve sredstva dlya lecheniya depressivnykh rasstroistv. Molodezhnyi innovatsionnyi vestnik. 2024;13(S1) 551–554.

ANALYSIS OF THE STRUCTURE OF NARCOTIC DRUGS AND PSYCHOTROPIC SUBSTANCES IDENTIFIED IN CHEMICAL AND TOXICOLOGICAL LABORATORIES OF THE REPUBLIC OF BELARUS

Shileiko I.D.¹, Pakhadnia Y.G.¹, Borovikova L.N.²

¹*National Anti-Doping Laboratory, Minsk, Belarus;*

²*City Clinical Emergency Hospital, Minsk, Belarus*

Background. Measures to identify persons who use psychoactive substances consist of conducting a chemical and toxicological analysis. In the Republic of Belarus, 7 chemical and toxicological laboratories carry out research aimed at identifying narcotic drugs and psychotropic substances.

Objective. To analyze the structure of narcotic drugs and psychotropic substances identified in healthcare organizations of the Republic of Belarus during medical examinations and provision of medical care.

Material and Methods. The results of studies of biological fluids of the human body, carried out in chemical and toxicological laboratories of healthcare organizations of the Republic of Belarus, were used.

Results. In the Republic of Belarus in 2024, chemical toxicological analysis identified mainly opioids, synthetic cathinones and substances included in List 3 of the Republican List. The largest number of cases of phenobarbital use was identified in the city clinical emergency hospital in Minsk.

Conclusions. In the Republic of Belarus, synthetic narcotic drugs and psychotropic substances are the most popular among drug users. An urgent problem is the non-medical use of over-the-counter drugs containing phenobarbital.

Keywords: narcotic drugs, psychotropic substances, chemical-toxicological studies.

For citation: Shileiko ID, Pakhadnia YG, Borovikova LN. Analysis of the structure of narcotic drugs and psychotropic substances identified in chemical and toxicological laboratories of the Republic of Belarus. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2025, vol. 4, no. 1(6). pp. 56–61 (in Russian).

Поступила 08.05.2025

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АЦЕТАЛЬДЕГИДА И АЛИФАТИЧЕСКИХ АЛЬДЕГИДОВ С АМИНОПИРИМИДИНОВЫМ КОМПОНЕНТОМ ТИАМИНА С ОБРАЗОВАНИЕМ ЦИКЛИЧЕСКИХ АДДУКТОВ

И.И. Степура¹, Е.Г. Бадун¹, А.А. Токарева¹, А.В. Шуриберко¹, В.Ю. Смирнов¹, В.И. Степура³

¹*Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси,*

г. Гродно, Республика Беларусь;

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

³*Варшавский университет, г. Варшава, Республика Польша*

Введение. Фотохимические реакции, вызываемые ультрафиолетовым облучением, отвечают за целый ряд повреждающих биологических эффектов, ведущих к нарушениям структуры многих биологически важных молекул, инактивации ферментов и т.д.

Цель исследования: изучение образования циклических аддуктов ацетальдегида и алифатических альдегидов с продуктами фотолиза тиамин, тиаминмонофосфата и тиаминдифосфата.

Материалы и методы. В работе использовали хроматографические (ВЭЖХ), ЯМР методы, ИК- и абсорбционную спектроскопию.

Результаты. Действие ультрафиолета на водные растворы витамина В1 (тиамин) и его фосфатов приводит к фрагментации молекул с образованием 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина в качестве основного фотопродукта в кислых средах, либо 2-метил-4-амино-5-метилпиримидина и формилпиримидина – в нейтральной среде.

2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидин может взаимодействовать с ацетальдегидом, алифатическими альдегидами и пировиноградной кислотой с образованием циклических аддуктов. Реакция протекает через промежуточный этап образования основания Шиффа с последующим взаимодействием альдиминной связи с 4-аминогруппой пиримидинового кольца с образованием циклического стабильного аддукта, который характеризуется $m/z=163$.

Заключение. Обнаружены циклические аддукты реакции ацетальдегида либо алифатических альдегидов с аминопиримидиновым компонентом, образующимся при фотолизе тиамин, и охарактеризованы их свойства. Обсуждается возможность протекания такого рода реакций при физиологических условиях.

Ключевые слова. ультрафиолет, аддукты ацетальдегида с аминопиримидином, фотолиз тиамин и тиаминдифосфата.

Для цитирования: Взаимодействие ацетальдегида и алифатических альдегидов с аминопиримидиновым компонентом тиамин с образованием циклических аддуктов / И. И. Степура, Е. Г. Бадун, А. А. Токарева [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2025. – Т. 4, № 1(6). – С. 62–68.

Введение

Тиамин (Т) является важнейшим незаменимым фактором питания и используется в организме в качестве структурного компонента молекулы тиаминдифосфата (ТРП). ТРП является кофактором таких важнейших ферментов энергетического метаболизма, как пируватдегидрогеназа и α -кетоглутаратдегидрогеназа. ТРП также является кофактором транскетолазы, ключевого фермента пентозофосфатного цикла [1].

Бреслоу показал, что атом водорода в положении 2 тиазольного цикла (между атомами серы и азота) легко обмениваются на дейтерий из D_2O [2]. Он предположил, что образующийся в результате отщепления протона карбен является ключевым промежуточным активным соединением в реакциях, катализируемых тиамином. Например, таких, как декарбоксилирование пирувата с образованием ацетальдегида или конверсия пировиноградной кислоты в ацетонин [3].

Однако экспериментально подтвердить гипотезу Бреслоу долгое время не удавалось из-за очень высокой нестабильности карбенов в водных растворах. Недавно группой исследователей проведен синтез устойчивых к воде карбенов и их характеристика методами ЯМР и рентгеновской дифракции [4].

Хорошо известно, что кристаллические структуры активных центров ферментов содержат молекулы воды, однако, вероятно, структура макромолекулы изолирует карбен тиамин в активном центре от воздействия воды, снижая возможность протекания побочных окислительно-восстановительных процессов [5].

Недостаток тиамин в пище вызывает развитие такого тяжелого заболевания, как бери-бери, характеризующегося поражением сердечно-сосудистой системы и нервной системы [1]. Злоупотребление алкоголем также вызывает дефицит тиамин и раз-

витие нейродегенеративного заболевания – синдрома Вернике-Корсакова [6].

Тиамин не является классическим витамин-антиоксидантом. Однако дефицит тиамина и окислительный стресс вызывают нейродегенеративные заболевания [7], гибель нейронов [8], развитие дегенеративных процессов в фибриллах клеток хрусталика [9]. В опытах *in vitro* показано, что тиамин ингибирует перекисное окисление липидов [10], является скэвенджером синглетного кислорода [10], разрушает пероксинитрит [11], восстанавливает диоксид азота до нитрита [12].

Видимое излучение и ультрафиолет UVA или UVB диапазона вызывают окисление тиамина и его фосфорных эфиров не только вследствие прямого воздействия на структуру T и фосфатов тиамина, но и вследствие генерации активных форм кислорода, таких как синглетный кислород, O_2^- и H_2O_2 . Показано, что тиамин не только эффективно тушит синглетный кислород, который генерируется рибофлавином под действием видимого света, по физическому механизму [10], но также взаимодействует с синглетным кислородом по химическому механизму с образованием продуктов окисления тиамина – тиохрома и оксодигидротиохрома.

При воздействии на тиамин диоксида азота, пероксинитрита образуются дисульфид тиамина, а также тиохром и оксодигидротиохром [11].

При воздействии ультрафиолета солнечного излучения UVA или UVB диапазонов на водные растворы тиамина образуется 2-метил-4-амино-метилпиримидин, а при воздействии на тиаминдисульфид образуются молекулы тиамина, 2-метил-4-амино-метилпиримидина (AP-NH₂) и 2-метил-4-амино-формилпиримидина (FAP). Выход FAP в процессе фотохимической реакции пропорционален содержанию в растворе тиольной формы тиамина TSH и концентрации в растворе дисульфидов T.

Предполагается, что данные фотохимические реакции будут протекать в клеточных структурах глаза и клетках кожи. Предполагается, что соотношение концентраций AP-NH₂ и FAP в плазме крови будет свидетельствовать как о содержании коферментной формы в организме, содержащей четвертичный азот, так и о величине физиологического депо резервных форм тиамина сформированными дисульфидами тиамина, смешанными дисульфидами тиамина с низкомолекулярными тиолами, смешанными дисульфидами тиамина с сульфгидрильными группами белков.

Цель исследования: изучение образования циклических аддуктов ацетальдегида и алифатических альдегидов с продуктами фотолиза тиамина, тиаминмонофосфата и тиаминдифосфата.

Материалы и методы

Растворы T и его фосфорных эфиров облучали светом лампы ДРК-120. Растворы облучали полным светом лампы или использовали светофильтры УФС-1 для выделения спектральной области 280–400 нм, УФС-6 – для выделения линий при 365 нм соответственно. Разделение и идентификацию продуктов фотолиза тиамина, образовавшихся после воздействия ультрафиолета на их водные растворы, проводили методом ВЭЖХ на хроматографах Agilent-1100 и 1260, сорбент ZORBAX-Extend-C18, с использованием соединений-стандартов: тиамин фирмы «Sigma» (США), 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидин «Toronto Research Chemicals» (Канада). Запись спектров ЯМР проводилась при pH=3,0. Молекулярную массу фотопродукта определяли с помощью масс-спектрометров Varian MAT-311 и Agilent 6420 LC/TQ. Измерения спектров поглощения проводили на спектрофотометре VarianCary-100.

Результаты и их обсуждение

Методом ВЭЖХ и абсорбционной спектроскопии показано, что в процессе фотолиза тиамина в кислой среде образуется в качестве главного продукта 2-метил-4-амино-5-метилпиримидин. На рисунке 1 представлены хроматограммы водного раствора T в кислой среде до и после воздействия ультрафиолета UVB диапазона. Действительно, время удерживания 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина с $R_t=3.889$ мин, хорошо совпадает с временем удерживания продукта фотолиза тиамина в кислой среде.

На рисунке 2 показаны изменения формы спектров поглощения водных растворов тиамина в кислой среде в зависимости от времени воздействия ультрафиолета. Исходный спектр поглощения тиамина содержит полосу с максимумом поглощения при 247 нм, а также плечо поглощения при 260 нм. Интересно отметить, что спектр поглощения тиамина достаточно хорошо совпадает с суммой поглощений эквивалентных концентраций 2-метил-4-аминопиримидина и N-метилтиазола. Это, вероятно, связано с тем, что в тиамине пиримидиновый и тиазоловый компоненты соединены между собой метиленовым мостиком и сопряженные системы компонентов фактически изолируются друг от друга.

Кроме того, сами плоскости циклов по данным рентгеноструктурного анализа расположены в кристаллах под углом близким к 90°, и, вероятно, эффект сопряжения их электронных систем также и в растворе очень мал. Поэтому можно предположить, что фотоокисление и фотодеструкция тиазолового и пиримидинового компонентов тиамина может протекать независимо друг от друга.

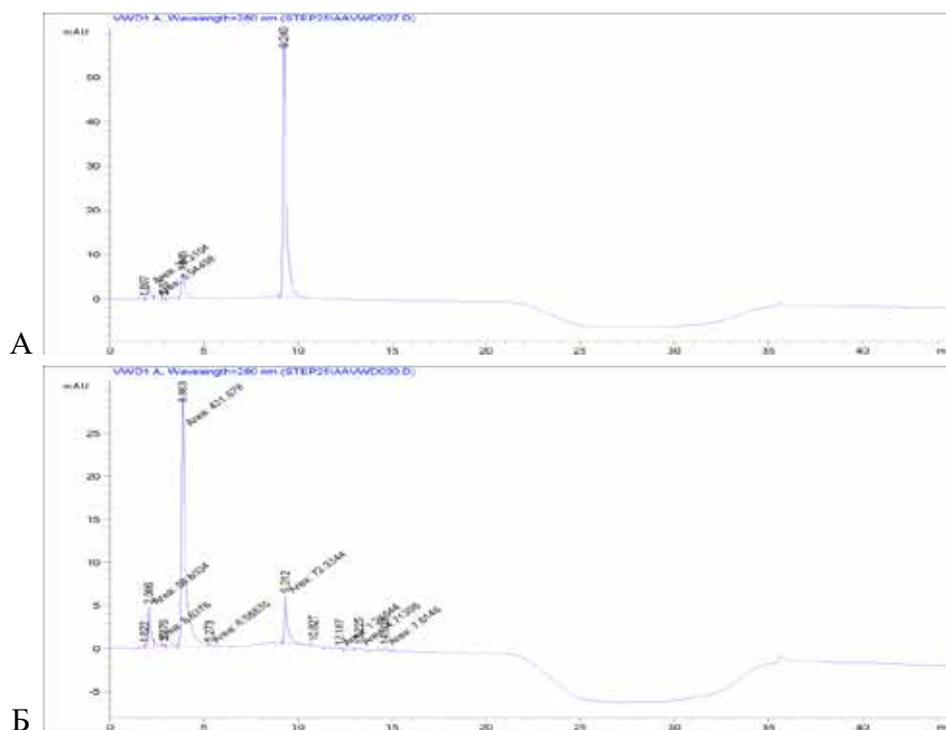


Рисунок 1 – Хроматограмма водного раствора тиамин до воздействия (А) ультрафиолета UVB диапазона и после воздействия (Б) ультрафиолета UVB диапазона. Пик с $R_t=9.312$ мин принадлежит тиамину, пик с $R_t= 3.863$ мин принадлежит 2-метил-4-амино-5-аминометил пириmidину

Figure 1 – Chromatogram of an aqueous thiamine solution before (A) exposure to UVB radiation and after (B) exposure to UVB radiation. The peak with $R_t = 9.312$ min corresponds to thiamine, and the peak with $R_t = 3.863$ min corresponds to 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine.

Уменьшение поглощения в области 260 нм после воздействия ультрафиолета свидетельствует об эффективном разрушении тиазолового компонента молекулы тиамин (рисунок 2) и о более высокой стабильности аминопириmidинового компонента. Спектр поглощения продуктов фотолиза хорошо совпадает со спектром поглощения 2-метил-4-амино-5-метилпириmidина. Действительно,

в спектре поглощения продуктов фотолиза тиамин, наблюдали в нейтральной среде два максимума с длинами волн 237 нм и 275 нм; при pH 4,0 – один максимум при 247 нм – (рисунок 3).

Результаты, полученные методом ВЭЖХ, также свидетельствуют, что тиамин под действием ультрафиолета в основном образует продукт с временем удерживания $R_t=3.863$ мин, хорошо

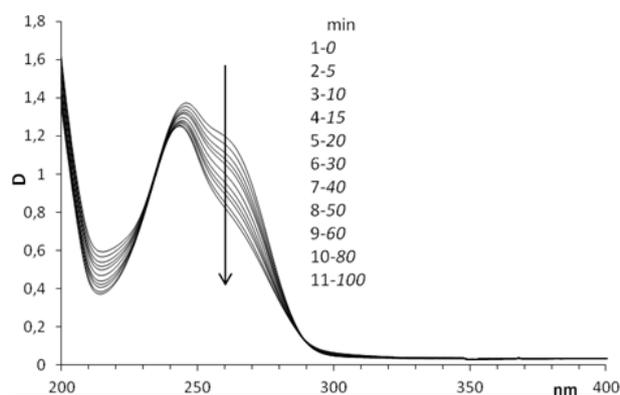


Рисунок 2 – Спектры поглощения тиамин в кислой среде до воздействия ультрафиолета (1) и после воздействия ультрафиолета UVB-диапазона через различные промежутки времени (2–11)

Figure 2 – Absorption spectra of thiamine in an acidic medium before UV exposure (1) and after exposure to UVB radiation for various time intervals (2–11)

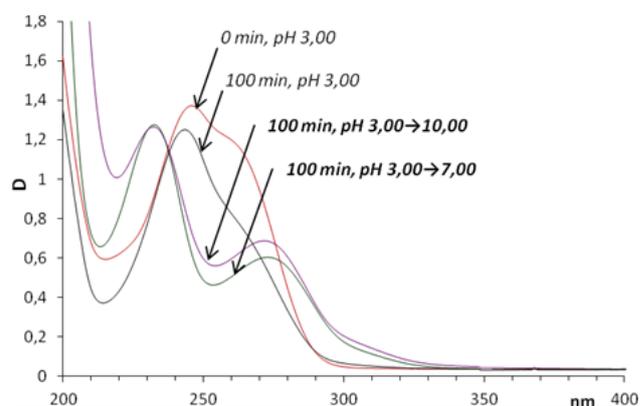


Рисунок 3 – Инкубация 0,1 мМ тиамин, 50 мМ фосфатный буфер, pH 3,00, ДРК-120, 0–100 мин. Спектр после возвращения pH к 7,00 и 10,00

Figure 3 – Incubation of 0.1 mM thiamine in 50 mM phosphate buffer (pH 3.00), UVB exposure using DRK-120, 0–100 minutes. Spectra after pH adjustment to 7.00 and 10.00

совпадающим с временем удерживания коммерческого 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина (рисунок 1).

Нами показано, что в кислой среде ТДФ, ТМФ, также как и тиамин, быстро разрушаются с образованием 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина, который не изменяется при дальнейшем облучении.

При воздействии ультрафиолета UVA или UVB диапазонов на водные растворы тиамин в нейтральной среде образуется не только 2-метил-4-аминометилпиримидин, но также образуется и формиламинопиримидин. Концентрация образовавшегося АР-NH₂ хорошо совпадает с содержанием нейтральной формы тиамин с закрытым тиазоловым циклом, а концентрация FAP хорошо коррелирует с содержанием тиольной формы тиамин в водном растворе. Значение pK перехода нейтральной формы тиамин в тиольную форму тиамин с раскрытым тиазоловым циклом равно 9,2. Поэтому в щелочной среде при значениях pH среды 10,0 и выше тиамин существует в основном в тиольной форме. При воздействии ультрафиолета на водные растворы в щелочной среде выход АР-NH₂ снижается, а выход FAP возрастает (рисунок 4). В сильнощелочной среде под действием ультрафиолета образуется только FAP.

Образовавшийся АР-NH₂ взаимодействует с ацетальдегидом, алифатическими альдегидами, пировиноградной кислотой с образованием циклических аддуктов. Реакция ацетальдегида с аминопиримидином (10⁻² М) протекает за несколько минут и фактически лимитируется скоростью дегидратации ацетальдегида, который гидратируется на 80 %.

При соотношении аминопиримидин/ацетальдегид 1:10 уже к исходу 20 мин практически весь аминопиримидин был связан необратимо с ацетальдегидом. На рисунке 5 представлен исходный спектр поглощения АР-NH₂, а также спектр поглощения АР-NH₂ после инкубации с ацетальдегидом.

Максимумы поглощения образовавшегося продукта реакции испытывают небольшой длинноволновый сдвиг по сравнению с АР-NH₂, а также возрастает интенсивность поглощения в области 260 нм.

Мы предполагаем, что реакция взаимодействия 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина с ацетальдегидом протекает через промежуточный этап образования основания Шиффа с алифатической аминогруппой, затем альдиминная связь взаимодействует с аминогруппой пиримидинового кольца с образованием циклического стабильного аддукта. На рисунке 6 схематически представлен механизм реакции взаимодействия 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина с ацетальдегидом.

Нами показано, что в кислой среде тиамин, быстро разрушается с образованием 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина, который не изменяется при дальнейшем облучении, в нейтральной среде. Кроме АР-NH₂ образуется также 2-метил-4-амино-5-формилметилпиримидин (FAP).

Строение полученного циклического продукта, образованного ацетальдегидом и 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидином, было доказано методами ЯМР, ИК-спектроскопии, а также подтверждено спектрами поглощения в области 220-350 нм. Значение m/z молекулярного иона циклического аддукта аминопиримидина с ацетальдегидом по

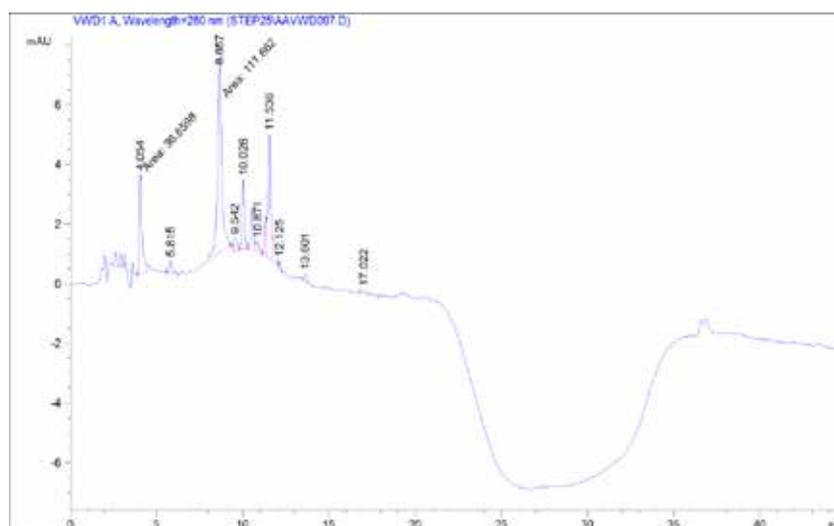


Рисунок 4 – Хроматограмма водного раствора тиамин после воздействия ультрафиолета UVB диапазона. Пик с Rt = 9.54 мин принадлежит тиамину, пик с Rt = 4.054 мин принадлежит 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидину, пик с Rt = 8.667 мин принадлежит формиламинопиримидину

Figure 4 – Chromatogram of an aqueous thiamine solution after exposure to UVB radiation. The peak with Rt = 9.54 min corresponds to thiamine, the peak with Rt = 4.054 min corresponds to 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine, and the peak with Rt = 8.667 min corresponds to formylaminopyrimidine

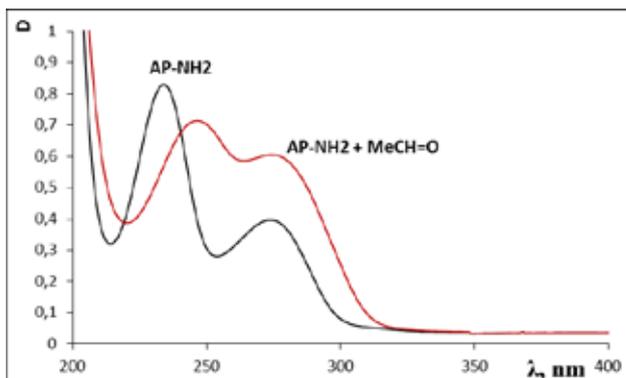


Рисунок 5 – Спектры поглощения водного раствора 2-метил-4-аминометилпиримидина и после длительной инкубации его в смеси с ацетальдегидом

Figure 5 – Absorption spectra of an aqueous solution of 2-methyl-4-aminomethylpyrimidine before and after prolonged incubation with acetaldehyde

данным масс-спектрологии составляет 163. На рисунке 7 представлен ЯМР-спектр продукта, полученного после взаимодействия 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина и ацетальдегида в D_2O . В ЯМР спектре данного продукта наблюдали следующие сигналы: дублетный сигнал 1,1 и 1,2 м.д. принадлежит метильной группе CH_3 в новом цикле образовавшегося продукта, CH_3 -группе пиримидинового кольца принадлежит сигнал с 2,1 м.д, метиленовая группа метиленового мостика формирует кватер, центрированный при 3,5 м.д. вследствие образования двух дублетов при расщеплении на атоме NH и атоме H пиримидинового кольца, дублет

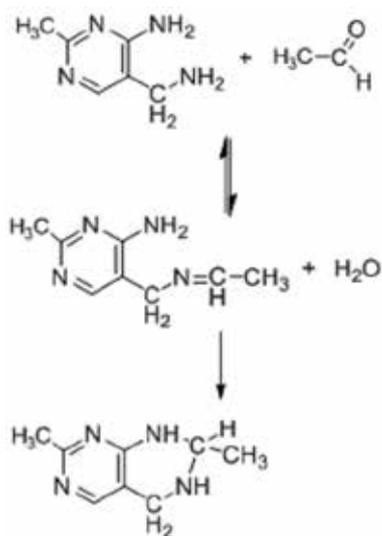


Рисунок 6 – Предполагаемая схема взаимодействия 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина с ацетальдегидом

Figure 6 – Proposed scheme of the interaction between 2-methyl-4-aminomethylpyrimidine and acetaldehyde

4,5 м.д. принадлежит одиночному протону атома углерода в новом цикле, пик 8,17 м.д. – протону пиримидинового кольца. В ЯМР спектре наблюдается небольшой сдвиг сигнала, принадлежащего протону пиримидинового кольца, в сравнении с этим же протоном исходного 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина.

В ИК спектре продукта уменьшается широкая интенсивная полоса деформационных колебаний аминогруппы в 4-ом положении пиримидинового кольца – 1670 см^{-1} . Принадлежность полосы к колебаниям NH_2 - группы следует из результатов быстрого дейтерообмена в пленках D_2O . Относительно слабые полосы 1680 см^{-1} и 1650 см^{-1} в ИК спектре продукта (спектр записан в KBr) принадлежат деформационным колебаниям двух различных NH-групп, одна из которых включена в водородную связь. В области валентных колебаний 3220 см^{-1} и 3400 см^{-1} также наблюдается две широкие полосы валентных колебаний NH-групп.

Так как в растворе CCl_4 продукт взаимодействия ацетальдегида с аминопиримидином имеет полосы 3425 см^{-1} и 3240 см^{-1} , то можно предположить, что длинноволновой сдвиг частоты колебаний одной из NH-групп, а также уширение полосы вызваны образованием внутримолекулярной H-связи. Мы предполагаем, что атом водорода взаимодействует одновременно с двумя атомами N (H находится между двумя атомами азота группировок NH).

Для пировиноградной кислоты также наблюдали взаимодействие с аминопиримидином. Предполагаемая схема реакции взаимодействия AP-NH₂ с пируватом и ЯМР-спектр циклического продукта, образованного аминопиримидином и пировиноградной кислотой, приведены на рисунке 8. Скорость реакции циклизации снижается с возрастанием длины цепи алифатического альдегида.

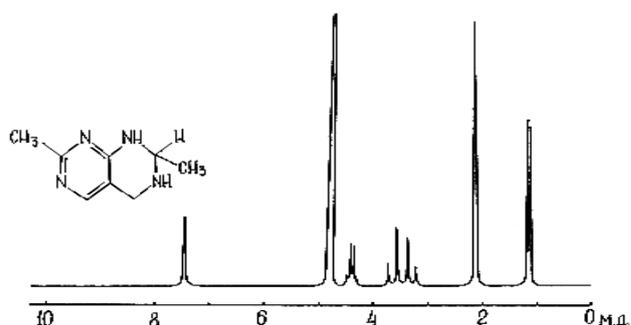


Рисунок 7 – ЯМР-спектр продукта, полученного после взаимодействия 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина и ацетальдегида

Figure 7 – NMR spectrum of the product obtained from the interaction between 2-methyl-4-aminomethylpyrimidine and acetaldehyde

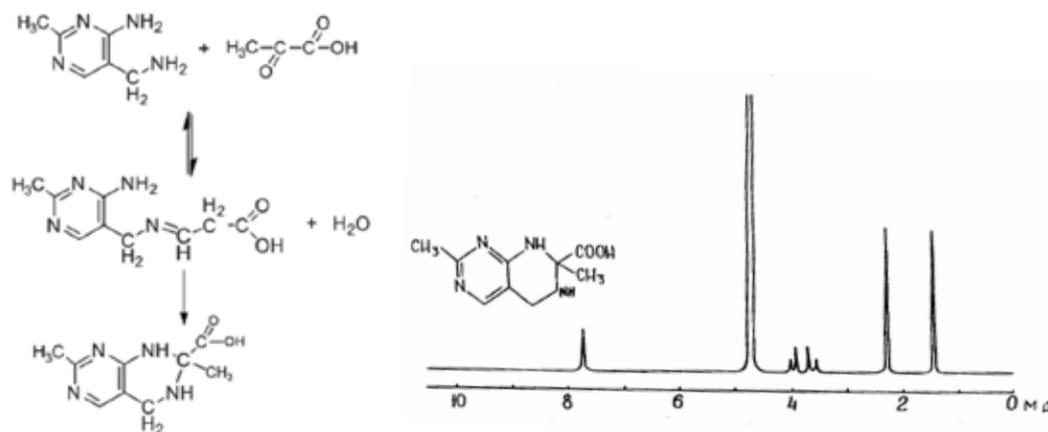


Рисунок 8 – Предполагаемая схема реакции взаимодействия 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина с пируватом и ЯМР-спектр продукта реакции

Figure 8 – Proposed reaction scheme of the interaction between 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine and pyruvate, and the NMR spectrum of the reaction product

Заклучение

Мы обнаружили, что один из продуктов фотолитиза тиамина (2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидин) может взаимодействовать с ацетальдегидом, алифатическими альдегидами и пирувиноградной кислотой с образованием циклических аддуктов. Реакция протекает через промежуточный этап образования основания Шиффа с последующим взаимодействием альдиминной связи с 4-аминогруппой пиримидинового кольца с об-

разованием циклического стабильного аддукта. Структура аддукта была подтверждена методами ЯМР, ИК- спектроскопии.

Мы предполагаем, что образование аддуктов ацетальдегида с аминопиримидиновым компонентом тиамина или тиаминдифосфата может служить маркером, свидетельствующим как о наличии ацетальдегида в организме, так и о фрагментации молекул тиамина или тиаминдифосфата под действием ультрафиолета солнечного излучения.

Финансирование

Исследование проведено при финансовой поддержке ГПНИ 4.1.11 НАН Беларуси, договор от 18 октября 2024 г. № 2024-29-214

Financing

The research was carried out with financial support from the State Research Program (SRP) 4.1.11 of the National Academy of Sciences (NAS) of Belarus, Agreement No. 2024-29-214 dated 18 October 2024.

Список использованных источников

1. Thiamine and selected thiamine antivitamin / A. Tylicki, Z. Łotowski, M. Siemiński [et al.] // *Biosci. Rep.* – 2018. – Vol. 38. – P. 1–23.
2. Breslow, R. On the mechanism of thiamine action. IV. Evidence from studies on model systems / R. Breslow // *J. Am. Chem. Soc.* – 1958. – Vol. 80. – P. 3719–3726.
3. Metzler, D. E. *Biochemistry. The Chemical Reactions of Living Cells* / D. E. Metzler // N. Y.: Academic Press. – 1977. – Vol. 2. – P. 937
4. Confirmation of Breslow's hypothesis: A carbene stable in liquid water / V. T. Raviprolu [et al.] // *Sci. Adv.* – 2025. – Vol. 11, № 15. – P. 9681.
5. Crystal structure of the thiamin diphosphate-dependent enzyme pyruvate decarboxylase from the yeast *Saccharomyces cerevisiae* at 2.3 Å resolution / P. Arjunan, T. Umland, F. Dyda [et al.] // *J. Mol. Biol.* – 1996. – Vol. 256, № 3. – P. 590–600.
6. Thiamine Deficiency Induced Neurochemical, Neuroanatomical, and Neuropsychological Alterations: A Reappraisal / R. Nardone, Y. Höller, M. Storti [et al.] // *ScientificWorldJournal.* – 2013. – Vol. 21. – P. 309143.
7. Calingasan, N.Y. Vascular endothelium is a site of free radical production and inflammation in areas of neuronal loss in thiamine-deficient brain / N.Y. Calingasan, G.E. Gibson // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2000. – Vol. 903. – P. 353–356.
8. Changes in Nitric Oxide Synthase-Containing Neurons in the Brain of Thiamine-Deficient Mice / H. Matsushita, Y. Takeuchi, K. Kosaka [et al.] // *Acta Histochem. Cytochem.* – 2000. – Vol. 33. – P. 67–72.
9. Frederikse, P. H. Thiamine Deficiency in Vivo Produces Fiber Cell Degeneration in Mouse Lenses / P. H. Frederikse, P. Farnsworth, J. S. Zigler // *J. Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1999. – Vol. 258. – P. 703–707.
10. Natera, J. Vitamin B1 as a scavenger of reactive oxygen species photogenerated by vitamin B2 / J. Natera, W. A. Massad, N. A. García // *Photochem. Photobiol.* – 2011. – Vol. 87. – P. 317–323.
11. Stepuro, I. I. Thiamine and vasculopathies / I. I. Stepuro // *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* – 2005. – Vol. 72. – P. 115–127.
12. Oxidation of thiamine on reaction with nitrogen dioxide generated by ferric myoglobin and hemoglobin in the presence of nitrite and hydrogen peroxide / I. Stepuro, A. Yu. Oparin, V. I. Stsiapura [et al.] // *Biochemistry (Moscow)* – 2012. – Vol. 77(1). – P. 41–55.

References

- 1 Tylicki A, Łotowski Z, Siemieniuk M, Ratkiewicz A. Thiamine and selected thiamine antivitamin – biological activity and methods of synthesis. *Biosci Rep*. 2018 Jan 10;38(1):BSR20171148. doi: 10.1042/BSR20171148.
- 2 Breslow R. On the mechanism of thiamine action. IV. Evidence from studies on model systems. *J. Am. Chem. Soc.* 1958. 80, 14:3719-3726. doi.org/10.1021/ja01547a064.
- 3 Metzler D. E. *Biochemistry. The Chemical Reactions of Living Cells*. N. Y.: Academic Press. 1977. 2: 937. doi.org/10.1016/B978-0-12-492550-2.X5001-4.
- 4 Raviprolu VT, Gregory A, Banda I, McArthur SG, McArthur SE, Goddard WA 3rd, Musgrave CB 3rd, Lavallo V. Confirmation of Breslow's hypothesis: A carbene stable in liquid water. *Sci Adv*. 2025 Apr 11;11(15):eadr9681. doi: 10.1126/sciadv.adr9681.
- 5 Arjunan P, Umland T, Dyda F, Swaminathan S, Furey W, Sax M, Farrenkopf B, Gao Y, Zhang D, Jordan F. Crystal structure of the thiamin diphosphate-dependent enzyme pyruvate decarboxylase from the yeast *Saccharomyces cerevisiae* at 2.3 Å resolution. *J Mol Biol*. 1996 Mar 1;256(3):590–600. doi: 10.1006/jmbi.1996.0111.
- 6 Nardone R, Höller Y, Storti M, Christova M, Tezzon F, Golaszewski S, Trinka E, Brigo F. Thiamine deficiency induced neurochemical, neuroanatomical, and neuropsychological alterations: a reappraisal. *ScientificWorldJournal*. 2013 Oct 21;2013:309143. doi: 10.1155/2013/309143.
- 7 Calingasan NY, Gibson GE. Vascular endothelium is a site of free radical production and inflammation in areas of neuronal loss in thiamine-deficient brain. *Ann N Y Acad Sci*. 2000 Apr;903:353–6. doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06386.x.
- 8 Matsushita H, Takeuchi Y, Kosaka K, Fushiki S, Kawata M, Sawada T. Changes in Nitric Oxide Synthase-Containing Neurons in the Brain of Thiamine-Deficient Mice. *ActaHistochemicaetCytochemica*. 2000. 33(2):67–72
- 9 Frederikse PH, Farnsworth P, Zigler JS Jr. Thiamine deficiency in vivo produces fiber cell degeneration in mouse lenses. *BiochemBiophys Res Commun*. 1999 May 19;258(3):703–7. doi: 10.1006/bbrc.1999.0560.
- 10 Natera J, Massad WA, García NA. Vitamin B1 as a scavenger of reactive oxygen species photogenerated by vitamin B2. *PhotochemPhotobiol*. 2011 Mar-Apr;87(2):317–23. doi: 10.1111/j.1751-1097.2010.00867.x.
- 11 Stepuro I. Thiamine and vasculopathies. *Prostaglandins LeukotEssent Fatty Acids*. 2005 Feb;72(2):115–27. doi: 10.1016/j.plefa.2004.10.009.
- 12 Stepuro I, Oparin Yu, Stsiapura I, Maskevich A, Titov Yu. Oxidation of thiamine on reaction with nitrogen dioxide generated by ferric myoglobin and hemoglobin in the presence of nitrite and hydrogen peroxide, *Biochemistry (Moscow)*. 2012 Jan; 77(1):doi:41-55.10.1134/S0006297912010051.

INTERACTION OF ACETALDEHYDE AND ALIPHATIC ALDEHYDES WITH THE AMINOPYRIMIDINE COMPONENT OF THIAMINE RESULTING IN THE FORMATION OF CYCLIC ADDUCTS

I.I. Stepuro¹, E.G. Badun¹, A.A. Tokareva¹, A.V. Shuriberko¹, V.Yu. Smirnov¹, V.I. Stepuro³

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;*

³*University of Warsaw, Warsaw, Republic of Poland*

Background. Photochemical reactions induced by ultraviolet (UV) irradiation are responsible for a number of damaging biological effects leading to structural disruptions of many biologically important molecules, enzyme inactivation, etc.

Objective: To study the formation of cyclic adducts of acetaldehyde and aliphatic aldehydes with the photolysis products of thiamine, thiamine monophosphate, and thiamine diphosphate.

Materials and Methods. The study employed chromatographic (HPLC) methods, NMR spectroscopy, IR spectroscopy, and absorption spectroscopy.

Results. Exposure of aqueous solutions of vitamin B1 (thiamine) and its phosphates to UV light results in molecular fragmentation, yielding 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine as the main photoproduct in acidic media, or 2-methyl-4-amino-5-methylpyrimidine and formylpyrimidine in neutral environments.

2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine was found to react with acetaldehyde, aliphatic aldehydes, and pyruvic acid to form cyclic adducts. The reaction proceeds through an intermediate stage of Schiff base formation, followed by the interaction of the aldimine bond with the 4-amino group of the pyrimidine ring, resulting in a stable cyclic adduct characterized by $m/z = 163$.

Conclusion. Cyclic adducts formed by the reaction of acetaldehyde or aliphatic aldehydes with the aminopyrimidine component, generated during thiamine photolysis, were detected and characterized. The feasibility of such reactions under physiological conditions is discussed.

Keywords: ultraviolet light, acetaldehyde-aminopyrimidine adducts, photolysis of thiamine and thiamine diphosphate.

For citation: Stepuro II, Badun EG, Tokareva AA, Shuriberko AV, Smirnov VYu, Stepuro VI. Interaction of acetaldehyde and aliphatic aldehydes with the aminopyrimidine component of thiamine resulting in the formation of cyclic adducts. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2025, vol. 4, no. 1(6). pp. 62–68 (in Russian).

Поступила 03.05.2025

ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ КОМПОЗИЦИИ ХЛОРОГЕНОВОЙ КИСЛОТЫ И НАРИНГИНА *IN VITRO* И ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ АЛКОГОЛЬНОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

*Л. И. Надольник, Т. А. Бородина, И. А. Кузьмицкая,
А. В. Романчук, А. В. Туманов, В. Ч. Полубок, Е. Б. Белоновская*
Институт биохимии биологически активных соединений
Национальной академии наук Беларуси,
г. Гродно, Республика Беларусь

Введение. Основными механизмами развития алкогольного поражения сердца (алкогольная кардиомиопатия, АКМП) являются окислительный стресс и повреждение митохондрий (МХ), что обуславливает актуальность разработки антиоксидантных композиций для снижения степени повреждения внутренних органов при хронической алкогольной интоксикации (ХАИ).

Цель исследования: оценить антиоксидантные эффекты композиций растительных полифенолов хлорогеновой кислоты и нарингина в исследованиях *in vitro*, а также в сердце и печени крыс при моделировании АКМП.

Материалы и методы. Исследования композиций хлорогеновой кислоты (ХГК) и нарингина (НГ) (соотношение 4:1, 2:1 и 1:1) выполнено на МХ, изолированных из сердца и печени крыс *in vitro*, по влиянию на концентрацию альдегидных продуктов ПОЛ (ТБКРС), глутатиона (GSH) и активность АО ферментов. Тестирование композиций ХГК+НГ (40+20 мг/кг) проведено на модели АКМП.

Результаты. При АКМП повышается концентрация ТБКРС; введение композиции ХГК+НГ (2:1) нормализовало данный показатель в сердце, печени, сыворотке крови, эритроцитах на фоне употребления этанола. АО свойства композиций *in vitro* проявлялись снижением маркеров окислительного стресса, повышением уровня GSH, оптимизацией активности АО ферментов в МХ печени и сердца в присутствии гидроперекиси трет-бутила (tBHP). Композиция ХГК+НГ снижала активность ПОЛ в нативных МХ печени и сердца.

Заключение. Показано, что композиция ХГК+НГ проявляет АО свойства при ХАИ, нормализуя уровень ТБКРС в сердце, печени крыс, значительно уменьшает проявления индуцируемой tBHP *in vitro* активации ПОЛ в МХ, стабилизирует мембраны МХ.

Ключевые слова: митохондрии сердца и печени, антиоксидантные свойства, хлорогеновая кислота, нарингин, глутатион, альдегидные продукты ПОЛ.

Для цитирования: Исследования антиоксидантных свойств композиции хлорогеновой кислоты и нарингина *in vitro* и при моделировании алкогольной кардиомиопатии / Л. И. Надольник, Т. А. Бородина, И. А. Кузьмицкая [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2025. – Т. 4, № 1(6). – С. 69–77.

Введение

Хроническое употребление этанола является причиной развития социально значимых заболеваний человека. Наиболее актуально алкогольное поражение сердца и печени, что проявляется развитием алкогольной кардиомиопатии (АКМП) и алкогольной жировой болезни печени (АЖБП). Механизмы этих заболеваний окончательно не выяснены, но одним из механизмов формирования АКМП рассматривается окислительный стресс [1], а также митохондриальная дисфункция [2], развитие воспаления и фиброза. Антиоксиданты не включены в перечень лекарств, используемых при лечении алкогольных поражений сердца; однако значительное количество экспериментальных и клинических исследований свидетельствует

о высокой эффективности этого класса соединений при алкогольной кардиомиопатии (АКМП) [3, 4]. Среди антиоксидантов (АО), для коррекции патологии сердечно-сосудистой системы, изучается ресвератрол – полифенол из косточек винограда, содержащийся в красном вине [5].

Для проведения исследований нами выбраны два растительных полифенола: хлорогеновая кислота (ХГК; Chlorogenic Acid) и нарингин (НГ; naringin). Хлорогеновая кислота (ХГК, 1,3,4,5-тетрагидроксициклогексан карбоновая кислота 3-(3,4-дигидроксициннамат) в достаточном количестве содержится в зернах зеленого кофе, в меньших количествах в некоторых лекарственных растениях [6]. Нарингин – 4',5,7-тригидроксифлавонон-7-рамноглокозид, представляет собой основной флавоно-

новый гликозид, получаемый из грейпфрутов и других цитрусовых. НГ обладает многочисленными биологическими свойствами: антиоксидантные, противовоспалительные, антиапоптотические. Показано, что введение НГ улучшает пост-ишемическое восстановление функциональных параметров сердца [7]. Предполагаем, что ХГК и НГ могут обладать хорошими кардио- и гепатопротекторными свойствами при использовании на фоне хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) для коррекции развития АКМП.

Цель работы – оценить антиоксидантные эффекты композиций растительных полифенолов хлорогеновой кислоты и нарингина в исследованиях *in vitro*, а также в сердце и печени крыс при моделировании АКМП.

Материалы и методы

Исследования выполнены на митохондриях (МХ), изолированных из сердца и печени контрольных животных. АО свойства композиций растительных полифенолов ХГК и НГ в соотношении 4:1, 2:1, 1:1 при индукции свободнорадикальных процессов добавлением в среду инкубации 25 мкл (1 ммоль/л) гидропероксида трет-бутила (*tert-butyl hydroperoxide*, tBHP), оценивались по влиянию на уровень альдегидных продуктов ПОЛ (ТБКРС), концентрацию глутатиона (GSH), а также активность АО ферментов глутатионредуктазы (ГР), глутатионтрансферазы (ГТ).

Выделение МХ проведено из печени и сердца контрольных животных. методом дифференциального центрифугирования [8]. Использовали среду выделения, содержащую 0,25 М сахарозу, 0,025 М Трис-НСl, 0,0005 М ЭДТА и 0,1 % БСА, pH 7,4. Сердце гомогенизировали тefлоновым пестиком в среде выделения при +4° С. Ядерную фракцию удаляли центрифугированием при 650 g (10 мин, +4 °С) (центрифуга Hermle Z 32 НК, «Hermle Labortechnik GmbH», Германия). Митохондрии осаждали центрифугированием при 11000 g (10 мин, +4 °С) и промывали в среде выделения. Печень крыс гомогенизировали в среде выделения (0,25 М сахароза, 0,001 М ЭДТА, 0,02 М трис-НСl) в соотношении 1:10. Митохондрии изолировали методом дифференциального центрифугирования (600g, 8500g ротор Heraeus #3335) на центрифуге Heraeus «Biofuge Stratos» (Германия) при +4 °С.

Определение ТБКРС проводилось в МХ, тканях печени и сердца крыс. К 0,25 мл гомогената ткани добавляли 1,5 мл 1 % ортофосфорной кислоты и 0,5 мл 0,6 % водного раствора 2-тиобарбитуровой кислоты (ТБК). Смесь инкубировали на кипящей водяной бане в течение 45 мин. Далее её охлаждали в ледяной бане, добавляли 2 мл бутано-

ла-1, перемешивали, центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин, измеряли оптическую плотность бутанольной фазы при длине волны 532 нм.

Содержание GSH определяли в реакции с реактивом Элмана (ДТНБК – 5,5'-дитиобис-2-нитробензойная кислота). Гомогенат ткани (10 %) или гемолизат эритроцитов, депротеинизированный хлорной кислотой, объемом 0,4 мл, центрифугировали, полученный супернатант нейтрализовали до pH 7,6 добавлением 0,1 мл охлажденного 2,5 М K₃PO₄. После последующего центрифугирования весь супернатант смешивали с 2 мл фосфатного буфера (pH 8,0), содержащего 0,004 % реактива Элмана. Оптическую плотность регистрировали при 412 нм.

Моделирование АКМП проведено хронической алкоголизацией крыс (на крысах-самцах породы Вистар) с массой тела в начале эксперимента 180–200 г (n=80). На первом этапе исследования животных рандомизировали на 2 группы: 1 – интактные животные (n=20), получавшие сухой корм и свободный доступ к воде; 2 – животные (n=60), содержащиеся на сухом корме и получавшие в качестве единственного источника питья 10 % раствор этанола (ХАИ). Количество потребляемого раствора этанола регистрировали еженедельно. Спустя 24 недели алкоголизированных животных рандомизировали на следующие группы (n=10): алкоголизированный контроль; алкоголизированные крысы + ХГК, в дозе 40 мг/кг; алкоголизированные крысы + НГ, в дозе 40 мг/кг; алкоголизированные крысы, получавшие композицию исследуемых препаратов ХГК (40 мг/кг) + НГ (20 мг/кг). Для введения были использованы коммерческие препараты ХГК и НГ («Tokyo Chemical Industry», Япония), композиция готовилась непосредственно перед введением (использовался водный раствор).

Композицию полифенолов вводили животным ежедневно внутрижелудочно в дозе 60 мг/кг (2,0 мл на 200 г) с помощью металлического зонда в течение 28 дней (с 25 по 28 неделю эксперимента) на фоне продолжающегося употребления этанола. Животные интактной группы и алкоголизированного контроля получали эквивалентный объем воды. Через сутки после последнего введения исследуемых препаратов животных выводили из опыта путем декапитации. Печень и сердце частично использовали для выделения МХ фракции.

Статистический анализ результатов проведен с использованием общепринятых критериев в программе «Statistica 12». Отклонение распределения значений показателя в выборке от нормального оценивали с помощью критерия Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Данные представлены в виде M±SD, где M – среднее, SD – стан-

дартное отклонение, в случае нормального распределения; в виде Median [Q25:Q75] в случае не нормального распределения, где Median – медиана, а Q25:Q75 – нижний и верхний квартиль, соответственно. Сравнение количественных показателей между группами проводилось с помощью критерия Тьюки (при нормальном распределении в группах) или с помощью критерия Краскелла-Уоллиса, при отсутствии нормального распределения. Статистически значимыми считались результаты при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Тестирование композиций ХГК и НГ на изолированных МХ печени крыс *in vitro* проведено в присутствии tBHP (повышение концентрации альдегидных продуктов в МХ составляло 350–380 %), – рисунок 1 а. Добавление в среду композиции ХГК+НГ (1:1) снижало наработку ТБКРС на 24,72 %, а композиций ХГК+НГ (2:1) и ХГК+НГ (4:1) – еще более значительно, по сравнению с группой tBHP, соответственно, на 31,22 % ($p < 0,05$) и 32,17 % (рисунок 1 а). Концентрация GSH повышалась в МХ печени на 17,22 % ($p < 0,05$) в присутствии композиции ХГК+НГ (1:1), на 20,46 (2:1) и 23,78 % (4:1) ($p < 0,05$) – рисунок 1 б. Поскольку наиболее значимые изменения в снижении маркеров окислительного стресса выявлены для композиций, где содержание ХГК превышает НГ в 4 и 2 раза, полагаем, что АО свой-

ства в данных композициях обусловлены в большей степени ХГК, чем НГ.

Интересно, что при инкубации МХ печени в тех же условиях, но в отсутствии в среде tBHP, также проявлялись АО свойства полифенолов, – рисунок 2. В присутствии композиций ХГК+НГ (1:1, 2:1, 4:1) в МХ повышалась концентрация GSH по сравнению с контрольными образцами МХ, не содержащими ХГК+НГ. Уровень GSH при тестировании 400 мкг композиций ХГК+НГ повысился на 23,74 % ($p < 0,05$), 21,3 % ($p < 0,05$) (для композиций ХГК+НГ – 2:1, 4:1), что, возможно, связано с повышением активности ГР. Концентрации ТБКРС в этих же пробах МХ снижались при добавлении ХГК+НГ (1:1) и ХГК+НГ (4:1) в одинаковой степени (на 12,31 %), но различия не были статистически значимы.

Полученные результаты представляют защитные АО эффекты тестируемых композиций полифенолов, которые важны для оптимизации функции МХ печени при индукции окислительного стресса, а также в условиях нормальной физиологической функции МХ.

В МХ, изолированных из сердца крыс, эффекты композиций несколько отличались от эффектов, выявленных в МХ печени (рисунок 3). Инкубация МХ сердца в присутствии tBHP проявлялась менее значимым повышением концентрации альдегид-

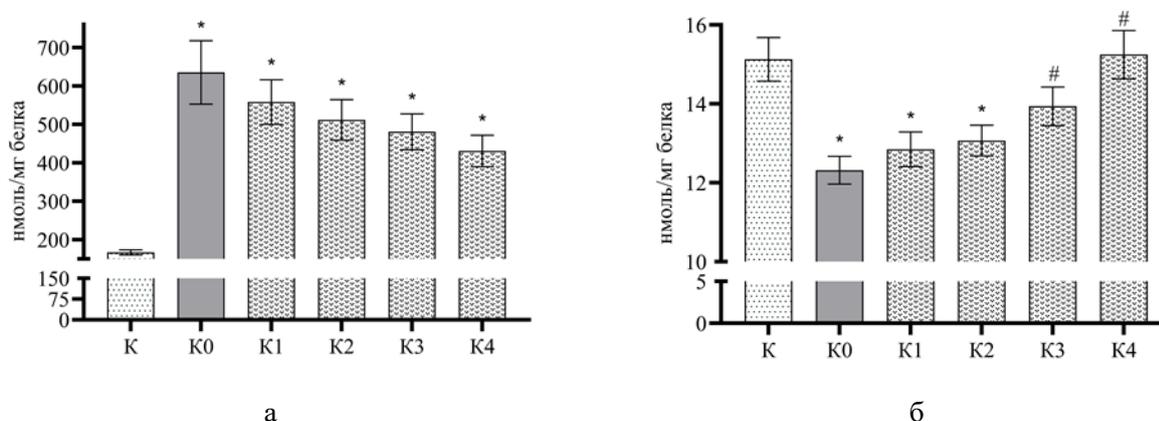


Рисунок 1 – Влияние композиции хлорогеновая кислота:нарингин (4:1) на концентрацию ТБКРС (нмоль/мг белка) (а) и концентрацию GSH (нмоль/мг белка) (б) в митохондриях печени крыс при инкубации в присутствии tBHP: – проба К – митохондрии; K0 – митохондрии + tBHP; добавление композиции: K1 – 20 мкг, K2 – 100 мкг, K3 – 200 мкг, K4 – 400 мкг.

Примечание: * – $p < 0,05$ по отношению к группе контроль (К)
– $p < 0,05$ по отношению к группе, содержащей tBHP (K0)

Figure 1 – Effect of the chlorogenic acid:naringin (4:1) composition on the TBARS concentration (nmol/mg protein) (a) and GSH concentration (nmol/mg protein) (b) in rat liver mitochondria during incubation in the presence of tBHP: – sample K – mitochondria; K0 – mitochondria + tBHP; addition of the composition: K1 – 20 μ g, K2 – 100 μ g, K3 – 200 μ g, K4 – 400 μ g.

Note: * – $p < 0.05$ relative to the control group (K)
– $p < 0.05$ relative to the group containing tBHP (K0)

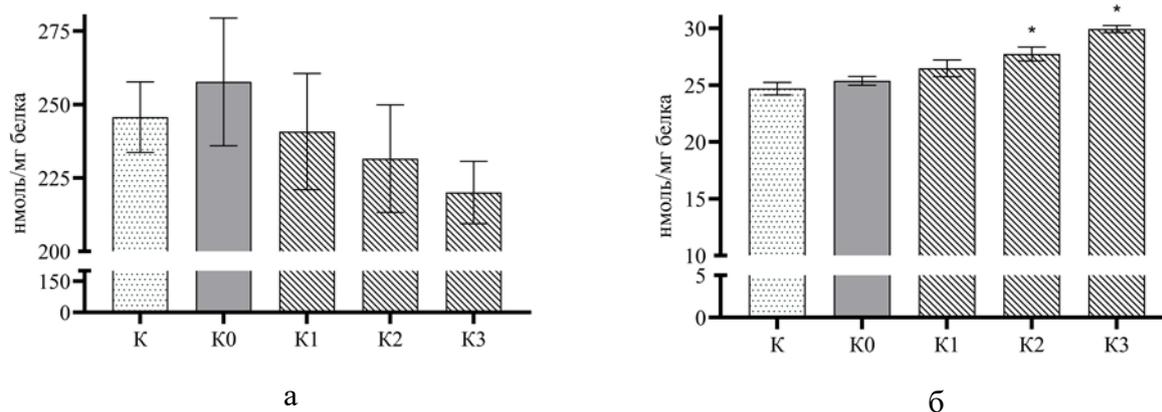


Рисунок 2 – Влияние композиции хлорогеновая кислота:нарингин (4:1) на концентрацию ТБКРС (нмоль/мг белка) (а) и концентрацию GSH (б) в митохондриях печени крыс при инкубации в отсутствии тВНР; К – митохондрии, добавление композиции: К0 – 20 мкг, К1 – 100 мкг, К2 – 200 мкг, К3 – 400 мкг.

Примечание: * – $p < 0.05$ по отношению к группе контроль (К)

Figure 2 – Effect of the chlorogenic acid:naringin (4:1) composition on the concentration of TBARS (nmol/mg protein) (a) and the concentration of GSH (b) in rat liver mitochondria during incubation in the absence of tBHP; К – mitochondria, addition of the: К0 – 20 μg , К1 – 100 μg , К2 – 200 μg , К3 – 400 μg .

Note: * – $p < 0.05$ in relation to the control group (K)

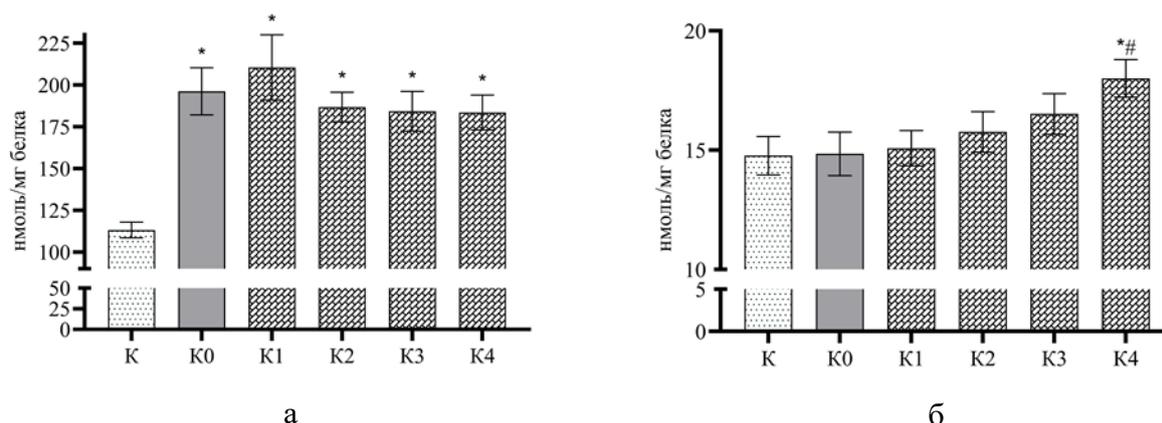


Рисунок 3 – Влияние композиции хлорогеновая кислота:нарингин (4:1) на концентрацию ТБКРС (нмоль/мг белка) (а) и концентрацию GSH (нмоль/мг белка) (б) в митохондриях сердца крыс при инкубации в присутствии тВНР: – проба К – митохондрии; К0 – митохондрии + тВНР; добавление композиции: К1 – 20 мкг, К2 – 100 мкг, К3 – 200 мкг, К4 – 400 мкг.

Примечание: * – $p < 0.05$ по отношению к группе контроль (К).

– $p < 0.05$ по отношению к группе, содержащей тВНР (K0)

Figure 3 – Effect of the chlorogenic acid:naringin (4:1) composition on the TBARS concentration (nmol/mg protein) (a) and GSH concentration (nmol/mg protein) (b) in rat heart mitochondria during incubation in the presence of tBHP: – sample K – mitochondria; K0 – mitochondria + tBHP; addition of the composition: К1 – 20 μg , К2 – 100 μg , К3 – 200 μg , К4 – 400 μg .

Note: * – $p < 0.05$ relative to the control group (K),

– $p < 0.05$ relative to the group containing tBHP (K0)

ных продуктов ПОЛ (на 73,3–76,7 %, $p < 0,05$). Влияние композиций полифенолов на концентрацию ТБКРС в МХ сердца было незначительным, при добавлении 400 мкг статистически значимых различий не выявлено, изменения составляли 3,3–9,6 % (рисунок 3 а).

Тем не менее, закономерности в повышении концентрации GSH в МХ сердца практически не отличались от МХ печени. Выявлено повышение уровня GSH в присутствии композиций ХГК+НГ, 400 мкг в пробе, соответственно: на 24,8 % (2:1), ($p < 0,05$); 21,3 % (4:1), ($p < 0,05$), (рисунок 3 б).

Полученные результаты свидетельствуют, что растительные полифенолы ХГК+НГ обладают защитными эффектами при tBHP-индуцированной активации свободнорадикальных процессов в МХ печени и сердца, повышая уровень GSH, что предполагает их важный вклад в поддержание на должном уровне энергетического метаболизма гепатоцитов и кардиомиоцитов в условиях ХАИ. Положительные эффекты выявлены у композиции ХГК+НГ (2:1) в исследованиях на экспериментальных животных (результаты представлены ниже).

В МХ печени и сердца измерялась активность антиоксидантных ферментов ГР и ГТ. Для анализа были использованы образцы МХ, в которых определялась концентрация ТБКРС и GSH (рисунки 1-3). Внесение в среду инкубации tBHP повышало активность ГР в МХ печени (на 16,9–21,8 %, $p < 0,05$ для всех образцов) и практически не влияло на активность ГТ (рисунок 4 а, б). На фоне композиции ХГК+НГ (4:1) активность ГР снижалась по сравнению с группой tBHP только при добавлении наиболее высокой дозы (400 мкг) на 14,2 % ($p < 0,05$).

В МХ сердца крыс, в отличие от МХ печени, добавление в среду tBHP незначительно повышало активность ГР (на 6,8–7,9 %), но на фоне композиции ХГК+НГ (4:1) активность ГР повыша-

лась при дозах 200 мкг (на 21,7 %) и 400 мкг (на 20,4 %), результаты не были статистически значимы (рисунок 5 а), но, это согласуется с повышением концентрации в этих пробах МХ уровня GSH (рисунок 3 б).

Отсутствие достоверных изменений в ряде выполненных экспериментов обусловлено значительной дисперсией данных, что характерно для исследований, проводимых *in vitro*, особенно если учесть, что объектом являлись МХ печени и сердца - весьма сложный объект для исследования.

Исследование антиоксидантных свойств растительных полифенолов при алкогольной кардиомиопатии у крыс. Результаты исследования АО свойств композиций ХГК+НГ в печени и сердце крыс при АКМП представлены в таблицах 1, 2. Показано, что развитие АКМП при ХАИ проявляется значительной активацией процессов ПОЛ в сердце и печени. Концентрация ТБКРС в сердце повышалась на 123,48 %, ($p < 0,05$), в печени на 115,12 %, ($p < 0,05$), по сравнению с группой интактный контроль, что свидетельствует о выраженной активации свободнорадикальных процессов при ХАИ.

Введение композиции ХГК+НГ (2:1) в течение 4 недель снижало концентрацию ТБКРС на 40,93 % ($p < 0,05$) в сердце и на 50,50 % ($p < 0,05$)

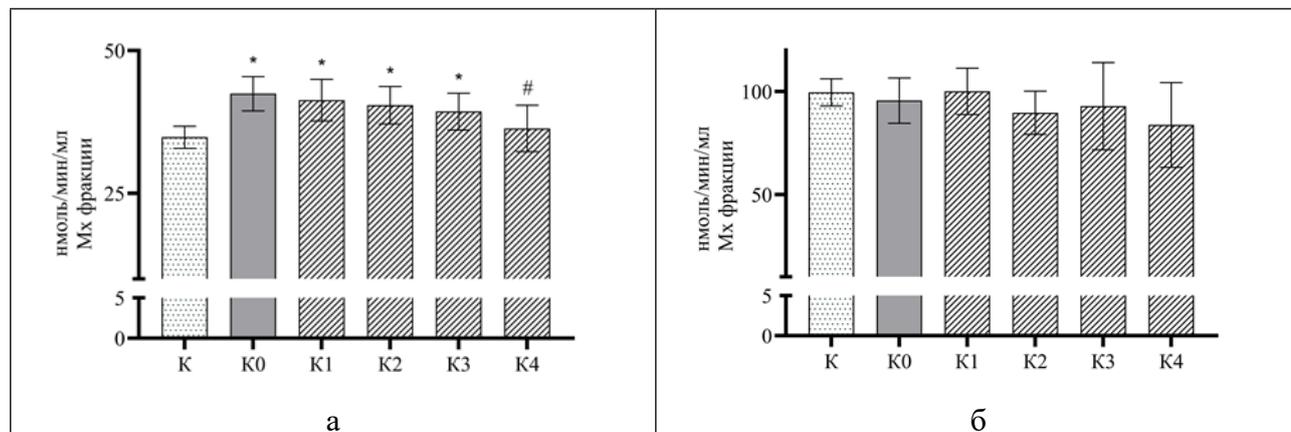


Рисунок 4 – Влияние композиции хлорогеновая кислота:нарингин (4:1) на активность ГР (нмоль/мин/мл МХ фракции) (а) и активность ГТ (нмоль/мин/мл МХ фракции) (б) в митохондриях печени крыс при инкубации в присутствии tBHP: – проба К – митохондрии; K0 – митохондрии + tBHP; добавление композиции: K1 – 20 мкг, K2 – 100 мкг, K3 – 200 мкг, K4 – 400 мкг.

Примечание: * – $p < 0,05$ по отношению к группе контроль (К);
– $p < 0,05$ по отношению к группе, содержащей tBHP (K0)

Figure 4 – Effect of the chlorogenic acid:naringin (4:1) composition on GP activity (nmol/min/ml MX fraction) (a) and GT activity (nmol/min/ml MX fraction) (b) in rat liver mitochondria during incubation in the presence of tBHP: – sample K – mitochondria; K0 – mitochondria + tBHP; addition of the composition: K1 – 20 µg, K2 – 100 µg, K3 – 200 µg, K4 – 400 µg.

Note: * – $p < 0,05$ in relation to the control group (K);
– $p < 0,05$ in relation to the group containing tBHP (K0)

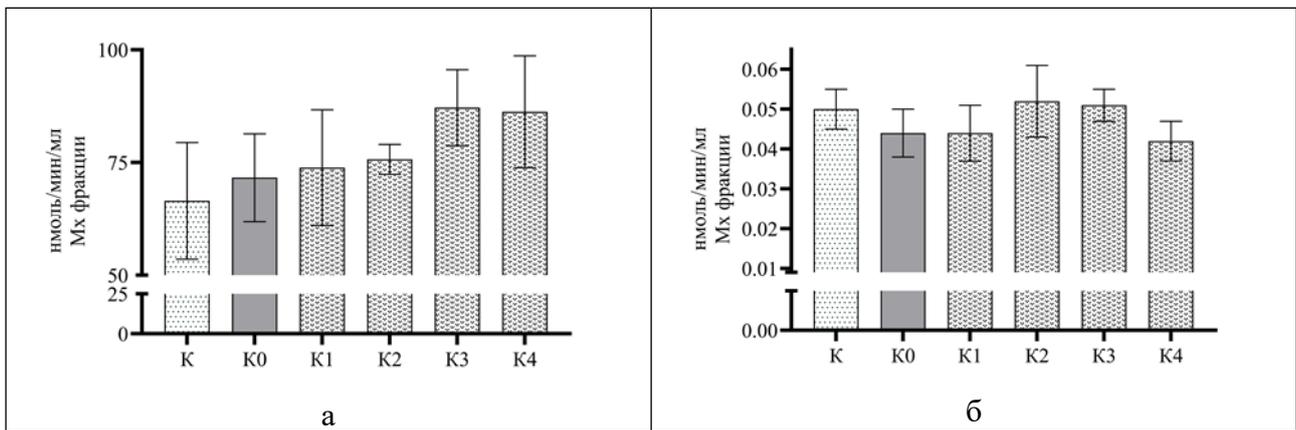


Рисунок 5 – Влияние композиции хлорогеновая кислота:нарингин (4:1) на активность ГР (нмоль/мин/мл МХ фракции) (а) и активность ГТ (нмоль/мин/мл МХ фракции) (б) в митохондриях сердца крыс при инкубации в присутствии tBHP: – проба К – митохондрии; К0 – митохондрии + tBHP; добавление композиции: К1 – 20 мкг, К2 – 100 мкг, К3 – 200 мкг, К4 – 400 мкг.

Примечание: * – $p < 0,05$ по отношению к группе контроль (К)

Figure 5 – Effect of the chlorogenic acid:naringin (4:1) composition on GH activity (nmol/min/ml MX fraction) (a) and GT activity (nmol/min/ml MX fraction) (b) in rat heart mitochondria during incubation in the presence of tBHP: – sample K – mitochondria; K0 – mitochondria + tBHP; addition of the composition: K1 – 20 μ g, K2 – 100 μ g, K3 – 200 μ g, K4 – 400 μ g.

Note: * – $p < 0,05$ in relation to the control group (K)

в печени крыс, по сравнению с группой АКМП, что характеризует её антиоксидантные эффекты на фоне ХАИ – таблица 1, 2. Механизмы данных эффектов представляют интерес, они в определенной степени могут быть обусловлены влиянием композиции на активность ферментов первой линии защиты (супероксиддисмутазы и каталазы) [9], а также проявлением полифенолами тестируемой композиции свойств обезвреживания свободных радикалов кислорода.

Тем не менее, нельзя не отметить практически полную нормализацию концентрации ТБКРС в сердце и печени крыс на фоне введения в течение 28 суток композиции ХГК+НГ (2:1); в сердце и печени этих животных ранее показано повышение активности ГР и ГТ, сниженных при АКМП.

Уровень окислительного стресса оценили также в эритроцитах крыс. Содержание продуктов ПОЛ

статистически достоверно увеличилось в группе животных при АКМП (в 1,81 раза, $p < 0,05$). Введение композиции полифенолов проявляло АО эффект, уменьшая уровень ТБКРС до контрольных значений (более чем в 2 раза, $p < 0,05$). Мы не обнаружили изменений содержания GSH, он сохранялся в эритроцитах на уровне контрольных значений (таблица 3).

На МХ, изолированных из сердца крыс при моделировании АКМП, исследовали влияние композиции на изменение мембранного потенциала в условиях ХАИ; оценивалось изменение мембранного потенциала при внесении в среду экзогенных ионов кальция (таблица 3). Изменение мембранного потенциала в данном случае является следствием открытия mPTP и истечения протонов. Показано, что АКМП достоверно стимулирует процесс открытия mPTP в МХ кардио-

Таблица 1 – Влияние композиции хлорогеновая кислота и нарингин (2:1) на концентрацию GSH и ТБКРС в ткани сердца крыс при ХАИ, (n=12)

Table 1 – Effect of the composition of chlorogenic acid and naringin (2:1) on the concentration of GSH and TBARS in rat heart tissue during CAI, (n=12)

Показатели	Контроль интактный	АКМП	АКМП+ (ХГК+НГ)
GSH, мкМ/г ткани	3,78 [3,33;3,84]	3,44 [3,23;4,05]	3,80 [3,61;3,99]
ТБКРС, нМ/г ткани	48,32 [44,48;51,63]	107,27 [84,54;199,10] *	63,36 [60,73;70,18]

Примечание – * – $p < 0,05$ по сравнению с группой интактный контроль; # – $p < 0,05$ по сравнению группой АКМП.

Note – * – $p < 0,05$ compared to the intact control group; # – $p < 0,05$ compared to the ACMP group.

Таблица 2 – Влияние композиции хлорогеновая кислота и нарингин (2:1) на концентрацию GSH и ТБКРС в ткани печени крыс при ХАИ, (n=12)

Table 2 – Effect of the composition of chlorogenic acid and naringin (2:1) on the concentration of GSH and TBARS in the liver tissue of rats with chronic atherosclerosis, (n=12)

Показатели	Контроль интактный	АКМП	АКМП+ (ХГК+НГ)
GSH, мкмоль/г ткани	13,12 [11,93:14,33]	8,67 [7,22:9,47] *	9,50 [7,37:11,05] *
ТБКРС, нмоль/г ткани	89,71 [86,65:106,91]	192,99 [137,95:245,06] *	95,52 [83,72:162,83]

Примечание: * p < 0,05 по сравнению с группой интактный контроль; # – p < 0,05 по сравнению с группой АКМП.

Note: * p < 0.05 compared to the intact control group; # – p < 0.05 compared to the ACMP group.

Таблица 3 – Влияние композиции хлорогеновая кислота и нарингин (2:1) на уровень GSH и концентрацию ТБКРС в эритроцитах крыс; влияние ионов кальция на мембранный потенциал изолированных МХ сердца крыс, (n=6)

Table 3 – Effect of the composition of chlorogenic acid and naringin (2:1) on the level of reduced glutathione and the concentration of TBARS in rat erythrocytes and the effect of calcium ions on the membrane potential of isolated rat heart mitochondria, (n=6)

Показатели	Контроль интактный	АКМП	АКМП+ (ХГК+НГ)
GSH, ммоль/л	1,94 [1,68, 2,20]	1,73 [1,49, 1,98]	1,86 [1,54, 1,93]
ТБКРС, нмоль/мл клеток	2,13 [1,74, 2,37]	3,86 [3,59, 4,23] *	1,84 [1,56, 2,07] #
Изменение мембранного потенциала, $(I_{fl} - I_{Ca}) / (I_{FCCP} - I_{fl})$, отн.ед.	0,24 [0,21, 0,27]	0,55 [0,49, 0,57] *	0,33 [0,30, 0,37] #

Примечание: * p < 0,05 по сравнению с группой интактный контроль; # – p < 0,05 по сравнению с группой АКМП.

Note: * p < 0.05 compared to the intact control group; # – p < 0.05 compared to the ACMP group.

миоцитов, что проявляется повышением мембранного потенциала в 2,29 раз (p < 0,05). Введение композиции ХГК+НГ (2:1) нормализует устойчивость МХ к открытию mPTP и стабилизирует их функцию в сердце; мембранный потенциал МХ этой группы не отличается от контрольных значений. Можно отметить, что в условиях окислительного стресса композиция полифенолов проявляет мембраностабилизирующие свойства в отношении МХ сердца.

В сыворотке крови крыс при моделировании АКМП отмечено повышение концентрации ТБКРС, – базального уровня (в 1,3 раза, p < 0,05), а также кон-

центрации ТБКРС в реакции Фентона (Fe^{2+}/H_2O_2). Введение полифенолов и их композиции (2:1) нормализовало исследуемые показатели (таблица 4).

В исследованиях, проведенных in vitro и in vivo, показаны выраженные АО свойства композиции растительных полифенолов ХГК+НГ, которые проявляются угнетением окислительного стресса, повышением активности ГР, при tВНР-индуцированной активации свободнорадикальных процессов в МХ печени и сердца крыс, что предполагает их важный вклад в поддержание энергетического метаболизма гепатоцитов и кардиомиоцитов. Введение композиции

Таблица 4 – Концентрация ТБКРС в сыворотке крови крыс в отсутствие (базальный уровень) и в присутствии Fe^{+2}/H_2O_2 , (нмоль/мл сыворотки), (n=6)

Table 4 – Concentration of TBARS in rat blood serum without addition (basal level) and in the presence of Fe^{+2}/H_2O_2 , (nmol/ml blood serum), (n=6).

Показатель	Контроль	АКМП	АКМП+ХГК	АКМП+НГ	АКМП+ ХГК+НГ
ТБКРС (базальный)	5,96 [5,83:6,26]	7,77 [7,09:9,01] $p_{1,2}=0,028$	5,81 [5,18:6,46]	6,30 [5,27:6,45]	6,22 [5,6:7,43]
ТБКРС (спонтанно-активированный)	7,93 [7,65:8,75]	10,22 [9,76:12,13] $p_{1,2}=0,031$	9,99 [8,91:10,28] $p_{1,3}=0,105$	8,81 [8,74:9,44]	9,04 [8,18:13,36]

ХГК+НГ (2:1) при АКМП у крыс снижало уровень альдегидных продуктов ПОЛ в сердце, печени, эритроцитах и сыворотке крови. Показано повышение устойчивости МХ сердца крыс, получавших композицию ХГК+НГ, к открытию mPTP, что свидетельствует о её мембраностабилизирующих свойствах при АКМП.

Список цитированных источников

1. Figueredo V.M., Patel A. Detrimental Effects of Alcohol on the Heart: Hypertension and Cardiomyopathy / V.M. Figueredo, A. Patel // *Rev. Cardiovasc. Med.* – 2023. – Vol. 24, N 10. – P. 292.
2. Alcoholism and alcohol abstinence: N-acetylcysteine to improve energy expenditure, myocardial oxidative stress, and energy metabolism in alcoholic heart disease / F. R. Seiva [et al.] // *Alcohol.* – 2009. – Vol. 43, № 8. – P. 649–656.
3. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: the task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC / P. Ponikowski [et al.] // *European Heart Journal.* – 2016. – Vol. 37, № 27. – P. 2129–2200.
4. Alcoholism and alcohol abstinence: N-acetylcysteine to improve energy expenditure, myocardial oxidative stress, and energy metabolism in alcoholic heart disease / F. R. Seiva [et al.] // *Alcohol.* – 2009. – Vol. 43, № 8. – P. 649–656.
5. Pharmacological basis and new insights of resveratrol action in the cardiovascular system / C. K. Cheng [et al.] // *British Journal of Pharmacology.* – 2019. – Vol. 26. (Epub ahead of print).
6. Хлорогеновая кислота плодов и листьев некоторых растений семейства Berberidaceae / В.И. Дейнека [и др.] // *Химия раст. сырья.* – 2008. – № 1. – С. 57–61.
7. Cardioprotective effect of naringin against the ischemia/reperfusion injury of aged rats / D Shackebaei, [et al.] // *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* – 2024. – Vol. 397, N 2. – P. 1209–1218.
8. Gostimskaya I. Preparation of highly coupled rat heart mitochondria. / I. Gostimskaya, A. Galkin // *J. Vis. Exp.* – 2010. – Vol. 23. – P. 2202.
9. Gu T, Zhang Z, Liu J, Chen L, Tian Y, Xu W, Zeng T, Wu W, Lu L. Chlorogenic Acid Alleviates LPS-Induced Inflammation and Oxidative Stress by Modulating CD36/AMPK/PGC-1 α in RAW264.7 Macrophages. / T. Gu, [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2023. – Vol. 24, № 17. – P:13516.

References

1. Figueredo VM, Patel A. Detrimental Effects of Alcohol on the Heart: Hypertension and Cardiomyopathy. *Rev Cardiovasc Med.* 2023 Oct 17;24(10):292. doi: 10.31083/j.rcm2410292.
2. Seiva FR, Amauchi JF, Rocha KK, Ebaid GX, Souza G, Fernandes AA, Cataneo AC, Novelli EL. Alcoholism and

Заключение

Разработанная оригинальная композиция растительных полифенолов (хлорогеновая кислота+нагингин) может использоваться для создания лекарственных средств, биологически активных добавок с кардио- и гепатопротекторными свойствами при ХАИ.

- alcohol abstinence: N-acetylcysteine to improve energy expenditure, myocardial oxidative stress, and energy metabolism in alcoholic heart disease. *Alcohol.* 2009 Dec;43(8):649-56. DOI: 10.1016/j.alcohol.2009.09.028.
3. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, Falk V, González-Juanatey JR, Harjola VP, Jankowska EA, Jessup M, Linde C, Nihoyannopoulos P, Parissis JT, Pieske B, Riley JP, Rosano GMC, Ruilope LM, Ruschitzka F, Rutten FH, van der Meer P; ESC Scientific Document Group. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J.* 2016 Jul 14;37(27):2129-2200. doi: 10.1093/eurheartj/ehw128. Epub 2016 May 20. Erratum in: *Eur Heart J.* 2018 Mar 7;39(10):860. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw383.
 4. Seiva FR, Amauchi JF, Rocha KK, Ebaid GX, Souza G, Fernandes AA, Cataneo AC, Novelli EL. Alcoholism and alcohol abstinence: N-acetylcysteine to improve energy expenditure, myocardial oxidative stress, and energy metabolism in alcoholic heart disease. *Alcohol.* 2009 Dec;43(8):649-56. DOI: 10.1016/j.alcohol.2009.09.028. PMID: 20004343.
 5. Cheng CK, Luo JY, Lau CW, Chen ZY, Tian XY, Huang Y. Pharmacological basis and new insights of resveratrol action in the cardiovascular system. *Br J Pharmacol.* 2020 Mar;177(6):1258-1277. DOI: 10.1111/bph.14801.
 6. Daineka V.I., Chlebnikov V.A., Sorokopudov V.N. Anisimovich I.P. *Chimiya rastitel'nogo syr'ya.* 2008; (1): 57–61 (In Russian)/
 7. Shackebaei D, Hesari M, Ramezani-Aliakbari S, Pashaei M, Yarmohammadi F, Ramezani-Aliakbari F. Cardioprotective effect of naringin against the ischemia/reperfusion injury of aged rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2024 Feb;397(2):1209-1218. DOI: 10.1007/s00210-023-02692-2.
 8. Gostimskaya I, Galkin A. Preparation of highly coupled rat heart mitochondria. *J Vis Exp.* 2010 Sep 23;(43):2202. DOI: 10.3791/2202.
 9. Gu T, Zhang Z, Liu J, Chen L, Tian Y, Xu W, Zeng T, Wu W, Lu L. Chlorogenic Acid Alleviates LPS-Induced Inflammation and Oxidative Stress by Modulating CD36/AMPK/PGC-1 α in RAW264.7 Macrophages. *Int J Mol Sci.* 2023 Aug 31;24(17):13516. DOI: 10.3390/ijms241713516.

STUDY OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF A COMPOSITION OF CHLOROGENIC ACID AND NARINGIN *IN VITRO* AND IN MODELING ALCOHOL CARDIOMYOPATHY

*L.I. Nadolnik, T.A. Borodina, I.A. Kuzmitskaya, A.V. Romanchuk,
A.V. Tumanov, V.Ch. Polubok, E.B. Belonovskaya
Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds
of the National Academy of Sciences of Belarus,
Grodno, Republic of Belarus*

Introduction. The mechanisms of development of alcoholic heart disease (alcoholic cardiomyopathy, ACMP) include oxidative stress, mitochondrial damage (MD), which suggests an urgent task of developing compositions to reduce damage to internal organs in chronic alcohol intoxication (CAI).

Objective: to evaluate the antioxidant effects of compositions of plant polyphenols chlorogenic acid and naringin in vitro studies, as well as in the heart and liver of rats in ACMP modeling.

Materials and methods. Studies of chlorogenic acid (CGA) and naringin (NG) compositions (ratio 4:1, 2:1 and 1:1) were performed on MD isolated from the heart and liver of rats in vitro, for the effect on the concentration of aldehyde products of lipid peroxidation (TBARS), glutathione (GSH) and the activity of AO enzymes. Testing of CGA + NG (40 + 20 mg / kg) compositions was carried out on the ACMP model.

Results. In ACMP, the concentration of TBARS increases; the introduction of the composition of CGK + NG (2:1) normalized this indicator in the heart, liver, blood serum, erythrocytes against the background of ethanol consumption. The AO properties of the compositions in vitro were manifested by a decrease in oxidative stress markers, an increase in the GSH level, and optimization of the activity of AO enzymes in the liver and heart MC in the presence of tread-butyl hydroperoxide (tBHP). The composition of GGK + NG reduced the lipid peroxidation activity in native liver and heart MC.

Conclusion. It is shown that the composition of CGK + NG exhibits AO properties in CAI, normalizing the level of TBARS in the heart and liver of rats, significantly reducing the manifestations of tBHP-induced in vitro lipid peroxidation activation in MC, and stabilizing MC membranes.

Key words. mitochondria of the heart and liver, antioxidant properties, chlorogenic acid, naringin, glutathione, aldehyde products of lipid peroxidation.

For citation: Nadolnik LI, Borodina TA, Kuzmitskaya IA, Romanchuk AV, Tumanov AV, Polubok VCh, Belonovskaya EB. Study of antioxidant properties of a composition of chlorogenic acid and naringin in vitro and in modeling alcohol cardiomyopathy. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2025, vol. 4, no. 1(6). pp. 69–77 (in Russian).

Поступила 08.05.2025

ОСНОВЫ ПЛАНИРОВАНИЯ НАУЧНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА ПРИ ПРОВЕДЕНИИ СИКВЕНС-АНАЛИЗА ПРОКАРИОТИЧЕСКИХ ГЕНОМОВ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ

С. А. Костюк, А. К. Лямцева, О. С. Полуян

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь

Введение. Любой научный эксперимент требует тщательной предварительной подготовки, при этом в медицинской биологии планирование экспериментальной части исследования имеет большое значение по причине широкой вариабельности свойств, характерной для биологических объектов. В секвенировании прокариотических геномов в настоящее время можно выделить два основных направления: секвенирование отдельных микробов, в том числе некультивируемых и секвенирование микробных биоценозов для изучения структуры сообщества.

Цель исследования. Рассмотреть методологию планирования научного эксперимента при проведении секвенирования прокариотических геномов и бактериальных сообществ.

Материалы и методы. Для поиска источников литературы использовали платформы Web of Science и Scopus. Осуществлен анализ публикаций с описанием оригинальных исследований и научных обзоров.

Результаты. Планирование научного эксперимента – процедура выбора количества и условий проведения опытов, необходимых и достаточных для решения поставленной задачи с требуемой точностью. Описаны источники ошибок на этапе пробоподготовки, варианты применения высокопроизводительного секвенирования.

Заключение. Метагеномика, метатранскриптомика и метапротеомика позволяют обнаружить ранее неизвестные некультивируемые микроорганизмы, описать их свойства и функции, обнаружить еще не изученные биомолекулы, а также охарактеризовать обитающие на теле человека микробные сообщества для здоровых людей и пациентов с различными заболеваниями.

Ключевые слова. Научный эксперимент, секвенирование, прокариоты, геном, транскриптом.

Для цитирования: Костюк, С. А. Основы планирования научного эксперимента при проведении сиквенса-анализа прокариотических геномов и бактериальных сообществ / С. А. Костюк, А. К. Лямцева, О. С. Полуян // Биохимия и молекулярная биология. – 2025. – Т. 4, № 1(6). – С. 78–87.

Введение

Появление сиквенса-анализа дало значительный толчок развитию микробиологии и смежным областям. Наблюдающийся в течение последних пяти лет быстрый рост количества практически полных последовательностей геномов бактерий в открытых базах данных позволил по-новому взглянуть на эволюцию прокариот, обнаружить принципиально новые типы генетических событий на уровне возникновения видов живых организмов, с тем чтобы эффективно восстанавливать метаболизм одноклеточных. Для некультивируемых микроорганизмов, например, микроорганизмов, живущих в экстремальных условиях среды, геномные методы становятся важнейшим способом их изучения и отправной точкой для последующей разработки биохимических методов и методов геномной инженерии [1].

Другая область применения секвенирования в микробиологии это медицина. Исследование генома отдельных микробов методами сиквенса-ана-

лиза позволяет быстро выявлять «островки патогенности» и локусы, определяющие устойчивость к антибиотикам, а также изучить микробных сообществ человека, понять взаимосвязь микробиоценозов и состояния здоровья пациента.

Третье важное направление применения секвенирования – биотехнология, применяя бактерии в различных промышленных процессах, на основе геномных данных можно идентифицировать новые ферменты и понять, как модификации генома связаны с функционированием микроорганизмов, что позволяет развиваться биологическим технологиям.

Цель научного обзора – рассмотреть методологию планирования научного эксперимента при проведении секвенирования прокариотических геномов и бактериальных сообществ.

Материалы и методы

Для поиска источников литературы использовали системы Web of Science и Scopus. Осущест-

влен анализ публикаций с описанием оригинальных исследований и научных обзоров.

Результаты и их обсуждение

Сиквенс-анализ имеет значение для молекулярной биологии в целом, в части понимания основных механизмов функционирования живой клетки. На начало 2020 года определено около 1500 полных геномов микроорганизмов, а число частично собранных геномов, представленных в виде множества неупорядоченных фрагментов, составляет уже около десяти тысяч и быстро растет [2].

Секвенирование бактериального генома методом Сенгера производили, создавая сначала библиотеку длинных фрагментов (30–40 т.п.н.) в векторах на основе геномов фагов с получением картированной коллекции фрагментов, покрывающих весь геном бактерии, затем каждый крупный фрагмент субклонировали в плаزمиды фрагментами по 2–3 т.п.н. и секвенировали их насквозь, часто используя не только стандартные праймеры на вектор, но и множество геном-специфичных праймеров [3]. Позднее, с уменьшением стоимости секвенирования за счет выпуска более производительных секвенаторов, но работающих по-прежнему на принципе Сенгера, исследователи стали использовать более простой подход: метод дробовика, когда геном сразу клонируют в плазмидный вектор вставками по 2–3 т.п.н. и секвенируют с многократным покрытием генома по первоначальному данным.

В настоящее время методы высокопроизводительного секвенирования полностью вытеснили принцип Сенгера из области геномного сиквенс-анализа. Однако современный подход очень похож на метод дробовика: получают последовательность коротких фрагментов генома, добиваясь сборки 95–98% последовательности генома [4].

Любой эксперимент требует тщательной предварительной подготовки. В медицинской биологии планирование экспериментальной части исследования имеет большое значение по причине широкой вариабельности свойств, характерной для биологических объектов. Эта особенность является основной причиной трудностей при интерпретации результатов, которые могут значительно различаться от опыта к опыту. Перед началом работы исследователь обязан перечислить для себя все элементы исследования, способные исказить результаты, приложив максимальные усилия к уменьшению или устранению таких искажений.

Цель планирования научного эксперимента заключается в создании схемы, позволяющей получить наибольший объем информации при наименьших затратах, а именно выбор количества

и условий проведения опытов, необходимых и достаточных для решения поставленной задачи с требуемой точностью.

Среди классических характеристик экспериментального плана выделяют: сравнение (как правило, в научном эксперименте объект сравнивается либо с неким заранее заданным стандартом, либо с контрольным объектом), рандомизацию, повторяемость, однородность и блокировку [5].

Рандомизация научного эксперимента представляет собой процесс, используемый для группировки объектов таким образом, чтобы у каждого из них была равная вероятность попасть в контрольную или опытную группу. Другими словами, выбор участников исследования должен происходить случайно, чтобы исследование не было отклонено в сторону «предпочтительного» для исследователя результата. Рандомизация необходима для применимости статистических методов для анализа данных исследования. Она помогает предотвратить смещения, обусловленные причинами, которые не были непосредственно учтены в плане научного эксперимента. Для этого, например, формирование экспериментальных групп лабораторных животных производится случайным образом [6].

Рассмотрим важность рандомизации на конкретном примере. Допустим, вы заинтересованы в поиске различий между двумя образцами ДНК. Для повышения надежности были собраны по шесть повторностей для каждого типа образцов – шесть контрольных и шесть экспериментальных. Предположим, вы секвенировали, используя две дорожки, причем каждая дорожка содержит шесть мультиплексированных повторностей. Неверным является подход с нанесением одинаковых образцов в одну дорожку сиквенсного чипа. При планировании такого эксперимента нанесение обоих типов образцов вперемешку позволяет исключить систематическую ошибку, эффект дорожки, и получить данные даже в случае неудачного прочтения одной из дорожек.

Например, поиск дифференциально представленных транскриптов методом секвенирования транскриптов контрольной и экспериментальной групп образцов. Если одна из дорожек по какой-либо причине даст меньше прочтений, при плохом дизайне можно принять аппаратно возникшую разницу за биологический сигнал. Гораздо надежнее в приведенном примере нанести в каждую из дорожек равное количество образцов из контрольной и экспериментальной групп. Выбор образцов из каждой группы для нанесения в одну дорожку лучше всего производить случайным образом [7, 8].

Для выявления источника вариабельности необходимо провести несколько испытаний повторов. Использование повторов в секвенировании не очень распространено по двум причинам: из-за высокой стоимости исследования и того факта, что один из типов экспериментальных повторов уже встроен в сам алгоритм секвенирования – это число прочтений каждого участка последовательности (степень покрытия). Однако другие типы повторов, такие как биологические повторности, инструментальные повторности и повторности для разных технологий высокопроизводительного секвенирования могут быть крайне информативны и важны для корректной постановки эксперимента [9].

Биологические повторности, когда встречаются по несколько однотипных биологических образцов, являются важной составляющей любого биологического эксперимента, позволяя снизить экспериментальную ошибку – стохастические ошибки секвенирования.

Благодаря возможности кодирования образцов присоединением адаптеров заданной последовательности, исследователь может довольно легко решить задачу инструментальных повторов – секвенирование одного и того же образца несколько раз. Использование разных платформ для секвенирования, особенно основанных на разных принципах секвенирования, также может существенно улучшить результаты. Например, комбинация длинных, но не очень точных прочтений на платформе PacBio и точных, но коротких прочтений на Illumina [9, 10].

С повторениями связана чувствительность и специфичность эксперимента. В частности, повторности могут быть использованы для определения чувствительности и специфичности методов поиска полиморфизма последовательностей ДНК [11].

На этапе планирования научного эксперимента исследователю следует обратить особое внимание на перечисленные ниже источники ошибок во избежание их совершения.

Источники ошибок на этапе пробоподготовки:

1) ошибки лаборанта (например, неправильная маркировка образцов);

2) деградация ДНК и РНК в ходе хранения и транспортировки образцов;

3) загрязнение (контаминация) образца чужеродными (не относящимися к исследованию) нуклеиновыми кислотами;

4) недостаточное количество (или низкая концентрация) образца ДНК.

Источники ошибок на этапе подготовки библиотеки для NGS:

1) ошибки исследователя, например, перекрестное загрязнение (кросс-контаминация) образцов;

2) искажения в ходе ПЦР (разная эффективность амплификации фрагментов, низкая начальная концентрация биологического образца и большое число циклов ПЦР);

3) искажения в ходе обогащения поли-А-фракции РНК;

4) аппаратные ошибки (например, некорректная работа ПЦР-амплификатора);

5) образование химерных прочтений.

Источники ошибок на этапе, собственно, секвенирования:

1) ошибки исследователя (например, перекрестные помехи в получении сигнала от разных микросфер в результате перегрузки чипа);

2) сбой фазы считывания (за счет неполного удлинения или добавления нескольких нуклеотидов вместо одного нуклеотида);

3) сложные для прочтения регионы (GC-богатые или гомополимерные участки);

4) аппаратные ошибки (например, выключение электропитания, выход из строя лазера, помп и приводов, жесткого диска, сбой программного обеспечения).

За последние несколько лет наблюдается большое число публикаций с применением высокопроизводительного секвенирования для различных целей. Наиболее популярные приложения NGS включают в себя: полногеномное секвенирование (*de novo* или повторное); исследование различных РНК (часто называемое RNA-Seq); крупномасштабный анализ метилирования ДНК; изучение ДНК-белковых взаимодействий (ChIP-seq) и ряд других [3, 12].

Полногеномное секвенирование *de novo* применяется для реконструкции работы клетки и организма на молекулярном уровне, решение вопросов эволюционной геномики, поиска генетических вариаций. Метагеномное секвенирование следует использовать для исследования биоценоза, поиска новых видов живых систем; секвенирование транскриптомов – исследования генной экспрессии, аннотации генома; таргетное секвенирование – поиска генетических вариаций; секвенирование обработанной бисульфитом ДНК – исследование профиля метилирования; секвенирование единичных клеток – исследование генной экспрессии, секвенирование некультивируемых бактерий [4, 13, 14].

В ближайшие годы список приложений NGS, несомненно, будет расти благодаря непрерывному усовершенствованию существующих подходов и выходу на рынок принципиально новых технологий, в частности, технологий секвенирования одиночных молекул нуклеиновых кислот [15].

Анализ геномных данных, несомненно, сложнее процесса их получения, это процесс можно

разделить на две составляющие: аннотацию генома или идентификацию генов в последовательности и предсказание их функций, а также биологический анализ, т.е. реконструкцию метаболизма, установление взаимосвязи фенотипа и генотипа и т. д.

Задача аннотирования прокариотических геномов на сегодняшний день имеет ряд неплохих решений, при этом продолжающиеся биоинформатические разработки в этой области сулят появление в скором времени еще лучших алгоритмов. Существующие программные продукты позволяют в автоматическом режиме получить достаточно хорошо аннотированный геном [16].

Отдельно следует указать на особенности полногеномного секвенирования *de novo* некультивируемых бактерий. Вследствие малого количества стартовой ДНК ее, как правило, подвергают амплификации по технологии WGA. Наличие этапа амплификации сильно усложняет задачу последующего анализа данных, поскольку покрытие амплифицированного генома оказывается очень неравномерным вследствие искажений амплификации, при использовании инвертированных библиотек с двусторонним прочтением длину вставки гораздо сложнее контролировать. Следует также учитывать, что в процессе амплификации возникают ошибки и химерные прочтения. Существуют специальные программы для сборки таких амплифицированных геномов [17, 18]. Важным является биологический этап, в рамках которого формируется понимание того, как продукты генов работают в системе, как микроорганизм использует имеющийся набор генов в тех или иных условиях. Этот этап пока не подлежит автоматизации и зависит от квалификации и эрудиции исследователя.

Известно, что бактериальный транскриптом по аналогии с транскриптомом эукариотическим это совокупность всех транскриптов данной бактериальной клетки. В среднем на рибосомальную РНК у бактерий приходится 80% от суммарной РНК по массе, на транспортную РНК 15%, на матричную и некодирующие РНК – 4-5% [19].

Сложность бактериального транскриптома долгое время была недооценена, лишь с созданием технологий высокопроизводительного секвенирования удалось доказать, что у бактерий есть практически все те же механизмы регуляции экспрессии, как и у эукариотов. Так, у бактерий были найдены транскодируемые малые РНК. Это участки, расположенные в пространстве между белок-кодирующими генами и способные взаимодействовать с другими РНК либо белками. Найдены у бактерий и цис-кодируемые малые РНК. Они могут занимать 1-2 гена по длине или же иметь протяжен-

ность в несколько генов [20]. Найдены рибопереключатели структуры, чаще всего сенсорные, расположенные в 5'-концевой нетранслируемой области РНК, способные изменять конфигурацию транскрибируемой молекулы и тем самым либо препятствовать, либо помогать экспрессии. У бактерий определены безлидерные РНК или РНК без транслируемой области, в связи с чем меняется схема сборки рибосом на таких транскриптах.

У прокариот обнаружен широкий спектр эпигенетических модификаций, влияющих на спектр транскриптов в транскриптоме. Найдена компартиментализация транскриптов, а именно было доказано, что транскрипты белков, которые в дальнейшем будут взаимодействовать, обычно транскрибируются рядом. Так как у бактерий транскрипция и трансляция сопряжены, время сборки необходимых белковых комплексов у бактерий сокращено. Описаны различные модификации бактериального сплайсинга, полиаденилирования, редактирования РНК и т.д. [19].

Упрощенная схема исследования бактериального транскриптома следующая: выделение РНК из интересующей бактерии, синтез кДНК, создание библиотеки фрагментов и, собственно, секвенирование. На каждой стадии возможны дополнительные манипуляции [21]. Например, можно провести обогащение РНК интересующей последовательностью, отобрать фракцию только малых РНК либо рибосомальных РНК. В конечном итоге после секвенирования исследователь получает набор файлов.

Базовая схема анализа данных секвенирования бактериального транскриптома стандартна: вначале проводят контроль качества полученных файлов, затем осуществляют фильтрацию прочтений и удаление адаптерных последовательностей. После этого выполняют картирование прочтений на референсный геном, при этом могут быть использованы программы Bowtie, BWA, SOAP и др. Файлы, содержащие картированные последовательности, отбирают и проводят качественный либо количественный анализ данных. В ходе качественного анализа транскриптома выполняют визуализацию распределения прочтений по геному бактерии. При количественном анализе определяют функциональные категории или метаболические пути, в которых могут быть представлены найденные гены [22].

В результате качественного анализа бактериальных транскриптов можно найти новые гены как короткие кодирующие белки, так и гены новых некодирующих РНК. В ходе анализа уточняют границы генов, выявляют некодирующие и нетранслируемые участки. Так как у бактерий большинство генов собрано в опероны, можно выявлять

опероны – области покрытия генома прочтениями, включающие сразу несколько генов. Также можно определять антисмысловую РНК – покрытие прочтениями генома по цепи, противоположной смысловой цепи известного гена. Для многих бактерий антисмысловая транскрипция может составлять существенный процент транскриптома. В ряде случаев он может превышать объем транскрипции по смысловой цепи. За счет сопоставления количества прочтений в двух и более библиотеках можно проводить поиск дифференциально представленных транскриптов [23, 24].

Важно отметить, что в ряде биологических задач исследование транскриптома или протеома может быть крайне информативным. Так, было показано, что бактерии *Helicobacter pylori* из разных участков одного и того же пораженного желудка не отличаются генетически, но сильно отличаются по уровню экспрессии генов, т.е. бактерии находятся в разных функциональных состояниях. При этом профиль экспрессии может значительно отличаться до сотни генов с существенно разным уровнем экспрессии. Ряд работ демонстрирует, что даже в культуре каждая бактерия уникальна по профилю экспрессии генов. Анализируя транскриптом в популяции бактерий, исследователь измеряет «среднюю температуру по больнице». Поэтому в перспективе исследование бактериальных транскриптомов методами высокоэффективного секвенирования должно стремиться к возможности определения профиля представленности транскриптов одной клетки [21].

К настоящему времени описано около 10 000 видов бактерий, однако некоторые исследователи полагают, что общее число видов прокариот на Земле достигает миллиона, при этом значительная их часть не культивируется. Истинное разнообразие некультивируемых микроорганизмов стало понятно после появления молекулярно-генетических методов исследования бактериальных сообществ [25].

При исследовании микроорганизмов из различных сред, в том числе живущих в экстремальных условиях, геномные методы стали важнейшим способом их изучения и отправной точкой для последующей разработки биохимических методов и методов геномной инженерии. В этом смысле секвенирование и особенно высокопроизводительное секвенирование стало новым этапом в развитии микробиологии как науки.

Для исследования сообществ организмов, обитающих в различных средах, в последние годы все чаще обращаются к «мета»-исследованиям, т.е. секвенированию образцов, получаемых напрямую из окружающей среды. Это могут быть метагеномные, метатранскриптомные и даже метапротеом-

ные данные [26]. Такие исследования позволяют обнаружить ранее неизвестные некультивируемые микроорганизмы, описать их свойства и функции, обнаружить еще не изученные биомолекулы, а также получить более общую картину того, что происходит в той или иной среде.

Основными результатами секвенирования являются таксономический анализ сообщества либо реконструкция типа сообщества, например, по результатам анализа метагенома можно установить, что сообщество хемолитотрофно и доминирующим процессом в нем является сульфаторедукция [27].

Методы высокопроизводительного секвенирования хорошо подходят для исследования бактериальных сообществ, причем как для определения видового разнообразия и количественного состава сообщества т.е. микробиоценоза, так и для секвенирования полных геномов присутствующих в нем некультивируемых организмов. Учитывая, что для прокариотов характерен горизонтальный перенос генов, зачастую для понимания особенностей микробиоценоза важно не только наличие гена, например, устойчивости к антибиотикам у конкретного вида, но и его присутствие в сообществе в целом [28].

Для исследования видового состава прокариот в какой-либо среде обитания можно использовать метод, основанный на секвенировании высококонсервативных регионов генома. Чаще всего для этих целей выбирают ген 16S рибосомальной РНК (16S рРНК). У гена 16S рРНК длиной около 1500 п.н. есть константные и переменные участки. Константные участки позволяют создать «универсальные» праймеры для ПЦР, взаимодействующие с ДНК подавляющего большинства прокариот с примерно равной эффективностью [29]. Методом ПЦР можно наработать расположенные между такими праймерами переменные участки гена 16S рРНК. Секвенирование одного или нескольких переменных регионов позволяет идентифицировать последовательности, принадлежащие разным видам.

До появления технологий высокопроизводительного секвенирования полученные продукты ПЦР клонировали в плазмидные векторы (в *Escherichia coli*), после чего каждый клон секвенировали с помощью метода Сенгера. Использование сенгеровского секвенирования позволяет получить последовательности высокого качества, почти полностью покрывающие ген 16S рРНК, что существенно важно для точной идентификации и различения близких видов. Однако подход с клонированием достаточно дорог, также могут возникнуть дополнительные искажения в конечный результат [30].

Появление технологий высокопроизводительного секвенирования с длиной прочтения в несколько сотен нуклеотидов позволило использовать его для анализа микробных сообществ по гену 16S рРНК без этапа клонирования, что ускоряет и удешевляет исследование.

Недостатком методов высокоэффективного секвенирования в данном применении является меньшая, чем в методе Сенгера, длина прочтения, поскольку секвенирование клонов методом Сенгера с двух сторон дает до 1400 п.н. единой последовательности. По короткому участку гена 16S рРНК в 200–400 п.н. можно определить бактерию лишь до рода. Кроме того, вероятность ошибок для технологий высокоэффективного секвенирования гораздо выше, чем для сенгеровского секвенирования, таким образом, возникает проблема фильтрации ошибок секвенирования. Существуют работы, показывающие, что в ряде метагеномных проектов большое видовое разнообразие сообщества в результате оказалось следствием ошибок секвенирования [31].

Крайне важным является подбор пары праймеров для амплификации регионов гена 16S рРНК. Даже в константных участках этого гена между последовательностями некоторых видов могут встречаться однонуклеотидные вариации, в результате чего эффективность амплификации ДНК разных видов может в значительной мере различаться. Этой проблеме посвящен ряд исследований, предлагающих различные варианты праймеров для получения ампликонов разной длины [32, 33]. В любом случае, при выборе пары праймеров для ПЦР стоит проверить, будут ли с ее помощью амплифицироваться последовательности гена 16S рРНК тех видов, которые ожидаются для данного микробиома, и какие виды при этом могут быть утеряны [34, 35].

Несомненным плюсом использования в качестве маркера гена 16S рРНК при анализе симбиотического микробиоценоза является исключение из анализируемого образца примеси ДНК организма-хозяина за счет наличия этапа амплификации.

Помимо разной эффективности амплификации, при попытке количественно оценить состав микробиоты возникает еще одна сложность: копияемость гена 16S рРНК может варьировать от 2 до 15 копий на гаплоидный геном [36]. Причем она может отличаться даже для микроорганизмов, относящихся к одному виду. Оценка представленности различных видов с учетом числа копий гена 16S рРНК или с помощью референсных генов, копияемость которых постоянна, может улучшить точность получаемых результатов [37, 38].

Для биоинформатической обработки данных высокопроизводительного секвенирования ампликонов используют два подхода [39]:

1. Сравнение полученных последовательностей с различными базами данных. В частности, для гена 16S рРНК можно использовать базы данных: SILVA, Ribosomal Database, NCBI. Базы данных имеют встроенные инструменты поиска. Отдельные базы предоставляют специальные инструменты для анализа данных высокопроизводительного секвенирования, например, SINA. Минусом сравнения с базами данных являются проблемы при аннотации последовательностей, принадлежащих новым или плохо описанным видам некультивируемых бактерий.

2. Сравнение полученных последовательностей между собой, кластеризация и выявление «операционных таксономических единиц» – таксон, аналогичный виду и определяемый на основании степени сходства последовательностей ДНК. Этот подход не опирается на уже известные последовательности и поэтому позволяет обнаруживать неизвестные виды микроорганизмов. Разработан ряд простых в применении инструментов, использующих этот принцип: QIIME, mothur, CLUSTOM.

Путем секвенирования ампликонов можно не только определить таксономический состав микробного сообщества, но и провести количественную оценку содержания того или иного микроорганизма в образце.

Помимо использования для анализа микробного сообщества отдельных консервативных регионов генома таких, как ген 16S рРНК или других филогенетических маркеров, можно напрямую выделить и секвенировать содержащуюся в образце ДНК. Важным преимуществом такого подхода является отсутствие этапа амплификации, вносящего значительные искажения в результаты.

Впервые термин «метагеном» был предложен Хандельсманом с соавт. в 1998 году [40]. Он обозначает суммарный набор генов, выявленных в исследуемом образце, как геном одного псевдоорганизма, используемый для воссоздания свойств исследуемого микробного сообщества.

Первый эксперимент по метагеномному секвенированию был проведен в 2004 году [41] и позволил обнаружить 148 ранее неизвестных видов бактерий и более 1,2 млн ранее неизвестных генов. Первые работы проводили с помощью клонирования фрагментов ДНК в плазмидных векторах в клетках бактерии кишечной палочки и последующего секвенирования методом Сенгера. Длинные прочтения в значительной степени упрощали сборку и анализ данных, но из-за клонирования

возникали искажения, поскольку некоторые последовательности плохо поддаются клонированию, например, если участок бактериальной ДНК несет ген, токсичный для *E. coli*, то такой фрагмент может быть утерян в ходе клонирования. Эту проблему можно исключить, используя несколько разных организмов для клонирования [42].

Технологии высокопроизводительного секвенирования позволяют избежать клонирования и, соответственно, получить намного больше данных с меньшими финансовыми затратами. Для метагеномного секвенирования используют практически все доступные на сегодняшний день технологии: 454 Life Sciences, Illumina, Ion Torrent. В некоторых случаях такое секвенирование позволяет получить полную последовательность генома для некультивируемых бактерий [43].

Оптимальным представляется комбинированный алгоритм, сочетающий в себе как чтение коротких переменных участков, так и метагеномное секвенирование. Последовательность шагов в таком алгоритме может быть следующей:

1) секвенирование короткого переменного участка (чаще всего это фрагмент или несколько фрагментов 16S рРНК);

2) секвенирование метагенома;

3) анализ прочтений 16S рРНК в метагеноме и их классификация;

4) удаление из результатов всех не классифицируемых данных;

5) анализ сообщества по кратности прочтения контигов с 16S рРНК (чем больше прочтений 16S рРНК, тем больше данного микроба содержится в сообществе);

6) сопоставление результатов двух подходов.

Заключение

Планирование научного эксперимента – процедура выбора количества и условий проведения опытов, необходимых и достаточных для решения поставленной задачи с требуемой точностью.

Некоторые биологические задачи предполагают исследование схожих, но территориально разделенных сообществ микроорганизмов. Например, сравнение микробиоты кишечника разных

людей и т.п. После сопоставления видового состава сообщества и процентного соотношения микроорганизмов в ряде задач имеет смысл исследовать генетическое разнообразие отдельных видов бактерий в сообществе, пользуясь нуклеотидным полиморфизмом. Например, для микробиоценозов человека кишечного или урогенитального можно обнаружить, что в разных странах или при разных физиологических состояниях человека бактерии одного вида в сообществе могут быть очень далеки филогенетически.

Биоинформатическое обнаружение гена в последовательности генома далеко не всегда означает, что он работоспособен. Для понимания функциональных возможностей сообщества в дополнение к метагеномным данным целесообразно определение метатранскриптома секвенирование суммарных мРНК сообщества. Исследования метатранскриптомов осложнены нестабильностью молекул РНК и, как следствие, необходимостью быстрой и эффективной фиксации образца. Для экстракции РНК из столь сложных образцов разрабатываются специальные методы.

Поскольку 95% от всех РНК в клетке составляют рибосомальная и транспортная РНК, в процессе исследования их приходится исключать [22]. Чтобы понять, какие гены экспрессируются и в какой степени, необходимо выравнивание полученных данных метатранскриптома на метагеном, аннотация и нормализация. Возможно и выравнивание на референсные геномы из баз данных, но более информативным будет выравнивание и аннотация относительно метагеномных данных для того же образца.

Таким образом, «мета»-исследования сегодня являются одной из быстро развивающихся областей медицины, в том числе благодаря появлению методов высокоэффективного секвенирования. Метагеномика вместе с метатранскриптомикой и метапротеомикой позволяют понять состав и функционирование микробных сообществ, в том числе и симбиотических человеку, охарактеризовать обитающие на теле человека микробные сообщества для здоровых людей и пациентов с различными заболеваниями.

Список использованных источников

1. Lasken, R. S. Recent advances in genomic DNA sequencing of microbial species from single cells / R. S. Lasken, J. S. McLean // *Nat Rev Genet.* – 2014. – Vol. 15, №9. – P.577–584. DOI: 10.1038/nrg3785.
2. Popa, O. From sequence to information / O. Popa, E. Oldenburg, O. Ebenhöf // *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* – 2020. – Vol. 375, № 1814. – P. 20190448. DOI: 10.1098/rstb.2019.0448.
3. Long walk to genomics: History and current approaches to genome sequencing and assembly / A. M. Giani, G.R. Gallo, L. Gianfranceschi, G. Formenti // *Comput Struct Biotechnol J.* – 2019. – Vol. 18. – P. 9–19. DOI: 10.1016/j.csbj.2019.11.002.
4. Heather, J. M. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA / J. M. Heather, B. Chain // *Genomics.* – 2016. – Vol. 107, № 1. – P. 1–8. DOI: 10.1016/j.ygeno.2015.11.003.
5. Casler, M. D. Fundamentals of Experimental Design: Guidelines for Designing Successful Experiments /

- M. D. Casler // *Agronomy Journal*. – 2015. – Vol. 107. – P. 692–705. DOI:10.2134/agronj2013.0114.
6. Tanious, R. Randomized Single-Case Experimental Designs in Healthcare Research: What, Why, and How? / R. Tanious, P. Ongheña // *Healthcare (Basel)*. 2019. – Vol. 7, №4. – P. 143. DOI: 10.3390/healthcare7040143.
 7. Auer, P. L. Statistical design and analysis of RNA sequencing data / P. L. Auer, R. W. Doerge // *Genetics*. – 2010. – Vol. 185, №2. – P. 405–416. DOI: 10.1534/genetics.110.114983.
 8. Churchill, G. A. Fundamentals of experimental design for cDNA mi-croarrays / G. A. Churchill // *Nat Genet*. – 2002. – Vol. 32. – P. 490–495. DOI: 10.1038/ng1031
 9. Robasky, K. The role of replicates for error mitigation in next-generation sequencing / K. Robasky, N. E. Lewis, G. M. Church // *Nat Rev Genet*. – 2014. – Vol. 15, № 1. – P. 56–62. DOI: 10.1038/nrg3655.
 10. Logsdon, G. A. Long-read human genome sequencing and its applications / G. A. Logsdon, M. R. Vollger, E. E. Eichler // *Nat Rev Genet*. – 2020. – Vol. 21, № 10. – P. 597–614. DOI: 10.1038/s41576-020-0236-x.
 11. Foundational Statistical Principles in Medical Research: Sensitivity, Specificity, Positive Predictive Value, and Negative Predictive Value / T. F. Monaghan, S.N. Rahman, C.W. Agudelo [et al.] // *Medicina (Kaunas)*. – 2021. – Vol. 57, №5. – P. 503. DOI: 10.3390/medicina57050503.
 12. Next-Generation Sequencing Technology: Current Trends and Advancements / H. Satam, K. Joshi, U. Mangrolia [et al.] // *Biology (Basel)*. – 2023. – Vol. 12, №7. – P. 997. DOI: 10.3390/biology12070997.
 13. Mardis, E. R. Next-generation DNA sequencing methods / E. R. Mardis // *Annu Rev Genomics Hum Genet*. – 2008. – Vol. 9. – P. 387–402. DOI: 10.1146/annurev.genom.9.081307.164359.
 14. Advances in single-cell sequencing technology in microbiome research / Y. Wu, J. Zhuang, Y. Song [et al.] // *Genes Dis*. – 2023. – Vol. 11, №4. – P. 101129. DOI: 10.1016/j.gendis.2023.101129.
 16. AGMIAL: implementing an annotation strategy for prokaryote genomes as a distributed system / K. Bryson, V. Loux, R. Bossy [et al.] // *Nucleic Acids Res*. – 2006. – Vol. 34, №12. – P. 3533–3545. DOI: 10.1093/nar/gkl471.
 17. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing / A. Bankevich, S. Nurk, D. Antipov [et al.] // *J Comput Biol*. – 2012. – Vol. 19, №5. – P. 455–477. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021.
 18. Assembling single-cell genomes and mini-metagenomes from chimeric MDA products / S. Nark, A. Bankevich, D. Antipov [et al.] // *J Comput Biol*. – 2013. – Vol. 20, № 10. – P. 714–737. DOI: 10.1089/cmb.2013.0084.
 19. Bandyra, K. J. Licensing and due process in the turnover of bacterial RNA / K. J. Bandyra, B. F. Luisi // *RNA Biol*. – 2013. – Vol. 10, №4. – P. 627–635. DOI: 10.4161/rna.24393.
 20. Barorli, D. MicroRNA target and gene validation in viruses and bacteria / D. Barorli, P. Arrigo // *Methods Mol Biol*. – 2014. – Vol. 1107. – P. 223–231. DOI: 10.1007/978-1-62703-748-8_13.
 21. Transcriptome and proteome dynamics of a light-dark synchronized bacterial cell cycle / Waldbauer J. R., S. Rodrigue, M.L. Coleman, S.W.Chisholm // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, №8. – P. e43432. DOI: 10.1371/journal.pone.0043432.
 22. Application of metatranscriptomics to soil environments / L. C. Carvalhais, P.G. Dennis, G.W. Tyson, P.M. Schenk // *Journal of micro-biological methods*. – 2012. – Vol. 91, №2. – P. 246–251. DOI: 10.1016/j.mimet.2012.08.011.
 23. Zerbino, D. R. Progress, Challenges, and Surprises in Annotating the Human Genome / D. R. Zerbino, A. Frankish, P. Flicek // *Annu Rev Genomics Hum Genet*. – 2020. – Vol. 21. – P. 55–79. DOI: 10.1146/annurev-genom-121119-083418.
 24. The Signal and the Noise: Characteristics of Antisense RNA in Complex Microbial Communities / T. Y. Michaelsen, J. Brandt, C.M. Singleton [et al.] // *mSystems*. – 2020. – Vol. 5, № 1. – P. e00587-19. DOI: 10.1128/mSystems.00587-19.
 25. Sleator, R.D. Metagenomics / R. D. Sleator, C. Shortall, C. Hill // *Letters in applied microbiology*. – 2008. – Vol. 47, №5. – P. 361–366. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2008.02444.x.
 26. Thomas, T. Metagenomics – a guide from sampling to data analysis / T. Thomas, J. Gilbert, F. Meyer // *Microbial informatics and experimentation*. – 2012. – Vol. 2, № 1. – P. 3. DOI: 10.1186/2042-5783-2-3.
 27. Rapid identification of genes encoding DNA polymerases by function-based screening of metagenomic libraries derived from glacial ice / C. Simon, J. Herath, S. Rockstroh, R. Daniel // *Applied and environmental microbiology*. – 2009. – Vol. 75, №9. – P. 2964–2968. DOI: 10.1128/AEM.02644-08.
 28. Environmental Whole-Genome Amplification To Access Microbial Populations in Contaminated Sediments Environmental Whole-Genome Amplification To Access Microbial Populations in Contaminated Sediments / C. B. Abulencia, D.L. Wyborski, J.A. Garcia [et al.] // *Appl Environ Microbiol*. – 2006. – Vol. 72. – P. 3291–3301. DOI: 10.1128/AEM.72.5.3291-3301.2006.
 29. Mizrahi Man, O. Taxonomic classification of bacterial 16S rRNA genes using short sequencing reads: evaluation of effective study designs / O. Mizrahi Man, E. R. Davenport, Y. Gilad // *PLoS one*. – 2013. – Vol. 8, № 1. – P. e53608. DOI: 10.1371/journal.pone.0053608.
 30. Bacterial community shift in treated periodontitis patients revealed by ion torrent 16S rRNA gene amplicon sequencing / S. Jjinemann, K. Prior, R. Szczepanowski [et al.] // *PLoS one*. – 2012. – Vol. 7, №8. – P. e41606. DOI: 10.1371/journal.pone.0041606.
 31. Wrinkles in the rare biosphere: pyrosequencing errors can lead to artificial inflation of diversity estimates / V. Kanin, A. Engelbrekton, H. Ochman, P. Hugenholtz // *Environmental microbiology*. – 2010. – Vol. 12, № 1. – P. 118–123. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2009.02051.x.
 32. Nossa, C.W. Design of 16S rRNA gene primers for 454 pyrosequencing of the human foregut microbiome / C. W. Nossa // *World Journal of Gastro-enterology*. – 2010. – Vol. 16, №33. – P. 4135. DOI: 10.3748/wjg.v16.i33.4135.
 33. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies / A. Klindivorth, E. Priesse, T. Schweer [et al.] // *Nucleic acids research*. – 2013. – Vol. 41, № 1. – P. e1. DOI: 10.1093/nar/gks808.
 34. Conlan, S. Species-level analysis of DNA sequence data from the NIH Human Microbiome Project / S. Conlan, H. H. Kong, J. A. Segre // *PLoS one*. – 2012. – Vol. 7, № 10. – P. e47075. DOI: 10.1371/journal.pone.0047075.
 35. Selection of primers for optimal taxonomic classification of environmental 16S rRNA gene sequences / D. Soergel, N. Dey, R. Knight, S.E. Brenner [et al.] // *The ISME journal*. 2012. – Vol. 6, №7. – P. 1440–1444. DOI: 10.1038/ismej.2011.208.
 36. Crosby, L. D. Understanding bias in microbial community analysis techniques due to rrr operon copy number heterogeneity / L. D. Crosby, C. S. Criddle // *BioTechniques*. – 2003. – Vol. 34, №4. – P. 790–794, 796, 798. DOI: 10.2144/03344rr01.
 37. Incorporating 16S gene copy number information improves estimates of microbial diversity and abundance / S. W. Kembel, M. Wu, J.A. Eisen, J.L. Green // *PLoS computational biology*. – 2012. – Vol. 8, № 10. – P. e1002743. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1002743.
 38. Use of 16S rRNA and rpoB genes as molecular markers for microbial ecology studies / R. J. Case, Y. Boucher, I. Dahllöf [et al.] // *Applied and environmental microbiology*. – 2007. – Vol. 73, № 1. – P. 278–288. DOI: 10.1128/AEM.01177-06.

39. Bioinformatics for the Human Microbiome Project / D. Gevers M. Pop, P.D. Schloss, C. Huttenhower // *PLoS computational biology*. – 2012. – Vol. 8, № 11. – P. e1002779. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1002779.
40. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products / J. Handelsman, M.R. Rondon, S.F. Brady [et al.] // *Chemistry & biology*. – 1998. – Vol. 5, № 10. – P. 245–249. DOI: 10.1016/s1074-5521(98)90108-9.
41. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea / J. C. Venter, K. Remington, J.F. Heidelberg [et al.] // *Science*. – 2004. – Vol. 304, № 5667. – P. 66–74. DOI: 10.1126/science.1093857.
42. Wooley, J. C. A primer on metagenomics / J. C. Wooley, A. Godzik, I. Friedberg // *PLoS computational biology*. – 2010. – Vol. 6, № 2. – P. e1000667. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1000667.
43. Microbial 16S rRNA Ion Tag and community metagenome sequencing using the Ion Torrent (PGM) Platform / A. S. Whiteley, S. Jenkins, I. Waite [et al.] // *Journal of microbiological methods*. – 2012. – Vol. 91, № 1. – P. 80–88. DOI: 10.1016/j.mimet.2012.07.008.
- 13 Mardis ER. Next-generation DNA sequencing methods. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2008;9:387–402. DOI: 10.1146/annurev.genom.9.081307.164359.
- 14 Wu Y, Zhuang J, Song Y, Gao X, Chu J, Han S. Advances in single-cell sequencing technology in microbiome research. *Genes Dis*. 2023;11(4):101129. DOI: 10.1016/j.gendis.2023.101129.
- 16 Bryson K, Loux V, Bossy R, Nicolas P, Chaillou S, van de Guchte M, Penaud S, Maguin E, Hoebeke M, Bessières P, Gibrat JF. AGMIAL: implementing an annotation strategy for prokaryote genomes as a distributed system. *Nucleic Acids Res*. 2006;34(12):3533–3545. DOI: 10.1093/nar/gkl471.
- 17 Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, Lesin VM, Nikolenko SI, Pham S, Prjibelski AD, Pyshkin AV, Sirotkin AV, Vyahhi N, Tesler G, Alekseyev MA, Pevzner PA. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J Comput Biol*. 2012;19(5):455–477. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021.
- 18 Nurk S, Bankevich A, Antipov D, Gurevich AA, Korobeynikov A, Lapidus A, Prjibelski AD, Pyshkin A, Sirotkin A, Sirotkin Y, Stepanauskas R, Clingenpeel SR, Woyke T, McLean JS, Lasken R, Tesler G, Alekseyev MA, Pevzner PA. Assembling single-cell genomes and mini-metagenomes from chimeric MDA products. *J Comput Biol*. 2013;20(10):714–737. DOI: 10.1089/cmb.2013.0084.
- 19 Bandyra KJ, Luisi BF. Licensing and due process in the turnover of bacterial RNA. *RNA Biol*. 2013;10(4):627–635. DOI: 10.4161/rna.24393.
- 20 Baroni D, Arrigo P. MicroRNA target and gene validation in viruses and bacteria. *Methods Mol Biol*. 2014;1107:223–231. DOI: 10.1007/978-1-62703-748-8_13.
- 21 Waldbauer JR, Rodrigue S, Coleman ML, Chisholm SW. Transcriptome and proteome dynamics of a light-dark synchronized bacterial cell cycle. *PLoS One*. 2012;7(8):e43432. DOI: 10.1371/journal.pone.0043432.
- 22 Carvalhais LC, Dennis PG, Tyson GW, Schenk PM. Application of metatranscriptomics to soil environments. *J Microbiol Methods*. 2012;91(2):246–251. DOI: 10.1016/j.mimet.2012.08.011.
- 23 Zerbino DR, Frankish A, Flicek P. Progress, Challenges, and Surprises in Annotating the Human Genome. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2020;21:55–79. DOI: 10.1146/annurev-genom-121119-083418.
- 24 Michaelsen TY, Brandt J, Singleton CM, Kirkegaard RH, Wiesinger J, Segata N, Albertsen M. The Signal and the Noise: Characteristics of Antisense RNA in Complex Microbial Communities. *mSystems*. 2020;5(1):e00587-19. DOI: 10.1128/mSystems.00587-19.
- 25 Sleator RD, Shortall C, Hill C. Metagenomics. *Letters in applied microbiology*. 2008;47(5):361–366. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2008.02444.x.
- 26 Thomas T, Gilbert J, Meyer F. Metagenomics – a guide from sampling to data analysis. *Microb Inform Exp*. 2012;2(1):3. DOI: 10.1186/2042-5783-2-3.
- 27 Simon C, Herath J, Rockstroh S, Daniel R. Rapid identification of genes encoding DNA polymerases by function-based screening of metagenomic libraries derived from glacial ice. *Appl Environ Microbiol*. 2009;75(9):2964–2968. DOI: 10.1128/AEM.02644-08.
- 28 Abulencia CB, Wyborski DL, Garcia JA, Podar M, Chen W, Chang SH, Chang HW, Watson D, Brodie EL, Hazen TC, Keller M. Environmental whole-genome amplification to access microbial populations in contaminated sediments. *Appl Environ Microbiol*. 2006;72(5):3291–3301. DOI: 10.1128/AEM.72.5.3291-3301.2006.
- 29 Mizrahi-Man O, Davenport ER, Gilad Y. Taxonomic classification of bacterial 16S rRNA genes using short

References

- 1 Lasken RS, McLean JS. Recent advances in genomic DNA sequencing of microbial species from single cells. *Nat Rev Genet*. 2014;15(9):577–584. DOI: 10.1038/nrg3785.
- 2 Popa O, Oldenburg E, Ebenhöf O. From sequence to information. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2020;375(1814):20190448. DOI: 10.1098/rstb.2019.0448.
- 3 Giani AM, Gallo GR, Gianfranceschi L, Formenti G. Long walk to genomics: History and current approaches to genome sequencing and assembly. *Comput Struct Biotechnol J*. 2019;18:9–19. DOI: 10.1016/j.csbj.2019.11.002.
- 4 Heather JM, Chain B. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics*. 2016;107(1):1–8. DOI: 10.1016/j.ygeno.2015.11.003.
- 5 Casler M.D. Fundamentals of Experimental Design: Guidelines for Designing Successful Experiments. *Agronomy Journal*. 2015;107:692–705. DOI: 10.2134/agronj2013.0114.
- 6 Tanious R, Onghena P. Randomized Single-Case Experimental Designs in Healthcare Research: What, Why, and How? *Healthcare (Basel)*. 2019;7(4):143. DOI: 10.3390/healthcare7040143.
- 7 Auer PL, Doerge RW. Statistical design and analysis of RNA sequencing data. *Genetics*. 2010;185(2):405–416. DOI: 10.1534/genetics.110.114983.
- 8 Churchill GA. Fundamentals of experimental design for cDNA mi-croarrays. *Nat Genet*. 2002;32:490–495. DOI: 10.1038/ng1031.
- 9 Robasky K, Lewis NE, Church GM. The role of replicates for error mitigation in next-generation sequencing. *Nat Rev Genet*. 2014;15(1):56–62. DOI: 10.1038/nrg3655.
- 10 Logsdon GA, Vollger MR, Eichler EE. Long-read human genome sequencing and its applications. *Nat Rev Genet*. 2020;21(10):597–614. DOI: 10.1038/s41576-020-0236-x.
- 11 Monaghan TF, Rahman SN, Agudelo CW, Wein AJ, Lazar JM, Everaert K, Dmochowski RR. Foundational Statistical Principles in Medical Research: Sensitivity, Specificity, Positive Predictive Value, and Negative Predictive Value. *Medicina (Kaunas)*. 2021;57(5):503. DOI: 10.3390/medicina57050503.
- 12 Satam H, Joshi K, Mangrolia U, Waghoo S, Zaidi G, Rawool S, Thakare RP, Banday S, Mishra AK, Das G, Malonia SK. Next-Generation Sequencing Technology: Current Trends and Advancements. *Biology (Basel)*. 2023;12(7):997. DOI: 10.3390/biology12070997.

- sequencing reads: evaluation of effective study designs. *PLoS One*. 2013;8(1):e53608. DOI: 10.1371/journal.pone.0053608.
- 30 Jünemann S, Prior K, Szczepanowski R, Harks I, Ehmke B, Goesmann A, Stoye J, Harmsen D. Bacterial community shift in treated periodontitis patients revealed by ion torrent 16S rRNA gene amplicon sequencing. *PLoS One*. 2012;7(8):e41606. DOI: 10.1371/journal.pone.0041606.
- 31 Kunin V, Engelbrektson A, Ochman H, Hugenholtz P. Wrinkles in the rare biosphere: pyrosequencing errors can lead to artificial inflation of diversity estimates. *Environ Microbiol*. 2010;12(1):118–123. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2009.02051.x.
- 32 Nossa CW, Oberdorf WE, Yang L, Aas JA, Paster BJ, Desantis TZ, Brodie EL, Malamud D, Poles MA, Pei Z. Design of 16S rRNA gene primers for 454 pyrosequencing of the human foregut microbiome. *World J Gastroenterol*. 2010;16(33):4135–44. DOI: 10.3748/wjg.v16.i33.4135.
- 33 Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, Peplies J, Quast C, Horn M, Glöckner FO. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res*. 2013;41(1):e1. DOI: 10.1093/nar/gks808.
- 34 Conlan S, Kong HH, Segre JA. Species-level analysis of DNA sequence data from the NIH Human Microbiome Project. *PLoS One*. 2012;7(10):e47075. DOI: 10.1371/journal.pone.0047075.
- 35 Soergel DA, Dey N, Knight R, Brenner SE. Selection of primers for optimal taxonomic classification of environmental 16S rRNA gene sequences. *ISME J*. 2012;6(7):1440–1444. DOI: 10.1038/ismej.2011.208.
- 36 Crosby LD, Criddle CS. Understanding bias in microbial community analysis techniques due to rrn operon copy number heterogeneity. *Biotechniques*. 2003;34(4):790–794, 796, 798. DOI: 10.2144/03344rr01.
- 37 Kembel SW, Wu M, Eisen JA, Green JL. Incorporating 16S gene copy number information improves estimates of microbial diversity and abundance. *PLoS Comput Biol*. 2012;8(10):e1002743. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1002743.
- 38 Case RJ, Boucher Y, Dahllöf I, Holmström C, Doolittle WF, Kjelleberg S. Use of 16S rRNA and rpoB genes as molecular markers for microbial ecology studies. *Appl Environ Microbiol*. 2007;73(1):278–288. DOI: 10.1128/AEM.01177-06.
- 39 Gevers D, Pop M, Schloss PD, Huttenhower C. Bioinformatics for the Human Microbiome Project. *PLoS Comput Biol*. 2012;8(11):e1002779. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1002779.
- 40 Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, Clardy J, Goodman RM. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chem Biol*. 1998;5(10):R245–249. DOI: 10.1016/s1074-5521(98)90108-9.
- 41 Venter JC, Remington K, Heidelberg JF, Halpern AL, Rusch D, Eisen JA, Wu D, Paulsen I, Nelson KE, Nelson W, Fouts DE, Levy S, Knap AH, Lomas MW, Nealson K, White O, Peterson J, Hoffman J, Parsons R, Baden-Tillson H, Pfannkoch C, Rogers YH, Smith HO. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science*. 2004;304(5667):66–74. DOI: 10.1126/science.1093857.
- 42 Wooley JC, Godzik A, Friedberg I. A primer on metagenomics. *PLoS Comput Biol*. 2010;6(2):e1000667. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1000667.
- 43 Whiteley AS, Jenkins S, Waite I, Kresoje N, Payne H, Mullan B, Allcock R, O'Donnell A. Microbial 16S rRNA Ion Tag and community metagenome sequencing using the Ion Torrent (PGM) Platform. *J Microbiol Methods*. 2012;91(1):80–88. DOI: 10.1016/j.mimet.2012.07.008.

BASICS OF SCIENTIFIC EXPERIMENT PLANNING FOR SEQUENCING ANALYSIS OF PROKARYOTIC GENOMES AND BACTERIAL COMMUNITIES

S. A. Kostiuk, A. K. Lyamtseva, O. S. Poluyan
Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Background. Any scientific experiment requires careful preliminary preparation, and in medical biology planning of the experimental part of the study is of great importance due to the wide variability of properties characteristic of biological objects. In sequencing of prokaryotic genomes two main directions can be distinguished at present: sequencing of individual microbes, including uncultivated ones, and sequencing of microbial biocenoses to study the community structure.

Objective. To consider the methodology of scientific experiment planning when sequencing prokaryotic genomes and bacterial communities.

Material and Methods. The Web of Science and Scopus platforms were used to search for literature sources. Publications describing original studies and scientific reviews were analyzed.

Results. Planning a scientific experiment is a procedure for selecting the number and conditions of experiments necessary and sufficient to solve the problem with the required accuracy. The sources of errors at the stage of sample preparation, variants of high-throughput sequencing application are described.

Conclusions. Metagenomics, metatranscriptomics and metaproteomics make it possible to discover previously unknown unculturable microorganisms, describe their properties and functions, discover not yet studied biomolecules, and characterize microbial communities inhabiting the human body for healthy people and patients with various diseases.

Keywords. Scientific experiment, sequencing, prokaryotes, genome, transcriptome.

For citation: Kostiuk SA, Lyamtseva AK, Poluyan OS. Basics of scientific experiment planning for sequencing analysis of prokaryotic genomes and bacterial communities. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2025, vol. 4, no. 1(6). pp. 78–87 (in Russian).

Поступила 11.10.2024

РОЛЬ ЦИНКА, МЕДИ И ЖЕЛЕЗА ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

А. Г. Шляхтун¹, Ж. В. Мотылевич¹, Е. Ф. Радуга¹, Ф. М. Турсунходжаева²

¹*Институт биологически активных соединений НАН Беларуси, г. Гродно, Республика Беларусь;*

²*Институт химии растительных веществ им. акад. С. Ю. Юнусова Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан*

Введение. Ишемический инсульт остаётся одной из ведущих причин смертности и инвалидизации во всём мире. В последние годы возрос интерес к роли ряда микроэлементов, в частности цинка (Zn), меди (Cu) и железа (Fe), в патогенезе, диагностике и коррекции ишемического инсульта.

Цель исследования заключалась в систематизации данных о роли Zn, Cu и Fe в патогенезе ишемического инсульта, оценке их диагностической значимости и возможных перспективах коррекции микроэлементного дисбаланса на основе современных научных исследований.

Материалы и методы. Для подготовки обзора проведён поиск литературы о роли микроэлементов (Zn, Cu и Fe) при ишемическом инсульте. Основными источниками информации выступали рецензируемые журналы, систематические обзоры и мета-анализы в международных базах данных (PubMed, Web of Science и Scopus), а также в национальных информационных ресурсах за период с 2015 по 2025 год, что позволило оценить современные тенденции исследований.

Результаты. Авторами проведен обзор последних литературных данных о роли Zn, Cu и Fe в патогенезе, диагностике и коррекции ишемического инсульта.

Заключение. Обзор демонстрирует роль микроэлементов (Cu, Zn и Fe) в патогенезе, диагностике и коррекции ишемического инсульта, определяя перспективы будущих исследований, и может полезен для клиницистов, неврологов и исследователей, занимающихся изучением патофизиологии ишемического инсульта.

Ключевые слова: ишемический инсульт, микроэлементы, цинк, медь, железо, купроптоз, ферроптоз, нейропротекция.

Для цитирования: Роль цинка, меди и железа при ишемическом инсульте. Обзор литературы / А. Г. Шляхтун, Ж. В. Мотылевич, Е. Ф. Радуга [и др.] // // Биохимия и молекулярная биология. – 2025. – Т. 4, № 1(6). – С. 88–98.

Введение

Ишемический инсульт (ИИ) остаётся одной из ключевых медико-социальных проблем, занимая второе место среди причин смертности и третье среди факторов, приводящих к инвалидизации [1].

На сегодняшний день микроэлементы (МЭ) стали объектом интенсивного изучения в контексте неврологических заболеваний. Это связано как с развитием высокоточных методов анализа (атомно-абсорбционная и эмиссионная спектрометрия, рентгенофлуоресцентная микроскопия и др.), так и с осознанием их важнейшей роли в гомеостазе нервной ткани.

Наиболее изученными в связи с ИИ являются селен, цинк (Zn), медь (Cu) и железо (Fe), участвующие в регуляции окислительно-восстановительного баланса, нейровоспаления и клеточной гибели. При этом патологически повышенные уровни Zn, Cu и Fe могут усугублять ишемическое повреждение мозга – их избыточное накопление способствует развитию специфических форм клеточной гибели (ферроптоз, купроптоз), усилению окислительного стресса и нарушению проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ).

Вместе с тем, возможности использования этих элементов как диагностических и прогностических маркеров остаются недостаточно изученными и противоречивыми. Это становится особенно актуальным по причине отсутствия адекватных маркеров и предикторов ухудшения состояния пациента для оперативной коррекции лечения [2].

Также дискуссионным остается вопрос о коррекции микроэлементного дисбаланса в комплексной терапии ИИ.

Таким образом, **цель** настоящего обзора заключалась в систематизации данных о роли цинка, меди и железа в патогенезе ишемического инсульта, оценке их диагностической значимости и возможных перспективах коррекции микроэлементного дисбаланса на основе современных научных исследований.

Физиологическая роль и гомеостаз цинка, меди и железа в ЦНС

Цинк (Zn) – ключевой микроэлемент, участвующий в широком спектре биологических процессов, в том числе в функционировании нервной

системы; Zn играет решающую роль в нейромодуляции, синаптической пластичности, процессах обучения и памяти

Zn транспортируется в мозг альбуминами (около 80 %) и α 2-макроглобулином (до 20 %) крови [3]. Поступление Zn в мозг регулируется эндотелием ГЭБ. Содержание Zn во взрослом мозге составляет около 200 μ M. Среди отделов мозга самые высокие концентрации отмечены в гиппокампе, миндалевидном теле и коре [4]. Наибольшие количества цинка содержатся в синаптических пузырьках глутаматергических нейронов гиппокампа и коры мозга, а также в содержащих гормон роста нейронах передней доли гипофиза и пигментных эпителиальных клетках сетчатки [5].

В биологических системах цинк находится в форме Zn^{2+} . Концентрация свободного Zn в цитоплазме покоящихся нейронов крайне мала и находится в субнанолярном диапазоне. Импорт Zn^{2+} внутрь клеток преимущественно осуществляется транспортерами семейства ZIP (Zrt-/Irt-like proteins), которые помимо Zn транспортируют некоторые двухвалентные катионы металлов таких как Fe, Mn, Cu, Cd и др. Основная роль в транспорте Zn в клетку отводится ZIP1 и ZIP2 [6]. Практически весь внутриклеточный Zn связан с белками, которые нейтрализуют цитотоксичность его ионов. Внутриклеточный пул лабильного Zn представлен комплексами с металлотионеинами – низкомолекулярными белками, богатыми цистеином, которые аккумулируют в себе до 15 % внутриклеточного Zn. Для доставки металла к специфическим мишеням используются специфические металлошапероны, например, белки семейства ZNG1 (zinc-regulated GTPase metalloprotein activator) [7].

Экспорт Zn из клеток осуществляется транспортерами ZnT (Zinc transporter), например, ZnT1, которые локализованы на плазматической мембране и обеспечивают выведение Zn^{2+} наружу и ZnT2/ZnT3, участвующими в секвестрации Zn в везикулы или синаптические пузырьки.

Регуляция транспорта Zn происходит путем изменения экспрессии генов металлотионеинов, ZIP и ZnT под действием транскрипционного фактора MTF-1 (metal-responsive transcription factor 1), который активируется при связывании с Zn^{2+} [8]. Также важную роль играет посттрансляционный контроль, включая интернализацию транспортеров при избытке Zn.

Медь (Cu) является важнейшим МЭ, участвующим в ключевых физиологических процессах нервной системы: она входит в состав цитохром-с-оксидазы, участвуя в энергетическом метаболизме, яв-

ляется кофактором супероксиддисмутазы (Cu/Zn-SOD), участвуя в антиоксидантной защите, является кофактором дофамин- β -гидроксилазы, участвующей в синтезе норадреналина (нейротрансмиттерная роль) и т.д.

Существует значительное расхождение между данными о концентрациях Cu в головном мозге: ее среднее содержание оценивается в пределах от 2,5–3,5 мкг/г [9] до 10-25 мкг/г [10].

Уровни Cu варьируются в разных областях мозга: молекулярный слой зубчатой извилины гиппокампа, голубое пятно, черная субстанция и субвентрикулярная зона имеют более высокое содержание Cu, чем другие области. Гетерогенность концентрации Cu в мозге частично связана с уровнем экспрессии Cu-зависимых ферментов, таких как пептидилглицин- α -амидирующая монооксигеназа в обонятельной луковице и дофамин- β -гидроксилаза в голубом пятне. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что Cu в большей степени сосредоточена в сером веществе (телах нейронов, дендритах и синапсах), по сравнению с белым веществом мозга (миелинизированными аксонами).

В целом, нейрональные и глиальные клетки играют различную роль в гомеостазе Cu в мозге. В нейронах Cu необходима для функциональной активности мозга: производства нейротрансмиттеров, передачи сигналов и синаптической пластичности, тогда как астроциты и глия осуществляют хранение и перераспределение Cu.

Транспорт ионов Cu в организме осуществляется в основном церулоплазмином крови (до 90 %), и, в меньшей степени, α 2-макроглобулином (до 15 %) и альбуминами. Cu попадает в ЦНС через систему кровообращения и транспортируется в виде свободных ионов через ГЭБ [11].

Внутри клеток мозга ионы Cu^{2+} переносятся переносчиком DMT1 (divalent metal transporter 1), который способен неспецифично транспортировать и другие катионы двухвалентных металлов, в том числе Zn и Fe. Однако значение именно DMT1 в транспорте меди оказывается невысоким. Специфичный транспортер CTR1 (copper transporter 1) переносит медь в виде иона Cu^{1+} внутрь клеток [12]. Металлоредуктазы на поверхности мембран клеток (например, STEAP) восстанавливают Cu^{2+} до Cu^{1+} , позволяя CTR1 транспортировать одновалентный ион внутрь [13]. Предполагается, что такая специфичность эволюционно закреплена для того, чтобы развести пути метаболизма переходных металлов друг от друга.

Внутри клетки ионы Cu связываются с пептидами (глутатион) и белками для предотвращения цитотоксического эффекта и создания ее пула в клетке.

К белкам, связывающим ионы Cu, относится переносчик меди Atox1 (antioxidant 1 copper chaperone), который является основным внутриклеточным транспортером меди, и металлошапероны к SOD – CCS (copper chaperone for superoxide dismutase), и к цитохромксидазе – Cox17 и SCO2. Комплекс Atox1 с медью, способен входить в ядро клетки и связываться с ДНК, оказывая влияние на экспрессию генов метаболизма меди [14].

В транспорте ионов Cu из клетки задействованы переносчик Atox1 и АТФ-зависимые помпы – АТР7А (транспорт Cu^{1+} между аппаратом Гольджи и наружной мембраной) и АТР7В (транспорт ионов меди в аппарат Гольджи).

Регуляция поступления Cu происходит путем уменьшения или увеличения числа активных транспортеров на мембране за счет интернализации в везикулы или усиления транскрипции, соответственно. Также может изменяться экспрессия и транспортеров АТР7А и АТР7В [11].

Железо (Fe) играет важную роль в процессах пролиферации нейронов, миелинизации, энергопродукции, нейротрансмиссии и работе различных ферментов в ЦНС.

Известно, что распределение общего Fe в здоровом головном мозге человека гетерогенно: самые высокие концентрации отмечены в базальных ганглиях, низкие – в коре, среднем мозге и мозжечке, ещё ниже – в мосту, области голубоватого пятна и продолговатом мозге. Нейроны неокортекса, черной субстанции, субикулума и глубоких ядер мозжечка демонстрируют сопоставимые уровни Fe. Однако содержание Fe в глиальных клетках обычно выше, чем в нейронах. Олигодендроциты обладают самой высокой концентрацией Fe, среди глиальных клеток [15].

Транспорт Fe к органам и тканям осуществляется трансферрином крови. Передача Fe от трансферрина в клетки осуществляется с помощью рецептора трансферрина TrfR. Образующийся после связывания трансферрина с рецептором TrfR комплекс подвергается эндоцитозу; после высвобождения ионов железа Fe^{3+} внутри клетки, рецептор перемещается обратно на мембрану клетки, вместе с ним трансферрин высвобождается в кровь или интерстициальную жидкость.

Показано, что Fe активно транспортируется между нейронами, микроглией и астроцитами, однако причины данного явления не ясны. Известно, что трансферрин в головном мозге синтезируется в олигодендроцитах и хороидном сплетении, однако секретируется только последним [16].

Импорт свободных ионов Fe^{2+} в клетки опосредуется переносчиком DMT1. Специфичность транспорта Fe обеспечивается комбинацией

DMT1 и рецепторов трансферрина (TfR1), которые захватывают Fe, связанное с трансферрином, через эндоцитоз.

Внутриклеточное Fe связывается с ферритином – белком, который депонирует металл в нетоксичной форме. Для распределения железа внутри клеток (например, для синтеза гема) используется шаперон PCBP1 (Poly(rC)-binding protein 1), доставляющий Fe^{2+} к ферропортирующим белкам. Fe также включается в $[FeS]$ кластеры при участии шапероновой системы ISC [17].

Экспорт Fe из клеток осуществляется через ферропортин – единственный известный транспортер, выводящий Fe^{2+} наружу. Для окисления Fe^{2+} до Fe^{3+} (необходимого для связывания с трансферрином) используется ферроксидаза гепестин или церулоплазмин.

Регуляция метаболизма Fe осуществляется на уровне экспрессии DMT1, TfR1 и ферропортина. Ключевую роль играет белок гепсидин, который при избытке Fe связывается с ферропортином, вызывая его деградацию и блокируя экспорт. Транскрипционный контроль обеспечивается системой IRP/IRE (Iron Regulatory Proteins/Iron Responsive Elements), которая регулирует трансляцию генов в зависимости от уровня Fe в клетках [18].

Понимание физиологических механизмов гомеостаза Zn, Cu и Fe в ЦНС необходимо для последующего анализа их роли в патогенезе ишемического инсульта.

Патофизиологическая роль цинка, меди и железа при ишемическом инсульте

В условиях ишемии ткани мозга подвергаются острому энергетическому дефициту вследствие прекращения поступления глюкозы и кислорода. Это приводит к нарушению работы ионных насосов, утрате мембранного потенциала, дисбалансу ионов (Na^+ , Ca^{2+} , Zn^{2+}), активации NMDA/AMPA-рецепторов и вторичному каскаду цитотоксических процессов, в частности, перегрузке митохондрий Ca^{2+} , увеличению выработки активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА) и активации различных путей клеточной гибели.

В зоне ишемического ядра происходит гибель нейронов и глиальных клеток, в основном по некротическому пути, наблюдается дезинтеграция ГЭБ и инфильтрация ткани иммунокомпетентными клетками.

В острой фазе, в период «терапевтического окна», клетки в зоне полутени (пенумбре) относительно жизнеспособны, но градуально происходит разрушение внутриклеточных структур, наблюдаются признаки дегенерации и в конечном итоге наступает их гибель. Нейроны и гли-

альные клетки, включая микроглию и астроциты, претерпевают морфологические, биохимические и генетические изменения. В нейронах наблюдается активация различных сигнальных путей, ведущих их к гибели по пути апоптоза, пироптоза, некроза, некроптоза и др. Активация микроглии и трансформация ее фенотипа в воспалительный является острой реакцией на церебральную ишемию. Активированная глия мигрирует к пораженному участку и инициирует воспалительный процесс, выделяя цитокины, АФА и АФК, и металлопротеиназы [19]. Дополнительно к этому происходит разрушение компонентов ГЭБ, что усугубляет ишемическое повреждение [20].

Значительную роль в патогенезе повреждения тканей мозга при ишемии играет нарушение гомеостаза МЭ. В частности, отмечается упомянутая выше аккумуляция Na и Ca, а также значительных количеств Zn, Cu и Fe как в очаге ишемии, так и в пенумбре, которые усугубляют токсические повреждения и гибель нейронов [21,22].

В частности, показано, что избыток Zn в ишемизированной области запускает каскад нейротоксических механизмов. При ИИ наблюдается увеличение концентрации Zn как в ишемическом ядре, так и в зоне полутени: он выделяется из Zn-содержащих глутаматергических терминалей во внеклеточное пространство, также показана аккумуляция свободного Zn в телах нейронов, где происходит высвобождение его ионов из белков, и выход из внутриклеточных органелл, депонирующих его ионы [23].

Одним из ключевых факторов нейротоксического действия избытка Zn является окислительный стресс: его накопление в митохондриях, нарушает их функции и активирует НАДФН-оксидазу, что приводит к избыточному образованию АФК. Параллельно Zn активирует воспалительные процессы, стимулируя микроглию к выделению провоспалительных цитокинов. Еще одним механизмом является патологическая аутофагия: избыток Zn приводит к пермеабиллизации лизосомальных мембран, что приводит к неконтролируемому разрушению клеток. Также избыток Zn увеличивает проницаемость ГЭБ, нарушая функционирование клеток эндотелия и активируя ММП-2 и ММП-9, которые разрушают межклеточный матрикс и белки плотных контактов [24, 25].

Накопление Cu при ИИ способно вызвать *купроптоз* [26] – гибель клеток, обусловленную прямым связыванием ионов Cu^{1+} с липоилированными митохондриальными белками, что приводит к их агрегации и развитию протеотоксического

стресса. Значительную роль в процессе купроптоза играет внутримитохондриальный белок ферредоксин-1, восстанавливающий ионы меди Cu^{2+} до Cu^{1+} [27].

Fe играет ключевую роль в патогенезе окислительного стресса и нейровоспаления при ИИ. Дисбаланс между ферро- (Fe^{2+}) и ферриформой (Fe^{3+}) приводит к усилению генерации АФК в реакции Фентона, гиперактивации перекисного окисления липидов, снижению уровня восстановленного глутатиона, и в конце концов *ферроптозу* – программируемой некротической гибели клеток [28,29].

Также, избыток металлов переменной валентности может индуцировать нейродегенерацию через механизмы, отличные от активации перекисидации липидов, в частности, ионы Fe^{3+} и Cu^{2+} способны окислять катехоламины, в том числе дофамин, до токсичных хинонов [30, 31].

Таким образом, нарушение гомеостаза Zn, Cu и Fe в условиях ишемии усиливает нейротоксичность, способствует дегенерации клеток и структур мозга, а также является потенциальной мишенью для нейропротективного вмешательства.

Прогностическая значимость концентраций цинка, меди и железа в крови пациентов при ишемическом инсульте

Несмотря на растущий интерес к МЭ как потенциальным биомаркерам, данные об их диагностической и прогностической ценности при ИИ остаются противоречивыми. Результаты клинических исследований демонстрируют широкий разброс концентраций Zn, Cu и Fe в сыворотке крови пациентов с ИИ, и разную направленность их изменений, что затрудняет интерпретацию и клиническое применение. В ряде исследований описано снижение их уровней в сыворотке крови [32], в других, напротив, показано, что ИИ приводит к увеличению сывороточных уровней цинка, меди и железа [33].

Для примера в таблицах 1–3 продемонстрированы данные по уровням Zn и Cu, полученные разными авторами. В приведенных таблицах отражены противоположные изменения концентраций Zn и Cu в сыворотке крови у пациентов с ИИ.

Данная неоднозначность результатов может быть обусловлена совокупностью факторов.

В первую очередь, отсутствием информации о содержании МЭ в сыворотке у пациентов до начала ИИ, что создает предпосылки для неверной интерпретации данных и неправильных выводов.

Во вторых, ошибками классификации – выборка пациентов с ИИ и формирование группы исследования должны учитывать как минимум локализацию очага инсульта, так как известно,

Таблица 1 – Содержание микроэлементов* в крови у пациентов с кардиоэмболическим вариантом ишемического инсульта (по классификации TOAST [34]), и с другими этиопатогенетическими вариантами инсульта в сравнении с данными здоровых лиц, Me (25–75-й перцентили) [35]

Table 1 – The content of trace elements* in the blood of patients with cardioembolic ischemic stroke (according to the TOAST classification [34]), and with other etiopathogenetic variants of stroke in comparison with the data of healthy individuals, Iu (25th-75th percentiles) [35]

Показатель	Здоровые лица, n=16	Пациенты с кардиоэмболическим ИМ, n=15	Пациенты с другими этиопатогенетическими вариантами ИИ, n=16
Медь, мкмоль/л	179 (26,4–557)	13,7 (8,5–20,1) p=0,01	18,1 (12,7–39,1) p=0,009
Цинк, мкмоль/л	360 (48,6–12 531)	66,5 (12,3–163)	60,0 (6,6–93,8)

Примечание: * Уровни МЭ определены методом атомно-эмиссионной спектроскопии с возбуждением спектров электрической дугой переменного тока

Note: * ME levels are determined by atomic emission spectrometry with excitation of the spectra by an alternating current electric arc

Таблица 2 – Средние значения содержания меди и цинка** в сыворотке крови здоровых и больных мужчин с ишемическим инсультом [36]

Table 2 – Average values of copper and zinc** in the blood serum of healthy and sick men with ischemic stroke [36]

Показатель	Здоровые (n = 39)	Больные (n = 51)	Достоверность различия (p)
Cu, мкг/мл	1,09±0,19	1,27±0,23	0,008
Zn, мкг/мл	0,93±0,14	1,19±0,17	< 0,001

Примечание: ** – Уровни МЭ определены методом масс спектроскопии с индуктивно связанной аргоновой плазмой

*Note:*** – ME levels were determined by inductively coupled argon plasma mass spectrometry

Таблица 3 – Содержание цинка, меди и соотношение Cu/Zn сыворотки крови у пациентов с острым ишемическим инсультом по сравнению с популяцией здоровых людей в северо-восточном регионе Польши (согласно [37])

Table 3 – The content of zinc, copper, and the Cu/Zn ratio of blood serum in patients with acute ischemic stroke compared with the population of healthy people in the northeastern region of Poland (according to [37])

		Здоровые	Пациенты с ИИ	p*
Zn, мг/л	Все	0,79 (0,71–0,89)	0,62 (0,51–0,73)	<0,001
	Мужчины	0,76 (0,69–0,88)	0,65 (0,51–0,73)	
	Женщины	0,79 (0,72–0,90)	0,59 (0,51–0,73)	
	p	0,658	0,573	
Cu, мг/л	Все	0,97 (0,86–1,24)	0,99 (0,82–1,12)	0,283
	Мужчины	0,86 (0,78–1,11)	0,97 (0,8–1,11)	
	Женщины	1,06 (0,91–1,29)	1,01 (0,84–1,14)	
	p	0,008	0,245	
Молярное соотношение Cu/Zn	Все	1,34 (1,08–1,66)	1,68 (1,22–2,09)	<0,001
	Мужчины	1,19 (1,01–1,41)	1,61 (1,22–2,06)	
	Женщины	1,46 (1,14–1,76)	1,74 (1,20–2,20)	
	p	0,022	0,485	

Примечание: *** Уровни МЭ определены методом атомно-абсорбционной спектроскопии

*Note:**** ME levels were determined by atomic absorption spectrometry

что между различными регионами мозга наблюдаются существенные различия в концентрациях МЭ, а также наличие индивидуальных особенностей метаболизма у пациентов, хронических заболеваний, воспалительных процессов и применение медикаментов, которые могут повлиять на уровни МЭ в крови.

В-третьих, особенности методологии определения МЭ играют немаловажную роль. Отличия

в условиях хранения, транспортировки и пробоподготовки, а также использование различных методов определения, реагентов и калибровочных стандартов могут значительно влиять на точность измеряемых концентраций, что отражается на итоговых данных исследования. Кроме того, большинство современных методологических подходов не учитывают того, что, МЭ в организме могут присутствовать как в свобод-

ной, так и в связанной формах. В итоге, получаемые данные не могут быть должным образом интерпретированы и быть использованы в клинической практике.

Немаловажным аспектом является временной промежуток между началом патологического процесса и моментом взятия крови – динамика уровней МЭ во время острого и восстановительного периодов ИИ может существенно различаться, что усложняет сопоставление результатов различных исследований.

Отдельные исследования указывают на возможную прогностическую ценность соотношений между МЭ, например Cu/Zn (таблица 3, [37]), в контексте тяжести течения заболевания и исхода. Однако необходима стандартизация методик и критериев оценки, прежде чем данные параметры смогут быть внедрены в рутинную клиническую практику.

Таким образом, проведенный анализ литературных данных выявил существенные различия между направленностью изменений уровней Zn, Cu и Fe в сыворотке крови пациентов с ИИ. Несмотря на потенциальную значимость указанных элементов как прогностических маркеров, их использование ограничено недостаточной воспроизводимостью результатов исследований. Следует подчеркнуть, что такие противоречивые результаты указывают на необходимость стандартизации протоколов исследования уровней МЭ у данной категории пациентов, что может стать перспективным направлением для последующих исследований, направленных на совершенствование диагностики и терапии ИИ.

Коррекция микроэлементного дисбаланса при ишемическом инсульте

В свете данных о вовлеченности Zn, Cu и Fe в патогенез ИИ, логичным становится вопрос о возможности терапевтической коррекции их уровней в пораженном участке мозга.

Идея о добавлении препаратов Zn [38], Cu [39] или Fe [40] в состав комплексной терапии ИИ основана на наблюдениях сниженных уровней этих элементов в крови пациентов с ИИ в некоторых исследованиях. Однако подобная стратегия представляется чрезмерно механистической и редуционистской, поскольку она не учитывает значимую роль избытка Zn, Cu и Fe в патогенезе ишемического повреждения, и игнорирует многофакторность регуляторных механизмов, участвующих в поддержании гомеостаза МЭ в организме. В целом, данный подход вызывает сомнения, учитывая доказанный вклад их избытка в окислительный стресс, нейротоксичность и активацию механизмов клеточной гибели.

Наоборот, исследования последних лет акцентируют внимание на перспективности хелаторной терапии – направленного связывания и выведения избытка МЭ, вовлеченных в патогенез инсульта [41].

Ключевой проблемой остаётся обеспечение специфичности действия хелаторов – предотвращение дефицита микроэлементов в здоровых тканях. Это возможно при использовании систем таргетной доставки или препаратов, активируемых в условиях ишемии. Несмотря на технологические ограничения, направление активно развивается и может стать основой персонализированной терапии инсульта в долгосрочной перспективе.

На сегодняшний день изучены возможности применения хелаторной терапии для коррекции уровней Zn, Cu и Fe при моделировании ИИ на культурах клеток, органных культурах и в экспериментах на животных. Хелаторы Zn, Cu и Fe демонстрируют эффективность в доклинических моделях, снижая объем ишемического повреждения, подавляя окислительный стресс, воспаление и проявления купро- и ферроптоза.

Так, показано, что связывание Zn с помощью мембранопроницаемого селективного хелатора TPEN при моделировании ИИ заметно снижает количество апоптотических клеток в органной культуре и в гиппокампе крыс при моделировании глобальной ишемии, что сопровождается значительным уменьшением объема ишемического повреждения [42, 43].

При исследовании эффектов хелатирования Cu D-пеницилламином в модели ИИ путем окклюзии средней мозговой артерии у крыс, показано, что хелатирование уменьшало объем инфаркта головного мозга, способствовало сохранению дыхания и мембранного потенциала митохондрий, блокировало пути купроптоза, опосредованного FDX1 [44]. Использование тетрагиолибдата аммония, еще одного хелатора ионов Cu широко применяемого при болезни Вильсона, при моделировании ИИ у крыс повышало активность антиоксидантных систем мозга и снижало окислительное повреждение ткани, количества конечных продуктов нитрозативного стресса и уровень провоспалительных цитокинов [45].

В экспериментах на крысах показано, что хелаторы Fe – десфероксамин и деферипрон – облегчают постинсультную симптоматику и нейрокогнитивные нарушения [46], предотвращая развитие окислительного стресса и ферроптоза; селективный хелатор ионов Fe²⁺ блокировал развитие ферроптоза и снижал нейрокогнитивный дефицит при моделировании ИИ у крыс [47]. Однако, говорить

об использовании хелаторов железа при ишемическом инсульте в клинике преждевременно.

Заключение

Микроэлементы цинк, медь и железо играют ключевую роль в регуляции нейробиологических процессов и гомеостаза в условиях как физиологического функционирования мозга, так и при развитии ишемического инсульта. Нарушение их баланса, как в сторону дефицита, так и избыточного накопления, оказывает значительное влияние на тяжесть и исход ишемического повреждения.

Проведённый обзор демонстрирует потенциальную значимость Zn, Cu и Fe не только в патогенезе инсульта, но и как потенциальных биомаркеров и терапевтических мишеней. При этом текущие научные данные носят противоречивый характер, что связано с отсутствием стандартизации подходов к измерению, диагностике и интерпретации микроэлементного статуса пациентов.

С практической точки зрения, представленная информация может быть полезна представлять значительный интерес для широкого круга специалистов. В первую очередь, информация будет полезна клиницистам, неврологам, поскольку изложенные сведения способствуют более глубокому пониманию молекулярно-клеточных механизмов заболевания. Кроме того, обзор представляет ценность для исследователей и ученых, занимающихся изучением патофизиологии ишемического инсульта, а также разработкой новых методов коррекции метаболических нарушений, связанных с микроэлементным дисбалансом.

Выявленные в обзоре противоречия и недостатки существующих методик анализа и стратификации пациентов по клинико-метаболическим признакам подчёркивают актуальность внедрения стандартизированных протоколов в исследованиях, что может стать толчком для дальнейших эмпирических работ и открытий.

Благодарности

Исследование выполнено в рамках работ по заданию 4.1.5. «Разработка способов коррекции метаболической патологии природными иммуномодуляторами и антиоксидантами» ГПНИ «Трансляционная медицина» на 2021–2025 годы, подпрограмма «Экспериментальная медицина» (№ гос. регистрации 20212113).

Acknowledgements

The study was carried out as part of the work on task 4.1.5. "Development of methods for correcting metabolic pathology with natural immunomodulators and antioxidants" of the State Program for Scientific Research "Translational Medicine" for 2021-2025, subprogram "Experimental Medicine" (state registration number 20212113).

Список использованных источников

1. World Stroke Organization: Global Stroke Fact Sheet 2025 / V. L. Feigin, M. Brainin, B. Norrving [et al.] // *Int. J. Stroke.* – 2025. – Vol. 20, №2. – P. 132–144. DOI: 10.1177/17474930241308142.
2. Blood biomarkers in ischemic stroke diagnostics and treatment – future perspectives / A. Babić, M. Brainin, B. Norrving [et al.] // *Medicina.* – 2025. – Vol. 61. – Art. 514. DOI: 10.3390/medicina61030514.
3. Stiles, L. I. Role of zinc in health and disease / L. I. Stiles, K. Ferrao, K. J. Mehta // *Clin. Exp. Med.* – 2024. – Vol. 24, №1. – Art. 38. DOI: 10.1007/s10238-024-01302-6.
4. Qi, Z. The interaction of zinc and the blood-brain barrier under physiological and ischemic conditions / Z. Qi, K. J. Liu // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2019. – Vol. 364. – P. 114–119. DOI: 10.1016/j.taap.2018.12.018.
5. Regulation of GH and gh signaling by nutrients / M. Caputo, S. Pigni, E. Agosti [et al.] // *Cells.* – 2021. – Vol. 10, №6. – Art. 1376. DOI: 10.3390/cells10061376.
6. The physiological, biochemical, and molecular roles of zinc transporters in zinc homeostasis and metabolism / T. Kambe, T. Tsuji, A. Hashimoto, N. Isumura // *Physiol. Rev.* – 2015. – Vol. 95, №3. – P. 749–784. DOI: 10.1152/physrev.00035.2014.
7. Zn-regulated GTPase metalloprotein activator 1 modulates vertebrate zinc homeostasis / A. Weiss, C. C. Murdoch, K. A. Edmonds [et al.] // *Cell.* – 2022. – Vol. 185, №12. – P. 2148–2163. DOI: 10.1016/j.cell.2022.04.011.
8. Metal responsive transcription factor 1 (MTF-1) regulates zinc dependent cellular processes at the molecular level / A. Grzywacz, J. Gdula-Argasińska, B. Muszyńska [et al.] // *Acta Biochim. Pol.* – 2015. – Vol. 62, №3. – P. 491–498. DOI: 10.18388/abp.2015_1038.
9. Regional distributions of iron, copper and zinc and their relationships with glia in a normal aging mouse model / A. Ashraf, C. Michaelides, T. A. Walker [et al.] // *Front. Aging Neurosci.* – 2019. – Vol. 11. – Art. 351. DOI: 10.3389/fnagi.2019.00351.
10. Isotope dilution LA-ICP-MS for quantitative imaging of trace elements in mouse brain sections / J. Liu, L. Zheng, Q. Li [et al.] // *Anal. Chim. Acta.* – 2023. – Vol. 1273. – Art. 341524. DOI: 10.1016/j.aca.2023.341524.
11. The role of copper homeostasis in brain disease / Y. An, S. Li, X. Huang [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23, №22. – Art. 13850. DOI: 10.3390/ijms232213850.
12. Roy, S. Mechanism of Cu entry into the brain: many unanswered questions / S. Roy, S. Lutsenko // *Neural. Regen. Res.* – 2024. – Vol. 19, №11. – P. 2421–2429. DOI: 10.4103/1673-5374.393107.
13. Knutson, M. D. STEAP proteins: implications for iron and copper metabolism / M. D. Knutson // *Nutr. Rev.* – 2007. – Vol. 65, №7. – P. 335–340. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2007.tb00311.x.
14. Copper chaperone antioxidant 1: multiple roles and a potential therapeutic target / D. Yang, P. Xiao, B. Qiu [et al.] // *J. Mol. Med. (Berl).* – 2023. – Vol. 101, №5. – P. 527–542. DOI: 10.1007/s00109-023-02311-w.

15. Qian, Z. M. Brain iron transport / Z. M. Qian, Y. Ke // *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* – 2019. – Vol. 94, № 5. – P. 1672–1684. DOI: 10.1111/brv.12521.
16. Apicobasal transferrin receptor localization and trafficking in brain capillary endothelial cells / S. S. E. Nielsen, M. R. Holst, K. Langthaler [et al.] // *Fluids Barriers CNS.* – 2023. – Vol. 20, № 1. – Art. 2. DOI: 10.1186/s12987-022-00404-1.
17. Iron-tracking strategies: chaperones capture iron in the cytosolic labile iron pool / C. C. Philpott, O. Protchenko, Y. Wang [et al.] // *Front. Mol. Biosci.* – 2023. – Vol. 10. – Art. 1127690. DOI: 10.3389/fmolb.2023.1127690.
18. Ganz, T. Systemic iron homeostasis / T. Ganz // *Physiol. Rev.* – 2013. – Vol. 93, № 4. – P. 1721–1741. DOI: 10.1152/physrev.00008.2013.
19. Signaling pathways involved in ischemic stroke: molecular mechanisms and therapeutic interventions / C. Qin, S. Yang, Y. H. Chu [et al.] // *Sig. Transduct. Target. Ther.* – 2022. – Vol. 7. – Art. 215. DOI: 10.1038/s41392-022-01064-1.
20. Ischemia reperfusion injury induced blood brain barrier dysfunction and the involved molecular mechanism / X. Guo, R. Liu, M. Jia [et al.] // *Neurochem. Res.* – 2023. – Vol. 48, № 8. – P. 2320–2334. DOI: 10.1007/s11064-023-03923-x.
21. Targeting the ischemic core: a therapeutic microdialytic approach to prevent neuronal death and restore functional behaviors / M. J. Tsai, D. Y. Liou, L. Y. Fay [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2025. – Vol. 26, № 8. – Art. 3821. DOI: 10.3390/ijms26083821.
22. Tracking elemental changes in an ischemic stroke model with X-ray fluorescence imaging / M. J. Pushie, N. J. Sylvain, H. Hou [et al.] // *Sci. Rep.* – 2020. – Vol. 10. – Art. 17868. DOI: 10.1038/s41598-020-74698-2.
23. Contribution of zinc accumulation to ischemic brain injury and its mechanisms about oxidative stress, inflammation, and autophagy: an update / X. Yang, W. Li, M. Ding [et al.] // *Metalomics.* – 2024. – Vol. 16, № 3. – Art. mfae012. DOI: 10.1093/mtomcs/mfae012.
24. Zheng, X. Tight junction proteins related to blood-brain barrier and their regulatory signaling pathways in ischemic stroke / X. Zheng, B. Ren, Y. Gao // *Biomed. Pharmacother.* – 2023. – Vol. 165. – Art. 115272. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.115272.
25. Stroke-induced damage on the blood-brain barrier / S. Xue, X. Zhou, Z.-H. Yang [et al.] // *Front. Neurol.* – 2023. – Vol. 14. – Art. 1248970. DOI: 10.3389/fneur.2023.1248970.
26. Cuproptosis in stroke: focusing on pathogenesis and treatment / L. Xing, Z. Wang, Z. Hao [et al.] // *Front. Mol. Neurosci.* – 2024. – Vol. 17. – Art. 1349123. DOI: 10.3389/fnmol.2024.1349123.
27. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins / P. Tsvetkov, S. Coy, B. Petrova [et al.] // *Science.* – 2022. – Vol. 375, № 6586. – P. 1254–1261. DOI: 10.1126/science.abf0529.
28. Ferroptosis: past, present and future / J. Li, F. Cao, H. Yin [et al.] // *Cell Death Dis.* – 2020. – Vol. 11. – Art. 88. DOI: 10.1038/s41419-020-2298-2.
29. Progress of ferroptosis in ischemic stroke and therapeutic targets / X. Tian, X. Li, M. Pan [et al.] // *Cell Mol. Neurobiol.* – 2024. – Vol. 44, № 1. – Art. 25. DOI: 10.1007/s10571-024-01457-6.
30. Copper-mediated DNA damage by the neurotransmitter dopamine and L-DOPA: A pro-oxidant mechanism / N. Rehmani, A. Zafar, H. Arif [et al.] // *Toxicol. In Vitro.* – 2017. – Vol. 40. – P. 336–346. DOI: 10.1016/j.tiv.2017.01.020.
31. Ito, S. Chemical reactivities of ortho-quinones produced in living organisms: fate of quinonoid products formed by tyrosinase and phenoloxidase action on phenols and catechols / S. Ito, M. Sugumaran, K. Wakamatsu // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 17. – Art. 6080. DOI: 10.3390/ijms21176080.
32. Association of metallic and nonmetallic elements with fibrin clot properties and ischemic stroke / H. Jakubowski, M. Sikora, E. Bretes [et al.] // *Life (Basel).* – 2024. – Vol. 14, № 5. – Art. 634. DOI: 10.3390/life14050634.
33. Serum/plasma zinc is apparently increased in ischemic stroke: a meta-analysis / M. Huang, L. Zhu, Y. Chen [et al.] // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2022. – Vol. 200, № 2. – P. 615–623. DOI: 10.1007/s12011-021-02703-4.
34. Макро- и микроэлементы в сыворотке крови пациентов с ишемическим инсультом при различном уровне нейроспецифического белка VEGF / Л. Л. Клименко, А. И. Деев, И. С. Баскаков [и др.] // *Микроэлементы в медицине.* – 2018. – Т. 19, № 4. – С. 59–62. DOI: 10.19112/2413-6174-2018-19-4-59-62.
35. Nielsen, V. G. Effects of cupric chloride on coagulation in human plasma: role of fibrinogen / V. G. Nielsen, T. D. Ward, P. M. Ford // *J. Thromb. Thrombolysis.* – 2018. – Vol. 46, № 3. – P. 359–364. DOI: 10.1007/s11239-018-1704-4.
36. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in acute stroke treatment / H. P. Adams, B. H. Bendixen, L. J. Kappelle [et al.] // *Stroke.* – 1993. – Vol. 24, № 1. – P. 35–41. DOI: 10.1161/01.str.24.1.35.
37. Selenium, copper, zinc concentrations and Cu/Zn, Cu/Se molar ratios in the serum of patients with acute ischemic stroke in Northeastern Poland – a new insight into stroke pathophysiology / A. Mironczuk, K. Kapica-Topczewska, K. Socha [et al.] // *Nutrients.* – 2021. – Vol. 13, № 7. – Art. 2139. DOI: 10.3390/nu13072139.
38. Akbari, G. Role of zinc supplementation on ischemia/reperfusion injury in various organs / G. Akbari // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2020. – Vol. 196, № 1. – P. 1–9. DOI: 10.1007/s12011-019-01892-3.
39. Copper supplementation alleviates hypoxia-induced ferroptosis and oxidative stress in neuronal cells / J. Wang, Y. Zou, R. Guan [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* – 2024. – Vol. 54, № 6. – Art. 117. DOI: 10.3892/ijmm.2024.5441.
40. The prognostic role of iron deficiency in acute ischemic stroke patients: a prospective multicentric cohort study / A. Ciacciarelli, A. Falcou, E. Nicolini [et al.] // *J. Neurol. Sci.* – 2025. – Vol. 469. – Art. 123371. DOI: 10.1016/j.jns.2024.123371.
41. The role of metal ions in stroke: current evidence and future perspectives / S. Wang, M. Qin, X. Fan [et al.] // *Ageing Res. Rev.* – 2024. – Vol. 101. – Art. 102498. DOI: 10.1016/j.arr.2024.102498.
42. Blocking mitochondrial Zn²⁺ accumulation after ischemia reduces mitochondrial dysfunction and neuronal injury / Y. V. Medvedeva, H. Z. Yin, A. Bazrafkan [et al.] // *J. Neurosci.* – 2022. – Vol. 42, № 26. – P. 5281–5292. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0874-21.2022.
43. The inhibition of zinc excitotoxicity and AMPK phosphorylation by a novel zinc chelator, 2G11, ameliorates neuronal death induced by global cerebral ischemia / D. K. Hong, J. W. Eom, A. R. Kho [et al.] // *Antioxidants (Basel).* – 2022. – Vol. 11, № 11. – Art. 2192. DOI: 10.3390/antiox11112192.
44. Dexmedetomidine enables copper homeostasis in cerebral ischemia/reperfusion via ferredoxin 1 / Q. Guo, M. Ma, H. Yu [et al.] // *Ann. Med.* – 2023. – Vol. 55, № 1. – Art. 2209735. DOI: 10.1080/07853890.2023.2209735.
45. Neuroprotective effects of ammonium tetrathiomolybdate, a slow-release sulfide donor, in a rodent model of regional stroke / B. P. Mendonça, J. D. S. Cardoso, M. Michels [et

al.] // Intensive Care Med. Exp. – 2020. – Vol. 8, № 1. – Art. 13. DOI: 10.1186/s40635-020-00300-8.

46. Deferoxamine prevents poststroke memory impairment in female diabetic rats: potential links to hemorrhagic transformation and ferroptosis / W. Li, Y. Abdul, R. Chandran [et al.] // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2023. – Vol. 324, № 2. – P. 212–225. DOI: 10.1152/ajpheart.00490.2022.
47. Inhibiting ferroptosis through disrupting the NCOA4-FTH1 interaction: a new mechanism of action / Y. Fang, X. Chen, Q. Tan [et al.] // ACS Cent. Sci. – 2021. – Vol. 7, № 6. – P. 980–989. DOI: 10.1021/acscentsci.0c01592.

References

- 1 Feigin VL, Brainin M, Norrving B et al. world stroke organization: global stroke fact sheet 2025. *Int. J. Stroke.* 2025;20(2):132–144. DOI: 10.1177/17474930241308142.
- 2 Babić A, Bonifačić D, Komen V, Kovačić S et al. Blood biomarkers in ischemic stroke diagnostics and treatment – future perspectives. *Medicina.* 2025, 61, 514. DOI: 10.3390/medicina61030514.
- 3 Stiles LI, Ferrao K, Mehta KJ. Role of zinc in health and disease. *Clin. Exp. Med.* 2024;24(1):38. DOI: 10.1007/s10238-024-01302-6.
- 4 Qi Z, Liu KJ. The interaction of zinc and the blood-brain barrier under physiological and ischemic conditions. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2019;364:114–119. DOI: 10.1016/j.taap.2018.12.018.
- 5 Caputo M, Pigni S, Agosti E, Daffara T et al. Regulation of GH and gh signaling by nutrients. *Cells.* 2021;10(6):1376. DOI: 10.3390/cells10061376.
- 6 Kambe T, Tsuji T, Hashimoto A, Itsumura N. The physiological, biochemical, and molecular roles of zinc transporters in zinc homeostasis and metabolism. *Physiol. Rev.* 2015;95(3):749–84. DOI: 10.1152/physrev.00035.2014.
- 7 Weiss A, Murdoch CC, Edmonds KA, Jordan MR et al. Zn-regulated GTPase metalloprotein activator 1 modulates vertebrate zinc homeostasis. *Cell.* 2022;185(12):2148–2163. DOI: 10.1016/j.cell.2022.04.011.
- 8 Grzywacz A, Gdula-Argasińska J, Muszyńska B, Tyszkaczochara M et al. Metal responsive transcription factor 1 (MTF-1) regulates zinc dependent cellular processes at the molecular level. *Acta Biochim. Pol.* 2015;62(3):491-8. DOI: 10.18388/abp.2015_1038.
- 9 Ashraf A, Michaelides C, Walker TA et al. Regional distributions of iron, copper and zinc and their relationships with glia in a normal aging mouse model. *Front. Aging Neurosci.* 2019;11:351. DOI: 10.3389/fnagi.2019.00351.
- 10 Liu J, Zheng L, Li Q, Feng L et al. Isotope dilution LA-ICP-MS for quantitative imaging of trace elements in mouse brain sections. *Anal. Chim. Acta.* 2023;1273:341524. DOI: 10.1016/j.aca.2023.341524
- 11 An Y, Li S, Huang X, Chen X et al. The role of copper homeostasis in brain disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(22):13850. DOI: 10.3390/ijms232213850.
- 12 Roy S, Lutsenko S. Mechanism of Cu entry into the brain: many unanswered questions. *Neural. Regen. Res.* 2024;19(11):2421–2429. DOI: 10.4103/1673-5374.393107.
- 13 Knutson MD. STEAP proteins: implications for iron and copper metabolism. *Nutr. Rev.* 2007;65(7):335–40. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2007.tb00311.x.
- 14 Yang D, Xiao P, Qiu B, Yu HF, Teng CB. Copper chaperone antioxidant 1: multiple roles and a potential therapeutic target. *J. Mol. Med. (Berl).* 2023;101(5):527–542. DOI: 10.1007/s00109-023-02311-w.
- 15 Qian ZM, Ke Y. Brain iron transport. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 2019;94(5):1672–1684. DOI: 10.1111/brv.12521.
- 16 Nielsen SSE, Holst MR, Langthaler K, Christensen SC et al. Apicobasal transferrin receptor localization and trafficking in brain capillary endothelial cells. *Fluids Barriers CNS.* 2023;20(1):2. DOI: 10.1186/s12987-022-00404-1.
- 17 Philpott CC, Protchenko O, Wang Y, Novoa-Aponte L et al. Iron-tracking strategies: chaperones capture iron in the cytosolic labile iron pool. *Front. Mol. Biosci.* 2023;10:1127690. DOI: 10.3389/fmolb.2023.1127690.
- 18 Ganz T. Systemic iron homeostasis. *Physiol. Rev.* 2013;93(4):1721–41. DOI: 10.1152/physrev.00008.2013.
- 19 Qin C, Yang S, Chu YH et al. Signaling pathways involved in ischemic stroke: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Sig. Transduct. Target Ther.* 2022;7:215. DOI: 10.1038/s41392-022-01064-1.
- 20 Guo X, Liu R, Jia M, Wang Q, Wu J. Ischemia reperfusion injury induced blood brain barrier dysfunction and the involved molecular mechanism. *Neurochem. Res.* 2023;48(8):2320–2334. DOI: 10.1007/s11064-023-03923-x.
- 21 Tsai MJ, Liou DY, Fay LY et al. Targeting the ischemic core: a therapeutic microdialytic approach to prevent neuronal death and restore functional behaviors. *Int. J. Mol. Sci.* 2025;26(8):3821. DOI: 10.3390/ijms26083821.
- 22 Pushie MJ, Sylvain NJ, Hou H et al. Tracking elemental changes in an ischemic stroke model with X-ray fluorescence imaging. *Sci. Rep.* 2020;10: 17868. DOI: 10.1038/s41598-020-74698-2.
- 23 Yang X, Li W, Ding M et al. Contribution of zinc accumulation to ischemic brain injury and its mechanisms about oxidative stress, inflammation, and autophagy: an update. *Metallomics.* 2024;16(3):mfae012. DOI: 10.1093/mtomcs/mfae012.
- 24 Zheng X, Ren B, Gao Y. Tight junction proteins related to blood-brain barrier and their regulatory signaling pathways in ischemic stroke. *Biomed Pharmacother.* 2023;165:115272. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.115272.
- 25 Xue S, Zhou X, Yang Z-H, Si X-K, Sun X. Stroke-induced damage on the blood-brain barrier. *Front. Neurol.* 2023;14:1248970. DOI: 10.3389/fneur.2023.1248970.
- 26 Xing L, Wang Z, Hao Z, Pan P, Yang A, Wang J. Cuproptosis in stroke: focusing on pathogenesis and treatment. *Front. Mol. Neurosci.* 2024;17:1349123. DOI: 10.3389/fnmol.2024.1349123.
- 27 Tsvetkov P, Coy S, Petrova B et al. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins. *Science.* 2022;375(6586):1254–1261. DOI: 10.1126/science.abf0529.
- 28 Li J, Cao F, Yin H et al. Ferroptosis: past, present and future. *Cell Death Dis.* 2020;11:88. DOI: 10.1038/s41419-020-2298-2.
- 29 Tian X, Li X, Pan M, Yang LZ et al. Progress of ferroptosis in ischemic stroke and therapeutic targets. *Cell Mol. Neurobiol.* 2024;44(1):25. DOI: 10.1007/s10571-024-01457-6.
- 30 Rehmani N, Zafar A, Arif H, Hadi SM, Wani AA. Copper-mediated DNA damage by the neurotransmitter dopamine and L-DOPA: a pro-oxidant mechanism. *Toxicol. In Vitro.* 2017;40:336–346. DOI: 10.1016/j.tiv.2017.01.020.
- 31 Ito S, Sugumaran M, Wakamatsu K. Chemical reactivities of ortho-quinones produced in living organisms: fate of quinonoid products formed by tyrosinase and phenoloxidase action on phenols and catechols. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(17):6080. DOI: 10.3390/ijms21176080.
- 32 Jakubowski H, Sikora M, Bretes E, Perla-Kaján J et al. Association of metallic and nonmetallic elements with fibrin clot properties and ischemic stroke. *Life (Basel).* 2024;14(5):634. DOI: 10.3390/life14050634.
- 33 Huang M, Zhu L, Chen Y, Jin Y et al. Serum/plasma zinc is apparently increased in ischemic stroke: a meta-analysis //

- Biol. Trace Elem. Res.* 2022;200(2):615–623. DOI: 10.1007/s12011-021-02703-4.
- 34 Klimenko LL, Deev AI, Baskakov I, Budanova MN et al. Makro- i mikrojelementy v syvorotke krovi pacientov s ishemicheskim insul'tom pri razlichnom urovne nejrospecificheskogo belka VEGF [Macro- and microelements in the blood serum of patients with ischemic insulin at various levels of the neurospecific VEGF protein]. *Mikrojelementy v medicine [Trace elements in medicine]*. 2018;19(4):59–62. (In Russ.) DOI: 10.19112/2413-6174-2018-19-4-59-62.
- 35 Nielsen VG, Ward TD, Ford PM. Effects of cupric chloride on coagulation in human plasma: role of fibrinogen. *J. Thromb. Thrombolysis*. 2018;46(3):359–364. DOI: 10.1007/s11239-018-1704-4.
- 36 Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in acute stroke treatment. *Stroke*. 1993;24(1):35–41. DOI: 10.1161/01.str.24.1.35.
- 37 Mirończuk A, Kapica-Topczewska K, Socha K, Soroczyńska J et al. Selenium, copper, zinc concentrations and Cu/Zn, Cu/Se molar ratios in the serum of patients with acute ischemic stroke in Northeastern Poland – a new insight into stroke pathophysiology. *Nutrients*. 2021;13(7):2139. DOI: 10.3390/nu13072139.
- 38 Akbari G. Role of zinc supplementation on ischemia/reperfusion injury in various organs. *Biol. Trace Elem. Res.* 2020;196(1):1–9. DOI: 10.1007/s12011-019-01892-3.
- 39 Wang J, Zou Y, Guan R, Tan S et al. Copper supplementation alleviates hypoxia-induced ferroptosis and oxidative stress in neuronal cells. *Int. J. Mol. Med.* 2024;54(6):117. DOI: 10.3892/ijmm.2024.5441.
- 40 Ciacciarelli A, Falcou A, Nicolini E, Broccolini A et al. The prognostic role of iron deficiency in acute ischemic stroke patients: a prospective multicentric cohort study. *J. Neurol. Sci.* 2025;469:123371. DOI: 10.1016/j.jns.2024.123371.
- 41 Wang S, Qin M, Fan X, Jiang C et al. The role of metal ions in stroke: current evidence and future perspectives. *Ageing Res. Rev.* 2024;101:102498. DOI: 10.1016/j.arr.2024.102498.
- 42 Medvedeva YV, Yin HZ, Bazrafkan A, Yeromin A et al. Blocking mitochondrial Zn²⁺ accumulation after ischemia reduces mitochondrial dysfunction and neuronal injury. *J. Neurosci.* 2022;42(26):5281–5292. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0874-21.2022.
- 43 Hong DK, Eom JW, Kho AR, Lee SH et al. The inhibition of zinc excitotoxicity and AMPK phosphorylation by a novel zinc chelator, 2G11, ameliorates neuronal death induced by global cerebral ischemia. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(11):2192. DOI: 10.3390/antiox11112192.
- 44 Guo Q, Ma M, Yu H, Han Y, Zhang D. Dexmedetomidine enables copper homeostasis in cerebral ischemia/reperfusion via ferredoxin 1. *Ann. Med.* 2023;55(1):2209735. DOI: 10.1080/07853890.2023.2209735.
- 45 Mendonça BP, Cardoso JDS, Michels M, Vieira AC et al. Neuroprotective effects of ammonium tetrathiomolybdate, a slow-release sulfide donor, in a rodent model of regional stroke. *Intensive Care Med. Exp.* 2020;8(1):13. DOI: 10.1186/s40635-020-00300-8.
- 46 Li W, Abdul Y, Chandran R, Jamil S et al. Deferoxamine prevents poststroke memory impairment in female diabetic rats: potential links to hemorrhagic transformation and ferroptosis. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2023;324(2):212–225. DOI: 10.1152/ajpheart.00490.2022.
- 47 Fang Y, Chen X, Tan Q, Zhou H et al. Inhibiting ferroptosis through disrupting the NCOA4-FTH1 interaction: a new mechanism of action. *ACS Cent. Sci.* 2021;7(6):980–989. DOI: 10.1021/acscentsci.0c01592.

THE ROLE OF ZINC, COPPER, AND IRON IN ISCHEMIC STROKE. LITERATURE REVIEW

A. H. Shlyahatun¹, Zh. V. Motylevich¹, A. F. Raduta¹, F. M. Tursunkhodzhaeva²

¹*Institute of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus;*

²*Institute of the Chemistry of Plant Substances named after academician S. Yu. Yunusov of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan*

Background. Ischemic stroke continues to be one of the foremost contributors to global mortality and long-term disability. Recent investigations have increasingly focused on the influence of trace elements – particularly zinc, copper, and iron – not only in the pathogenesis of ischemic stroke but also in refining diagnostic assessments and enhancing therapeutic interventions.

Beyond this concise overview, there is a growing field of research exploring how alterations in trace element homeostasis might affect neural recovery and vascular integrity. For instance, current studies are examining whether targeted modulation of these elements could mitigate neuronal damage or improve rehabilitation outcomes in stroke patients. Concurrently, the integration of standardized protocols in clinical research is essential for validating these findings and translating them into more effective, personalized treatment strategies.

Objective of this study is to consolidate the current data on the role of zinc, copper, and iron in the pathogenesis of ischemic stroke, evaluate their diagnostic significance, and explore the potential of supplementation strategies to correct micronutrient imbalances in light of contemporary scientific research.

Material and Methods. In preparation for this review, a literature search was conducted to examine the pathogenesis, diagnosis, and management of ischemic stroke, with a particular focus on the role of trace elements – specifically zinc, copper, and iron. Primary sources included peer-reviewed journals, systematic reviews, and meta-analyses obtained from international databases such as PubMed, Web of Science, and Scopus, as well as

from national information repositories. The search encompassed publications from 2015 to 2025, thereby enabling a comprehensive assessment of current research trends.

Results. The authors conducted a comprehensive review of current literature to examine the roles of zinc, copper, and iron in the pathogenesis, diagnostic evaluation, and therapeutic management of ischemic stroke.

Conclusions. This review elucidates the critical roles of trace elements – copper, zinc, and iron, in the pathogenesis, diagnostic evaluation, and therapeutic management of ischemic stroke. It identifies promising avenues for future research and is of significant interest to clinicians, neurologists, and researchers focused on the underlying pathophysiology of ischemic stroke.

Key words: ischemic stroke, trace elements, zinc, copper, iron, cuproptosis, ferroptosis, neuroprotection.

For citation: Shlyahun AH, Motylevich ZhV, Raduta AF, Tursunkhodzhaeva FM. The role of zinc, copper, and iron in ischemic stroke. Literature review. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2025, vol. 4, no. 1(6). pp. 88–98 (in Russian).

Поступила 08.05.2025

**ИЗ СТАРШЕГО ЛАБОРАНТА В ПРОФЕССОРА
(К 95-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ
РАИСЫ ВАСИЛЬЕВНЫ ТРЕБУХИНОЙ)**



Наступивший 2025 год – год 100-летнего юбилея, выдающегося учёного, организатора науки и здравоохранения, педагога академика Юрия Михайловича Островского символически начался с январского юбилея его сподвижницы, ученицы и известного исследователя в области медико-биологических наук Раисы Васильевны Требухиной. 27 января исполнилось 95 лет со дня её рождения. Среди многочисленных учеников Юрия Михайловича, принадлежащих к «первой волне» и позволивших ему обосновать открытие в Гродно академического учреждения (Отдела регуляции обмена веществ (ОРОВ) Академии наук (АН) БССР в 1970 г.) формированием коллектива единомышленников-витаминологов, только Раиса Васильевна от начала до конца прошла совместно с учителем путь в академическую науку, внесла крупный вклад в создание Гродненской биохимической школы.

Р. В. Требухина родилась в г. Ташкенте в семье железнодорожного рабочего, которого в 1944 г. направили на восстановительные работы в г. Брест. Здесь в 1949 г. она завершила среднее образование и поступила в Минский государственный медицинский институт (МГМИ). Ещё до окончания института в каникулярное и предвыпускное время начала трудовую деятельность в качестве медицинской сестры в областных больницах Бреста и Минска, а по распределению в 1955–1957 гг. трудилась на должности главного санитарного врача Сморгонской районной санитарно-эпидемиологической станции (РайСЭС) Молодечненской обла-

сти. В 1957 г. прошла специализацию по бактериологии в Белорусском государственном институте усовершенствования врачей, по окончании которой работала на должности врача-бактериолога в санитарно-контрольной станции группы советских войск в Германии (ГСВГ) до августа 1960 г.

В характеристике начальника части 07365 ГСВГ указывается: «...уделяла большое внимание изучению и освоению современных методов ускоренной диагностики... Имеет склонность к научно-исследовательской работе».

Своими исследовательскими навыками и приобретённым опытом бактериолога Раиса Васильевна решила поступать в аспирантуру по специальности «микробиология» в Гродненский государственный медицинский институт (ГГМИ), была допущена к вступительным экзаменам, но получила предложение Ю. М. Островского работать в коллективе кафедры биохимии на должности старшего лаборанта биохимической лаборатории, в состав которой она и была зачислена 1 ноября 1960 г.

Заведующий кафедрой и ректорат не возражали против её работы по совместительству в Гродненском родильном доме, а, в последующем, в Гродненской РайСЭС. На заявлении Р. В. Требухиной стоит виза Ю. М. Островского: «В совместительстве не возражаю. Более того, считаю целесообразным разрешить его, т.к. кафедра заинтересована в налаживании микробиологического метода определения витамина В₁, а это возможно в условиях



Студенческие годы Р. В. Требухиной: студенты 5-го курса в общежитии (Раиса Васильевна вторая справа) – слева, однокурсницы Иодко, Кирсанова, Требухина (1954) – справа

работы в СЭС по совместительству» (заявление от 13.01.1961 г.). Склонность к исследовательской работе была оценена руководством кафедры и с ноября 1961 г. состоялся перевод на должность младшего научного сотрудника биохимической лаборатории, созданной при кафедре биохимии.

С разрешения Министерства здравоохранения (МЗ) БССР она была направлена на стажировку в г. Москву для освоения микробиологического определения витаминов, что было затем внедрено в экспериментальных исследованиях. По истечении года работы в характеристике зав. кафедрой указывается: «Помимо текущей работы она приняла активное участие в подготовке врачей-лаборантов для Брестской и Гродненской областей. Не считаясь с личным временем... проводит большую научно-исследовательскую работу... В настоящее время ею проводится изучение активности пентозофосфатного цикла при тиреотоксикозе». Из этого архивного документа становится ясным начало основного направления и научного интереса Раисы Васильевны – биохимии пентозофосфатного цикла (ПФЦ). Это же и раздел генерального плана изучения витамина В₁, разработанного Ю. М. Островским, по-

скольку в метаболическом цикле присутствует тиаминный фермент – транскетолаза.

Стремление к научным исследованиям, по всей вероятности, проявилось у Раисы Васильевны ещё в студенческие годы и было посвящено развивающейся области биохимии, к которой мотивацию к научным изысканиям прививал основатель Белорусской биохимической школы, заведующий кафедрой общей химии МГМИ, доцент Бандарин В.А., недавний учитель выпускника 1950 года – Юрия Островского, увлекающегося витаминологией. Знания гигиенических основ витаминологии в эти «догродненские» годы стали серьёзным мотивом последующего творческого сотрудничества с доцентом, а с 1965 г. профессором Юрием Михайловичем Островским, основоположником «Тиаминного направления» в советской (и мировой) витаминологии.

Как следует из перечня научных работ Раисы Васильевны в 1962–1965 г., она освоила методы определения транскетолазы по убыли субстрата и приросту продукта реакции в эритроцитах, анализальдопентоз и пировиноградной кислоты, моделировала недостаточность тиаминна на голубях,



Р. В. Требухина с группой врачей-лаборантов (1963) и с М. Н. Садовник на Втором Всесоюзном биохимическом съезде в Ташкенте (1969)

крысах, мышах, в том числе с применением анти-метаболитов – окситиамина и пиритиамина, а также гипервитаминоз витамина В₁ и состояния острого токсикоза. Именно ею, в сущности, обоснована классическая модель окситиаминового авитаминоза, использованная целым поколением учёных (60–80-е годы) в экспериментальной витаминологии. Одновременно, показатели пентозного цикла исследовались у пациентов с гипертонической болезнью, ревматизмом, атеросклеротическим кардиосклерозом. В доклинических исследованиях изучались эффекты противотуберкулёзных препаратов, разобщителей клеточного дыхания, тиреотропных гормонов, аминазина. Обширный массив экспериментальных и клинических данных, полученных Р.В. Требухиной, позволил обосновать первостепенную значимость транскетотазного теста в изучении обеспеченности организма витамином В₁ и его метаболизма при различных патологических состояниях организма. На основании полученных данных Ю. М. Островским обосновывалась концепция патогенеза возникновения гипертонической болезни как гипервитаминоза В₁.

Объём исследований и публикационная активность Раисы Васильевны достаточно велики, они лишь частично использованы в докторской диссертации научного руководителя (1965), но их с избытком хватило на собственную диссертацию в последующем. Ею были сделаны научные сообщения на Республиканском и Всесоюзном уровне, в том числе на Всесоюзном симпозиуме по тиамину (1966), материалы её экспериментов также представлены на международном уровне. Это стало возможным благодаря исключительному трудолюбию и трудоспособности Раисы Васильевны, в этот период поддерживающей своих родителей и самой в 1965г. ставшей матерью.

Приобретенные педагогические навыки реализовались в обучении студентов-медиков – с 1964г.

она была переведена на должность ассистента кафедры биохимии. Одновременно руководила научными работами студентов, избиралась профгормом кафедры. Оформление кандидатской диссертации на тему «Активность транскетотазы эритроцитов как показатель, характеризующий обеспеченность организма тиаминном» и последующая защита в Ученом совете Смоленского медицинского института 22 мая 1967г., быстрое утверждение научной степени Высшей аттестационной комиссией (ВАК) 22 июля 1967г. стали благоприятной ступенью дальнейшего роста педагога и ученого в гродненской научной среде. Она приняла решение не останавливаться и создавать научную группу единомышленников по изучению ПФЦ и смежных реакций метаболизма.

В рабочем плане ассистента Р.В. Требухиной 1966–1967 гг., наряду с защитой диссертации, освоение всех методов изучения ферментов ПФЦ – активности трансальдозазы, изомеразы рибозо-5-фосфата и получение субстрата 3-фосфоглицеринового альдегида. Это уже претензия на достижение мирового уровня исследований и возможность включения в фундаментальную академическую науку, которая с сентября 1970г. начала пускать корни в среде гродненских витаминологов.

В период становления ОРОВ АН БССР и, в особенности, при первоначальной его локализации на кафедре биохимии ГГМИ, в здании знаменитой «баториевки», Р. В. Требухина как сформировавшийся исследователь и специалист оказывала методическую и консультативную помощь молодым сотрудникам академического учреждения. С началом исследований в области экспериментальной онкологии она внедряла апробированную методологию изучения ПФЦ, обмена никотинамидсодержащих коферментов (совместно с Г. М. Михальцевичем) и, оставаясь ассистентом ГГМИ, с 1974 г. руководила работами группы академических со-



Раиса Васильевна на практических занятиях по биохимии (1964) и с заведующим и сотрудниками кафедры биохимии ГГМИ (1966)



Р. В. Требухиной ближайшие сотрудники: В. Н. Туманов, Г. Н. Михальцевич (слева) и В. Г. Петушок, Л. К. Лашак (справа)

трудников. Перспективы использования антиаминовых факторов для блокирования карциногенеза представлялись ей и Ю. М. Островскому чрезвычайно заманчивыми, что было поддержано член-корреспондентом Академии медицинских наук (АМН) СССР Шапотом В. С., крупным биохимиком-онкологом, с 1961 г. развивавшим концепцию взаимоотношений опухоли и организма. Столь серьёзный уровень и направление исследований потребовали концентрирования усилий Раисы Васильевны на полнокровной науке. В 1975 г. Она была избрана по конкурсу на должность старшего научного сотрудника ОРОВ, руководителя научной группы экспериментального онкогенеза. Этот научный коллектив сложился под руководством Р. В. Требухиной в 70-е годы и окончательно оформился в тематическую научную группу с её приходом на должность руководителя 11 августа 1975 г. Под её руководством уже шли результативные диссертационные исследования, исполнителями которых стали её коллеги, кандидат медицинских наук Михальцевич Г. Н. и младшие сотрудники, будущие кандидаты наук Петушок В. Г., Лашак

Л. К., Величко М. Г., Бородинский А. Н. Появился в коллективе первый аспирант – Туманов В. Н. Из студенческой среды приобщались к научному поиску и стали соавторами её опубликованных работ Валуй С. Б., Раков А. В., Якубчик Т. Н., причём Тамара Николаевна, пройдя «Школу Р. В. Требухиной» в последующем стала кандидатом наук, автором монографии, доцентом, руководителем курса по гастроэнтерологии в ГГМИ.

Первое научное сообщение группы Р. В. Требухиной по новому направлению исследований состоялось в 1974 г. и было посвящено активности ПФЦ у животных-опухоленосителей. В дальнейшем работа велась по выявлению особенностей метаболизма тиамин при опухолегенезе, изучению противоопухолевого действия витаминов группы В, реакции опухолей при торможении ферментов углеводного обмена. В исследованиях раскрывались механизмы захвата глюкозы опухолями, трансформации витамина В₁ в кофермент, особенности метаболизма в различных видах опухолей. Ряд полученных в эксперименте эффектов и биомаркеров исследовался в клиниче-



Старший научный сотрудник Р. В. Требухиной с дочерью и сотрудницами на Первомайской демонстрации (1970) и на выступлении по результатам участия в международном конгрессе онкологов (1993)

ской практике. Глобально удалось доказать возможность применения тиамин в лечении опухолей, в особенности для снижения токсичности химиотерапевтических средств.

С именем Раисы Васильевны связана идея и практическая работа по организации «Гродненских витаминологических симпозиумов»: I – 1966 (тиамин), II–1972 (тиамин), III– 1975 (межвитаминные взаимоотношения), IV– 1977 (витамин B₅), V– 1978 (ПФЦ), VI– 1980 (биохимия алкоголизма), VII – 1983 (анти-витамины). Симпозиум 1978 г., который был ею инициирован и организован, стал демонстрацией высокого уровня гродненских «пентозников», предтечей новых проектов международного и внутрисоюзного уровня, признанием Р. В. Требухиной лидером в этой интригующей области метаболической регуляции. Этот исторический в научной судьбе Раисы Васильевны 1978 г. был также ознаменован присуждением ей учёного звания «старший научный сотрудник» (постановление Президиума АН СССР по секции химико-технологических и биологических наук 5 апреля 1979 г.).

После завершения первого этапа исследований в 1980 г., Р. В. Требухиной и её сотрудниками были расширены эксперименты с перевиваемыми опухолями, чему в немалой степени способствовало её плодотворное сотрудничество с НИИ онкологии и медрадиологии МЗ СССР и Онкологическим центром АМН СССР. В планируемой докторской диссертации обосновывалась концепция обеднения витаминами тканей организма опухоленосителя, выявлялись новые эффекты коферментной формы тиамин, потенцирующего действие противоопухолевых препаратов и уменьшающего их цитотоксический эффект на здоровые ткани. Морфологические и биохимические исследования обнаружили новые стороны действия окситиамин. Выполнен обширный объём исследований с меченым [¹⁴C]-тиамином, впервые раскрывшим механизмы его внутриклеточной биотрансформации. Ею разработан и начал широко применяться в экспериментах и клинических наблюдениях ферментативный метод определения кофермента – тиаминдифосфата. Как руководитель коллектива Раиса Васильевна оказалась успешной в привлечении к работе практических врачей и внебюджетных средств, ею проведена

хоздоговорная работа по профилактике авитаминоза у пушных зверей в хозяйстве «Озёры» Гродненского района.

Её высокий научный рейтинг был подтверждён Учёным Советом учреждения, аттестовавшим её главным научным сотрудником после защиты докторской диссертации на тему «Особенности метаболизма тиамин в организме при росте злокачественных опухолей» в Совете Института физиологии АН БССР 29 марта 1985 г. (утверждена ВАК 18 октября 1985 г.).

В списке научных работ Раисы Васильевны этого периода 99 публикаций, включая крупнейшие авторитетные международные издания – Journal of Nutrition и Neoplasma. В журнале Nutrition and Cancer (№6, 1984 г.) была опубликована статья авторов Требухиной Р., Островского Ю., Шапота В., посвящённая обороту тиамин и активности тиаминдифосфат-зависимых ферментов у мышей сасцитной карциномой Эрлиха, получившая высокий рейтинг в научном сообществе.

Защита докторской диссертации и успешное развитие научного коллектива группы экспериментальной онкологии явилось крупным вкладом в создание предпосылок превращения ОРОВ в академический институт, что было признано и оценено руководством АН БССР и (в то время) членом-корреспондентом Ю. М. Островским. Было принято решение об открытии лаборатории биохимии опухолей, под руководством доктора биологических наук Р. В. Требухиной, которое было реализовано в сентябре 1987 г. избранием на должность заведующего лабораторией и утверждено постановлением Президиума АН БССР №133 от 26 ноября 1987 г. В карточке учёта доктора наук на 1 янва-



В числе руководителей симпозиума 1978 г. академик АН ССР, Герой социалистического труда Северин Сергей Евгеньевич, Президент Всесоюзного биохимического общества (третий справа)



Зав. лабораторией биохимии опухолей Р. В. Требухина готовит отчёт по изучению окситиамина и обсуждает полученные результаты с академиком Ю. М. Островским

ря 1986 г. указывается руководство 1 аспирантом и 4 соискателями; а также издание 99 работ, в т.ч. 41 статьи и соавторство в 2-х монографиях. Аналогичный документ на 1 января 1989 г. указывает на 112 публикаций (50 статей) и 4 подготовленных кандидатов наук, а на 1 января 1991 г. – опубликована 71 статья, в т.ч. 26 после защиты докторской диссертации. По рекомендации академика Ю. М. Островского она аттестована в должности заведующего лабораторией в марте 1991 г.

Тем не менее работа научного коллектива Раисы Васильевны протекала в далеко не самых благоприятных условиях. Начатая в 1987 г. научно-исследовательская работа «Роль витаминов В₁, РР и их производных в регуляции роста экспериментальных опухолей» выполнялась 5 исполнителями, четверо из которых были обременены общественными нагрузками. Получение субстанции основного метаболического инструмента – окситиамина было весьма ограниченным и воспринималось негативно рядом коллег, из-за низкой специфичности и токсичности. Академиком Ю. М. Островским была принята вспомогательная доклиническая программа апробирования препарата в качестве потенциального лекарственного средства, прерванная его безвременной кончиной 31 декабря 1991 г. Во исполнение его планов и актуализации проблемы ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС коллектив Р. В. Требухиной был реорганизован в лабораторию экологической биохимии, а она была назначена заведующим лабораторией с 22 декабря 1992 г.

С 1996 г. проводились исследования по теме «Биохимическая оценка резистентности организма при совместном воздействии малых доз радиации и техногенных факторов. Разработка способов коррекции нарушений биологическими регуляторами». Сотрудниками Р. В. Требухиной были Баньковский А. А., Петушок В. Г., Лашак Л. К., Мотылевич Ж. В., Леднёва И. О., Петушок Н. Э., Мицкевич И. А., Ельчанинова М. А., Высоцкая Л. Б.

Совмещение научных исследований по радиационной тематике и мониторингованию загрязнённых пищевых продуктов и регионов Гродненщины в 90-е годы стало неопределимым гуманитарным вкладом Раисы Васильевны и её сотрудников в сохранение здоровья населения. Важным научным аспектом было выявление механизмов и маркеров комбинированного воздействия малых доз радиации или инкорпорированного ¹³⁷Csi различных токсикантов (фенола, оксида углерода, метанола, формальдегида), расширяющих возможности применения радиопротекторных средств, в частности обладающих антиокислительной активностью. В этом плане заслуживают особого упоминания доказательства высокой протекторной активности D-пантенола в условиях радиационного гамма-облучения. Эти результаты были включены в кандидатскую диссертацию Н. Э. Петушок «Глутатионовая система при воздействии фенола, формальдегида и гамма-излучения. Возможности коррекции витаминами А, Е и пантенолом», защищённую 27 сентября 2000 г., после утверждения послужившей аргументом присуждения Раисе Васильевне учёного звания профессора.

Незаметно пришедшее 65-летие Раисы Васильевны, несмотря на её высокую деловую и научную активность, стало формальным препятствием работы на должности руководителя подразделения. Тем не менее, дирекция Института биохимии продлила контракт на заведование лабораторией в 1996–1998 гг., с дальнейшим переводом на должность главного научного сотрудника и продлением договора в 2000 г. По совокупности руководства защищёнными диссертациями и опубликования научных работ в январе 2001 г. доктору биологических наук Р. В. Требухиной решением Ученого Совета Института биохимии НАН Беларуси присвоено учёное звание «Профессор» по специальности «Биология» (Решение ВАК РБ от 25 апреля 2001 г.)



Выступление Раисы Васильевны на международном конгрессе в Германии (1996) и обсуждение совместных работ с профессором Г. В. Ковалевским и сотрудниками лаборатории экологической биохимии (1998)

Профессиональные экспертные качества и её доброжелательность проявились в защитах диссертационных работ как внутри Института (неоднократно была консультантом и оппонентом), так и за пределами. Нельзя не оценить и внутрисемейную активность Р. В. Требухиной. Она была вдохновителем на выполнение кандидатской и докторской диссертаций своей дочери Марии Владимировны Кажинной, ныне профессора кафедры акушерства и гинекологии Гродненского государственного медицинского университета. В течение ряда лет сотрудничала в Советах по защите диссертаций (Смоленск, Гродно), так и в экспертных Советах научных программ Всесоюзного и республиканского уровня.

Последний день работы Раисы Васильевны в Институте биохимии состоялся 29 декабря 2001 г. В её трудовой книжке многочисленные благодарности и поощрения, премии за победы и достижения в соцсоревновании и рационализаторские предложения. В 1984 г. за долголетний добросовестный труд награждена медалью «Ветеран труда». Научные достижения профессора Р. В. Требухиной высоко оценены руководством республики и академии: награждена Почетной грамотой Верховного совета БССР (1979) и Почетной грамотой Президиума НАН Беларуси (1998). Её научный рейтинг по изданию «Кто есть Кто в Республике Беларусь» (2001 г.) указывает на соавторство в 3-х монографиях и 205 печатных работах, включая 35 в зарубежных изданиях, а также членство в Европейской ассоциации онкологических исследований (European Association of Cancer Research (EACR)).

Уже будучи на заслуженном отдыхе она подготовила к защите кандидатскую диссертацию Горещкой М. В. «Влияние дипептида «деглутам» на функциональную и метаболическую активность

лимфоцитов и макрофагов», защищённую в Витебском государственном медицинском университете 31 мая 2002 г., а 25 июня 2002 г. оппонировала кандидатскую диссертацию Наруты Е. Ф. в Совете Института биохимии.

В своей работе она оставалась преданной традициям биохимического сообщества, заложенным её учителем и научным руководителем академиком Ю. М. Островским и всегда оставалась доброжелательным товарищем и мудрым советчиком, сохраняя память об основателе биохимической школы и академического Института.



В трудный период трансформации и реформирования Института биохимии НАН Беларуси в Унитарное предприятие востребованность научных идей Р. В. Требухиной и её учеников была исключительно необходима. К сожалению, болезненное состояние Ветерана Гродненской биохимической школы стало непреодолимым препятствием. Ушла из жизни Раиса Васильевна 6 ноября 2012 г. и нашла упокоение на Гродненской земле, которую полюбила и прославила своей научной судьбой.

*А. Г. Мойсеёнок,
М. В. Кажина, О. Е. Кузнецов*

Бадун Елена Генриховна – научный сотрудник, отдел медико-биологических проблем алкоголизма, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси (пл. Ан. Тызенауза, 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь), e-mail: eshydowska@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-3922-5050>.

Alena G. Badun – Researcher, Department of Medical and Biological Problems of Alcoholism, Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (Sq. An. Tyzenauza, 7, 230023, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: eshydowska@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-3922-5050>.

Белоновская Елена Брониславовна – старший научный сотрудник, Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси» (пл. А. Тызенгауза, д. 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: ms.belonovskaya@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8354-4606>.

Elena B. Belonovskaya – Senior Researcher, Republican Research Unitary Enterprise “Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus” (7, A. Tyzenhaus sq., Grodno, 230023, Republic of Belarus); e-mail: ms.belonovskaya@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8354-4606>.

Боровикова Лидия Николаевна – канд. биол. наук, врач клинической лабораторной диагностики (заведующий) клинической химико-токсикологической лаборатории, Городская клиническая больница скорой медицинской помощи (ул. Лейтенанта Кижеватова, 58, 220024, г. Минск, Республика Беларусь) e-mail: aklidia@yandex.ru; <https://orcid.org/0009-0000-4329-3526>.

Lydia N. Borovikova – PhD (Biology), Clinical laboratory diagnostics doctor, City Clinical Emergency Hospital (58, Lieutenant Kizhevato, 220024, Minsk, Republic of Belarus); e-mail: aklidia@yandex.ru; <https://orcid.org/0009-0000-4329-3526>.

Бородина Татьяна Александровна – научный сотрудник, Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси» (пл. А. Тызенауза, д. 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: tatiana_pehovskaya@tut.by; <https://orcid.org/0009-0004-9607-7471>.

Tatyana A. Borodina – Researcher, Republican Research Unitary Enterprise “Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus” (7, A. Tyzenhaus sq., Grodno, 230023, Republic of Belarus); e-mail: tatiana_pehovskaya@tut.by; <https://orcid.org/0009-0004-9607-7471>.

Григорьева Каролина Руслановна - студентка 6 курса лечебного факультета Витебского ордена Дружбы народов медицинского университета (пр-т Фрунзе, 27, 210009, г. Витебск, Республика Беларусь); e-mail: karolina_grigoreva@inbox.ru, <https://orcid.org/0009-0002-7522-2225>.

Karolina R. Grigorieva - 6th year student of the medical faculty of the Vitebsk Order of Peoples' Friendship Medical University (27 Frunze Ave., 210009, Vitebsk, Republic of Belarus); e mail: karolina_grigoreva@inbox.ru, <https://orcid.org/0009-0002-7522-2225>.

Ишутина Ольга Владимировна – аспирант кафедры физиологии человека и животных биологического факультета Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь); e mail: ovi-87@mail.ru.

Olga V. Ishutina – graduate student at the department of human and animal physiology, faculty of biology. (4 Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus); e-mail: ovi-87@mail.ru

Костюк Владимир Андреевич – доктор химических наук, профессор, заведующий научно-исследовательской лаборатории физиологии кафедры физиологии человека и животных биологического факультета. (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь); e mail: Kostyuk@bsu.by <https://orcid.org/0000-0002-1246-4131>.

Vladimir V. Kostyuk – PhD (philosophy); professor, head of the scientific research laboratory of physiology at the department of human and animal physiology, faculty of biology. (4 Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus); e-mail: kostyuk@bsu.by <https://orcid.org/0000-0002-1246-4131>

Костюк Светлана Андреевна – д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник Научно-исследовательской лаборатории Научно-исследовательского института экспериментальной и клинической медицины учреждения образования «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 – PhD, MD (Medicine), Professor, Chief researcher of Research Laboratory, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, 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>.

Костюк Татьяна Владимировна – научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории физиологии кафедры физиологии человека и животных биологического факультета. (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь); e mail: KostyukTV@bsu.by.

Tatyana V. Kostyuk – researcher of the scientific research laboratory of physiology at the department of human and animal physiology, faculty of biology. (4 Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus); e-mail: KostyukTV@bsu.by

Кузнецов Олег Евгеньевич – канд. биол. наук, доцент, директор Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси (пл. Ан. Тызенгауза, 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь), e-mail: olegkuznetsov@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1348-8688>.

Aleh Y. Kuzniatsou – MD, PhD (Biol.), Associate Professor, Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (Sq. An. Tyzenauza, 7, 230023, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: olegkuznetsov@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1348-8688>.

Кузьмицкая Ирина Анатольевна – старший научный сотрудник, Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси» (пл. А. Тызенгауза, д. 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: renochka2008@rambler.ru; <https://orcid.org/0009-0001-6362-5679>.

Irina A. Kuzmitskaya – Senior Researcher, Republican Research Unitary Enterprise “Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus” (7, A. Tyzenhaus sq., Grodno, 230023, Republic of Belarus); e-mail: renochka2008@rambler.ru; <https://orcid.org/0009-0001-6362-5679>.

Лямцева Анна Константиновна – младший научный сотрудник Научно-исследовательской лаборатории Научно-исследовательского института экспериментальной и клинической медицины учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» (пр-т Дзержинского 83, 220083, г. Минск, Республика Беларусь); e mail: lyamtseva98@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-1394-433X>.

Anna K. Lyamtseva – junior researcher of Research Laboratory, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Belarusian State Medical University (83 Dzerzhinsky Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus); e mail: lyamtseva98@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-1394-433X>.

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. Антония Тызенгауза, д. 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: andrey.moiseenok@tut.by.

Andrei G. Moiseenok – Grand PhD in Biology, 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 Belarus (sq. Antoniia Tyzengauza, building 7, 230023, Grodno, Republic of Belarus); andrey.moiseenok@tut.by.

Мотылевич Жанна Витальевна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник, Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. А. Тызенгауза, 7, 230023 г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: janemot@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0004-3311-9320>.

Zhanna V. Motylevich – PhD (Biology), Senior Researcher, Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (7, A. Tyzengauz square, 230023 Grodno, Republic of Belarus); e-mail: janemot@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0004-3311-9320>.

Надольник Лилия Ивановна – заведующий отделом доклинического и экспериментального исследования, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, (площадь Антония Тызенгауза, д. 7, 230023, Гродно, Республика Беларусь). e-mail: lnadolnik@gmail.com; <http://orcid.org/0000-0002-0363-7969>.

Liliya I. Nadolnik – Head of the Department of Preclinical and Experimental Research, Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds, National Academy of Sciences of Belarus, (Antoniya Tyzengauz Square, 7, 230023, Grodno). e-mail: lnadolnik@gmail.com; <http://orcid.org/0000-0002-0363-7969>

Осочук Сергей Стефанович – д-р. мед. наук, профессор, заведующий научно-исследовательской лабораторией, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский универси-

тет (пр-т Фрунзе, 27, 210009, г. Витебск, Республика Беларусь); e-mail: oss62@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2074-3832>.

Sergey S. Osochuk – Dr. honey. Sciences, Professor, Head of Research Laboratory, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University (27 Frunze Ave., 210009, Vitebsk, Republic of Belarus); e mail: oss62@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2074-3832>.

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>.

Polina Y. Pinchuk – postgraduate student of the Department of Chemistry and Natural Science Education, Vitebsk State University named after P.M. Masharov (33, Moskovskiy Ave., 210038 Vitebsk, Republic of Belarus); e-mail: polina_mileeva@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0006-1489-3016>.

Полубок Вячеслав Чеславович – научный сотрудник, Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси» (пл. А. Тызенгауза, д. 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: slavapolubok@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9418-7069>.

Vyacheslav Ch. Polubok – Researcher, Republican Research Unitary Enterprise “Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus” (7, A. Tyzenhaus sq., Grodno, 230023, Republic of Belarus); e-mail: slavapolubok@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9418-7069>.

Полуян Ольга Сергеевна – канд. биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник Научно-исследовательской лаборатории Научно-исследовательского института экспериментальной и клинической медицины учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» (пр-т Дзержинского 83, 220083, г. Минск, Республика Беларусь); e mail: olga.poluyan@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7130-2776>.

Olga S. Poluyan – PhD (Biology), Associate Professor, Leading researcher of Research Laboratory, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Belarusian State Medical University (83 Dzerzhinsky Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus); e mail: olga.poluyan@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7130-2776>.

Поплавская Елена Александровна – кандидат биологических наук, доцент, заместитель декана

медико-психологического факультета, Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80 230009, г. Гродно, Республика Беларусь. e-mail: Len.poplavska@mail.ru.

Poplavskaya Elena Aleksandrovna – candidate of biological sciences, associate professor, deputy dean of the medical and psychological faculty, Grodno State Medical University (Gorky St., 80, 230009, Grodno, Republic of Belarus. e-mail: Len.poplavska@mail.ru.

Потапович Алла Ивановна – кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории физиологии кафедры физиологии человека и животных биологического факультета. (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь); e mail: PotapovichAI@bsu.by <https://orcid.org/0009-0001-1815-8557>.

Alla I. Potapovich – PhD (biology); associate professor, leading researcher of the scientific research laboratory of physiology at the department of human and animal physiology, faculty of biology. (4 Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus); e-mail: PotapovichAI@bsu.by <https://orcid.org/0009-0001-1815-8557>.

Походня Юрий Георгиевич – канд. биол. наук, доцент, директор, Национальная антидопинговая лаборатория (106 – 1, район аг. Лесной, Боровлянский с/с, 223040, Минский район, Минская область, Республика Беларусь); e-mail: pohodnia@list.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7972-7784>.

Yury G. Pakhadnia – PhD (Biology), Associate Professor, Clinical laboratory diagnostics doctor, National Anti-Doping Laboratory (106 – 1 area of the ag. Lesnoy, Borovlyansky s/s, 223040, Minsk district, Minsk region, Republic of Belarus); e mail: pohodnia@list.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7972-7784>.

Радута Елена Францевна – учёный секретарь, Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. А. Тызенгауза, 7, 230023 г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: elenamaria@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8020-1838>.

Alena F. Raduta – Scientific Secretary, Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (7, A. Tyzenhaus square, 230023 Grodno, Republic of Belarus); e-mail: elenamaria@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8020-1838>.

Расулов Максуд Мухамеджанович – доктор медицинских наук, профессор, начальник отдела Государственного научного центра Российской Федерации «Государственный научно-исследова-

тельский институт химии и технологии элементоорганических соединений» (ш. Энтузиастов, д. 38, 105118, г. Москва, Российская Федерация); e-mail: rasulovmaksud@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-8893-8591>.

Maksud M. Rasulov – Grand PhD in Medical sciences, professor, Head of the department at the State Research Center of the Russian Federation “State Research Institute of Chemistry and Technology of Organoelement Compounds,” (av. Entuziastov, building 38, 105118, Moscow, Russian Federation); rasulovmaksud@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-8893-8591>.

Романчук Анна Валериановна – научный сотрудник, Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси» (пл. А. Тызенгауза, д. 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: sansa7777@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-0318-352X>.

Anna V. Romanchuk – Researcher, Republican Research Unitary Enterprise “Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus” (7, A. Tyzenhaus sq., Grodno, 230023, Republic of Belarus); e-mail: sansa7777@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-0318-352X>.

Смирнов Виталий Юрьевич – старший научный сотрудник, отдел медико-биологических проблем алкоголизма, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси (пл. Ан.Тызенауза, 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь), e-mail: vit_sm@mail.ru.

Vitaliy Yu. Smirnov – Researcher, Department of Medical and Biological Problems of Alcoholism, Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (Sq. An. Tyzenauza, 7, 230023, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: vit_sm@mail.ru.

Степура Виталий Иванович – кандидат физико-математических наук, Варшавский университет, (Краковское Предместье 26/28, 00-927, Варшава, Польша). <https://orcid.org/0000-0002-8692-6132>.

Vitaliy I. Stepuro – PhD in Physics and Mathematics, University of Warsaw (Krakowskie Przedmiescie 26/28, 00-927, Warsaw, Poland); <https://orcid.org/0000-0002-8692-6132>.

Степура Иван Иванович – канд. биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник отдела медико-биологических проблем алкоголизма, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси
Сведения об авторах / Information about the authors

(пл. Ан. Тызенауза, 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь), e-mail: scepura@gmail.com.

Ivan I. Stepuro – PhD in Biology, Researcher, Department of Medical and Biological Problems of Alcoholism, Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (Sq. An. Tyzenauza, 7, 230023, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: scepura@gmail.com.

Токарева Анна Андреевна – младший научный сотрудник, отдел медико-биологических проблем алкоголизма, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси (пл. Ан.Тызенауза, 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь), e-mail: gusinica25@gmail.com.

Anna A. Tokareva – Researcher, Department of Medical and Biological Problems of Alcoholism, Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (Sq. An. Tyzenauza, 7, 230023, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: gusinica25@gmail.com.

Туманов Александр Вениаминович – заведующий отраслевой лабораторией, Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси» (пл. А. Тызенгауза, д. 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: shurik00885@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-9877-0350>.

Alexander V. Tumanov – Head of the Industry Laboratory, Republican Research Unitary Enterprise “Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus” (A. Tyzenhaus sq., 7, 230023, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: shurik00885@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-9877-0350>.

Турсунходжаева Фируза Муратовна – доктор биол. наук, профессор, заведующий отделом фармакологии и токсикологии, Институт химии растительных веществ им. акад. С. Ю. Юнусова Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан (пр. Мирзо-Улугбека, 77, 100170 г. Ташкент, Республика Узбекистан); e-mail: ftm40438@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-8404-0952>.

Firuz M. Tursunkhodzhaeva – D. Sc. (Biology), Prof., Head of the Department of pharmacology and toxicology, Institute of the Chemistry of Plant Substances named after academician S. Yu. Yunusov of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan (77, Mirzo-Ulugbek Ave., 100170 Tashkent, Republic of Uzbekistan); e-mail: ftm40438@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-8404-0952>.

Усов Константин Ильич – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры терапии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Государственный университет просвещения» (ул. Радио, д. 10А, 105005, г. Москва, Российская Федерация); e-mail: konstausov@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9254-8847>.

Konstantin I. Usov – PhD in Biology, Associate Professor, Associate Professor of the Department of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “State University of Education” (st. Radio, 10A, 105005, Moscow, Russia); e-mail: konstausov@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9254-8847>.

Шилейко Ирина Дмитриевна – канд. мед. наук, доцент, врач клинической лабораторной диагностики, Национальная антидопинговая лаборатория (106 – 1, район аг. Лесной, Боровлянский с/с, 223040, Минский район, Минская область, Республика Беларусь); e-mail: irina.shileiko@yandex.by; <https://orcid.org/0000-0002-8726-8776>.

Irina D. Shileiko – PhD (Medicine), Associate Professor, Clinical laboratory diagnostics doctor, National Anti-Doping Laboratory (106 – 1 area of the ag. Lesnoy, Borovlyansky s/s, 223040, Minsk district, Minsk region, Republic of Belarus); e-mail: irina.shileiko@yandex.by; <https://orcid.org/0000-0002-8726-8776>.

Шляхтун Алексей Генрихович – старший научный сотрудник, Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. А. Тызенгауза, 7, 230023 г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: shlyachtun@ibiochemistry.by; <https://orcid.org/0000-0002-7618-9589>.

Alexej H. Shlyachtun – Senior Researcher, Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (7, A. Tyzengauz square, 230023 Grodno, Republic of Belarus); e-mail: ivanov@ibiochemistry.by; <https://orcid.org/0000-0002-7618-9589>.

Шуриберко Алексей Владимирович – руководитель сектора молекулярной биологии отдела медико-биологических проблем алкоголизма, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси (пл. Ан. Тызенгауза, 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь), e-mail: the_chemistry@tut.by; <https://orcid.org/0000-0001-7271-1600>.

Aliaksei V. Shuriberko – Head of the Sector of Molecular Biology of the Department of Medical and Biological Problems of Alcoholism, Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (Sq. An. Tyzenauza, 7, 230023, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: the_chemistry@tut.by; <https://orcid.org/0000-0001-7271-1600>.

Чиркин Александр Александрович – доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры химии и естественнонаучного образования Витебского государственного университета имени П.М. Машерова. (пр-т Московский 33, 210038, г. Витебск, Республика Беларусь); e-mail: chir@tut.by; <https://orcid.org/0000-0003-4345-4136>.

Alexander A. Chirkin – PhD, MD (Biology), Professor, Professor of the Department of Chemistry and Natural Science Education of the Vitebsk State University named after P.M. Masherov. (33 Moskovsky Ave., 210038, Vitebsk, Republic of Belarus); e-mail: chir@tut.by; <https://orcid.org/0000-0003-4345-4136>.

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.

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 «Биохимия 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 рассмотрению.

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 (Introduction, Objective, Materials 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 подписываются 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 содер-

жать 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 объек-

та) 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.



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, метилпарагидроксibenзоат, пропиленгликоль, калия дигидрофосфат, динатрия фосфат додекагидрат, вода очищенная, пропеллент 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 12 месяцев

Том / Vol. 4 • № 1(6)/2025

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

