



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



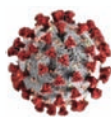
TOM / VOL. 2

2(3)2023

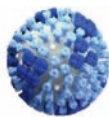


Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие
«ИНСТИТУТ БИОХИМИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ»

Тел.: +375152559075, e-mail: office@ibiochemistry.by

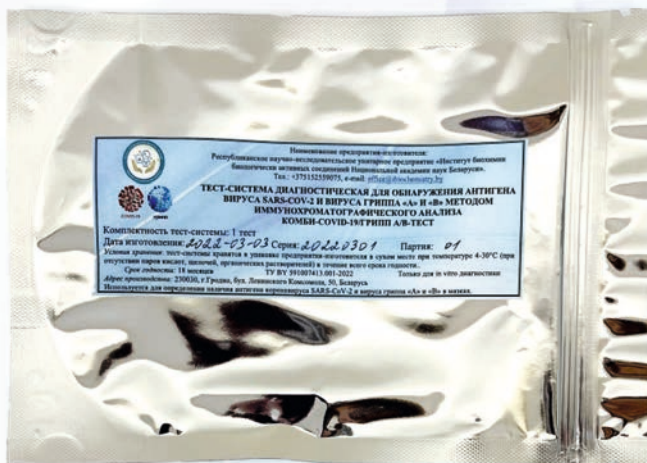


COVID-19



грипп

ТЕСТ-СИСТЕМА ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ АНТИГЕНОВ ВИРУСА SARS-COV-2 И ВИРУСОВ ГРИППА «А» И «В» МЕТОДОМ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КОМБИ-COVID-19/ГРИПП А/В-ТЕСТ



Комплектность тест-системы: 1 тест

Условия хранения: тест-системы хранятся в упаковке предприятия-изготовителя в сухом месте при температуре +4...+30 °С (при отсутствии паров кислот, щелочей, органических растворителей) в течение всего срока годности.

Срок годности: 18 месяцев

ТУ ВУ 591007413.001-2023

Только для *in vitro* диагностики

Используется для определения наличия антигена коронавируса SARS-CoV-2 и вируса гриппа «А» и «В» в мазках



Адрес производства:

230030, г. Гродно,
б-р Ленинского Комсомола, 50,
Республика Беларусь

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 25.10.2023.
Формат 60×84/8. Бумага офсетная.
Гарнитура TimesNewRoman. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 11,40. Уч.-изд. л. 9,00.
Тираж 50 экз. Заказ 374.
ЛП № 02330/89 от 3 марта 2014 г.
Ул. Кальварийская, 17, 220004, г. Минск.

В номере:

Экспериментальные
и клинические исследования

Обзоры

Ученые Беларуси

Том 2

2 (3) / 2023

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 10.02.2023
Format 60x84/8. Offset paper.
TimesNewRoman. Offset printing.
Printed pages 11,40.
Publisher's signatures 9,00.
Circulation 50 copies. Order 374.
LP № 02330/89 of 3 March 2014
17, Kalvaryiskaya str., Minsk 220004

In this issue:

**Experimental
and Clinical Research**

Reviews

Scientists of Belarus

Vol. 2

2 (3) / 2023

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
- Сутько Ирина Петровна** (*ответственный секретарь*) – кандидат биологических наук, 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
- Заводник Илья Борисович** – доктор биологических наук, профессор, профессор Гродненского государственного университета имени Янки 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
- Макарчиков Александр Фёдорович** – доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой Гродненского государственного аграрного университета, Гродно, Беларусь
- Надольник Лилия Ивановна** – доктор биологических наук, доцент, заведующий отделом Института биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Гродно, Беларусь
- Нефёдов Леонид Иванович** – доктор медицинских наук, профессор, профессор Гродненского государственного университета имени Янки Купалы, Гродно, Беларусь
- Островский Александр Александрович** – доктор медицинских наук, профессор, руководитель группы функциональной морфологии Института биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Гродно, Беларусь
- Сиваков Александр Павлович** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой Белорусской медицинской академии последипломного образования, Минск, Беларусь
- Федорцов Ольга Евгеньевна** – доктор медицинских наук, профессор, профессор Тернопольского национального медицинского университета имени И. Я. Горбачевского, Тернополь, Украина
- Хворик Дмитрий Фёдорович** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой Гродненского государственного медицинского университета, Гродно, Беларусь
- Хованская Галина Николаевна** – кандидат медицинских наук, доцент, заместитель директора по научной работе Института биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Гродно, Беларусь
- Хрусталёв Владислав Викторович** – доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой Белорусского государственного медицинского университета, Минск, Беларусь
- Шкуматов Владимир Макарович** – член-корреспондент Национальной академии наук Беларуси, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией Научно-исследовательского института физико-химических проблем 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
- Iryna P. Sutsko** (*Executive Editor*) – Ph. D. (Biology), 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
- Ilya B. Zavodnik** – D. Sc. (Biology), Professor, Professor 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
- 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
- Aliaksandr A. Astrowski** – D. Sc. (Medicine), Professor, Head of the Functional Morphology Group of the Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Belarus
- Alexander P. Sivakov** – D. Sc. (Medicine), Professor, Head of the Department of the Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus
- Olga E. Fedortsiv** – D. Sc. (Medicine), Professor, Professor of the I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine
- Dzmitry F. Khvorik** – D. Sc. (Medicine), Professor, Head of the Department of the Grodno State Medical University, Grodno, Belarus
- Halina N. Khovanskaya** – Ph. D. (Medicine), Associate Professor, Deputy Director for Research of the Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Belarus
- Vladislav V. Khrustalev** – D. Sc. (Biology), Associate Professor, Head of the Department of the Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus
- Vladimir V. Shkumatov** – D. Sc. (Biology), Professor, Correspondent member of the National Academy of Sciences of Belarus, The Head of the laboratory of the Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University, Minsk, Belarus

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
EXPERIMENTAL AND CLINICAL RESEARCH

<p>Н. П. Канунникова, И. Н. Катковская, Е. П. Лукиенко, О. В. Титко, С. Г. Азизбекян, А. Г. Мойсеенок НЕКОТОРЫЕ ПОДХОДЫ К КОРРЕКЦИИ ЭТАНОЛ-ИНДУЦИРОВАННЫХ НАРУШЕНИЙ ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОГО СТАТУСА И ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА В БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЯХ МОЗГА КРЫС ПРИ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ НАГРУЗКЕ НАНОКОМПЛЕКСОМ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ</p>	6	<p>N. P. Kanunnikova, I. N. Katkovskaya, E. P. Lukiyenko, O. V. Titko, S. G. Azizbekyan, A. G. Moiseenok SOME APPROACHES TO THE CORRECTION OF ETHANOL-INDUCED DISORDERS IN THE THIOL-DISULFIDE STATUS AND ENERGY METABOLISM IN THE HEMISPHERES OF THE RAT BRAIN DURING PRELOADING WITH NANOCOMPLEXE OF MICROELEMENTS</p>
<p>А. Г. Шляхтун, И. П. Сутько, Е. В. Букша, Е. Ф. Радуга, Ю. З. Максимчик, Е. В. Богдевич, В. А. Гуринович ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ БИОСИНТЕЗА НИКОТИНАМИДАДЕНИНДИНУКЛЕОТИДА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ</p>	14	<p>A. H. Shlyahtun, I. P. Sutsko, E. V. Buksha, A. F. Raduta, Yu. Z. Maksimchik, E. V. Bogdevich, V. A. Gurinovich PROTECTIVE EFFECT OF PRECURSORS OF NICOTINAMIDE ADENINE DINUCLEOTIDE BIOSYNTHESIS ON LIVER MITOCHONDRIAL FUNCTIONS IN ALCOHOL INTOXICATION</p>
<p>А. А. Акуневич, В. В. Хрусталёв, М. А. Ермолович, В. И. Чепрасова АКТИВНОСТЬ МУТАНТНОЙ ФОРМЫ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА, ПОЛУЧЕННОГО С ПОМОЩЬЮ СИСТЕМЫ БЕСКЛЕТОЧНОГО СИНТЕЗА БЕЛКА</p>	21	<p>A. A. Akunevich, V. V. Khrustalev, M. A. Yermolovich, V. I. Cheprasova ACTIVITY OF EPIDERMAL GROWTH FACTOR MUTANT FORM OBTAINED WITH CELL-FREE PROTEIN SYNTHESIS SYSTEM</p>
<p>С. В. Давидовский, Ж. А. Ибрагимова, А. В. Гончарик, Л.В. Картун, Н. Н. Леонов, А. В. Байкова ОСОБЕННОСТИ СУИЦИДАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ И ЕГО КОРРЕЛЯЦИЯ С СОДЕРЖАНИЕМ СЕРОТОНИНА И НОРАДРЕНАЛИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ</p>	28	<p>S. V. Davidovsky, Zh. A. Ibragimova, A. V. Goncharik, L.V. Kartun, N. N. Leonov, A. V. Baikova¹ FEATURES OF SUICIDAL BEHAVIOR AND ITS CORRELATION WITH SEROTONIN AND NORADRENALINE CONTENTS IN BLOOD SERUM</p>
<p>Я. В. Фалетров, В. В. Савич, А. В. Сидоренко, Н. В. Логинова, В. М. Шкуматов <i>IN SILICO</i> ПОИСК ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ХОЛЕСТЕРИНА И КУМАРИНА ЧЕРЕЗ СВЯЗЫВАНИЕ С БЕЛКАМИ БАКТЕРИЙ РОДА PSEUDOMONAS</p>	32	<p>Ya. V. Faletrov, V.V. Savich, A.V. Sidorenko, N. V. Loginova, V. M. Shkumatov IN SILICO SEARCH FOR NEW INTERACTIONS OF CHOLESTEROL AND COUMARIN WITH PROTEINS OF PSEUDOMONAS BACTERIA</p>
<p>А. Г. Сыса, Е. И. Квасюк, А. Шихад, М. С. Хассан ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЙ И БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС В НОРМЕ И ПРИ СИСТЕМНОМ ВОСПАЛЕНИИ, ИНДУЦИРОВАННОМ БАКТЕРИАЛЬНЫМ ЭНДОТОКСИНОМ</p>	38	<p>A. G. Sysa, E. I. Kvasyuk, A. Shihad, M. S. Hassan HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL STATUS IN NORM AND WITH LPS-INDUCED GENERAL INFLAMMATION</p>

Л. И. Надольник, В. Л. Мороз, А. В. Шуриберко, Е. Б. Белоновская, О. Е. Кузнецов МИКРОЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ПРИРОДНОГО МИНЕРАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА	43	L. I. Nadolnik, V. L. Moroz, A. U. Shuriberka, E. B. Belonovskaya, O. E. Kuznetsov MICROELEMENT COMPOSITION AND IMMUNOMODULATING PROPERTIES OF NATURAL MINERAL COMPLEX
С. В. Давидовский, Ж. А. Ибрагимова, А. В. Гончарик, Л. В. Картун, Е. В. Ходосовская, С. Е. Семерихина, Я. С. Давидовская ОПЫТ ИЗУЧЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ BDNF И SAT1 В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЛИЦ, СОВЕРШИВШИХ СУИЦИДАЛЬНУЮ ПОПЫТКУ	50	S.V. Davidovsky, Zh. A Ibragimova, A.V. Goncharik, L.V. Kartun, L. V. Chodosovskaya, S. E. Semerichina, Y.S Davidouskya METHOD OF STUDYING NEUROTROPHIC PROTEIN'S BDNF AND SAT1 CONTENT IN BLOOD PLASMA OF PEOPLE WHO HAVE COMMITTED ATTEMPTED SUICIDE
А. Е. Мамедова, В. В. Лелевич ЭФФЕКТЫ КОМПЛЕКСНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ И ГИПОДИНАМИИ НА ДОФАМИНЕРГИЧЕСКУЮ СИСТЕМУ ГОЛОВНОГО МОЗГА	54	A. E. Mamedova, V. V. Lelevich EFFECTS OF THE COMPLEX INFLUENCE OF CHRONIC ALCOHOLIZATION AND HYPODYNAMY ON THE DOPAMINERGIC SYSTEM OF THE BRAIN
В. М. Щемелев, Н. В. Чуешова РЕАКЦИЯ МОНОАМИНЕРГИЧЕСКИХ СИСТЕМ ГИПОТАЛАМУСА НА ХРОНИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ ОБОРУДОВАНИЯ WI-FI	60	V. M. Schemelelev, N. V. Chueshova THE RESPONSE OF MONOAMINERGIC SYSTEMS OF THE HYPOTHALAMUS TO CHRONIC EXPOSURE TO THE ELECTROMAGNETIC FIELD OF WI-FI EQUIPMENT

ОБЗОРЫ / REVIEWS

В. М. Мицура, Г. Н. Хованская, О. Е. Кузнецов ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ ИЗУЧЕНИЯ БИОЭЛЕМЕНТОВ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ И ВОЗМОЖНОСТЬ ОЦЕНКИ ИХ ВЛИЯНИЯ НА РАЗВИТИЕ ОСЛОЖНЕНИЙ ЗАБОЛЕВАНИЯ	66	V. M. Mitsura, G. N. Khavanskaya, O. E. Kuznetsov THE PROSPECTS OF BIOELEMENTS STUDY IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS AND THE POSSIBILITY OF ASSESSING THEIR INFLUENCE ON THE COMPLICATIONS DEVELOPMENT OF THE DISEASE
Т. В. Чернобровкина, Е. В. Брюн, С. А. Полятыкин, А. Г. Малыгина, М. Г. Кондратюк СИНЕРГИЯ ЭФФЕКТОВ ДЕСИАЛИРОВАНИЯ ГЛИКОКОНЬЮГАТОВ АЛКОГОЛЕМ ОПРЕДЕЛЯЕТ ПЕРСОНАЛЬ- НУЮ ОРГАНОТРОПНОСТЬ, «СПЕЦИФИЧНОСТЬ» АЛКОГОЛИЗМА И ЕГО ЛЕЧЕНИЯ	74	T. V. Chernobrovkina, E. V. Brun, S. A. Polyatykin, A. G. Malygina, M. G. Kondratyuk SYNERGY OF EFFECTS OF DESIALIATION OF GLYCOCONJUGATES WITH ALCOHOL DETERMINES PERSONAL ORGANOTROPICITY, "SPECIFICITY" OF ALCOHOLISM AND ITS TREATMENT

УЧЕНЫЕ БЕЛАРУСИ / SCIENTISTS OF BELARUS

К 80-летию со дня рождения члена- корреспондента НАН Беларуси, профессора Андрея Георгиевича Мойсеёнка	85	On the occasion of the 80-th birthday of Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belar- us, Professor Andrey G. Moiseenok
Научный семинар «Горизонты системы метаболизма CoA», посвященный юбилею члена-корреспондента НАН Беларуси, профессора Андрея Георгиевича Мойсеёнка	87	Scientific seminar "Horizons of the CoA metabolic system", dedicated to the anniversary of Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belar- us, Professor Andrei G. Moiseenok
In memoriam. Голубович Владимир Петрович	89	In memoriam. Vladimir P. Golubovich

НЕКОТОРЫЕ ПОДХОДЫ К КОРРЕКЦИИ ЭТАНОЛ-ИНДУЦИРОВАННЫХ НАРУШЕНИЙ ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОГО СТАТУСА И ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА В БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЯХ МОЗГА КРЫС ПРИ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ НАГРУЗКЕ НАНОКОМПЛЕКСОМ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ

*Н. П. Канунникова^{1,2}, И. Н. Катковская¹, Е. П. Лукиенко¹,
О. В. Титко¹, С. Г. Азизбекян³, А. Г. Мойсеенок¹*

¹Институт биохимии биологически активных соединений

Национальной академии наук Беларуси, Гродно, Республика Беларусь;

²Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Республика Беларусь

³Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси,

Минск, Республика Беларусь

Введение. Алкогольная интоксикация характеризуется развитием окислительного стресса, а также нарушениями энергетического метаболизма и дисбалансом микроэлементов в крови и тканях.

Цель работы: оценка сдвига окислительно-восстановительного баланса и энергетического метаболизма в мозге после нагрузки микроэлементами и последующего введения этанола и редокс-модулирующих соединений.

Материалы и методы. Крысам вводили внутривенно наноконкомплекс Se, Zn и Fe 21 день. Далее животные получали этанол, а часть из них дополнительно D-пантенол (ПЛ) или N-ацетилцистеин (АЦ). В сыворотке крови определяли уровень железа и ферритина, в больших полушариях мозга – показатели окислительного стресса, тиолов и дисульфидов, энергетического метаболизма и пентозофосфатного пути.

Результаты. Введение наноконкомплекса микроэлементов не влияло на содержание продуктов ПОЛ, но повышало содержание глутатионилированных белков в присутствии этанола, ПЛ и АЦ. Этанол-индуцированные сдвиги окислительно-восстановительных превращений глутатиона, повышение содержания дисульфидов и снижение соотношения SH/SS ослаблялись на фоне наноконкомплекса и добавления ПЛ и АЦ. Угнетение ферментов энергетического метаболизма и активация пентозофосфатного пути при алкогольной интоксикации на фоне наноконкомплекса ослабевали при добавлении ПЛ и АЦ.

Заключение. Наноконкомплекс микроэлементов, ПЛ и АЦ ослабляют этанол-индуцированные нарушения редокс-баланса и способствуют переключению путей энергетического метаболизма.

Ключевые слова: редокс-баланс, энергетический метаболизм, микроэлементы, редокс-модуляторы.

Для цитирования: Некоторые подходы к коррекции этанол-индуцированных нарушений тиол-дисульфидного статуса и энергетического метаболизма в больших полушариях мозга крыс при предварительной нагрузке наноконкомплексом микроэлементов / Н. П. Канунникова [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2023. – Т. 2, № 2(3). – С. 6–13.

Введение

Одним из наиболее широко используемых психоактивных соединений является этанол, однако, в отличие от других соединений подобного типа, для него неизвестен специфический или ведущий механизм действия [1, 2, 3]. Окислительный стресс является неперенным компонентом развития нейродегенеративных нарушений, что объясняется относительной слабостью антиоксидантной защиты в мозге [3, 4]. Хотя определенный уровень образования свободных радикалов наблюдается постоянно в клетке, так как они участвуют в клеточном

сигналировании, в защите от повреждающего действия инфекционных и воспалительных факторов, повышение образования активных форм кислорода и других свободнорадикальных продуктов и снижение антиоксидантной защиты может приводить к серьезным нарушениям метаболизма в ткани мозга [4, 5]. Повышение общего содержания продуктов свободнорадикального окисления сопровождается выраженными нарушениями энергетического метаболизма. Проблема поддержания энергетического метаболизма в экстремальных ситуациях является особо актуальной для ткани мозга, так как

поддержание электрической активности нейронов и прохождение сигналов напрямую зависит от наличия и доступности энергоресурсов [5, 6]. Глутатион является одним из основных участников внутриклеточных редокс-процессов, так как, с одной стороны, система глутатиона является основной системой антиоксидантной защиты в мозге, а с другой – глутатион может участвовать в процессах внутриклеточной сигнализации и регуляции функции нейронов [6, 7, 8].

Известно также, что длительное потребление алкоголя приводит к изменениям электролитного баланса и уровня микроэлементов в крови и тканях, развивающихся в результате дисфункции желудочно-кишечного тракта и нарушений всасывания [9, 10]. Наиболее часто описываемыми отклонениями концентрации микроэлементов в различных тканях в результате хронической алкогольной интоксикации являются превышение уровня железа, гипомagneмия, дефицит селена и цинка, изменения содержания кобальта и марганца [10, 11, 12]. В то же время многие микроэлементы необходимы для обеспечения активности антиоксидантных ферментов, участвующих в нейтрализации продуктов свободнорадикального окисления [11, 12, 13]. Обнаружены нарушения метаболизма железа в организме у лиц с хроническим употреблением алкоголя, что проявляется в снижении уровня железа в крови и повышенного поглощения Fe гепатоцитами [14, 15, 16, 17].

Исходя из вышеизложенного, целью нашего исследования была оценка сдвига окислительно-восстановительного баланса и энергетического метаболизма в больших полушариях мозга после предварительной нагрузки микроэлементами и последующего введения этанола и редокс-модулирующих соединений.

Материалы и методы

В эксперименте были использованы 30 крыс-самок линии Wistar CRL: (WI) WUBR массой 100–150 г, которые содержались в стандартных условиях вивария. Эксперименты с лабораторными животными выполнялись в соответствии с этическими нормами, а также правилами проведения научных работ с использованием экспериментальных животных в научных исследованиях, составленными на основании рекомендаций и требований «Всемирного общества защиты животных (WSPA)» и «Европейской конвенции по защите экспериментальных животных» (Страсбург, 1986).

Животные были разделены на 5 экспериментальных групп по 6 крыс в каждой группе. Животным опытных групп вводили наноконплекс (НК, коллоидные растворы наночастиц) в дозе Se – 1,3 г/кг, Zn –

1,1 г/кг, Fe – 1,4 г/кг ежедневно в течение 21 дня. После 3-недельного предварительного введения наноконплексов животным 3–5 групп вводили этанол в виде 30 % (вес/объем) раствора, 2 раза в день, ежедневно в течение 5 дней в дозе 5,0 г/кг. Животным 4 и 5 групп одновременно с введением этанола на протяжении 5 дней вводили ежедневно D-пантенол (ПЛ, 200 мг/кг (4 гр.) или N-ацетилцистеин (АЦ, 200 мг/кг, 5 гр.). Все препараты вводили животным внутрижелудочно. Крысы контрольной группы в течение 5 дней получали равный объем дистиллированной воды. Животных выводили из эксперимента на следующий день после последнего введения этанола и препаратов, собирали кровь и выделяли большие полушария мозга. В сыворотке крови определяли содержание железа и ферритина, в больших полушариях мозга исследовали показатели окислительного стресса, редокс-статуса системы глутатиона, небелковых и белковых тиолов и дисульфидов, а также показатели энергетического метаболизма и пентозофосфатного пути.

Содержание железа и ферритина измеряли в соответствии с методическими указаниями [18]. Для определения содержания тиобарбитуратреагирующих соединений (ТБКРС) использовали методические указания, описанные в работе [19]. Содержание GSH измеряли по методу [20], активность ферментов окислительно-восстановительных превращений глутатиона измеряли спектрофотометрически соответственно глутатионпероксидазы (ГПО) [21], глутатионтрансферазы (ГТ) [22], глутатионредуктазы (ГР) [23]. Содержание тиолов и дисульфидов определяли в соответствии с указаниями [24], Уровень S-глутатионилированных белков измеряли по методу [25].

Активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) [26] и 2-оксоглутаратдегидрогеназы (2-ОГДГ) [27] в ткани структур мозга определяли спектрофотометрическим методом, используя в качестве акцептора электронов феррицианид калия. Активность аконитазы измеряли ферментативным методом [28]. Для оценки интенсивности метаболизма по пентозофосфатному пути определяли активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Гл-6-ФДГ) спектрофотометрически с использованием НАДФ [29].

Статистическую обработку экспериментальных данных выполняли с использованием программ Microsoft Excel 2016, GraphPad Prism 6.0. Экспериментальные данные представлены в виде $M \pm SEM$, где M – среднее значение, SEM – стандартная ошибка среднего. Для обработки данных использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с применением теста Тьюки. Статистически значимыми считали различия при значении $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

В нашем эксперименте установлено, что 3-недельное введение наноконплекса (НК) микроэлементов (Se 1,3 г/кг, Zn 1,1 г/кг, Fe 1,4 г/кг) крысам-самкам внутрь в течение 3-х недель привело к повышению содержания железа и ферритина в плазме крови (таблица 1). Однако после форсированного введения этанола уровень железа, и ферритина становится ниже даже его значений в контрольной группе, что, очевидно, отражает усиление выделения железа из организма при действии этанола. Введение ПЛ и АЦ на этом фоне способствует возвращению уровня железа практически до его уровня в контрольной группе, тогда как содержание ферритина остается ниже контроля.

В больших полушариях мозга содержание ТБКРС остается достаточно стабильным и на фоне введения наноконплекса, и в присутствии на этом фоне этанола, а также при дополнительном введении ПЛ и АЦЦ (таблица 2). Известно, что алкогольная интоксикация сопровождается активацией процессов свободнорадикального окисления и развитием окислительного стресса [5], и отсутствие изменений уровня ТБКРС в данных условиях свидетельствует о достаточно выраженном стабилизирующем влиянии наноконплекса микроэлементов на процессы перекисного окисления липидов в мозге.

Что касается S-глутатионилированных белков, то их содержание повышается и на фоне наноконплекса микроэлементов, и при дополнительном введении этанола. И это повышение не снимается

и даже несколько усиливается в присутствии ПЛ и АЦ. Связывание глутатиона с белками (S-глутатионилирование белков) рассматривается как один из механизмов защиты белков от повреждающего действия активных форм кислорода [25].

Исследование изменений основной системы антиоксидантной защиты в мозге – системы глутатиона – показало, что содержание глутатиона в больших полушариях мозга не изменяется после длительного введения наноконплекса, но повышается после дополнительного форсированного введения этанола (таблица 3). Однако при введении на этом фоне ПЛ и АЦ уровень глутатиона возвращается к исходным значениям. Активность ГПО, ГР и ГТ достоверно не изменяется в присутствии наноконплекса, но при добавлении этанола активность ГПО угнетается, а активность ГТ повышается, что может быть показателем переключения процессов окисления глутатиона на другие пути метаболизма, тогда как в присутствии ПЛ и АЦ происходит восстановление соотношения интенсивности окисления глутатиона за счет ГПО и ГТ.

Изучение содержания небелковых тиолов и дисульфидов в больших полушариях мозга показало отсутствие изменений содержания небелковых тиолов как на фоне длительного потребления наноконплекса, так и при форсированном введении этанола одного или в присутствии ПЛ и АЦ (таблица 4). Однако если на фоне наноконплекса содержание небелковых дисульфидов не изменяется, то в присутствии этанола наблюдается достовер-

Таблица 1 – Содержание железа и ферритина в плазме крови крыс после введения наноконплекса микроэлементов, последующего введения этанола, пантенола и ацетилцистеина

Table 1 – The content of iron and ferritin in the blood plasma of rats after the administration of a nanocomplex of microelements, subsequent administration of ethanol, panthenol and acetylcysteine

Группы	Железо, мкмоль/л	Ферритин, мкг/л
Контроль	44,01±2,09	157,1±8,35
НК	73,82±3,57*	170,7±4,02*
НК+этанол	32,54 ± 3,40*	128,8±3,03*
НК+этанол+ ПЛ	39,16±3,63	127,8±4,35*
НК+этанол+АЦ	43,55±3,98#	135,1±4,59*

Примечание: здесь и в таблицах 2–6: * – $p < 0,05$ по отношению к контролю; # – $p < 0,05$ по отношению к НК+этанол
 Note: here and in tables 2–6: * – $p < 0.05$ vs. control; # – $p < 0.05$ vs. nanocomplex+ethanol

Таблица 2 – Содержание ТБКРС и S-глутатионилированных белков в больших полушариях мозга крыс после введения наноконплекса микроэлементов, последующего введения этанола, пантенола и ацетилцистеина

Table 2 – The content of TBARS and S-glutathionylated proteins in the hemispheres of the rat brain after administration of a nanocomplex of microelements, subsequent administration of ethanol, panthenol and acetylcysteine

Группы	ТБКРС, нмоль/г ткани	S-глутатионилированные белки, мкмоль/г ткани
Контроль	26,81±3,10	0,30±0,06
НК	24,21±2,02	0,47±0,11*
НК+этанол	24,02±3,46	0,46±0,13*
НК+этанол+ ПЛ	24,61±2,78	0,52±0,16*
НК+этанол+АЦ	28,01±2,28	0,64±0,17*#

Таблица 3 – Показатели системы глутатиона в больших полушариях мозга крыс после введения наноконкомплекса микроэлементов, последующего введения этанола, пантенола и ацетилцистеина

Table 3 – Parameters of the glutathione system in the cerebral hemispheres of the rat brain after administration of a nanocomplex of microelements, subsequent administration of ethanol, panthenol and acetylcysteine

Группа	GSH, нмоль/мг белка	ГПО (t-BOOH) мкмоль GSH/мин/мг белка	ГР, нмоль/мин/мг белка	ГТ нмоль/мин/мг белка
Контроль	16,41±1,47	71,77±3,59	35,58±4,15	48,18±6,14
НК	16,09±0,76	63,92±5,55	31,37±4,22	49,03±6,81
НК+этанол	19,61±0,90*	53,45±7,10*	39,01±1,89	63,34±5,33*
НК+этанол+ПЛ	16,85±1,91	63,13±7,50	29,75±1,80*#	50,55±7,00
НК+этанол+АЦ	15,50±2,90	60,85±5,97*	33,20±2,69#	45,52±5,06#

ное повышение их уровня, которое сохраняется и при добавлении ПЛ и АЦ.

При этом соотношение SH/SS-групп снижается на фоне действия этанола, но это снижение ослабевает при добавлении ПЛ и АЦ, что подтверждает описанное нами стабилизирующее действие наноконкомплекса на содержание восстановленных форм низкомолекулярных тиолов (GSH).

Изучение изменений показателей тиол-дисульфидного статуса белков выявило более сложный характер воздействий на редокс-статус белков (таблица 5). Так, содержание белковых тиолов, белковых дисульфидов и соотношение белковых SH/SS-групп не изменяется достоверно ни в присутствии наноконкомплекса, ни при добавлении к нему этанола. Введение на этом фоне ПЛ приводит к повышению содержания белковых дисульфидов и снижению соотношения белковых SH/SS-групп, а АЦ – к повы-

шению содержания и белковых дисульфидов, и белковых тиолов, в результате чего соотношение SH/SS-групп не изменяется. Эти различия, очевидно, связаны с наличием у них разных механизмов влияния на тиол-дисульфидный статус белков.

Что касается воздействия на энергетический обмен, то нами установлено, что если сам наноконкомплекс микроэлементов не влияет на активность аконитазы и ОГДГ, но несколько снижает активность СДГ, то действие этанола на фоне наноконкомплекса сопровождается достаточно выраженным угнетением активности аконитазы и СДГ при отсутствии изменений активности ОГДГ. Добавление ПЛ и АЦ нивелирует снижение активности аконитазы, но не СДГ.

Изучение активности основного фермента, отражающего интенсивность метаболизма по пентозофосфатному пути, глюкозо-6-фосфатдегидроге-

Таблица 4 – Показатели тиол-дисульфидного статуса небелковой фракции в больших полушариях мозга крыс после введения наноконкомплекса микроэлементов, последующего введения этанола, пантенола и ацетилцистеина

Table 4 – Parameters of the thiol-disulfide status of the non-protein fraction in the hemispheres of the rat brain after administration of a nanocomplex of microelements, subsequent administration of ethanol, panthenol and acetylcysteine

Группы	Небелковые тиолы, мкмоль/г ткани	Небелковые дисульфиды, мкмоль/г ткани	Небелковые SH/SS-группы
Контроль	26,34±2,26	14,85±1,40	1,79±0,15
НК	28,84±1,95	14,42±0,79	2,02±0,24
НК+этанол	28,22±1,38	22,23±1,68*	1,29±0,19*
НК+этанол+ ПЛ	29,32±2,34	21,64±1,65*	1,38±0,26
НК+этанол+АЦ	28,55±1,44	19,33±1,58*	1,49±0,15

Таблица 5 – Показатели тиол-дисульфидного статуса белковой фракции в больших полушариях мозга крыс после введения наноконкомплекса микроэлементов, последующего введения этанола, пантенола и ацетилцистеина

Table 5 – Parameters of the thiol-disulfide status of the protein fraction in the hemispheres of the rat brain after administration of a nanocomplex of microelements, subsequent administration of ethanol, panthenol and acetylcysteine

Группы	Белковые тиолы, мкмоль/г ткани	Белковые дисульфиды, мкмоль/г ткани	Белковые SH/SS-группы
Контроль	56,70±9,92	13,88±1,55	4,11±0,58
НК	54,50±9,20	15,67±0,94	3,62±0,64
НК+этанол	51,01±8,12	16,79±2,78	3,30±0,81
НК+этанол+ ПЛ	56,73±9,87	22,48±3,64*#	2,80±0,54*
НК+этанол+АЦ	68,53±9,53#	24,51±3,55*#	3,08±1,20

Таблица 6 – Активность ферментов энергетического обмена и пентозофосфатного пути в больших полушариях мозга крыс после введения наноконплекса микроэлементов, последующего введения этанола, пантенола и ацетилцистеина, нмоль/мин/мг белка

Table 6 – Activity of enzymes of energy metabolism and the pentose phosphate pathway in the hemispheres of the rat brain after the administration of a nanocomplex of microelements, subsequent administration of ethanol, panthenol and acetylcysteine, nmol/min/mg protein

Группы	Аконитаза	СДГ	ОГДГ	Г-6-Ф
Контроль	34,78 ± 1,03	48,41 ± 0,63	4,07 ± 0,15	18,07 ± 0,12
НК	35,57 ± 0,63	46,04 ± 1,2*	4,02 ± 0,49	19,17±0,96
НК+этанол	23,93 ± 0,97*	35,35 ± 0,83*	3,47± 0,25	23,03 ± 0,21*
НК+этанол+ ПЛ	25,93 ± 0,63*	37,35 ± 1,83*	3,67± 0,61	21,08±0,42#
НК+этанол+АЦ	26,52 ± 0,51*#	39,35 ± 0,80*#	3,71± 0,34	18,44±0,87#

назы, показало отсутствие изменений активности этого фермента при длительном введении наноконплекса, но повышении его активности на 27 % при добавлении этанола, что является показателем усиления образования восстановленных эквивалентов НАДФ-Н и может в какой-то мере компенсировать угнетение гликолиза в цикле трикарбоновых кислот. Дополнительное воздействие ПЛ и АЦ способствует возвращению активности фермента до уровня значений в контроле. Однако в условиях угнетения аэробного гликолиза этот эффект, скорее, нежелателен, учитывая отсутствие нормализации активности аконитазы и СДГ при действии данных редокс-модуляторов.

Заключение

Использование наноконплекса микроэлементов (Se, Zn, Fe) в избранных дозировках приводит к повышению содержания железа и ферритина в крови, которое, однако, сменяется усилением их выделения из организма при действии этанола. Введение ПЛ и АЦ на этом фоне способствует возвращению уровня железа практически до его уровня в контрольной группе, но не восстанавливает содержа-

ние ферритина. Длительное потребление наноконплекса не сопровождается изменениями уровня продуктов ПОЛ в мозге, но повышает содержание глутатионилированных форм белков в присутствии этанола, ПЛ и АЦ. Наноконплекс оказывает стабилизирующий эффект на содержание восстановленного глутатиона в присутствии этанола и ослабляет сдвиги окислительно-восстановительных превращений глутатиона при алкогольной интоксикации на фоне добавления ПЛ и АЦ. Этанол не влияет на содержание небелковых тиолов, но повышает содержание дисульфидов, что сопровождается снижением соотношения SH/SS, которое несколько ослабевает под влиянием ПЛ и АЦ. Изменения тиол-дисульфидного статуса белков на фоне наноконплекса микроэлементов и этанола менее выражены. Активность ферментов энергетического метаболизма при алкогольной интоксикации на фоне наноконплекса микроэлементов снижается, но при этом происходит активация дегидрогеназы пентозофосфатного пути. При добавлении ПЛ и АЦ наблюдается тенденция к возвращению вышеуказанных показателей к значениям в контрольной группе.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке гранта ГПНИ № 05/21/2021-29-203.

Acknowledgements

The work was supported by the State Scientific Research Program № 05/21/2021-29-203.

Список цитированных источников

- Zakhari, S. Overview: how is alcohol metabolized by the body? / S. Zakhari // *Alcohol Res. Health.* – 2006. – Vol. 29, № 4. – P. 245–254.
- Rehm, J. The risks associated with alcohol use and alcoholism / J. Rehm // *Alcohol Res. Health.* – 2011. – Vol. 34. – P. 135–142.
- Tripathy, S. Neurodegenerative diseases – multifactorial degenerative processes, biomarkers and therapeutic approaches (First Edition) / S. Tripathy [et al.] – 2022. – P. 59–70.
- Ji, C. Advances and new concepts in alcohol-induced organelle stress, unfolded protein responses and organ damage / C. Ji // *Biomolecules.* – 2015. – Vol. 5. – P. 1099–1107.
- Liu, Z. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: from molecular mechanisms to clinical applications [Electronic resource] / Z. Liu [et al.] // *Oxid. Med. Cell Longev.* – 2017. – Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28785371>
- Katsura, K. Energy metabolism, ion homeostasis, and cell damage in the brain / K. Katsura, T. Kristian, B. K. Siesjo // *Biochem. Soc. Trans.* – 1994. – Vol. 22. – P. 991–996.
- Johnson, W. M. Dysregulation of glutathione homeostasis in neurodegenerative diseases / W. M. Johnson, A. L. Wilson-Delfosse, J. J. Mieczal // *Nutrients.* – 2012. – Vol. 4. – P. 1399–1440.
- Dringen, R. Glutathione pathways in the brain / R. Dringen, J. Hirrlinger // *Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 384, № 4. – P. 505–516.
- Trace element levels and oxidant antioxidant status in patients with alcohol abuse / D. Saribal [et al.] // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2020. – Vol. 193. – P. 7–18.
- Wu, J. Current understanding of the metabolism of micronutrients in chronic alcoholic liver disease / J. Wu,

- Q. H. Meng // *World J. Gastroenterol.* – 2020. – Vol. 26. – P. 4567–4579.
11. Chronic alcohol abuse alters hepatic trace element concentrations-metallomic study of hepatic elemental composition by means of ICP-OES // J. Baj, G. Teresiński, A. Forma [et al.] // *Nutrients.* – 2022. – Vol. 14. – P. 546–551. doi: 10.3390/nu14030546.
 12. Versieck, J. Trace elements in human body fluids and tissues / J. Versieck // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* – 1985. – Vol. 22. – P. 97–104.
 13. Selenium, selenoproteins and neurodegenerative diseases / B. R. Cardoso [et al.] // *Metallomics* – 2015. – Vol. 7, № 8. – P. 1213–1228.
 14. Changes in dietary iron exacerbate regional brain manganese accumulation as determined by magnetic resonance imaging / V. A. Fitsanakis [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2011. – Vol. 120. – P. 146–152.
 15. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease / M. Valko [et al.] // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2007. – Vol. 39. – P. 44–84. doi: 10.1016/j.biocel.2006.07.001.
 16. The effect of alcohol consumption on the prevalence of iron overload, iron deficiency, and iron deficiency anemia / G. N. Ioannou [et al.] // *Gastroenterology.* – 2004. – Vol. 126. – P. 1293–1303.
 17. Fletcher, L. M. Interrelationships of alcohol and iron in liver disease with particular reference to the iron-binding proteins, ferritin and transferrin / L. M. Fletcher, J. W. Halliday, L. W. Powell // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 1999. – Vol. 14. – P. 202–208.
 18. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. В 2 т. Т.2.– 2 изд. – Мн.: Беларусь, 2002. – 463 с.
 19. Williamson, K. L. Fluorometric and colorimetric assessment of thiobarbituric acid-reactive lipid aldehydes in biological matrices / K. L. Williamson [et al.] // *Methods in Biological Oxidative Stress.* – 2003. – P. 57–65.
 20. Anderson, M. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples / M. Anderson // *Methods Enzymol.* – 1985. – Vol. 113. – P. 548–555.
 21. Flohé, L. Assays of glutathione peroxidase / L. Flohé, W.A. Günzler // *Methods Enzymol.* – 1984. – Vol. 105. – P. 114–121.
 22. Habig, W. H. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation / W. H. Habig, M. J. Pabst, W. B. Jakoby // *J. Biol. Chem.* – 1974. – Vol. 249, № 22. – P. 7130–7139.
 23. Smith, I. K. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) / I. K. Smith, T. L. Vierheller, C. A. Thorne // *Anal. Biochem.* – 1988. – Vol. 175. – P. 408–413.
 24. Patsoukis, N. Determination of the thiol redox state of organisms: new oxidative stress indicators / N. Patsoukis, C. D. Georgiou // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2004. – Vol. 378. – P. 1783–1792.
 25. Menon, D. A fluorometric method to quantify protein glutathionylation using glutathione derivatization with 2,3-naphthalenedicarboxaldehyde / D. Menon, P. G. Board // *Anal. Biochem.* – 2013. – Vol. 433. – P. 132–136.
 26. Ещенко Н. Д. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы / Н. Д. Ещенко, Г. Г. Вольский // *Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен).* Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. – С. 207–212.
 27. Reisch, A. S. Biochemical assays for mitochondrial activity: assays of TCA cycle enzymes and PDHc / A. S. Reisch, O. Elpeleg // *Methods Cell Biol.* – 2007. – Vol. 80. – P. 199–222.
 28. Quirós, P. M. Determination of aconitase activity: a substrate of the mitochondrial ion protease / P. M. Quirós // *Methods in Molecular Biology.* – 2018. – Vol. 1731. – P. 49–56. doi: 10.1007/978-1-4939-7595-2_5.
 29. Ninfali P. Methods for studying the glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in brain areas / P. Ninfali, G. Aluigi, A. Pompella // *Brain Research Protocols.* – 1997. – Vol. 1, № 4. – P. 357–363.

References

- 1 Zakhari S. Overview: how is alcohol metabolized by the body? *Alcohol Res Health.* 2006;29(4):245-54.
- 2 Rehm J. The risks associated with alcohol use and alcoholism. *Alcohol Res Health.* 2011;34(2):135-43.
- 3 Tripathy S, Singh S, Banerjee M, Prakash A. In book: *Neurodegenerative Diseases - Multifactorial Degenerative Processes, Biomarkers and Therapeutic Approaches (First Edition).* 2022. P. 59–70.
- 4 Ji C. Advances and New Concepts in Alcohol-Induced Organelle Stress, Unfolded Protein Responses and Organ Damage. *Biomolecules.* 2015 Jun 3;5(2):1099-121. doi: 10.3390/biom5021099.
- 5 Liu Z, Zhou T, Ziegler AC, Dimitrion P, Zuo L. Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From Molecular Mechanisms to Clinical Applications. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:2525967. doi: 10.1155/2017/2525967.
- 6 Katsura K, Kristián T, Siesjö BK. Energy metabolism, ion homeostasis, and cell damage in the brain. *Biochem Soc Trans.* 1994 Nov;22(4):991-6. doi: 10.1042/bst0220991.
- 7 Johnson WM, Wilson-Delfosse AL, Mieczal JJ. Dysregulation of glutathione homeostasis in neurodegenerative diseases. *Nutrients.* 2012 Oct 9;4(10):1399-440. doi: 10.3390/nu4101399.
- 8 Dringen R, Hirrlinger J. Glutathione pathways in the brain. *Biol Chem.* 2003 Apr;384(4):505-16. doi: 10.1515/BC.2003.059.
- 9 Saribal D, Hocaoglu-Emre FS, Karaman F, Mirsal H, Akyolcu MC. Trace Element Levels and Oxidant/Antioxidant Status in Patients with Alcohol Abuse. *Biol Trace Elem Res.* 2020 Jan;193(1):7-13. doi: 10.1007/s12011-019-01681-y.
- 10 Wu J, Meng QH. Current understanding of the metabolism of micronutrients in chronic alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol.* 2020 Aug 21;26(31):4567-4578. doi: 10.3748/wjg.v26.i31.4567.
11. Baj J, Teresiński G, Forma A, Flieger M, Proch J, Niedzielski P, Grochowski C, Blicharska E, Buszewicz G, Bogucki J, Majerek D, Karakula K, Czeczewski M, Flieger J. Chronic Alcohol Abuse Alters Hepatic Trace Element Concentrations-Metallomic Study of Hepatic Elemental Composition by Means of ICP-OES. *Nutrients.* 2022 Jan 27;14(3):546. doi: 10.3390/nu14030546.
- 12 Versieck J. Trace elements in human body fluids and tissues. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1985;22(2):97-184. doi: 10.3109/10408368509165788.
- 13 Cardoso BR, Roberts BR, Bush AI, Hare DJ. Selenium, selenoproteins and neurodegenerative diseases. *Metallomics.* 2015 Aug;7(8):1213-28. doi: 10.1039/c5mt00075k.
- 14 Fitsanakis VA, Zhang N, Avison MJ, Erikson KM, Gore JC, Aschner M. Changes in dietary iron exacerbate regional brain manganese accumulation as determined by magnetic resonance imaging. *Toxicol Sci.* 2011 Mar;120(1):146-53. doi: 10.1093/toxsci/kfq376
- 15 Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal

- physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44-84. doi: 10.1016/j.biocel.2006.07.001.
- 16 Ioannou GN, Dominitz JA, Weiss NS, Heagerty PJ, Kowdley KV. The effect of alcohol consumption on the prevalence of iron overload, iron deficiency, and iron deficiency anemia. *Gastroenterology.* 2004 May;126(5):1293-301. doi: 10.1053/j.gastro.2004.01.020.
 - 17 Fletcher LM, Halliday JW, Powell LW. Interrelationships of alcohol and iron in liver disease with particular reference to the iron-binding proteins, ferritin and transferrin. *J Gastroenterol Hepatol.* 1999 Mar;14(3):202-14. doi: 10.1046/j.1440-1746.1999.01836.x.
 - 18 Kamyshnikov VS. Spravochnik po kliniko-biohimicheskoj laboratornoj diagnostike. V 2 t. T.2.– 2 izd. – Mn.: Belarus', 2002. – 463 s. (in Russian)
 - 19 Williamsom KS., Hensley K, Floyd, R.A. (2003) Fluorometric and Colorimetric Assessment of Thiobarbituric Acid-Reactive Lipid Aldehydes in Biological Matrices. In: Hensley, K. and Floyd, R.A., Eds., *Methods in Pharmacology and Toxicology: Methods in Biological Oxidative Stress*, Humana Press, Totowa, 56-65.
 - 20 Anderson ME. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods Enzymol.* 1985;113:548-55. doi: 10.1016/s0076-6879(85)13073-9.
 - 21 Flohé L, Günzler WA. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 1984;105:114-21. doi: 10.1016/s0076-6879(84)05015-1.
 - 22 Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.* 1974 Nov 25;249(22):7130-9.
 - 23 Smith IK, Vierheller TL, Thorne CA. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid). *Anal Biochem.* 1988 Dec;175(2):408-13. doi: 10.1016/0003-2697(88)90564-7.
 - 24 Patsoukis N, Georgiou CD. Determination of the thiol redox state of organisms: new oxidative stress indicators. *Anal Bioanal Chem.* 2004 Apr;378(7):1783-92. doi: 10.1007/s00216-004-2525-1.
 - 25 Menon D, Board PG. A fluorometric method to quantify protein glutathionylation using glutathione derivatization with 2,3-naphthalenedicarboxaldehyde. *Anal Biochem.* 2013 Feb 15;433(2):132-6. doi: 10.1016/j.ab.2012.10.009.
 - 26 Eshchenko N.D., Vol'skij G.G. Opredelenie kolichestva yantarnoj kisloty i aktivnosti SDG // Metody biohim. issledovanij. – L.: izd-vo LGU. – 1982. – S. 207-212. (Russian)
 - 27 Reisch AS, Elpeleg O. Biochemical assays for mitochondrial activity: assays of TCA cycle enzymes and PDHc. *Methods Cell Biol.* 2007;80:199-222. doi: 10.1016/S0091-679X(06)80010-5.
 - 28 Quirós PM. Determination of Aconitase Activity: A Substrate of the Mitochondrial Lon Protease. *Methods Mol Biol.* 2018;1731:49-56. doi: 10.1007/978-1-4939-7595-2_5.
 - 29 Ninfali P, Aluigi G, Pompella A. Methods for studying the glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in brain areas. *Brain Res Brain Res Protoc.* 1997 Oct;1(4):357-63. doi: 10.1016/s1385-299x(97)00011-1.

SOME APPROACHES TO THE CORRECTION OF ETHANOL-INDUCED DISORDERS IN THE THIOL-DISULFIDE STATUS AND ENERGY METABOLISM IN THE HEMISPHERES OF THE RAT BRAIN DURING PRELOADING WITH NANOCOMPLEXE OF MICROELEMENTS

*N. P. Kanunnikova^{1,2}, I. N. Katkovskaya¹, E. P. Lukiyenko¹, O. V. Titko¹,
S. G. Azizbekyan³, A. G. Moiseenok¹*

¹*Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Science of Belarus, Grodno, Republic of Belarus;*

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

³*Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

Introduction. Alcohol intoxication is characterized by the development of oxidative stress, as well as disorders of energy metabolism and an imbalance of microelements in the blood and tissues.

Purpose of the work: to assess the shift in the redox balance and energy metabolism in the brain after loading with microelements and subsequent administration of ethanol and redox-modulating compounds.

Materials and methods. Rats were injected intragastrically with a nanocomplex of Se, Zn and Fe for 21 days. Next, the animals received ethanol, and some of them additionally received D-panthenol (PL) or N-acetylcysteine (AC). The levels of iron and ferritin were determined in the blood serum, and indices of oxidative stress, thiols and disulfides, energy metabolism and the pentose phosphate pathway were determined in the cerebral hemispheres.

Results. The introduction of a nanocomplex of microelements did not affect the content of lipid peroxidation products, but increased the content of glutathionylated proteins in the presence of ethanol, PL and AC. Ethanol-induced shifts in the redox transformations of glutathione, an increase in disulfide content and a decrease in the SH/SS ratio were weakened against the background of the nanocomplex and the addition of PL and AC. Inhibition of energy metabolism enzymes and activation of the pentose phosphate pathway during alcohol intoxication against the background of the nanocomplex weakened with the addition of PL and AC.

Conclusion. A nanocomplex of microelements, PL and AC weaken ethanol-induced redox imbalances and promote switching of energy metabolism pathways.

Key words: redox balance, energy metabolism, microelements, redox modulators.

For citation: Kanunnikova NP, Katkovskaya IN, Lukiyenko EP, Titko OV, Azizbekyan SG, Moiseenok AG. Some approaches to the correction of ethanol-induced disorders in the thiol-disulfide status and energy metabolism in the hemispheres of the rat brain during preloading with nanocomplexes of microelements. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2023, vol. 2, no. 2(3). pp. 6–13 (in Russian).

Поступила 18.09.2023

ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ БИОСИНТЕЗА НИКОТИНАМИДА ДЕНИНДИНУКЛЕОТИДА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

*А. Г. Шляхтун¹, И. П. Сутько¹, Е. В. Букиш¹, Е. Ф. Радута¹,
Ю. З. Максимчик², Е. В. Богдевич¹, В. А. Гуринович¹*

*¹Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие
«Институт биохимии биологически активных соединений*

Национальной академии наук Беларуси», Гродно, Республика Беларусь

*²Отраслевая научно-исследовательская лаборатория «ДНК-технологий»
учреждения образования «Гродненский государственный аграрный университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Введение. Одним из пусковых механизмов повреждения гепатоцитов при алкогольной интоксикации является дисбаланс между окисленной и восстановленной формами никотинамидадениндинуклеотида (НАД), возникающий при окислении этанола, и как следствие, митохондриальная дисфункция, усугубляющая развитие поражения печени. Для коррекции предложено использовать предшественники биосинтеза НАД.

Цель исследования. Изучить влияние введения предшественников биосинтеза НАД на функциональное состояние митохондрий печени при хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) у крыс.

Материалы и методы. ХАИ вызывали введением самцам крыс этанола в дозе 10 г/кг/сутки в течение 14 суток. На фоне ХАИ животные получали прекурсоры НАД. Определены функциональные параметры, антиоксидантный статус и содержание НАД/НАДН в митохондриях печени.

Результаты. При ХАИ в митохондриях печени снижались скорости митохондриального дыхания, развивался окислительный стресс и снижалось отношение НАД/НАДН. Введение крысам на фоне ХАИ никотинамид рибозида и никотинамидмононуклеотида сохраняло изученные показатели на контрольных уровнях, тогда как никотинамид оказывал умеренный защитный эффект.

Заключение. Прекурсоры НАД на фоне ХАИ оказывают митопротекторное действие. Наблюдаемый эффект обусловлен устранением дисбаланса НАД/НАДН в митохондриях гепатоцитов.

Ключевые слова: алкогольная интоксикация, печень, митохондрия, никотинамид, никотинамид рибозид, никотинамидмононуклеотид, никотинамидадениндинуклеотид.

Для цитирования: Протекторное действие предшественников биосинтеза никотинамидадениндинуклеотида на функциональное состояние митохондрий печени при алкогольной интоксикации / А. Г. Шляхтун [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2023. – Т. 2, № 2(3). – С. 14–20.

Введение

Проблема алкоголь-ассоциированных заболеваний является актуальной для мировой системы здравоохранения, в том числе для Республики Беларусь. По данным Всемирной организации здравоохранения в мире около 5,0 % смертей напрямую связаны со злоупотреблением алкоголем, которое является причиной или фактором риска развития таких заболеваний, как острый панкреатит, алкогольная кардиомиопатия и алкоголь-ассоциированные заболевания печени (стеатогепатоз, стеатогепатит, цирроз, гепатоцеллюлярная карцинома) [1]. Во всех эпидемиологических исследованиях алкоголь-ассоциированные заболевания печени являются наиболее распространенным следствием хронического употребления алкоголя, распространенность которых в мире составляет 4,8 % [2].

Центральным триггером каскада повреждения гепатоцитов при хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) является дисбаланс между окисленной (НАД⁺) и восстановленной (НАДН) формами никотинамидадениндинуклеотида (НАД), возникающий при окислении этанола алкогольдегидрогеназами до ацетальдегида и далее ацетальдегида альдегиддегидрогеназами (АльДГ) до ацетата. При этом дефицит НАД возникает как в цитозоле, так и в митохондриях гепатоцитов. Возникающий вследствие метаболизма этанола и ацетальдегида избыток НАДН приводит к нарушениям в основных метаболических путях клетки, в частности ингибируется ряд ключевых ферментов гликолиза, глюконеогенез и др. [4, 5].

Дисбаланс НАД⁺/НАДН в митохондриях печени при ХАИ приводит к дисфункции цикла трикарбоновых кислот, синтеза АТФ, транспорта электронов,

апоптоза, посттрансляционной SIRT-опосредованной модификации белков и другим нарушениям, которые продолжают и усугубляют каскад алкогольного поражения печени [3].

Для коррекции дисбаланса НАД⁺/НАДН и увеличения содержания окисленной формы НАД в клетке предложено использовать метаболитические предшественники биосинтеза НАД⁺ – никотиновую кислоту, никотинамид (NAM), никотинамид рибозид (NR), никотинамид мононуклеотид (NMN) и другие соединения. Ряд литературных данных свидетельствуют о том, что их использование увеличивает внутриклеточные уровни НАД⁺ и предотвращает развитие различных патологических состояний [6]. Эффективность NR и NMN как прекурсоров НАД⁺ обусловлена более высокой биодоступностью и сокращением метаболитического пути ведущего к НАД⁺ [7]. Безопасность большинства прекурсоров НАД хорошо исследована на экспериментальных животных и у людей. NR и NMN разрешены для использования в качестве пищевых добавок в Японии, ЕС и США.

Учитывая, что алкогольная интоксикация сопровождается развитием дисбаланса в соотношении НАД⁺/НАДН, инициирующего метаболитический каскад повреждения митохондрий и в целом ткани печени, предложенные соединения могут являться эффективным средством профилактики и коррекции нарушений структурно-функционального состояния гепатоцитов при алкогольной интоксикации, в том числе, оказывая свое действие через модуляцию функциональной активности митохондрий печени.

Цель исследования – изучить влияние введения предшественников биосинтеза НАД на показатели функционального состояния митохондрий печени при моделировании хронической алкогольной интоксикации у крыс.

Материалы и методы

Все использованные в работе реактивы имели квалификацию не ниже, чем «химически чистый». Для синтеза NR использован метод Haunes [8]. NMN получали по методу Liu и Visscher [9]. Полученные NR и NMN исследованы хроматографически для подтверждения чистоты продукта (98,2 % и 96,8 %, соответственно) и методами ИК-Фурье спектроскопии для подтверждения подлинности соединений.

Моделирование ХАИ проводили на самцах крыс линии Wistar массой 160–180 г, которые содержались в стандартных условиях в пластиковых клетках по 8 особей с доступом к воде и корму *ad libitum*.

Животные были разделены на 5 групп (Контроль, ХАИ, ХАИ+NAM, ХАИ+NR, ХАИ+NMN) по 8 крыс в каждой. Алкоголизацию животных

проводили путем в/ж введения 30 % в/о этанола в дозе 5,0 г/кг/раз дважды в сутки, в 800 и 2000, на протяжении 14 дней. Крысам в соответствующих группах с первого дня эксперимента вводили NAM, NR или NMN в/ж в дозах по 2,05 ммоль/кг/сут утром через 2 ч после этанола. Контрольная группа получала эквивалентные количества воды вместо этанола и препаратов.

По завершении эксперимента животных эвтаназировали путем декапитации, после чего выделяли печень на холоде (0–4 °С) без перфузирования. Образцы тканей хранили при –82 °С до анализа. При выделении митохондриальной фракции печени использовали свежую незамороженную ткань. Митохондрии получали путем дифференциального центрифугирования. Параметры митохондриального дыхания измерялись с использованием анализатора метаболизма Seahorse XF HS Mini и набора реагентов Seahorse Mito Stress Test (Agilent, США). Скорости потребления кислорода в пробах рассчитывались автоматически при помощи программного обеспечения Seahorse Wave Desktop v. 2.6 [10].

Активности комплексов электрон-транспортной цепи митохондрий (ЭТЦ) – I (НАДН-дегидрогеназа), II (сукцинатдегидрогеназа) и IV (цитохром *c* оксидаза), а также активность цитратсинтазы (ЦС) измеряли в соответствии с ранее описанными методами [11]. Для оценки процессов пероксидации в митохондриях определяли концентрации соединений, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-КРС) [12], а для оценки состояния антиоксидантной системы определяли содержание низкомолекулярных тиолов (НМТ) [13], активности глутатионредуктазы (ГР) [14], глутатион-S-трансферазы (ГСТ) [15], глутатионпероксидазы (ГПО) [16] и каталазы [17]. Содержание НАД⁺ и НАДН в митохондриях определяли ферментативным методом [18]. Содержание белка определяли по методу Peterson [19].

При проведении работ соблюдались нормы, установленные «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях».

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программного пакета GraphPad Prism v.8.0. Нормальность распределения оценивали по критерию Шапиро-Уилка. Для выявления значимости отличий между группами использовали однофакторный дисперсионный анализ и *post-hoc* тест Тьюки. Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5 % ($p < 0,05$). Данные в таблицах и на графиках представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, m – стандартная ошибка среднего значения.

Результаты и их обсуждение

Известно, что нарушения функциональной активности митохондрий при ХАИ считается одним из центральных событий, запускающих развитие алкогольного поражения печени [20, 21]. В этой связи нами исследовано влияние прекурсоров биосинтеза НАД на функциональное состояние и активности комплексов ЭТЦ митохондрий печени крыс в условиях хронической алкоголизации.

Установлено, что ХАИ у животных сопровождалась значимыми изменениями скорости потребления кислорода митохондриями в состоянии V3 (по Чансу и Вильямсу) и существенно (на 24,8 %) снижала коэффициент дыхательного контроля (ДК) по сравнению с контрольными животными, что является свидетельством повреждения митохондрий и разобщения в них процессов окисления и фосфорилирования (таблица 1).

Скорость потребления кислорода митохондриями V3 и ДК у алкоголизованных животных, получавших NAM, были значительно ниже по сравнению с контролем и существенно не отличались от группы ХАИ. Однако в группах животных, получавших NR и NMN, скорость потребления

кислорода митохондриями V3 и ДК сохранялись на уровне контрольной группы (таблица 1).

Помимо изменений в респираторной активности митохондрий при ХАИ наблюдалось существенное снижение активностей комплексов I, II и IV ЭТЦ, соответственно на 22,7 %, 21,1 % и 51,5 %, а также активности ЦС в гомогенатах печени, на 52,0 % по сравнению с контрольной группой. Снижение активности ЦС является свидетельством уменьшения количества функционально активных митохондрий (таблица 2).

Показано, что введение NAM на фоне ХАИ сопровождалось сохранением активностей I и II комплексов на контрольных уровнях, но тем не менее активность IV комплекса была ниже на 34,3 % чем в контрольной группе. При введении NAM на фоне ХАИ активность ЦС также была ниже на 17,7 % чем в контроле. Введение животным NR и NMN на фоне хронической алкоголизации сопровождалось сохранением активностей комплексов I, II и IV, а также активности ЦС на уровне контрольных значений, что свидетельствует о выраженном митопротекторном действии этих соединений при ХАИ (таблица 2).

Таблица 1 – Влияние предшественников биосинтеза никотинамидадениндинуклеотида на показатели дыхания митохондрий печени крыс при хронической алкогольной интоксикации

Table 1 – Effects of precursors of nicotinamide adenine dinucleotide biosynthesis on rat liver mitochondrial respiration parameters in chronic alcohol intoxication

Показатели	Группы				
	Контроль	ХАИ	ХАИ + NAM	ХАИ + NR	ХАИ + NMN
V1	19,53±1,54	19,13±1,11	22,56±1,15	20,45±0,98	18,01±1,70
V2	19,91±2,44	27,22±0,74	25,65±0,49	23,08±1,06	17,84±3,32
V3	53,19±4,38	33,75±2,04 ^a	39,21±0,84 ^a	48,64±3,55 ^b	46,7±7,68 ^b
V4	25,38±0,87	21,38±0,97	24,07±1,73	24,65±1,95	26,22±3,31
ДК	2,09±0,15	1,60±0,16 ^a	1,66±0,13 ^a	2,04±0,29 ^b	1,79±0,21 ^b

Примечание: а – $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе, б – $p < 0,05$ по отношению к группе ХАИ

Note: а – $p < 0.05$ compared to the control group, б – $p < 0.05$ compared to the “Chronic alcohol intoxication” group

Таблица 2 – Влияние предшественников биосинтеза никотинамидадениндинуклеотида на активности некоторых комплексов электрон-транспортной цепи митохондрий печени крыс при хронической алкогольной интоксикации

Table 2 – Effects of biosynthetic precursors of nicotinamide adenine dinucleotide on the activity of some complexes of the electron transport chain of rat liver mitochondria in chronic alcohol intoxication

Ферментативная активность	Группы				
	Контроль	ХАИ	ХАИ+NAM	ХАИ+NR	ХАИ+NMN
НАДН-оксидоредуктаза (I комплекс), нмоль НАДН /мин/мг	152,4±5,1	117,8±4,88 ^a	142,2±5,38	153,3±2,67 ^b	154,8±8,22 ^b
СДГ (II комплекс), нмоль/мин/мг	139,0±8,55	109,7±7,1 ^a	140,8±13,8	174,8±9,9 ^{ab}	174,8±9,8 ^{ab}
Цитохром с оксидаза (IV комплекс), нмоль/мин/мг	66,33±1,94	32,14±3,58 ^a	43,61±5,16 ^a	67,03±4,02 ^b	66,87±3,95 ^b
ЦС, нмоль/мин/мг	264,2±8,2	126,7±14,2 ^a	217,4±28,8	266,1±15,1 ^b	266,1±15,8 ^b

Примечание: а – $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе, б – $p < 0,05$ по отношению к группе ХАИ

Note: а – $p < 0.05$ compared to the control group, б – $p < 0.05$ compared to the “Chronic alcohol intoxication” group

Для оценки действия предшественников НАД на антиоксидантную систему митохондрий печени в условиях ХАИ исследовано содержание конечных продуктов перекисидации липидов (ТБКРС), содержание НМТ и активности основных антиоксидантных ферментов.

Установлено, что содержание ТБКРС в митохондриальной фракции печени крыс при ХАИ было практически в 2 раза выше по сравнению с контрольной группой, а содержание свободных низкомолекулярных тиолов, представленных, как известно, более чем на 95 % глутатионом, снижалось на 34,9 % по сравнению с контрольной группой. В то же время отмечено увеличение активности ГР на 50,1 % и GST на 89,7 % по сравнению с контрольной группой, что, вероятно, носит адаптивный характер и направлено на устранение последствий оксидативного стресса. Полученные результаты подтверждают развитие в условиях ХАИ выраженного окислительного стресса в митохондриях печени, сопровождающегося снижением их функциональной активности (таблица 3).

Введение животным на фоне алкоголизации НАМ незначительно снижало показатели перекисидации и активности ферментов антиоксидантной системы митохондрий по сравнению с животными

в группе ХАИ. В то же время введением животным NR и NMN в условиях ХАИ сопровождалось сохранением ТБКРС, НМТ и активностей ферментов антиоксидантной системы на контрольных уровнях (таблица 3).

Кроме того, исследовано содержание НАД⁺ и НАДН в митохондриях печени. Установлено, что ХАИ сопровождалась незначительным снижением уровней НАД⁺ и повышением НАДН, одновременно отмечено существенное снижение соотношения НАД/НАДН (на 22,2 %) в митохондриях печени крыс по сравнению с контрольными значениями.

Введение при хронической алкоголизации животным НАМ приводило к незначительному увеличению соотношения НАД/НАДН в митохондриях печени, тогда как введение животным NR и NMN полностью предотвращало изменение соотношений НАД/НАДН, сохраняя содержание НАД⁺ и НАДН на контрольных уровнях (таблица 4).

Таким образом, полученные результаты показывают, что NR и NMN выступают в качестве эффективных бустеров НАД в митохондриях печени в условиях хронической алкоголизации, вероятно, за счет усиления биосинтеза НАД в компартменте.

Таблица 3 – Влияние никотинамида, никотинамид рибозида и никотинамид мононуклеотида на содержание продуктов перекисидации липидов и показатели антиоксидантной системы митохондрий печени крыс при хронической алкогольной интоксикации

Table 3 – Effect of nicotinamide, nicotinamide riboside and nicotinamide mononucleotide on the content of lipid peroxidation end-products and on the antioxidant system of rat liver mitochondria in chronic alcohol intoxication

Показатели	Группы				
	Контроль	ХАИ	ХАИ+НАМ	ХАИ+NR	ХАИ+NMN
ТБКРС, нмоль/мг	4,95±0,33	9,69±0,72 ^a	7,63±0,82 ^a	5,57±0,44 ^b	5,64±0,25 ^b
НМТ, нмоль/мг	5,73±0,35	3,73±0,37 ^a	3,92±0,51 ^a	6,36±0,55 ^b	6,21±0,34 ^b
ГР, нмоль/мин/мг	15,70±1,86	23,57±1,09 ^a	17,22±1,59 ^b	15,42±0,77 ^b	14,44±0,73 ^b
GST, мкмоль/мин/мг	1,50±0,14	2,84±0,28 ^a	2,01±0,16 ^b	1,71±0,17 ^b	1,91±0,17 ^b
Каталаза, ед/мин/мг	30,55±1,56	23,98±1,65 ^a	18,82±2,36 ^a	29,72±2,49 ^b	28,34±1,54 ^b

Примечание: а – $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе, б – $p < 0,05$ по отношению к группе ХАИ

Note: а – $p < 0.05$ compared to the control group, б – $p < 0.05$ compared to the “Chronic alcohol intoxication” group

Таблица 4 – Влияние предшественников биосинтеза никотинамидадениндинуклеотида на содержание его окисленной и восстановленной форм в митохондриях печени крыс при хронической алкогольной интоксикации

Table 4 – Effect of biosynthetic precursors of nicotinamide adenine dinucleotide on the content of its oxidized and reduced forms in rat liver mitochondria during chronic alcohol intoxication

Группа	Показатель		
	НАД, нмоль/мг белка	НАДН, нмоль/мг белка	НАД/НАДН
Контроль	5,38±0,28	0,75±0,02	7,2±0,5
ХАИ	4,64±0,12	0,84±0,01	5,6±0,2 ^a
ХАИ + НАМ	4,73±0,26	0,72±0,05	6,6±0,1
ХАИ + NR	5,60±0,31	0,79±0,02	7,2±0,5 ^b
ХАИ + NMN	5,74±0,26	0,77±0,03	7,6±0,6 ^b

Примечание: а – $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе, б – $p < 0,05$ по отношению к группе ХАИ

Note: а – $p < 0.05$ compared to the control group, б – $p < 0.05$ compared to the “Chronic alcohol intoxication” group

Заключение

Установлено, что хроническая алкогольная интоксикация сопровождается увеличением содержания продуктов перекисидации и снижением показателей состояния антиоксидантной системы в митохондриях печени. При этом наблюдается значимое нарушение функционального и, вероятно, структурного состояния митохондрий печени крыс. Полученные результаты показывают, что предшественники биосинтеза НАД, а именно NAM, NR и NMN, при их введении на фоне алко-

гольной интоксикации оказывают митопротекторное действие, а именно: препятствуют перекисидации липидов, сохраняют активности комплексов электрон-транспортной цепи и респираторную активность митохондрий печени на контрольном уровне. При этом эффект NAM достаточно умеренный, а протекторное действие значительно более выражено у NR и NMN. Наблюдаемые эффекты, вероятно, обусловлены устранением дисбаланса в содержании окисленной и восстановленной форм НАД в митохондриях гепатоцитов.

Благодарности

Исследования выполнены в рамках выполнения задания № 4.1.2.3 подпрограммы «Экспериментальная медицина» государственной программы научных исследований «Трансляционная медицина» на 2021-2025 годы (договор от 17.02.2021 г. № 03/21/2021-29-018).

Acknowledgements

The research was carried out within the framework of the task No. 4.1.2.3 of the subprogram “Experimental medicine” of the state program of scientific research “Translational medicine” for 2021-2025 (Contract dated 17.02.2021 No. 03/21/2021-29-018).

Список использованных источников

1. Global burden of liver disease: 2023 update / H. Devarbhavi [et al.] // *J. Hepatol.* – 2023. – Vol. 79, № 2. – P. 516–537. doi: 10.1016/j.jhep.2023.03.017.
2. Global prevalence, incidence, and outcomes of alcohol related liver diseases: a systematic review and meta-analysis / X. Niu [et al.] // *BMC Public Health.* – 2023. – Vol. 23, № 859. doi: 10.1186/s12889-023-15749-x.
3. Middleton, P. Mitochondrial dysfunction and liver disease: role, relevance, and potential for therapeutic modulation / P. Middleton, N. Vergis // *Therap. Adv. Gastroenterol.* – 2021. – Vol. 14, № 17562848211031394. doi: 10.1177/17562848211031394.
4. Role of NAD⁺ in regulating cellular and metabolic signaling pathways / S. Amjad [et al.] // *Mol. Metab.* – 2021. – Vol. 49, № 101195. doi: 10.1016/j.molmet.2021.101195.
5. Corkey, B. E. The redox communication network as a regulator of metabolism / B. E. Corkey, J. T. Deeney // *Front. Physiol.* – 2020. – Vol. 11, № 567796. doi: 10.3389/fphys.2020.567796.
6. Сутько, И. П. Метаболические предшественники никотинамидадениндинуклеотида и возможности их клинического применения / И. П. Сутько, А. Г. Шляхтун, И. Н. Семененя // *Медицинский академический журнал.* – 2022. – Т. 22, № 3. – С. 15–25. doi: 10.17816/MAJ89964.
7. Johnson, S. NAD⁺ biosynthesis, aging, and disease / S. Johnson, S. I. Imai // *F1000Res.* – 2018. – Vol. 7, № 132. doi: 10.12688/f1000research.12120.1.
8. Codehydrogenases. Part II. A synthesis of nicotinamide nucleotide / L. J. Haynes [et al.] // *J. Chem. Soc.* – 1957. – P. 3727–3732. doi: 10.1039/jr9570003727.
9. Liu, R. A novel preparation of nicotinamide mononucleotide / R. Liu, J. Visscher // *Nucleosides Nucleotides.* – 1994. – Vol. 13, № 5. – P. 1215–1216. doi: 10.1080/15257779408011891.
10. Assessing mitochondrial bioenergetics in isolated mitochondria from various mouse tissues using Seahorse XF96 Analyzer / A. Iuso [et al.] // *Methods Mol. Biol.* – 2017. – Vol. 1567. – P. 217–230. doi: 10.1007/978-1-4939-6824-4_13.
11. Assessment of mitochondrial respiratory chain enzymatic activities on tissues and cultured cells / M. Spinazzi [et al.] // *Nature Protocols.* – 2012. – Vol. 7, № 6. – P. 1235–1246. doi: 10.1038/nprot.2012.058.
12. Janero, D. R. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and

- peroxidative tissue injury / D. R. Janero // *Free Radic. Biol. Med.* – 1990. – Vol. 9, № 6. – P. 515–540. doi: 10.1016/0891-5849(90)90131.
13. Ellman, G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – Vol. 82, № 1. – P. 70–77. doi: 10.1016/0003-9861(59)90090-6
14. Carlberg, I. Glutathione reductase / I. Carlberg, B. Mannervik // *Methods Enzymol.* – 1985. – Vol. 13. – P. 484–490. doi: 10.1016/s0076-6879(85)13062-4.
15. Habig, W. H. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation / W. H. Habig, M. J. Pabst, W. B. Jakoby // *J. Biol. Chem.* – 1974. – Vol. 249. – P. 7130–7139.
16. Paglia, D. E. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase / D. E. Paglia, W. N. Valentine // *J. Lab. Clin. Med.* – 1967. – Vol. 70, № 1. – P. 158–169.
17. Hadwan, M. H. Simple spectrophotometric assay for measuring catalase activity in biological tissue / M. H. Hadwan // *BMC Biochem.* – 2018. – Vol. 19, № 7. doi: 10.1186/s12858-018-0097-5.
18. Nisselbaum, J. S. A simple ultramicro method for determination of pyridine nucleotides in tissues / J. S. Nisselbaum, S. Green // *Anal. Biochem.* – 1969. – Vol. 27, № 2. – P. 212–217. doi: 10.1016/0003-2697(69)90025-6.
19. Peterson, G. L. Review of the Folin phenol protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr and Randall / G. L. Peterson // *Anal. Biochem.* – 1979. – Vol. 100, № 2. – P. 201–220. doi: 10.1016/0003-2697(79)90222-7.
20. Mitochondria and the NLRP3 inflammasome in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis / S. Torres [et al.] // *Cells.* – 2022. – Vol. 11, № 9. – Article № 1475. doi: 10.3390/cells11091475.
21. Prasun, P. Mitochondrial dysfunction in nonalcoholic fatty liver disease and alcohol related liver disease / P. Prasun, I. Ginevic, K. Oishi // *Transl. Gastroenterol. Hepatol.* – 2021. – Vol. 6, № 4. doi: 10.21037/tgh-20-125.

References

1. Devarbhavi H, Asrani SK, Arab JP, Nartey YA, Pose E, Kamath PS. Global burden of liver disease: 2023 update. *J Hepatol.* 2023 Aug;79(2):516-537. doi: 10.1016/j.jhep.2023.03.017.

- 2 Niu X, Zhu L, Xu Y, Zhang M, Hao Y, Ma L, Li Y, Xing H. Global prevalence, incidence, and outcomes of alcohol related liver diseases: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*. 2023 May 11;23(1):859. doi: 10.1186/s12889-023-15749-x.
- 3 Middleton P, Vergis N. Mitochondrial dysfunction and liver disease: role, relevance, and potential for therapeutic modulation. *Therap Adv Gastroenterol*. 2021 Jul 27;14:17562848211031394. doi: 10.1177/17562848211031394.
- 4 Amjad S, Nisar S, Bhat AA, Shah AR, Frenneaux MP, Fakhro K, Haris M, Reddy R, Patay Z, Baur J, Bagga P. Role of NAD⁺ in regulating cellular and metabolic signaling pathways. *Mol Metab*. 2021 Jul;49:101195. doi: 10.1016/j.molmet.2021.101195.
- 5 Corkey BE, Deeney JT. The Redox Communication Network as a Regulator of Metabolism. *Front Physiol*. 2020 Oct 15;11:567796. doi: 10.3389/fphys.2020.567796.
- 6 Sutsko IP, Shlyahatun AH, Semeneya IN. Metabolic precursors of nicotinamide adenine dinucleotide and the potential for their clinical use. *Medicinskij akademicheskij zhurnal = Medical Academic Journal*. 2022;22(3):15-25. doi: 10.17816/MAJ89964.
- 7 Johnson S, Imai SI. NAD⁺ biosynthesis, aging, and disease. *F1000Res*. 2018 Feb 1;7:132. doi: 10.12688/f1000research.12120.1.
- 8 Haynes LJ, Hughes NA, Kenner GW, Todd A. Codehydrogenases. Part II. A synthesis of nicotinamide nucleotide. *J Chem Soc*. 1957: 3727-3732. doi: 10.1039/jr9570003727.
- 9 Liu R, Visscher J. A novel preparation of nicotinamide mononucleotide. *Nucleosides Nucleotides*. 1994;13(5):1215-6. doi: 10.1080/15257779408011891.
- 10 Iuso A, Repp B, Biagosch C, Terrile C, Prokisch H. Assessing Mitochondrial Bioenergetics in Isolated Mitochondria from Various Mouse Tissues Using Seahorse XF96 Analyzer. *Methods Mol Biol*. 2017;1567:217-230. doi: 10.1007/978-1-4939-6824-4_13.
- 11 Spinazzi M, Casarin A, Pertegato V, Salviati L, Angelini C. Assessment of mitochondrial respiratory chain enzymatic activities on tissues and cultured cells. *Nat Protoc*. 2012 May 31;7(6):1235-46. doi: 10.1038/nprot.2012.058.
- 12 Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med*. 1990;9(6):515-40. doi: 10.1016/0891-5849(90)90131-2.
- 13 Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*. 1959 May;82(1):70-7. doi: 10.1016/0003-9861(59)90090-6.
- 14 Carlberg I, Mannervik B. Glutathione reductase. *Methods Enzymol*. 1985;113:484-90. doi: 10.1016/s0076-6879(85)13062-4.
- 15 Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*. 1974 Nov 25;249(22):7130-9.
- 16 Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*. 1967 Jul;70(1):158-69.
- 17 Hadwan MH. Simple spectrophotometric assay for measuring catalase activity in biological tissues. *BMC Biochem*. 2018 Aug 3;19(1):7. doi: 10.1186/s12858-018-0097-5.
- 18 Nisselbaum JS, Green S. A simple ultramicro method for determination of pyridine nucleotides in tissues. *Anal Biochem*. 1969 Feb;27(2):212-7. doi: 10.1016/0003-2697(69)90025-6.
- 19 Peterson GL. Review of the Folin phenol protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr and Randall. *Anal Biochem*. 1979 Dec;100(2):201-20. doi: 10.1016/0003-2697(79)90222-7.
- 20 Torres S, Segalés P, García-Ruiz C, Fernández-Checa JC. Mitochondria and the NLRP3 Inflammasome in Alcoholic and Nonalcoholic Steatohepatitis. *Cells*. 2022 Apr 27;11(9):1475. doi: 10.3390/cells11091475.
- 21 Prasun P, Ginevic I, Oishi K. Mitochondrial dysfunction in nonalcoholic fatty liver disease and alcohol related liver disease. *Transl Gastroenterol Hepatol*. 2021 Jan 5;6:4. doi: 10.21037/tgh-20-125.

PROTECTIVE EFFECT OF PRECURSORS OF NICOTINAMIDE ADENINE DINUCLEOTIDE BIOSYNTHESIS ON LIVER MITOCHONDRIAL FUNCTIONS IN ALCOHOL INTOXICATION

*A. H. Shlyahatun¹, I. P. Sutsko¹, E. V. Buksha¹, A. F. Raduta¹,
Yu. Z. Maksimchik², E. V. Bogdevich¹, V. A. Gurinovich¹*

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

²*Applied-Research Laboratory of «DNA-technologies» of Educational Institution
«Grodno State Agrarian University», Grodno, Republic of Belarus*

Background. One of the main triggers of hepatocyte damage during alcohol intoxication is an imbalance in NAD/NADH ratio, which occurs during the metabolism of ethanol, and as a consequence, mitochondrial dysfunction, exacerbating alcoholic liver damage. It is proposed to use some precursors of NAD biosynthesis for correction this imbalance in alcohol intoxication.

Objective. The aim of the study was to investigate the effects of NAD precursors on the functional state of liver mitochondria during chronic alcohol intoxication in rats.

Material and Methods. Ethanol at doses of 10 g/kg/day was administered to male Wistar rats for 14 days. Precursors of NAD biosynthesis were administered also for 14 days in the same period of time. The functional parameters, pro/antioxidant status, and NAD/ NADH ratio were determined in the liver mitochondria.

Results. It has been established that alcohol intoxication in rats is accompanied by decrease in the rates of mitochondrial respiration, development of oxidative stress, and imbalance in NAD/NADH ratio in the liver mitochondria. The administration of nicotinamide riboside and nicotinamide mononucleotide to intoxicated

animals was accompanied by the protection of all the studied parameters, while nicotinamide had a moderate protective effect.

Conclusions. The results obtained show that the precursors of NAD biosynthesis have a mitoprotective effect in liver mitochondria during alcohol intoxication. The observed effects are due to the normalization of the NAD/NADH in the liver mitochondria.

Keywords: alcohol intoxication, liver, mitochondria, nicotinamide, nicotinamide riboside, nicotinamide mononucleotide, nicotinamide adenine dinucleotide.

For citation: Shlyahtun AH, Sutsko IP, Buksha EV, Raduta AF, Maksimchik YuZ, Bogdevich EV, Gurinovich VA. Protective effect of precursors of nicotinamide adenine dinucleotide biosynthesis on liver mitochondrial functions in alcohol intoxication. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2023, vol. 2, no. 2(3). pp. 14–20 (in Russian).

Поступила 31.08.2023

АКТИВНОСТЬ МУТАНТНОЙ ФОРМЫ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА, ПОЛУЧЕННОГО С ПОМОЩЬЮ СИСТЕМЫ БЕСКЛЕТОЧНОГО СИНТЕЗА БЕЛКА

А. А. Акуневич¹, В. В. Хрусталёв¹, М. А. Ермолович², В. И. Чепрасова³

¹ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

² Республиканский научно-практический центр эпидемиологии
и микробиологии, Минск, Республика Беларусь

³ Белорусский государственный технологический университет, Минск, Республика Беларусь

Введение. Мутантные формы эпидермального фактора роста (EGF) могут быть использованы в качестве препаратов, препятствующих пролиферации опухолевых клеток.

Цель исследования. Получить Met-EGF с заменой D46G с помощью системы бесклеточного синтеза белка и охарактеризовать его активность в отношении культуры клеток эпидермоидной карциномы человека.

Материалы и методы. Met-EGF D46G получали с помощью системы NEBExpress E5360S и проводили его хроматографическую очистку на колонке Pierce NHS-Activated Agarose с иммобилизованными кроличьими антителами к EGF D46G. Вторичную структуру Met-EGF D46G оценивали на спектрометре Thermo Nicolet NEXUS 670 FTIR, порядок олигомеров – с помощью голубого нативного электрофореза. Активность Met-EGF D46G в концентрации 10 нг/мл оценивали с помощью МТТ-теста на культуре HEp2C в сравнении с синтетическим EGF той же концентрации.

Результаты. Спектр ИК ГНПВО Met-EGF D46G имеет полосу поглощения при 1643 см⁻¹, соответствующую петлям, а также полосы поглощения при 1620 и 1691 см⁻¹, соответствующие межмолекулярной антипараллельной бета-структуре. Полученный Met-EGF D46G стимулирует пролиферацию клеток HEp2C в сравнении с контролем, однако достоверно менее выражено, чем синтетический EGF.

Заключение. Met-EGF D46G имеет бета-структурное строение, в растворе формирует димеры, характерные для синтетических EGF и EGF D46G, и обладает сниженной агонистической активностью в отношении культуры HEp2C в сравнении с EGF с нативной аминокислотной последовательностью.

Ключевые слова: Эпидермальный фактор роста, аминокислотная замена, бесклеточный синтез белка, агонистическая активность.

Для цитирования: Активность мутантной формы эпидермального фактора роста, полученного с помощью системы бесклеточного синтеза белка / А. А. Акуневич [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2023. – Т. 2, № 2(3). – С. 21–27.

Введение

Эпидермальный фактор роста (EGF, от англ. *epidermal growth factor*) является олигопептидом семейства факторов роста, стимулирующих рост и дифференцировку эпителиальных клеток. Аберрантная активация рецептора эпидермального фактора роста (EGFR, от англ. *epidermal growth factor receptor*) лигандами данного семейства приводит к развитию и метастазированию эпителиальных опухолей [1].

Ранее нами была получена мутантная форма EGF с аминокислотной заменой D46G, которая вызывает структурные изменения в С-концевом фрагменте молекулы, что, по нашему мнению, может приводить к снижению ее агонистической активности [2]. Мутантные формы нативных лигандов EGFR рассматриваются в качестве перспективных агентов в терапии эпителиальных опухолей: при сохранении сайтов связывания с од-

ним из доменов EGFR, но снижении сродства к другому домену рецептора, они способны препятствовать его дальнейшей димеризации и активации [3].

Синтез рекомбинантных форм EGF в прокариотических системах затруднен, поскольку большая часть его молекул образует тельца включения [4]. Получение EGF-подобных факторов роста возможно с помощью системы бесклеточного синтеза белка (БСБ), состоящей из лизата клеток (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces* spp. и других), РНК-полимеразы, АТФ, нуклеозидтрифосфатов, аминокислот и других компонентов, необходимых для синтеза белка в условиях *in vitro* [5]. С помощью такой системы при оптимальных условиях могут быть получены функционально активные белки и пептиды различной структурной организации с молекулярной массой от 5 до 230 кДа и выходом продукта более 1 мг/мл: напри-

мер, браззеин [6], рецептор эпидермального фактора роста [7], аденозиндезаминаза [8].

Однако ограничением некоторых подобных систем является неэффективный синтез белков и пептидов со сложным паттерном дисульфидных связей, поскольку их образование затруднено в условиях цитоплазмы бактерий, богатой восстановительными эквивалентами [5]. EGF-подобные факторы роста относятся к таким олигопептидам: EGF-подобный домен включает шесть остатков цистеина, формирующих три внутримолекулярные дисульфидные связи, неполное и/или неверное образование которых может привести к снижению активности данных лигандов [9]. Определение структуры и биологической активности мутантной формы EGF, полученной с помощью системы БСБ, позволит прояснить перспективы данного метода как альтернативного способа синтеза EGF-подобных факторов роста.

Цель исследования. Получить эпидермальный фактор роста с аминокислотной заменой D46G с помощью системы бесклеточного синтеза белка и охарактеризовать его активность в отношении культуры клеток эпидермоидной карциномы человека.

Материалы и методы

В исследовании использовался человеческий EGF с нативной аминокислотной последовательностью (NSDSECPLSHDGYCLHDGVCMYIEALDKYACNCVVG YIGERCQYRDLKWWELR), полученный с помощью твердофазного химического синтеза (Elabscience, Китай). Мутантная форма человеческого EGF содержит замену D46G (соответствующее положение в аминокислотной последовательности выделено полужирным шрифтом). Синтез Met-EGF D46G (с дополнительным остатком метионина на N-конце) проводили с помощью системы БСБ NEBExpress E5360S (New England Biolabs, США) на основе клеточного лизата *E. coli* под контролем РНК-полимеразы бактериофага T7. Синтез проводили в соответствии с протоколом производителя, однако масштабировали его до конечного объема реакционной смеси 200 мкл [10]. Плазмидный вектор pUC57 (Synbio Technologies, США) содержал промотор бактериофага T7, сайт связывания рибосом (последовательность Шайна-Дальгарно), старт-кодон, кодирующую последовательность EGF D46G, стоп-кодон, терминатор транскрипции бактериофага T7. Выделение Met-EGF D46G из реакционной смеси осуществляли с помощью аффинной хроматографии на колонке Pierce NHS-Activated Agarose (Thermo Scientific, США) с иммобилизованными кроличьими поликлональными антителами к синтетическому EGF D46G, полученными нами по стандартному протоколу [11]. Элюирование осуществляли 2 мл

0,2М глицин-HCl буфера (pH = 2,5) с последующей нейтрализацией элюата 100 мкл 1М фосфатного буфера (pH = 9,0) и регистрацией спектров флуоресценции на спектрофлуориметре Solar CM2203 при 22 оС, ширине щелей 5 нм, $\lambda_{Ex} = 280$ нм, $\lambda_{Em} = 300-400$ нм. Концентрация EGF D46G в элюате составляла 31,25 нг/мкл.

Для анализа вторичной структуры EGF D46G, полученного с помощью системы БСБ, использовали ИК-Фурье спектрометр с приставкой многократного нарушенного полного внутреннего отражения горизонтального типа (ГНПВО) SMART Multi-Bounce NATR (модель 0028-299). На кристалл (ZnSe, 45°) спектрометра Thermo Nicolet NEXUS 670 FTIR (Thermo Scientific) наносили 50 мкл элюата EGF D46G тонким слоем, после чего регистрировали спектры каждые 10 мин в течение 2 ч. Спектры записывали в диапазоне от 4000 до 650 см⁻¹ с разрешением 8 см⁻¹. Каждый зарегистрированный спектр усреднялся по 32 измерениям. Спустя 45 мин происходило испарение всей воды, не связанной с белком, в результате чего форма полос амид I и амид II переставала изменяться. Исходные спектры предварительно подвергали обработке: использовали функцию «подавление атмосферы» и выравнивали базовую линию. Дальнейший анализ усредненных спектров проводили с помощью программы PeakFit v.4.12 с автоматическим выделением полос поглощения по методу второй производной.

Голубой нативный электрофорез в 10%-м полиакриламидном геле проводили согласно стандартному протоколу при pH = 7,4 [12]. Цитохром с (свиной, сердце) (SERVA Electrophoresis, Германия) был выбран в качестве белка-маркера, поскольку в растворе он образует хорошо охарактеризованные мономерные (~12 кДа), димерные (~24 кДа), тримерные (~36 кДа) и тетрамерные (~48 кДа) формы [13]. Величину pH в изоэлектрической точке (pI) EGF и Met-EGF D46G рассчитывали с помощью Isoelectric Point Calculator 2.0 (<http://ipc2.mimuw.edu.pl>) [14]. Навески цитохрома с (200 мкг) и синтетического EGF (200 мкг) растворяли в 200 мкл катодного буфера (pH = 7,4) с 0,26 % кумасси бриллиантового синего G при 5 °С в течение 8 ч. В 200 мкл элюата Met-EGF D46G вносили 30 мкл 2 %-ного раствора кумасси бриллиантового синего G и также выдерживали при 5 °С в течение 8 ч. Электрофорез проводили в течение 4 ч в стандартной вертикальной установке для электрофореза с двойным охлаждением Hoefer SE600 (Hoefer Pharmacia Biotech, США). Гель фиксировали и окрашивали в 0,1%-м растворе кумасси бриллиантового синего R-250 по стандартному протоколу [12].

Оценку активности Met-EGF D46G, полученного с помощью системы БСБ, осуществляли с помощью МТТ-теста на перевиваемой культуре клеток эпидермоидной карциномы человека Нер2С (Коллекция лаборатории вакциноуправляемых инфекций РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Республика Беларусь). Клетки культивировали в питательной среде Игла Дулбеко DME (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Республика Беларусь) с добавлением 10 % (об./об.) эмбриональной бычьей сыворотки (Gibco, Великобритания) и 100 мг/мл гентамицина (РУП «Белмедпрепараты», Республика Беларусь). Клетки инкубировали при 37°C в атмосфере с 5 % CO₂. Рабочая концентрация клеток составляла 150 000 клеток/мл. В лунки 96-луночного планшета вносили по 100 мкл клеточной суспензии, что соответствует ~15 000 клеток на лунку. Для анализа использовались растворы синтетического EGF и Met-EGF D46G, полученного с помощью системы БСБ, с концентрацией 10 нг/мл в бессывороточной среде, в качестве контроля использовалась бессывороточная среда. Для оценки активности синтетического EGF и Met-EGF D46G в отношении роста и пролиферации клеток использовали два подхода. В первом подходе в лунки планшета вносили клеточную суспензию в ростовой среде, содержащей эмбриональную бычью сыворотку, и инкубировали в течение 24 ч. После инкубации и формирования монослоя ростовую среду удаляли и добавляли по 100 мкл исследуемых растворов EGF (16 лунок) и Met-EGF D46G (16 лунок) параллельно с контролем (16 лунок) и инкубировали в течение 72 ч. Во втором подходе вносили клеточную суспензию в анализируемых растворах EGF (16 лунок) и Met-EGF D46G (16 лунок) параллельно с контролем (16 лунок) и инкубировали в течение 72 ч. После инкубации в лунки вносили по 10 мкл раствора МТТ (Sigma-Aldrich, Германия) с концентрацией 5 мг/мл и инкубировали в течение 4 ч, после чего добавляли 100 мкл ДМСО для растворения кристаллов формазана. Через 15 мин измеряли оптическую плотность при 450 нм с помощью микропланшетного фотометра Thermo Scientific Multiskan EX [15]. Данные представляли в виде среднего значения ± стандартное отклонение (M ± SD) с учетом нормальности распределения по критерию Шапиро-Уилка. Статистическую значимость ($p < 0,05$) оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Статистические данные рассчитывали с помощью Microsoft Excel и PAST 4.11.

Результаты и их обсуждение

Интенсивность максимума флуоресценции Met-EGF D46G в нейтрализованном элюате при

характерных для данного олигопептида длина волн 330 и 357 нм составляла, соответственно, 0,742 и 0,772 относительных единиц, что соответствует 1/16 разведения насыщенного раствора EGF D46G и его концентрации в растворе около 31,25 нг/мкл [2].

Спектроскопия ИК ГНПВО позволила оценить вторичную структуру Met-EGF D46G, полученного с помощью системы БСБ. Наиболее чувствительной областью ИК спектра к элементам вторичной структуры белков является полоса амид I (1600–1700 см⁻¹), которая обусловлена валентными колебаниями группы C=O пептидных связей. Полоса амид II (1510–1580 см⁻¹) в основном обусловлена сгибанием связи NH в плоскости и валентным колебанием связи CN и демонстрирует меньшую чувствительность в отношении вторичной структуры белка, чем полоса амид I [16].

Спектр ИК ГНПВО Met-EGF D46G в нейтрализованном элюате в диапазоне от 1750 до 1450 см⁻¹ (рисунок 1) имеет выраженную форму, характерную для бета-структурных белков, и не имеет полос поглощения в области 1650–1659 см⁻¹, соответствующих альфа-спиралям. Как видно на рисунке 1, максимум основной полосы поглощения амид I расположен при 1620 см⁻¹, что соответствует межмолекулярной бета-структуре в составе олигомерных форм белка. Данная бета-структура, вероятно, является антипараллельной, поскольку в спектре выделяется высокочастотная составляющая полосы поглощения при 1691 см⁻¹, характерная для бета-поворотов. Кроме этого, в области амид II выделяется основная полоса при 1514 см⁻¹, которая также соответствует бета-структуре. Помимо бета-структур, спектр ИК ГНПВО Met-EGF D46G в нейтрализованном элюате имеет полосу поглощения при 1643 см⁻¹, соответствующую петлям (англ. *random coil*) [16].

Ранее нами было показано, что спектры ИК ГНПВО синтетических EGF и EGF D46G имеют полосы поглощения при 1653–1655 см⁻¹, соответствующие альфа-спирали, и две полосы поглощения при 1622–1624 и 1689–1691 см⁻¹, соответствующие антипараллельной межмолекулярной бета-структуре. При этом, согласно результатам спектроскопии кругового дихроизма и спектрофлуориметрии, синтетический EGF D46G имеет большее количество бета-структур за счет удлинения и реорганизации межмолекулярного бета-листа [2]. В сравнении со своей синтетической формой, Met-EGF D46G, полученный с помощью системы БСБ, не образует альфа-спираль в условиях проведенного эксперимента. Это может свидетельствовать о том, что альфа-спираль в структуре синтетиче-

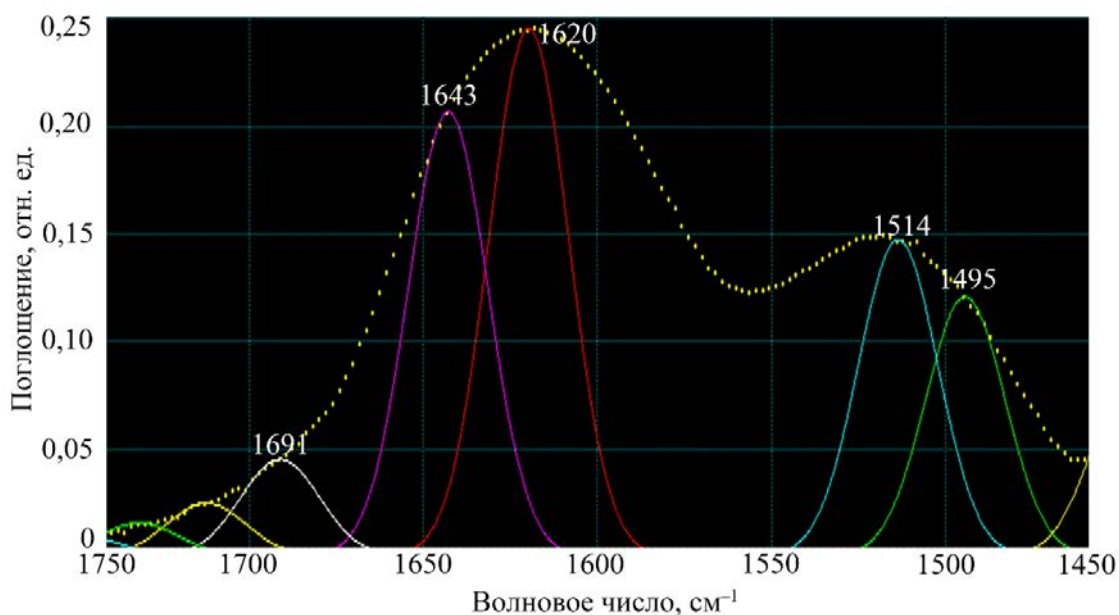


Рисунок 1 – Инфракрасный спектр горизонтального нарушенного полного внутреннего отражения с преобразованием Фурье Met-EGF с заменой D46G, полученного с помощью системы бесклеточного синтеза белка

Figure 1 – Horizontal attenuated total reflection Fourier transform infrared spectrum of Met-EGF with D46G substitution obtained with cell-free synthesis system

ских EGF и EGF D46G формировалась именно на N-конце, тогда как добавление к нему остатка метинина может препятствовать ее образованию.

Как видно на рисунке 2, Met-EGF D46G образует димер с молекулярной массой около 12 кДа,

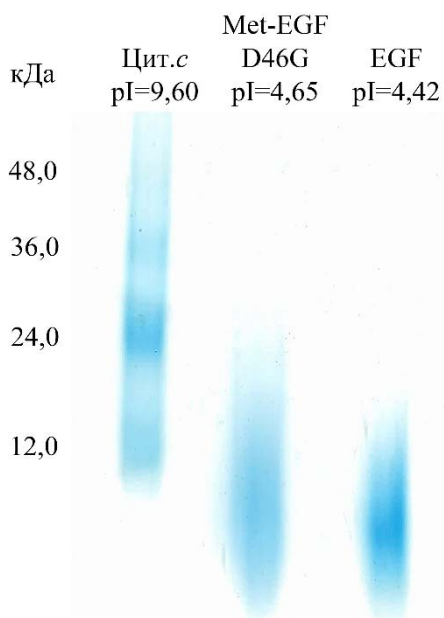


Рисунок 2 – Результаты голубого нативного электрофореза в полиакриламидном геле (pH = 7,4) синтетического EGF и Met-EGF D46G, полученного с помощью системы бесклеточного синтеза белка

Figure 2 – Results of blue native polyacrylamide gel electrophoresis (pH = 7.4) of synthetic EGF and Met-EGF D46G obtained with cell-free synthesis system

также характерный для синтетических EGF и EGF D46G в растворе [2]. В условиях голубого нативного электрофореза (pH = 7,4) димеры Met-EGF D46G и синтетического EGF мигрируют на большее расстояние, чем мономер цитохрома c, что объясняется более низкой абсолютной величиной его заряда, вызванной разницей между pI белка и pH буферного раствора. Полученные данные свидетельствует о том, что в условиях синтеза *in vitro*, несмотря на выраженный бета-структурный состав Met-EGF D46G, его олигомеры более высокого порядка не образуются.

Определение агонистической активности EGF-подобных факторов роста в отношении культур опухолевых клеток проводится в бессывороточной среде, поскольку они вступают в конкурентное взаимодействие с факторами роста, содержащимися в эмбриональной бычьей сыворотке, в частности, с бетацеллюлином – одним из высокоаффинных лигандов EGFR [9]. Действительно, как видно на рисунке 3a, нами не обнаружены статистически значимые отличия в пролиферации клеток при внесении исследуемых олигопептидов в монослой HEp2C, сформированный в ростовой среде с эмбриональной бычьей сывороткой. Чтобы оценить активность данных олигопептидов, мы вносили их совместно с суспензией клеток HEp2C на этапе посева. Как видно на рисунке 3b, синтетический EGF достоверно ($p < 0,001$) стимулирует пролиферацию клеток эпидермоидной карциномы человека в сравнении с группой контроля (бессывороточная среда):

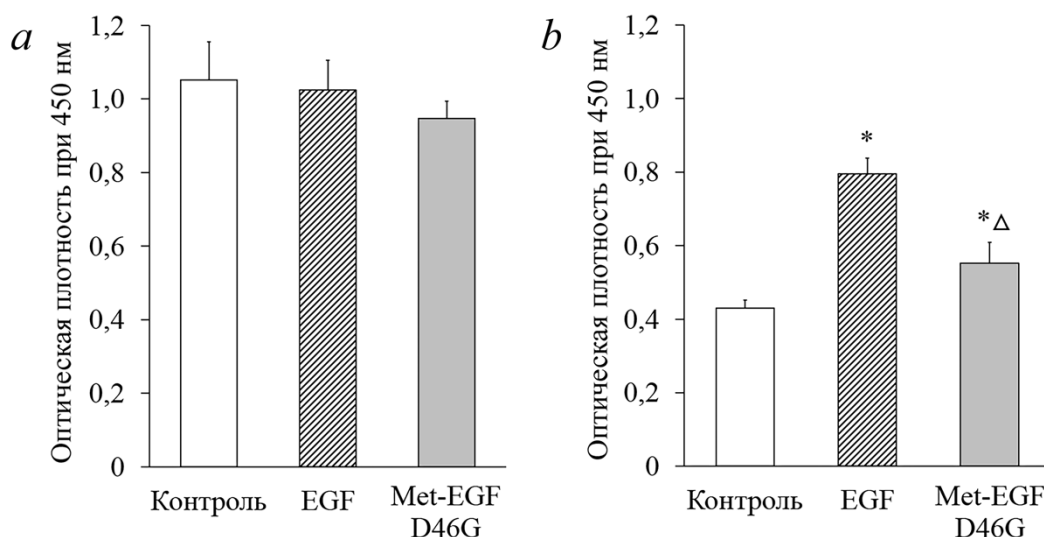


Рисунок 3 – Пролиферация клеток HEp2C при воздействии синтетического EGF и Met-EGF D46G, полученного с помощью системы бесклеточного синтеза белка, при формировании монослоя: *a* – в среде, содержащей эмбриональную бычью сыворотку; *b* – в бессывороточной среде. Данные представлены в виде $M \pm SD$; * $p < 0,001$ в сравнении с контрольной группой (бессывороточная среда); $\Delta p < 0,001$ в сравнении с группой синтетического EGF

Figure 3 – HEp2C cell proliferation induced by synthetic EGF and Met-EGF D46G obtained with the cell-free synthesis system with the monolayer formed: *a* – in a serum-containing medium; *b* – in a serum-free medium. Data are presented as $M \pm SD$; * $p < 0.001$ vs. the control (serum-free medium) group; $\Delta p < 0.001$ vs. the synthetic EGF

0,796 ± 0,042 и 0,430 ± 0,022 единиц оптической плотности, соответственно. При этом Met-EGF D46G, полученный с помощью системы БСБ, также стимулирует пролиферацию клеток (0,552 ± 0,056 единиц оптической плотности), однако достоверно ($p < 0,001$) менее выражено, чем синтетический EGF с нативной аминокислотной последовательностью.

Из полученных данных видно, что исследуемые лиганды не демонстрируют выраженной биологической активности в отношении клеток эпидермоидной карциномы человека, если их монослой был сформирован в условиях среды, содержащей эмбриональную бычью сыворотку. Это может быть следствием включения у адгезированных клеток собственных пара- и аутокринных механизмов регуляции пролиферации [17]. Следовательно, агонистическая активность EGF проявляется в отсутствии других факторов роста с более выраженной аффинностью: в таких условиях синтетический EGF способствует формированию монослоя и пролиферации клеток.

Наблюдаемая в эксперименте пролиферация клеток при введении Met-EGF D46G может происходить за счет образования функционально активных комплексов с EGFR. Однако количество таких комплексов с Met-EGF D46G значительно ниже, чем с синтетическим EGF с нативной аминокислотной последовательностью. Это объясняется тем, что в молекуле Met-EGF D46G фрагменты полипептидной цепи, наиболее значимые для связывания с III доменом EGFR, были подвергнуты

модификации: структурно неустойчивый N-конец и C-конец, высвобождающийся из межмолекулярной бета-структуры.

Заключение

Мутантная форма эпидермального фактора роста Met-EGF D46G, предложенная и полученная нами с помощью системы бесклеточного синтеза белка, обладает сниженной агонистической активностью по отношению к рецептору EGFR, что дает возможность использовать его для дальнейшей разработки противоопухолевых пептидов, конкурентно связывающих данный рецептор, но не приводящих к его активации.

Список цитированных источников

1. Uribe, M. L. EGFR in Cancer: Signaling Mechanisms, Drugs, and Acquired Resistance / M. L. Uribe, I. Marrocco, Y. Yarden // *Cancers*. – 2021. – Vol. 13, № 2748. – P. 1–21. – doi: 10.3390/cancers13112748.
2. Equilibrium between dimeric and monomeric forms of human epidermal growth factor is shifted towards dimers in a solution / A. A. Akunevich [et al.] // *Protein J.* – 2022. – Vol. 41, № 2. – P. 245–259. – doi: 10.1007/s10930-022-10051-y.
3. EGF activates its receptor by removing interactions that autoinhibit ectodomain dimerization / K. M. Ferguson [et al.] // *Mol. Cell.* – 2003. – Vol. 11, № 2. – P. 507–517. – doi: 10.1016/s1097-2765(03)00047-9.
4. Refolding of bioactive human epidermal growth factor from *E. coli* BL21(DE3) inclusion bodies & evaluations on its *in vitro* & *in vivo* bioactivity / I. P. Maksum [et al.] // *Heliyon*. – 2022. – Vol. 8, № e09306. – P. 1–9. – doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e09306.

5. Cell-free gene expression / D. Garenne [et al.] // *Nat. Rev. Methods Primers*. – 2021. – Vol. 1, № 49. – P. 1–18. – doi: 10.1038/s43586-021-00046-x.
6. Казловский, И. С. Биосинтез браззеина в бактериальной системе бесклеточного синтеза белка / И. С. Казловский, И. В. Бельская, А. И. Зинченко // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2020. – Т. 64, № 1. – С. 71–77. – doi: 10.29235/1561-8323-2020-64-1-71-77.
7. Cell-free synthesis of functional human epidermal growth factor receptor: Investigation of ligand-independent dimerization in Sf21 microsomal membranes using non-canonical amino acids / R. Quast [et al.] // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6, № 34048. – P. 1–13. – doi: 10.1038/srep34048.
8. Казловский, И. С. Биосинтез аденозиндезаминазы *Escherichia coli* в системе бесклеточного синтеза белка / И. С. Казловский, А. И. Зинченко // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2021. – Т. 66, № 3. – С. 271–276. – doi: 10.29235/1029-8940-2021-66-3-271-276.
9. A toolkit for recombinant production of seven human EGF family growth factors in active conformation / A. S. Ferreira [et al.] // *Sci. Rep.* – 2022. – Vol. 12, № 5034. – P. 1–14. – doi: 10.1038/s41598-022-09060-9.
10. NEBExpress Cell-free *E. coli* Protein Synthesis System [Electronic resource] // New England Biolabs. – Mode of access: <https://international.neb.com/products/e5360-nebexpress-cell-free-ecoli-protein-synthesis-system>. – Date of access: 11.05.2023.
11. Hancock, D. C. Production of Polyclonal Antibodies in Rabbits / D. C. Hancock, N. J. O'Reilly // *Immunochemical Protocols. Methods in Molecular Biology* / ed. R. Burns. – Totowa, 2005. – P. 27–39. – doi: 10.1385/1-59259-873-0:027.
12. Wittig, I. Blue native PAGE / I. Wittig, H. P. Braun, H. Schägger // *Nat. Protocols*. – 2006. – Vol. 1, № 1. – P. 418–428. – doi: 10.1038/nprot.2006.62.
13. Cytochrome *c* polymerization by successive domain swapping at the C-terminal helix / S. Hirota [et al.] // *Proc. Nat. Acad. Sci.* – 2010. – Vol. 107, № 29. – P. 12854–12859. – doi: 10.1073/pnas.1001839107.
14. Kozłowski, L. P. IPC 2.0: prediction of isoelectric point and pKa dissociation constants / L. P. Kozłowski // *Nucl. Acids Res.* – 2021. – Vol. 49, № 1. – P. 285–292. – doi: 10.1093/nar/gkab295.
15. Оптимизация критических параметров МТТ-теста для оценки клеточной и лекарственной цитотоксичности / В. С. Черепович [и др.] // *Медицинский журнал*. – 2006. – № 2. – С. 106–108.
16. Sadat, A. Peak fitting applied to fourier transform infrared and Raman spectroscopic analysis of proteins / A. Sadat, I. J. Joye // *Appl. Sci.* – 2020. – Vol. 10, № 5918. – P. 1–16. – doi: 10.3390/app10175918.
17. 2D and 3D cell cultures – a comparison of different types of cancer cell cultures / M. Kapaczyńska [et al.] // *Arch. Med. Sci.* – 2018. – Vol. 14, № 4. – P. 910–919. – doi: 10.5114/aoms.2016.63743.
- interactions that autoinhibit ectodomain dimerization. *Mol Cell*. 2003 Feb;11(2):507-17. doi: 10.1016/s1097-2765(03)00047-9.
4. Maksum IP, Yosua Y, Nabel A, Pratiwi RD, Sriwidodo S, Soedjanaatmadja UMS. Refolding of bioactive human epidermal growth factor from *E. coli* BL21(DE3) inclusion bodies & evaluations on its *in vitro* & *in vivo* bioactivity. *Heliyon*. 2022 Apr;8(4):e09306. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e09306.
5. Garenne D, Haines M, Romantseva EF, Freemont P, Strychalski E, Noireaux V. Cell-free gene expression. *Nat Rev Methods Primers*. 2021 Jul;1:49. doi: 10.1038/s43586-021-00046-x.
6. Kazlouski IS, Belskaya IV, Zinchenko AI. Biosintez brazzeina v bakterial'noj sisteme beskletochnogo sinteza belka [Biosynthesis of brazzein using the bacterial cell-free protein synthesis system]. *Doklady Nacional'noj akademii nauk Belarusi [Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus]*. 2020;64(1):71-7. Russian. doi: 10.29235/1561-8323-2020-64-1-71-77.
7. Quast RB, Ballion B, Stech M, Sonnabend A, Varga BR, Wüstenhagen DA, Kele P, Schiller SM, Kubick S. Cell-free synthesis of functional human epidermal growth factor receptor: Investigation of ligand-independent dimerization in Sf21 microsomal membranes using non-canonical amino acids. *Sci Rep*. 2016 Sep;6:34048. doi: 10.1038/srep34048.
8. Kazlouski IS, Zinchenko AI. Biosintez adenozindezaminazy *Escherichia coli* v sisteme beskletochnogo sinteza belka [Biosynthesis of *Escherichia coli* adenosine deaminase using cell-free protein synthesis]. *Izvestija Nacional'noj akademii nauk Belarusi. Serija biologicheskikh nauk [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series]*. 2021;66(3):271-6. Russian. doi: 10.29235/1029-8940-2021-66-3-271-276.
9. Ferreira AS, Lopacinski A, Batista M, Hiraiwa PM, Guimarães BG, Zanchin NIT. A toolkit for recombinant production of seven human EGF family growth factors in active conformation. *Sci Rep*. 2022 Mar;12(1):5034. doi: 10.1038/s41598-022-09060-9.
10. NEBExpress Cell-free *E. coli* Protein Synthesis System [Internet]. Ipswich: New England Biolabs; c2023 [cited 2023 May 11]. Available from: <https://international.neb.com/products/e5360-nebexpress-cell-free-ecoli-protein-synthesis-system>.
11. Burns R. *Immunochemical Protocols. Methods in Molecular Biology*. Totowa: Humana Press; c2005. Chapter 3, Production of Polyclonal Antibodies in Rabbits; p. 27-39. doi: 10.1385/1-59259-873-0:027.
12. Wittig I, Braun HP, Schägger H. Blue native PAGE. *Nat Protoc*. 2006;1(1):418-28. doi: 10.1038/nprot.2006.62.
13. Hirota S, Hattori Y, Nagao S, Taketa M, Komori H, Kamikubo H, Wang Z, Takahashi I, Negi S, Sugiura Y, Kataoka M, Higuchi Y. Cytochrome *c* polymerization by successive domain swapping at the C-terminal helix. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Jul;107(29):12854-9. doi: 10.1073/pnas.1001839107.
14. Kozłowski LP. IPC 2.0: prediction of isoelectric point and pKa dissociation constants. *Nucleic Acids Res*. 2021 Jul;49(W1):W285-W292. doi: 10.1093/nar/gkab295.
15. Cherepovich VS, Volochnik EV, Antonenko EV, Lotkova ES, Romanovskaja TV, Grinev VV. Optimizacija kriticheskikh parametrov MTT-testa dlja ocenki kletocnoj i lekarstvennoj citotoksichnosti. *Medicinskij zhurnal*. 2006;2:106-8. Russian.
16. Sadat A, Joye IJ. Peak Fitting Applied to Fourier Transform Infrared and Raman Spectroscopic Analysis of Proteins. *Appl Sci*. 2020 Aug;10:5918. doi: 10.3390/app10175918.
17. Kapaczyńska M, Kolenda T, Przybyła W, Zajączkowska M, Teresiak A, Filas V, Ibbs M, Bliźniak R, Łuczewski Ł, Lamperska K. 2D and 3D cell cultures - a comparison of different types of cancer cell cultures. *Arch Med Sci*. 2018 Jun;14(4):910-9. doi: 10.5114/aoms.2016.63743.

References

1. Uribe ML, Marrocco I, Yarden Y. EGFR in Cancer: Signaling Mechanisms, Drugs, and Acquired Resistance. *Cancers*. 2021 Jun;13(11):2748. doi: 10.3390/cancers13112748.
2. Akunevich AA, Khrustalev VV, Khrustaleva TA, Poboinev VV, Shalygo NV, Stojarov AN, Arutyunyan AM, Kordyukova LV, Sapon YG. Equilibrium Between Dimeric and Monomeric Forms of Human Epidermal Growth Factor is Shifted Towards Dimers in a Solution. *Protein J*. 2022 Apr;41(2):245-59. doi: 10.1007/s10930-022-10051-y.
3. Ferguson KM, Berger MB, Mendrola JM, Cho HS, Leahy DJ, Lemmon MA. EGF activates its receptor by removing

ACTIVITY OF EPIDERMAL GROWTH FACTOR MUTANT FORM OBTAINED WITH CELL-FREE PROTEIN SYNTHESIS SYSTEM

A. A. Akunevich¹, V. V. Khrustalev¹, M. A. Yermolovich², V. I. Cheprasova³

¹ Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

² Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology,
Minsk, Republic of Belarus

³ Belarusian State Technological University, Minsk, Republic of Belarus

Background. Epidermal growth factor (EGF) mutant forms can be used as therapeutic agents to prevent the proliferation of tumor cells.

Objective. To obtain Met-EGF with D46G substitution with a cell-free protein synthesis system and characterize its activity in human epidermoid carcinoma cell culture.

Material and Methods. Met-EGF D46G was obtained with the NEBExpress E5360S system and was chromatographically purified on a Pierce NHS-Activated Agarose column with immobilized rabbit antibodies to EGF D46G. The secondary structure of Met-EGF D46G was assessed on a Thermo Nicolet NEXUS 670 FTIR spectrometer. The order of Met-EGF D46G oligomers was assessed using blue native electrophoresis. Met-EGF D46G activity at 10 ng/mL concentration was assessed using an MTT test in a HEp2C culture in comparison with synthetic EGF of the same concentration.

Results. Met-EGF D46G HATR IR spectrum has an absorption band at 1643 cm⁻¹, corresponding to the random coil, as well as absorption bands at 1620 and 1691 cm⁻¹, corresponding to the intermolecular antiparallel beta structure. Obtained Met-EGF D46G stimulates the proliferation of HEp2C cells compared to the control, but significantly less pronounced than synthetic EGF.

Conclusions. Met-EGF D46G is beta-structural and forms dimers in solution, characteristic of synthetic EGF and EGF D46G. Met-EGF D46G has a reduced agonistic activity in HEp2C cell culture compared to EGF with a native amino acid sequence.

Keywords: Epidermal growth factor, amino acid substitution, cell-free protein synthesis, agonistic activity.

For citation: Akunevich AA, Khrustalev VV, Yermolovich MA, Cheprasova VI. Activity of epidermal growth factor mutant form obtained with cell-free protein synthesis system. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2023, vol. 2, no. 2(3). pp. 21–27 (in Russian).

Поступила 29.06.2023

ОСОБЕННОСТИ СУИЦИДАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ И ЕГО КОРРЕЛЯЦИЯ С СОДЕРЖАНИЕМ СЕРОТОНИНА И НОРАДРЕНАЛИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

С. В. Давидовский¹, Ж. А. Ибрагимова², А. В. Гончарик², Л. В. Картун²,
Н. Н. Леонов³, А. В. Байкова¹

¹Белорусская медицинская академия последипломного образования,
Минск, Республика Беларусь;

²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

³Институт социологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Введение. Норадреналин и серотонин являются нейромедиаторами, которые способны проникать через гематоэнцефалический барьер. В настоящее время они рассматриваются в качестве биомаркеров суицидального риска. Поэтому определение их содержания в сыворотке крови может являться самым простым и доступным методом определения риска суицида.

Цель исследования: выявление зависимости между содержанием норадреналина и серотонина в периферической крови и выраженностью суицидальной активности.

Материалы и методы. На основании исследования особенностей суицидального поведения жителей г. Минска с 2005 по 2014 годы были сформированы 3 исследовательские группы: лица, использовавшие высоклетальные способы самоповреждения (далее ГЛИВС); лица, совершившие суицидальную попытку другими различными способами (далее ГЛССРС); лица, пережившие психосоциальный стресс и ранее суицидальных попыток не совершавшие (группа сравнения, далее ГС).

Определение содержания серотонина и норадреналина в плазме крови проводилось методом иммуноферментного анализа на спектрофотометре Stat Fax 2100.

Выраженность депрессии оценивалась с использованием шкалы Монтгомери-Асберга; мотивация к совершению суицида — с использованием аналоговой шкалы.

Результаты. Наибольший уровень серотонина и норадреналина в периферической крови отмечался в ГЛССРС, при этом выраженность мотивации к совершению суицида была статистически значимо ниже, чем в ГЛИВС, но выше, чем в ГС, где содержание норадреналина в периферической крови было достоверно выше, чем в ГЛИВС, показатели серотонина в данных группах (ГС и ГЛИВС) статистически значимо не различались. По выраженности депрессии данные группы (ГС и ГЛИВС) также статистически значимо не различались, в отличие от ГЛССРС, где выраженность депрессии была достоверно ниже, чем в ГС и ГЛИВС. Наименьший уровень норадреналина отмечался в ГЛИВС, в которой отмечался наиболее выраженный уровень депрессии, мотивации к совершению суицида и было характерно наличие жизнеопасных методов самоповреждения.

Заключение. Низкие показатели содержания серотонина и норадреналина в периферической крови могут свидетельствовать о риске совершения суицида при наличии выраженной мотивации к совершению суицида.

Ключевые слова: суицид, суицидальная попытка, норадреналин, серотонин, мотивация.

Для цитирования: Особенности суицидального поведения и его корреляция с содержанием серотонина и норадреналина в сыворотке крови / С. В. Давидовский [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2023. – Т. 2, № 2(3). – С. 28–31.

Введение

Реакцию на стресс связывают в первую очередь с действием норадреналина, физиологическими влечениями, эмоциями, а также некоторыми процессами памяти. Серотонин, в отличие от норадреналина, образуется в нейронах, имеющих отношение к чувству тревоги и нарушениям сна. Исследования в области физиологии мозга показали, что система мозга, чувствительная к норадреналину, также обладает выраженным влиянием на серотонинергическую систему. Установлено, что нервные клетки, чувствительные

к норадреналину, контролируют скорость высвобождения серотонина посредством влияния на норадренергические окончания нейронов, расположенных на телах серотонинергических нейронов. Это стало концепцией проведения данного исследования, направленного на выявление зависимости между особенностями суицидального поведения и содержанием норадреналина и серотонина в периферической крови. Исследование проведено в рамках научно-исследовательской работы «Разработать метод диагностики преднамеренного самоповреждения на основе комплекс-

ного анализа социально-психологических факторов и молекулярно-биологических маркеров» (2020-2022 гг.) Государственной научно-технической программы Республики Беларусь «Новые методы оказания медицинской помощи», подпрограмма «Внутренние болезни» 2016–2020 годы (государственная регистрация № 20201167).

Исследования базировались на принципах, изложенных в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы медицинских исследований с участием человека в качестве объекта исследования». Пациенты включались в исследование после получения письменного согласия. Исследование проводилось на базе отделения токсикологии городской клинической больницы скорой медицинской помощи г. Минска и государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр психического здоровья» Минздрава Беларуси в отделениях для лечения кризисных состояний.

Цель: выявление зависимости между содержанием норадреналина и серотонина в периферической крови и особенностями суицидального поведения.

Материалы и методы

На основании данных мониторинга суицидальной активности жителей г. Минска за десятилетний период (с 2005 по 2014 годы) [1, 2] были сформированы исследовательские группы: 1) группа лиц, использовавших высоколетальные способы самоповреждения (далее ГЛИВС), в которую вошли 54 человека; 2) группа лиц, совершивших суицидальную попытку другими различными способами (далее ГЛССРС), в которую вошли 55 человек; 3) группа лиц, переживших психосоциальный стресс и ранее суицидальных попыток не совершавших (группа сравнения, далее ГС), в которую вошли 66 человек. Всего в исследовании приняло участие 175 человек.

Выраженности депрессии, оценивалась с использованием шкалы Монтгомери-Асберга. Вы-

раженность мотивации к совершению суицида определялась посредством аналоговой шкалы (подана международная заявка №2020/EA/0055 от 27.08.2020 на выдачу Евразийского патента, 28.01.2021 получено уведомление о положительном результате формальной экспертизы).

Гипотеза о наличии статистической взаимосвязи между серотонином, норадреналином и принадлежностью к группе проверялась по непараметрическим критериям Краскела-Уоллиса и Манна-Уитни, вычислялись средние арифметические значения переменных. При выявлении взаимосвязи по непараметрическим критериям дополнительно выполнялся однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA), позволяющий сравнить средние значения показателя в трех выборках. Для идентификации пар выборок, отличающихся друг от друга средними значениями, в рамках ANOVA использовались апостериорные парные сравнения на основе метода Бонферрони. Обработка данных осуществлялась с помощью пакета SPSS Statistics 22.

Определение содержания серотонина и норадреналина в плазме крови проводилось методом иммуноферментного анализа на спектрофотометре Stat Fax 2100 согласно инструкции производителя к диагностическим наборам. При ИФА-анализе содержания серотонина и норадреналина использовались реактивы фирмы Demeditec Diagnostics GmbH (Германия).

Результаты и их обсуждение

Сильное волнение или возбуждение ассоциировано с норадренергической активностью и характеризуется сверхактивностью гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси [7]. Такая сверхактивность может приводить к истощению норадреналина, что проявляется в виде низких показателей в периферической крови, что и было отмечено нами у лиц, склонных к истинному суицидальному поведению (ГЛИВС), в отличие от лиц, склонных к самоповреждающему поведению (ГЛССРС) (таблица 1).

Таблица 1 – Содержание серотонина и норадреналина (нг/мл) в исследуемых группах

Table 1 – Content of serotonin and norepinephrine (ng/ml) in the study group

Группа	ГЛИВС	ГЛССРС	ГС	Значимость по К-У
Количество	54	55	66	0,012
Норадреналин Ме (25 %; 75 %)	120,0 (90,0;175,8) ^b	200,0 (130,0; 349,1) ^a	152,8 (120,0; 190,0)	
Количество	53	54	62	
Серотонин Ме (25 %; 75 %)	38,0 (31,0; 83,7) ^b	49,5 (31,4; 96,6) ^a	38,5 (19,8;42,0)	0,002

Примечание: а – $p < 0,05$ в сравнении с группой сравнения (ГС); б – $p < 0,05$ при сравнении групп ГЛИВС и ГЛССРС

Note: а – $p < 0.05$ compared with the comparison group (CG); б – $p < 0.05$ when comparing a group of people who used highly lethal methods of self-harm and a group of people who attempted suicide by various other methods

Таблица 2 – Взаимосвязь между уровнем депрессии и принадлежностью к группе

Table 2 – Correlation between the level of depression and belonging to a group

Депрессия \ группа	ГЛИВС	ГЛССРС	ГС
Количество	52	54	57
0–15	15,4 % ^a	50,0 % ^b	22,8 % ^a
16–25	40,4 %	29,6 %	43,9 %
26–30	21,2 %	16,7 %	21,1 %
более 30	23,1 % ^b	3,7 % ^a	12,3 %
Среднее значение	24,8 ^a	16,5 ^b	22,0 ^a
Значимость по χ^2		0,001	
Значимость ANOVA		0,000	

Примечание: а – $p < 0,05$ в сравнении с группой сравнения (ГС); б – $p < 0,05$ при сравнении групп ГЛИВС и ГЛССРС

Note: а – $p < 0.05$ compared with the comparison group (CG); б – $p < 0.05$ when comparing a group of people who used highly lethal methods of self-harm and a group of people who attempted suicide by various other methods

Как следует из таблицы 1, в ГЛИВС отмечался наименьший уровень серотонина и норадреналина по сравнению с ГЛССРС, по показателям серотонина и норадреналина ГЛИВС и ГС статистически значимо не различались, но в ГЛИВС отмечался наименьший уровень норадреналина. В ГС показатель содержания норадреналина в периферической крови был достоверно ниже, чем в группе ГЛССРС, однако выше, чем в группе ГЛИВС. Как указывалось ранее, показатель содержания серотонина в ГС статистически значимо не отличался от данного показателя в ГЛИВС. При этом уровень содержания серотонина в данных группах был ниже физиологической нормы (в группе ГЛИВС среднее значение – 38,0 нг/мл, при физиологической норме 50-220 нг/мл, в ГС – 38,5 нг/мл). По выраженности депрессии данные исследовательские группы также достоверно не различались между собой (ГС – 22 балла; ГЛИВС – 24,8 балла, ГЛССРС – 16,5 балла) (см. таблицу 2).

Однако в ГЛИВС преобладали лица с выраженным депрессивным расстройством (ГЛИВС – 23,1 %), в отличие от ГС (ГС – 12,3 %), где выраженность мотивации к совершению суицида не превышала 1 балла (0,82 балла). В группе ГЛССРС преобладали лица, у которых расстройства настроенности депрессивного спектра не были выявлены (у 50 % обследованных выраженность депрессии составила менее 15 баллов), в ГЛССРС только у 16,7 % исследуемых была выявлена депрессия умеренной степени выраженности и 3,7 % лиц с тяжелой депрессией.

Наибольший уровень серотонина и норадреналина в периферической крови отмечался в группе ГЛССРС, при этом выраженность мотивации к совершению суицида была ниже, чем в группе ГЛИВС (ГЛССРС – 4,87 балла.; ГЛИВС – 8,56 балла), но статистически значимо выше, чем в группе ГС (0,82 балла).

Таким образом, установлено, что для лиц, входящих в ГЛИВС, характерно наличие выраженной мо-

тивации к совершению суицида (более 8 баллов), что сочетается с наличием низкого содержания серотонина и норадреналина в периферической крови и выраженной депрессией (24,8 балла). В ГС, несмотря на выраженную депрессию (22 балла), отмечается отсутствие мотивации к совершению суицида (менее 1 балла), что сочетается с низкими показателями серотонина, но по сравнению ГЛИВС более высокими показателями содержания норадреналина в периферической крови. Для ГЛССРС характерно наличие наиболее высоких показателей серотонина и норадреналина, что сочетается с наименее выраженной депрессией и отсутствием выраженной мотивации к совершению суицида (4,87 балла), а также менее травматичными способами самоповреждения.

Заключение

Низкие показатели содержания серотонина и норадреналина в периферической крови могут свидетельствовать о риске совершения суицида в ситуации переживаемого психосоциального стресса при наличии мотивации к совершению суицида.

Список цитированных источников

1. Давидовский, С. В. Особенности суицидального поведения среди жителей г. Минска / С. В. Давидовский // Здоровоохранение. – 2016. – № 3. – С. 72–77.
2. Особенности суицидального поведения у жителей Минской области / С. В. Давидовский [и др.] // Здоровоохранение. – 2021. – № 4. – С. 5–11.
3. Краснова, П. Отражение проблем суицидов и суицидального поведения на 22-м Европейском конгрессе психиатров / П. Краснова, М. Денисенко // Вестник психиатрии и психологии Чувашии. – 2015. – № 1. – С. 112–126.
4. Studies of amine metabolites in depressed patients. Relationship to suicidal behavior / S. K. Secunda [et al.] // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 1986. Vol. 487. – P. 231–242. doi: 10.1111/j.1749-6632.1986.tb27902.x.
5. de Boer, T. The effects of mirtazapine on central noradrenergic and serotonergic neurotransmission / T. de Boer. // Int. Clin. Psychopharmacol. – 1995. – Vol. 10. – P. 19–23. doi: 10.1097/00004850-199512004-00004.
6. Blasco-Fontecilla, H. Biomarkers of Suicide: Predicting the Predictable? Understanding Suicide / H. Blasco-Fontecilla,

M. A. Oquendo. – 2016. – P. 77–83. doi:10.1007/978-3-319-26282-6_7.

7. Morphological changes in adrenals from victims of suicide in relation to altered apoptosis / H. S. Willenberg [et al.] // *Endocr. Res.* – 1998. – Vol. 24, № (3-4). P. :963–967. doi: 10.3109/07435809809032717.

References

- 1 Davidovski SV. Osobennost' suitsidal'nogo povedeniya zhitelei g. Minska [Features of suicidal behavior among residents of Minsk]. *Zdravoohraneniya. [Healthre]*. 2016; 3: 72-77. (in Russian)
- 2 Davidovski SV et al. Osobennosti suitsidal'nogo povedeniya u zhitelei Minskoi oblasti [Specific features of Minsk region residents' suicidal behavior]. *Zdravoohraneniya [Healthre]*. 2021; 4: 5-11. (in Russian)
- 3 Krasnova PV, Deniseko MM. Otrazhenie problem suitsidov i suitsidal'nogo povedeniya na 22-m Evropeiskom kongresse psikhiatrov [Reflection of suicide and suicidal behavior

- problems at 22nd European Congress of Psychiatrists] *Vestnik psikhiiatrii i psikhologii Chuvashii [The Bulletin of Chuvash Psychiatry and Psychology]*. 2015; 11(1): 112-126. (In Russian).
- 4 Secunda SK, Cross CK, Koslow S, Katz MM, Kocsis JH, Maas JW. Studies of amine metabolites in depressed patients. Relationship to suicidal behavior. *Ann N Y Acad Sci.* 1986;487:231-42. doi: 10.1111/j.1749-6632.1986.tb27902.x.
- 5 de Boer T. The effects of mirtazapine on central noradrenergic and serotonergic neurotransmission. *Int Clin Psychopharmacol.* 1995 Dec;10 Suppl 4:19-23. doi: 10.1097/00004850-199512004-00004.
- 6 Blasco-Fontecilla H, Oquendo MA. Biomarkers of Suicide: Predicting the Predictable? *Understanding Suicide*, 2016; 77–83. doi:10.1007/978-3-319-26282-6_7.
- 7 Willenberg HS, Bornstein SR, Dumser T, Ehrhart-Bornstein M, Barocka A, Chrousos GP, Scherbaum WA. Morphological changes in adrenals from victims of suicide in relation to altered apoptosis. *Endocr Res.* 1998 Aug-Nov;24(3-4):963-7. doi: 10.3109/07435809809032717.

FEATURES OF SUICIDAL BEHAVIOR AND ITS CORRELATION WITH SEROTONIN AND NORADRENALINE CONTENTS IN BLOOD SERUM

S. V. Davidovsky¹, Zh. A. Ibragimova², A. V. Goncharik², L.V. Kartun², N. N. Leonov³, A. V. Baikova¹

¹Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

³Institute of Sociology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Introduction. Features of suicidal behavior were analyzed in terms of the content of serotonin and noradrenaline in the blood serum. Laboratory blood testing is one of the most promising methods for determining biomarkers of suicidal risk because some neurotransmitters and neuropeptides, such as norepinephrine and serotonin, can penetrate the blood-brain barrier.

Objective – to identify the relationship between the content of norepinephrine and serotonin in peripheral blood and the severity of suicidal activity

Materials and methods. 3 groups were formed: persons who used highly lethal methods of self-harm (PUHMS); persons who have made a suicidal attempt in various other ways (PSA); persons who have experienced psychosocial stress and have not previously committed suicide attempts (comparison group, GS).

The determination of the content of serotonin and norepinephrine in blood plasma was carried out by enzyme immunoassay on a Stat Fax 2100 spectrophotometer.

The severity of depression was assessed using the Montgomery-Asberg scale, the motivation to commit suicide was assessed using an analog scale.

Results. The highest level of serotonin and noradrenaline was observed in the PSA, in half in this group (50 %), depression was not determined, the severity of motivation was statistically significantly lower than in the PUHMS, but higher than in the GS, where the level of noradrenaline in peripheral blood was significantly higher than in PUHMS. The lowest level of norepinephrine was noted in the GLIVS, where the level of serotonin was on the border of the physiological norm (mean value - 60.4 ng/ml, physiological norm of 50-220 ng/ml). In the GS, the level of serotonin was below the physiological norm (36 ng / ml), and the severity of depression corresponded to the indicators of PUHMS, however, in PUHMS, persons with severe depressive disorder predominated (PUHMS -23.1 %; GS-12.3 %).

Conclusions. Low levels of serotonin and norepinephrine in peripheral blood may indicate the risk of committing suicide.

Keywords: serotonin, norepinephrine, the motivation, suicidal attempt, depression.

For citation: Davidovsky SV, Ibragimova ZhA, Goncharik AV, Kartun LV, Leonov NN, Baikova AV. Features of suicidal behavior and its correlation with serotonin and noradrenaline contents in blood serum. *Biochemistry and Molecular Biology.* 2023, vol. 2, no. 2(3). pp. 28–31 (in Russian).

Поступила 09.11.2022

IN SILICO ПОИСК ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ХОЛЕСТЕРИНА И КУМАРИНА ЧЕРЕЗ СВЯЗЫВАНИЕ С БЕЛКАМИ БАКТЕРИЙ РОДА PSEUDOMONAS

Я. В. Фалетров^{1,2}, В. В. Савич³, А. В. Сидоренко³, Н. В. Логинова¹, В. М. Шкуматов^{1,2}

¹ Химический факультет, БГУ, Минск, Республика Беларусь

² Учреждение БГУ «Научно-исследовательский институт
физико-химических проблем», Минск, Республика Беларусь

³ Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Введение. Понимание молекулярных механизмов взаимодействия типа патоген-хозяин (ВПХ) между бактериями и эукариотическими клетками млекопитающих или растений может способствовать разработке новых средств борьбы с инфекционными заболеваниями млекопитающих и средств защиты растений. Исследования взаимодействий индивидуальных химических компонентов клеток эукариот с клетками бактерий является начальной модельной системой для изучения ВПХ. В данном исследовании среди таких компонентов мы исследовали *in silico* холестерин (перманентный компонент мембран клеток многих эукариот) и кумарин 4-метилумбеллиферон (4МУ, структурный аналог кумаринов – метаболитов растений).

Цель исследования. На уровне *in silico* используя компьютерный белок-лигандный докинг выявить общие белки-мишени для холестерина и 4МУ среди протеинов бактерий рода *Pseudomonas* и проанализировать полученные результаты исходя из данных научной литературы о возможном влиянии этих веществ на биологические функции псевдомонад.

Материалы и методы. В работе использовали программное обеспечение Autodock Vina и программу-помощник FyTdock, а также 2100 файлов трехмерных структур белков *Pseudomonas aeruginosa* из базы данных PDB (более 90 % для этой бактерии). Величины энергии связывания (Есв, ккал/моль) рассчитывались Autodock Vina автоматически.

Результаты. Наиболее аффинные взаимодействия холестерин показал для структур белка системы чувства кворума (ЧК) LasR (PDB 3JPU, 6D6C, 6D6B, 6D6D, 6D6O, 3IX4, 3IX8; Есв = -11,7 - -10,7) и фермента биосинтеза липида A LpxC (PDB 7C19, 7DEN, 6CAX, 7DEM; Есв = -10,8 - -10,3). Интересно, что аффинные взаимодействия 4МУ тоже выявлены для структур LasR (6D6M, 6D6P, 4NG2, 6D6N, 6D6O, 6D6D, 6D6L, 3IX4, 6D6A, 6D6B, 6D6C, 3IX8, 3JPU; Есв = -9,0 - -8,2) и LpxC (4J3D, 7K99, 7K9A, 4FW4, 4FW6; Есв = -8,4 - -8,2).

Заключение. Согласно нашим сведениям, впервые на уровне *in silico* выявлены белок системы ЧК псевдомонад LasR и белок системы биосинтеза липида A LpxC как общие молекулярные мишени холестерина и кумарина.

Ключевые слова: *Pseudomonas*, холестерин, кумарин, докинг, чувство кворума.

Для цитирования: *In silico* поиск взаимодействий холестерина и кумарина через связывание с белками бактерий рода *pseudomonas* / Я. В. Фалетров [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2023. – Т. 2, № 2(3). – С. 32–37.

Введение

Псевдомонады являются граммотрицательными бактериями, включающими в т.ч. штаммы *P. aeruginosa*, которые могут быть условно-патогенными микроорганизмами человека [1]. Аналогично некоторые псевдомонады могут заражать и повреждать крупный рогатый скот [2] и растения (например, *P. syringae* [3]). С другой стороны, некоторые штаммы псевдомонад обладают свойствами защитников растений, функционируя как симбионты или патогены для насекомых [4, 5]. У *Pseudomonas aeruginosa* есть системы чувства кворума (QS, ЧК). Белки LasR и LasI входят в N-ацилгомосеринлактон (AHL)-зависимую систему, играющую необходи-

мую роль в производстве факторов вирулентности и формировании биопленок [6].

Проблема роста устойчивости к антибиотикам стимулирует ученых к поиску новых мишеней для потенциальных антибактериальных лекарств. Одной из таких мишеней являются системы ЧК, позволяющие бактериальным патогенам реализовывать стратегию «крепости» против «толпы», чтобы лучше выживать в условиях организма-хозяина. На молекулярном уровне системы ЧК реализуют реакцию на экзогенные по отношению к бактериям соединения организма-хозяина, изменяя метаболизм, биосинтез и секрецию ряда веществ и т.п.

Известная способность бактерий рода *Pseudomonas* секретировать холестерин эстеразу [7], холестерин оксидазы и другие ферменты окислительной модификации стероидов [8, 9] создает предпосылки активного участия стеролов в ВПХ. Аналогично сообщения о регуляции ЧК бактерий кумарином [10], аналогом метаболитов растений [11], указывают на его активное участие во взаимодействиях типа патоген-хозяин (ВПХ).

Цель исследования – на уровне *in silico* используя компьютерный белок-лигандный докинг выявить наиболее аффинные взаимодействия холестерина и кумарина с белками бактерий рода *Pseudomonas* и проанализировать полученные результаты в свете литературных данных.

Материалы и методы

Докинг проводили с использованием программы Autodock Vina [11]; процесс докинга в режиме обратного виртуального скрининга и анализ результатов проводили при помощи программы-помощника FyTdock [12]. Файлы трехмерных структур белков *Pseudomonas aeruginosa* были взяты из базы данных PDB в количестве 2100 файлов (более 90 % для этой бактерии). Из данных файлов были взяты координаты атомов, которые относятся к цепи А, что будет отражено в суффиксе «сА» при указании кода PDB. Оценивали параметр аффинности – автоматически-рассчитываемую Autodock Vina энергию связывания (Есв); при помощи FyTdock генерировалась информация об аминокислотном окружении (в таблицах указываются

только 16 остатков или меньше) и удельной энергии связывания (Еуд), которая рассчитывалась путем деления Есв на число атомов в файле «pdbqt» структуры лиганда и умножения полученного числа на 1000. Табулировали только интеракции, характеризующиеся Еуд более 340. Структуры холестерина (Chol) и 4-метилумбеллиферона (Cum) были получены с использованием программы Avogadro [13].

Результаты

Полученные результаты моделирования взаимодействий холестерина с белками выявили, что наиболее аффинные взаимодействия ожидаются с белками LASR (ДНК-связывающийся белок, активатор транскрипции), LpxC (цинксодержащая уридиндифосфат-(3-О-(R-3-гидроксимиристоил))-N-ацетилглюкозамин деацетилаза) и FPVA (рецептор феррипиовердина, располагающийся на внешней мембране грамм-отрицательных псевдомонад). Количественные значения и аминокислотное окружение рассчитанных комплексов приведены в таблицах 1 и 2.

Аналогично, для структуры 4-метилумбеллиферона также выявлены аффинные взаимодействия с белками LASR, PHZD (транс-2,3-дигидро-3-гидроксиантралилат синтаза или изохоризматаза) и PBGS (порфобилилиноген синтазой), что отражено в таблице 3.

Из данных в таблицах 1–3 следует, что как холестерин, так и 4-метилумбеллиферон способны связываться с белком LASR. Этот белок является клю-

Таблица 1 – рассчитанные параметры *in silico* связывания холестерина со структурами белка LASR бактерии *P. aeruginosa*

Table 1 – computed parameters *in silico* of cholesterol binding to the structure of the LASR protein of *P. aeruginosa*

PDB	Белок	Есв	Еуд	Аминокислотное окружение в пределах 0,4 нм
3JPU	LASR	-11,7	-403	Tyr64, Ser129, Asp73, Leu36, Thr75, Tyr56, Tyr93, Phe101, Trp88, Thr115, Ala105, Leu110, Trp60, Gly38, Ile52, Val76, Ala127, tyr47, Cys79, Gly126, Thr80, Leu125
6D6C	LASR	-11,2	-386	Tyr64, Asp73, Ser129, Leu36, Thr75, Tyr56, Trp60, Tyr93, Phe101, Trp88, Thr115, Ala105, Gly38, Tyr47, Ala127, Val76, Cys79, Gly126, Leu125
6D6B	LASR	-11,1	-383	Leu36, Tyr64, Asp73, Ser129, Thr75, Tyr56, Trp60, Tyr93, Phe101, Trp88, Thr115, Ala105, Gly38, Ala127, Tyr47, Val76, Gly126, Cys79, Leu125, Leu110
6D6D	LASR	-11,1	-383	Leu36, Tyr64, Ser129, Asp73, Thr75, Tyr56, Trp60, Tyr93, Phe101, Trp88, Thr115, Ala105, Ile52, Tyr47, Ala127, Gly38, Gly126, Leu125, Leu39, Leu40, Ala50, Leu110
6D6O	LASR	-10,9	-376	Tyr47, Ile52, Gly38, Ala127, Leu36, Tyr56, Trp60, Tyr64, Phe101, Ser129, Asp73, Gly126, Leu39, Leu40, Leu125, Val76, Cys79, Thr80
3IX4	LASR	-10,7	-369	Leu36, Tyr64, Ser129, Asp73, Thr75, Tyr56, Trp60, Tyr93, Phe101, Trp88, Thr115, Ala105, Gly38, Tyr47, Val76, Ala127, Gly126, Cys79, Leu125, Leu110
3IX8	LASR	-10,7	-369	Leu36, Asp73, Ser129, Tyr64, Thr75, Val76, Tyr56, Tyr93, Phe101, Ala105, Trp88, Thr115, Leu110, Trp60, Gly38, Ile52, Gly126, Ala127, Cys79, Leu125, Tyr47
6D6N	LASR	-10,6	-366	Tyr47, Ile52, Gly38, Ala127, Leu36, Tyr56, Trp60, Tyr64, Phe101, Ser129, Asp73, Thr75, Gly126, Leu39, Leu40, Leu125, Val76, Thr80, Cys79, Ala105
6D6M	LASR	-10,2	-352	Tyr47, Ile52, Leu36, Gly38, Tyr56, Trp60, Asp73, Phe101, Tyr64, Ser129, Trp88, Thr115, Thr75, Leu39, Leu40, Gly126, Val76, Cys79, Thr80, Leu125
6D6P	LASR	-10,1	-348	ser129, tyr64, leu36, asp73, thr75, phe101, tyr56, trp88, thr115, trp60, gly38, tyr47, val76, gly126, ala127, leu125, cys79, leu40, ala105, leu110

Таблица 2 – рассчитанные параметры *in silico* связывания холестерина со структурами белка LpxC и FPVA бактерии *P. aeruginosa*

Table 2 – computed parameters *in silico* of cholesterol binding to the structure of the LpxC and FPVA protein of *P. aeruginosa*

PDB	Белок	Есв	Еуд	Аминокислотное окружение в пределах 0,4 нм
7CI9	LpxC	-10,8	-372	phe152, phe176, ala84, gly85, gly87, tyr296, phe181, ser295, met297, thr179, ser252, tyr247, leu253, leu246, ile243, asn251
7DEN	LpxC	-10,5	-362	tyr296, ala84, phe152, phe176, gly85, ser295, ile294, thr179, phe181, met297, ser252, leu253, leu246, ile243, tyr247, asn251
6XCA	LpxC	-10,4	-359	phe152, phe176, gly85, ala84, tyr296, ile294, phe181, ser295, met297, ser180, val182, leu253, ser252, ile243, leu246, tyr247, asn251
7DEM	LpxC	-10,3	-355	tyr296, phe152, phe176, gly85, ala84, phe181, ser295, met297, thr179, val182, ser252, leu253, tyr247, ile243, leu246, asn251
3U1Y	LpxC	-10,1	-348	tyr296, ile294, phe152, phe176, ala84, gly85, ser295, ser180, phe181, met297, thr179, val182, ser252, leu253, tyr247, ile243, leu246, asn251
4FW3	LpxC	-10,1	-348	phe152, phe176, ala84, gly85, tyr296, ile294, phe181, ser295, met297, ser180, leu253, ser252, ile243, leu246, tyr247, asn251
5VWM	LpxC	-10,1	-348	phe152, phe176, gly85, ala84, tyr296, ile294, phe181, ser295, met297, val182, ser180, ser252, leu253, tyr247, ile243, leu246, asn251
6MAE	LpxC	-10,1	-348	phe152, phe176, ala84, gly85, tyr296, phe181, ser295, met297, val182, ser252, leu253, tyr247, ile243, leu246, asn251
2W16	FPVA	-10,4	-359	trp391, leu427, trp362, tyr448, trp485, ser489, gln520, ile522, tyr423, asp201, phe795, tyr200, val229
2W78	FPVA	-10,4	-359	trp391, leu427, tyr448, trp485, ser489, gln520, ile522, trp362, asp201, phe795, tyr200, arg204, val229
2O5P	FPVA	-10,3	-355	trp391, leu427, trp362, tyr448, trp485, gln520, ser489, ile522, tyr423, asp201, phe795, tyr200, arg204, val229
2W6U	FPVA	-10,2	-352	trp391, leu427, trp362, tyr448, trp485, ile522, ser489, gln520, asp201, phe795, tyr200, val229
2W76	FPVA	-10,2	-352	trp391, leu427, trp362, tyr448, trp485, ser489, gln520, ile522, asp201, phe795, tyr200, val229
2W77	FPVA	-10,1	-348	trp391, leu427, trp362, tyr448, trp485, gln520, ser489, ile522, tyr423, asp201, phe795, tyr200, arg204, val229

Таблица 3 – Рассчитанные параметры *in silico* связывания 4-метилумбеллиферона с белками бактерии *P. aeruginosa*

Table 3 – Computed parameters *in silico* of 4-methylumbelliferone binding to the structures of proteins of *P. aeruginosa*

PDB	Белок	Есв	Еуд	Аминокислотное окружение в пределах 0,4 нм
1NF8cA	PHZD	-9,4	-671	gln78, arg87, lys122, arg124, tyr125, phe43, trp94, ile4, ser2, tyr42, tyr151, val154, gly97, met98
6D6McA	LASR	-9	-643	trp88, tyr93, phe101, ala105, leu110, tyr56, trp60, thr115, ser129, asp73, thr75
2C13cA	PBGS	-8,7	-621	tyr211, tyr202, pro261, tyr283, val285, phe214, arg215, lys229, gln233, ser286, tyr324, asp139, asp131
6D6PcA	LASR	-8,7	-621	trp88, phe101, phe102, ala105, leu110, trp60, tyr56, asp73, ser129, thr75, thr115
4NG2cA	LASR	-8,6	-614	asp73, thr75, trp88, thr115, ser129, tyr64, tyr56, trp60, leu110, phe101, ala105, tyr93, leu36, arg61
6D6NcA	LASR	-8,6	-614	trp88, phe101, phe102, ala105, leu110, trp60, tyr56, thr75, ser129, asp73, thr115
6D6OcA	LASR	-8,6	-614	tyr56, asp73, thr75, trp88, thr115, ser129, trp60, phe101, phe102, leu110, ile92, glu89
2C15cA	PBGS	-8,5	-607	ser175, lys205, phe86, tyr202, asp127, tyr283, phe214, tyr211, arg215, lys229, asp131, tyr324, ser220
4DG9cA	NRPS	-8,4	-600	gly283, asp284, gly306, tyr307, gly308, lys421, ile285, phe412, leu286, asn305, ile333
4J3DcA	LpxC	-8,4	-600	ile294, tyr296, ala84, ser252, leu253, phe152, gly85, phe176, phe181, ser295, ile243
6D6DcA	LASR	-8,4	-600	tyr56, asp73, thr75, thr115, ser129, tyr64, trp60, phe101, ala105, trp88, leu36, tyr93
6D6LcA	LASR	-8,4	-600	asp73, thr75, trp88, phe101, phe102, ala105, trp60, tyr56, ser129, thr115, leu110
1NF9cA	PHZD	-8,3	-593	gln78, arg87, tyr125, leu90, arg124, phe43, trp94, ser2, ile4, tyr151, val154, tyr42, gly97, met98
3IX4cA	LASR	-8,3	-593	tyr56, asp73, thr75, thr115, ser129, tyr64, trp60, phe101, ala105, trp88, tyr93, leu36

чевым регулятором транскрипции системы ЧК, который в случае присоединения к нему 3-оксо-додеканойл гомосеринлактона (3-OD-HSL), активирует вирулентность-ассоциированные гены *LasI* (ген фермента синтеза 3-OD-HSL), щелочной фосфатазы (*arg*), экзотоксина A и *rhlI* and *rhlR*. Белки генов *rhlI* и *rhlR* в свою очередь активируют продукцию ассоциированных с вирулентностью пигмента пиоцианина и рамнолипида [14]. Отметим, что для сравнения результатов докинга разных лигандов проведен расчет Еуд, который позволяет провести дополнительную оценку аффинности связывания лигандов с различным числом атомов, позволяя оценить, насколько эффективно каждый атом вносит в среднем вклад во взаимодействие с белком *in silico*. Во взятых для расчета PDB-структурах белка LpxC (например, с кодами PDB 7C19, 4J3D) сайт связывания ингибиторов формирует «карман» из остатков аминокислот *glu77, thr190, phe191, phe193, asp196, ile197, arg201, gly209, Ser210, Val211, val216, his237, lys238* и двух ионов цинка, указывая на их связывание вблизи каталитического центра этого фермента, тогда как рассчитанное *in silico* вероятное расположение холестерина относится к другому, более компактному «карману» на расстоянии примерно 2 нм от каталитического центра, сформированного остатками *ala84, gly85, gly87, phe181, phe152, phe176, Ile243,*

leu246, tyr247, leu253, Ile294, Ser295, tyr296, met297 (таблицы 2). Так, показана способность холестерина связываться в аллостерическом гидрофобном «кармане» фермента LpxC.

Аналогично, сайт связывания известных ингибиторов фактора активации транскрипции *LasR* согласно данным PDB-файлов структур белок-лигандных комплексов (например, с кодами PDB 6D6N и 3JPU) формируется следующими остатками: *leu36, tyr47, ala50, ile52, tyr56, trp60, tyr64, asp73, thr75, val76, trp88, ala100, phe101, ala127*. Рассчитанные положения холестерина подразумевают связывание в перекрывающихся сайтах судя по наличию в соответствующих аминокислотных окружениях (таблица 1) остатков *leu36, tyr47, tyr56, trp60, tyr64, asp73, thr75, val76, trp88, phe101, thr115, ala105, leu125, gly126, ala127, ser129*.

Заключение

Таким образом, *in silico* показана возможность связывания холестерина и кумарина с одним и тем же белком системы ЧК бактерии *P. aeruginosa*, что может создавать интересное взаимодействие либо при поражении этими микроорганизмами растений, синтезирующих кумарины, либо использования 4-метилумбеллиферона в качестве лекарства у человека-носителя псевдомонадной инфекции.

Благодарности

Работа проведена при поддержке гранта БРФ-ФИ X21-131, № гос. регистрации 20213306.

Acknowledgements

The work was supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research X21-131, № state registration 20213306.

Список цитированных источников

1. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics / S. Qin [et al.] // Signal Transduction and Targeted Therapy. – 2022. – Vol. 7. – P. 199. doi: 10.1038/s41392-022-01056-1.
2. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* originating from farm animals and people in Egypt / E. A. Elshafiee [et al.] // J. Vet. Res. – 2019. – Vol. 63. – P. 333–337. doi: 10.2478/jvetres-2019-0049.
3. Xin, X.-F. *Pseudomonas syringae*: what it takes to be a pathogen / X.-F. Xin, B. Kvitko, S. Y. He // Nat. Rev. Microbiol. – 2018. – Vol. 16. – P. 316–328. doi: 10.1038/nrmicro.2018.17. doi: 10.1038/nrmicro.2018.17.
4. Commensal *Pseudomonas* strains facilitate protective response against pathogens in the host plant / Or. Shalev [et al.] // Nat. Ecol. Evol. – 2022. – Vol. 6. – P. 383–396. doi: 10.1038/s41559-022-01673-7.
5. Not just a pathogen? Description of a plant-beneficial *pseudomonas syringae* strain / A. Passera [et al.] // Front. Microbiol. – 2019. – Vol. 10. – P. 1410. doi: 10.3389/fmicb.2019.01409.
6. Design, synthesis, and biological evaluation of N-acyl-homoserine lactone analogs of quorum sensing in *Pseudomonas*

- aeruginosa* / Z. Wei [et al.] // Front. Chem. – 2022. – Vol. 10. – ID 948687. doi: 10.3389/fchem.2022.948687.
7. Purification and characterization of a novel cholesterol esterase from *Pseudomonas aeruginosa*, with its application to cleaning lipid-stained contact Lenses / A. Sugihara [et al.] // Biosci. Biotechnol. Biochem. – 2002. – Vol. 66. – P. 2347–2355. doi: 10.1271/bbb.66.2347.
8. Owen R. W. The degradation of β -sitosterol by *pseudomonas* sp. NCIB 10590 under aerobic conditions / R. W. Owen, A. N. Mason, R. F. Bilton // J. Steroid Biochem. – 1985. – Vol. 23. – P. 327–332. doi: 10.1016/0022-4731(85)90412-1.
9. Doukyu, N., Nihei, S. Cholesterol oxidase with high catalytic activity from *Pseudomonas aeruginosa*: Screening, molecular genetic analysis, expression and characterization / N. Doukyu, S. Nihei // J. Biosci. Bioeng. – 2015. – Vol. 120. – P. 24–30. doi: 10.1016/j.jbiosc.2014.12.003.
10. Natural coumarins: exploring the pharmacological complexity and underlying molecular mechanisms / J. Sharifi-Rad [et al.] // Oxidat. Med. Cell. Longev. – 2021. – Vol. 2021. – ID 6492346. doi: 10.1155/2021/6492346.
11. Trott, O., Olson, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading / O. Trott, A. J. Olson // J. Comput. Chem. – 2010. – Vol. 31. – P. 455–461. doi: 10.1002/jcc.21334.

12. Application of docking-based inverse high throughput virtual screening to found phytochemical covalent inhibitors of SARS-CoV-2 main protease, NSP12 and NSP16 / Y. V. Faletrov [et al.] // *Research Square*. – 2022. – P. 1–20. doi: 10.21203/rs.3.rs-1456627/v1
13. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform / M. D. Hanwell [et al.] // *J. Cheminform.* – 2012. – Vol. 4. – P. 17. doi: 10.1186/1758-2946-4-17.
14. *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing response in the absence of functional LasR and LasI proteins: the case of strain 148, a virulent dolphin isolate / E. Morales [et al.] // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2017. – Vol. 364. doi: 10.1093/femsle/fnx119.
15. Naringenin Inhibition of the *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing Response Is Based on Its Time-Dependent Competition With N-(3-Oxo-dodecanoyl)-L-homoserine Lactone for LasR Binding / S. Hernando-Amado [et al.] // *Front. Mol. Biosci.* – 2020. – Vol. 7. – P. 25. doi: 10.3389/fmolb.2020.00025.
- 7 Sugihara A, Shimada Y, Nomura A, Terai T, Imayasu M, Nagai Y, Nagao T, Watanabe Y, Tominaga Y. Purification and characterization of a novel cholesterol esterase from *Pseudomonas aeruginosa*, with its application to cleaning lipid-stained contact lenses. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2002 Nov; 66(11):2347-55. doi: 10.1271/bbb.66.2347.
- 8 Owen RW, Mason AN, Bilton RF. The degradation of beta-sitosterol by *Pseudomonas sp.* NCIB 10590 under aerobic conditions. *J Steroid Biochem.* 1985 Sep;23(3):327-32. doi: 10.1016/0022-4731(85)90412-1.
- 9 Doukyu N, Nihei S. Cholesterol oxidase with high catalytic activity from *Pseudomonas aeruginosa*: Screening, molecular genetic analysis, expression and characterization. *J Biosci Bioeng.* 2015 Jul;120(1):24-30. doi: 10.1016/j.jbiosc.2014.12.003.
- 10 Sharifi-Rad J, Cruz-Martins N, López-Jornet P, Lopez EP, Harun N, Yeskaliyeva B, Beyatli A, Sytar O, Shaheen S, Sharopov F, Taheri Y, Docea AO, Calina D, Cho WC. Natural Coumarins: Exploring the Pharmacological Complexity and Underlying Molecular Mechanisms. *Oxid Med Cell Longev.* 2021 Aug 23;2021:6492346. doi: 10.1155/2021/6492346.

References

- 1 Qin S, Xiao W, Zhou C, Pu Q, Deng X, Lan L, Liang H, Song X, Wu M. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal Transduct Target Ther.* 2022 Jun 25;7(1):199. doi: 10.1038/s41392-022-01056-1.
- 2 Elshafiee EA, Nader SM, Dorgham SM, Hamza DA. Carbapenem-resistant *Pseudomonas Aeruginosa* Originating from Farm Animals and People in Egypt. *J Vet Res.* 2019 Sep 13;63(3):333-337. doi: 10.2478/jvetres-2019-0049.
- 3 Xin XF, Kvitko B, He SY. *Pseudomonas syringae*: what it takes to be a pathogen. *Nat Rev Microbiol.* 2018 May;16(5):316-328. doi: 10.1038/nrmicro.2018.17.
- 4 Shalev O, Karasov TL, Lundberg DS, Ashkenazy H, Pramoj Na Ayutthaya P, Weigel D. Commensal *Pseudomonas* strains facilitate protective response against pathogens in the host plant. *Nat Ecol Evol.* 2022 Apr;6(4):383-396. doi: 10.1038/s41559-022-01673-7.
- 5 Passera A, Compant S, Casati P, Maturo MG, Battelli G, Quaglino F, Antonielli L, Salerno D, Brasca M, Toffolatti SL, Mantegazza F, Delledonne M, Mitter B. Not Just a Pathogen? Description of a Plant-Beneficial *Pseudomonas syringae* Strain. *Front Microbiol.* 2019 Jun 21;10:1409. doi: 10.3389/fmicb.2019.01409.
- 6 Wei Z, Li T, Gu Y, Zhang Q, Wang E, Li W, Wang X, Li Y, Li H. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of N-Acyl-Homoserine Lactone Analogs of Quorum Sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Chem.* 2022 Jul 8;10:948687. doi: 10.3389/fchem.2022.948687.
- 11 Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem.* 2010 Jan 30;31(2):455-61. doi: 10.1002/jcc.21334.
- 12 Faletrov YV, Staravoitava VA, Dudko AR, Shkumatov VM. Application of docking-based inverse high throughput virtual screening to found phytochemical covalent inhibitors of SARS-CoV-2 main protease, NSP12 and NSP16. *Research Square.* 2022:1-20. doi: 10.21203/rs.3.rs-1456627/v1
- 13 Hanwell MD, Curtis DE, Lonie DC, Vandermeersch T, Zurek E, Hutchison GR. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *J Cheminform.* 2012 Aug 13;4(1):17. doi: 10.1186/1758-2946-4-17.
- 14 Morales E, González-Valdez A, Servín-González L, Soberón-Chávez G. *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing response in the absence of functional LasR and LasI proteins: the case of strain 148, a virulent dolphin isolate. *FEMS Microbiol Lett.* 2017 Jul 3;364(12). doi: 10.1093/femsle/fnx119.
- 15 Hernando-Amado S, Alcalde-Rico M, Gil-Gil T, Valverde JR, Martínez JL. Naringenin Inhibition of the *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing Response Is Based on Its Time-Dependent Competition With N-(3-Oxo-dodecanoyl)-L-homoserine Lactone for LasR Binding. *Front Mol Biosci.* 2020 Feb 28;7:25. doi: 10.3389/fmolb.2020.00025.

IN SILICO SEARCH FOR NEW INTERACTIONS OF CHOLESTEROL AND COUMARIN WITH PROTEINS OF PSEUDOMONAS BACTERIA

Ya. V. Faletrov^{1,2}, V. V. Savich³, A. V. Sidorenko³, N. V. Loginova¹, V. M. Shkumatov^{1,2}

¹ Faculty of Chemistry, Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus,

² Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus,

³ The Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Introduction. Understanding the molecular mechanisms of pathogen-host interaction (HPC) between bacteria and mammalian or plant eukaryotic cells may lead to the development of new agents for combating infectious diseases in mammals and plant protection products. The study of the interactions of individual chemical components of eukaryotic cells with bacterial cells is the initial model system for the study of CVH. In this study, among such components, we investigated *in silico* cholesterol (a permanent component of cell membranes of many eukaryotes) and coumarin 4-methylumbelliferone (4MU, a structural analogue of coumarins, plant metabolites).

Purpose of the study. At the *in silico* level, using computer protein-ligand docking, to identify common target proteins for cholesterol and 4MU among proteins of bacteria of the genus *Pseudomonas* and analyze the results based on scientific literature data on the possible effect of these substances on the biological functions of *Pseudomonas*.

Materials and methods. We used the Autodock Vina software and the FYTdock assistant program, as well as 2100 files of three-dimensional structures of *Pseudomonas aeruginosa* proteins from the PDB database (more than 90 % for this bacterium). Binding energies (Eb, kcal/mol) were automatically calculated by Autodock Vina.

Results. Cholesterol showed the highest affinity interactions for the structures of the protein of the quorum sensing (CK) system LasR (PDB 3JPU, 6D6C, 6D6B, 6D6D, 6D6O, 3IX4, 3IX8; Eb = -11.7 - -10.7) and the lipid A biosynthesis enzyme LpxC (PDB 7CI9, 7DEN, 6CAX, 7DEM; Eb = -10.8 - -10.3). Interestingly, 4MU affinity interactions were also found for structures LasR (6D6M, 6D6P, 4NG2, 6D6N, 6D6O, 6D6D, 6D6L, 3IX4, 6D6A, 6D6B, 6D6C, 3IX8, 3JPU; Eb = -9.0 - -8.2) and LpxC (4J3D, 7K99, 7K9A, 4FW4, 4FW6; Eb = -8.4 - -8.2).

Conclusion. According to our information, for the first time at the *in silico* level, the proteins of the *Pseudomonas* HK system LasR and the lipid A biosynthesis system LpxC were identified as common molecular targets of cholesterol and coumarin.

Keywords: *Pseudomonas*, cholesterol, coumarin, docking, quorum sensing.

For citation: Faletrov YaV, Savich VV, Sidorenko AV, Loginova NV, Shkumatov VM. *In silico* search for new interactions of cholesterol and coumarin with proteins of *pseudomonas* bacteria. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2023, vol. 2, no. 2(3). pp. 32–37 (in Russian).

Поступила 24.05.2023

HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL STATUS IN NORM AND WITH LPS-INDUCED GENERAL INFLAMMATION

A. G. Sysa¹, E. I. Kvasyuk¹, A. Shihad^{1,2}, M. S. Hassan²

¹ Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

² University of Al-Qhadisayh, College of Veterinary Medicine, Al Diwaniyah, Iraq

Background. The widespread use of antibiotics has led to the emergence and rapid spread of resistance in microorganisms. Potential antibacterial activity is postulated for modified nucleosides and nucleotides. Along with studying the mechanisms of the antibacterial action of modified nucleosides and nucleotides, it is important to take into account the systemic reactions of the host organism to the introduction of these compounds.

Objective. To characterize changes in diagnostically significant hematological and biochemical blood parameters during systemic inflammation caused by *E. coli* lipopolysaccharide administration to rats and its modulation by modified nucleosides/nucleotides in a model experiment on laboratory animals.

Material and Methods. The study was performed on Wistar male rats. Animals were immunized with *E. coli* lipopolysaccharide intraperitoneally, then 7 days later they were injected with modified nucleotides and nucleosides. The hematological and biochemical status of rats was assessed.

Results. Seven modified nucleosides and nucleotides have been synthesized: fludarabine, fludarabine phosphate, 2-NH₂-6-Cl-araPur, ara-C, TTU, cCMP, and ara-CMP. Tests were carried out on laboratory animals with an experimental systemic inflammatory process.

Conclusions. Studied nucleosides and nucleotides increase the severity of nephrotic and hepatobiliary syndromes of the inflammatory process. The cCMP and ara-CMP nucleotides, as well as the TTU nucleoside, had the most pronounced effects.

Keywords: modified nucleosides, endotoxin, anemia, hepatobiliary system, inflammation.

For citation: Sysa AG, Kvasyuk EI, Shihad A, Hassan MS. Hematological and biochemical status in norm and with lps-induced general inflammation. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2023, vol. 2, no. 2(3). pp. 38–42.

Introduction

Bacterial resistance to one or more antibiotics is becoming a growing concern. Therefore, it is essential to create new types of antibacterial drugs that might be applied to the treatment of bacterial diseases. This is crucial for treating serious infections, which kills over a million people a year and is exhibiting worrying signs of developing antibiotic resistance [1].

One of the little-studied classes of compounds with potential antibacterial activity are derivatives of nucleic acid components: nucleosides, nucleotides, as well as their modified analogues. Nucleotides and nucleosides, being the main structural units of DNA and RNA, participate in protein biosynthesis, act as cofactors of many biochemical processes, regulate the activity of enzymes of nucleotide metabolism. In this regard, even small modifications of the nucleic base or sugar fragment of the nucleoside can have a significant impact on the recognition and inhibition of the respective enzymes, and thus on its activity as an antipathogen. Nucleic acid analogs and derivatives are currently important elements of anticancer, and antiviral therapy [2, 3]. In addition to being effective against viral and cancer infections, natural nucleosides analogs have recently been found to be effective against the development of *M. tuberculosis* [4], albeit the molecular targets are still completely unknown.

Additionally, purine analogs have been demonstrated to stop *Escherichia coli* growth [5].

At the same time, among the representatives of modified nucleosides antibacterial activity was discovered only recently [6], and this area is actively developing [7].

Therefore, the search for new compounds with potential antibacterial activity in a series of modified nucleosides and nucleotides is of fundamental and practical importance.

Objective – to characterize changes in diagnostically significant hematological and biochemical blood parameters during systemic inflammation caused by *Escherichia coli* lipopolysaccharide administration to rats and its modulation by modified nucleosides/nucleotides in a model experiment on laboratory animals.

Material and Methods

The modified nucleosides and nucleotides of the purine and pyrimidine series studied in the work were synthesized as described [8]. Purine nucleoside analogs are represented by compounds halogenated at the nitrogenous base, 2-fluoro-arabinofuranosyladenine (fludarabine) and 2-amino-6-chloro-arabinofuranosylpurine (2-NH₂-6-Cl-araPur). Pyrimidine nucleosides are represented by sugar-modified arabinofura-

nosylcytosine (cytarabine, ara-C), which contains arabinose instead of ribose, and [1-(2',3',5'-tri-O-acetyl- β -D-ribofuranosyl)-4-(1,2,4-triazol-1-yl)]uracil (TTU), which is modified at the carbohydrate fragment (three acetate groups) and the nitrogenous base (triazole in the 4th position) (Figure 1).

To study the changes in blood biochemical marks caused by of *E. coli*, the isolates were tested for their activity to grow in a biofilm [9], briefly in this method, brain heart infusion broth (BHIB) containing tubes were inoculated with the isolated bacteria, incubated at 37°C for 24 h, then the content of the tubes was poured and drops of crystal violet was added to the tubes with gentle rotation, left for two minutes, then the tubes placed upside down on a filter paper after rinsing with distilled water to remove excess stain.

Hemolytic activity of *E. coli* was tested by cultivation of bacteria on blood agar plates then incubated at 37°C for 24 h, a clear zone around the colonies, indicating a positive result [10].

Urine isolate with the highest biofilm formation activity and hemolytic activity were selected for LPS extraction as a pathogenic isolate. In brief, 250 ml of the 24h bacterial growth in brain heart infusion broth (BHIB) were centrifuged at 6000 rpm for 20 minutes, the sediment washed with phosphate buffered saline (PBS) twice then subjected to 15 ml of lysis buffer containing TrisHCl, MgCl₂, SDS and β -mercaptoethanol, then placed in water bath at 65°C for 1 hour to solubilize the sediment, then, 1 ml of proteinase K was added to the preparation to remove contaminants proteins, preparation was incubated at 37°C for 24 h, then LPS was precipitated at -20°C using 3 M sodium acetate

and cold absolute ethanol, after final centrifugation, the pellet was re-suspended in 9 ml of 10 mM Tris-HCl followed by extraction using hot phenol, where 9 ml of phenol at 65°C was added and mixed vigorously and then was immediately placed in an ice bath, preparation was centrifuged at 6000 rpm for 15 min and the top aqueous layer was taken, and the extraction was repeated again, then the aqueous layers of the extracted LPS were subjected to dialysis for 48 h against distilled water, and the LPS was lyophilized and stored at -20°C until use [11].

The experiment was performed at the College of Veterinary Medicine of University of Al-Qhadisayh in strict compliance with The European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experiments or for Other Scientific Purposes (Directive 2010/63/EU) [12], Institutional animal care and use committee (IACUC) approval № 1047/2 from 20.06.2023. Forty-five adult male Wistar rats of 8-10 weeks age and weights between 160-210 grams were obtained from the Animals House, College of Veterinary Medicine, University of Al-Qhadisayh were kept under standard laboratory condition, they were given standard locally prepared diets and were placed in cages and were acclimatized for a week. Next rats were divided into 9 groups (5 rats each), one group was the control group (was given standard saline solution) and the other 8 groups were the experimental groups. The first experimental group was injected intraperitoneally with only LPS (5 mg/kg BW). Eight others experimental groups were injected with LPS and the synthesized nucleosides/nucleotides. All concentrations of used materials were injected

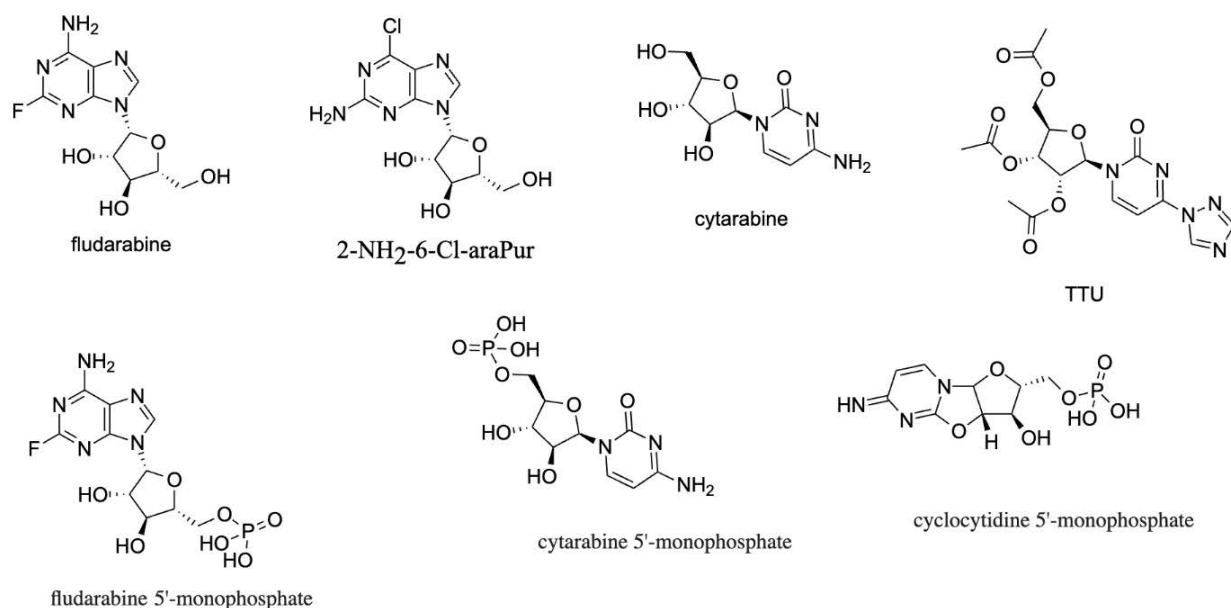


Figure 1 – The structure of the modified nucleosides and nucleotides used in the work

Рисунок 1 – Структурные формулы исследованных модифицированных нуклеозидов и нуклеотидов

with 3 repeated doses 48 h between them, after 7 days of immunization with LPS, the blood was collected using retro orbital blood collection technique and placed in EDTA tubes.

Four clinical and morphological blood parameters were measured on a Celltac α (Japan) hematological analyzer: hemoglobin (HGB) g/dl; hematocrit (HCT) %; leukocytes count (WBC) $10^3/\mu\text{l}$; relative concentration of lymphocytes (LYMP) %.

The study of biochemical parameters of blood serum was performed on a biochemical analyzer of the semi-automatic type BioChemSA (USA). The following parameters were analyzed: blood urea nitrogen (BUN) mg/dl, glucose (GLUC) mg/dl, total protein (TP) g/dl, total bilirubin $\mu\text{mol/l}$, alanine aminotransferase enzyme activity (ALT) IU/L, aspartate aminotransferase enzyme activity (AST) IU/L.

The data was summarized, analyzed, and presented using the Statistical analysis for Social Science version 23 software program and the difference in mean of quantitative variables between groups was investigated using a one-way ANOVA, which was accompanied by a post hoc Duncan multiple range test.

Results

We used the reference values for Wistar rats in a comparative analysis of hematological study data, but we used the outcomes of control group investigations as the reference [13]. Table 1 shows the dynamics of the parameters of the general blood test of rats ($M \pm m$). The administration of bacterial lipopolysaccharide to rats resulted in a significant reduction in hemoglobin content (by 44.7 %) and hematocrit (by 45.6 %) (Table 1), indicating anemia of inflammation that occurs during the development of a pathogenic response.

According to the data in Table 1, the number of erythrocytes and blood hemoglobin in animals that received injections of the studied compounds after 7 days of LPS immunization decreased significantly throughout the entire observation period to 54.3–67.2 % and 46.2–66.2 %, respectively. A slower drop

in blood hemoglobin content compared to the number of erythrocytes suggests that anemia has a compensatory nature at first, but the discovered pattern implies a decline in compensatory mechanisms with time.

In terms of white blood cells and the relative concentration of the lymphocyte fraction, the content of leukocytes and the proportion of lymphocytes increased by 71.5 % and 23.8 %, respectively, following administration of bacterial lipopolysaccharide. The administration of modified nucleosides or nucleotides to animals resulted in an increase in symptoms of an acute inflammatory process on the part of leukocytes, as indicated by the results provided in Table 1. The most prominent lymphocytic leukemia was found with the cCMP and ara-CMP nucleotides, as well as the TTU nucleoside (an increase in leukocyte content of 51.9 %, 58.6 %, and 51.9 %, respectively, compared to the LPS-immunized group).

We used the reference values for Wistar rats in a comparative analysis of biochemical blood test data, but we used the findings of investigations of the control groups as the reference [13]. Table 2 shows the dynamics of markers of biochemical blood analysis in rats ($M \pm m$).

According to the data in Table 2, signs of impaired renal function in the experimental group rats increased over time, as evidenced by an increase in the content of urea in the blood by 78.9 % 7 days after infection, as well as a more than twofold increase in the content of chlorides (2.2 times). A higher total protein level (68.4 % higher than in the control group) implies an acute infectious process. This idea is supported by a 46.4 % rise in the quantity of glucose in the blood serum, since the body releases hormones to control inflammation during an infection. They have a counter-insulin impact, which means they diminish insulin's efficacy in the body. An increase in the activity of the liver enzymes ALT and AST by 2.3 and 1.3 times is also a marker of dysfunction of the hepatobiliary system, and may also be a consequence of the development of hemolytic anemia.

Table 1 – Hematological status of laboratory rats with experimental systemic inflammation induced by bacterial endotoxin

Таблица 1 – Гематологический статус лабораторных крыс при экспериментальном системном воспалении, индуцированном бактериальным эндотоксином

Groups	HGB (g/dl)	HCT (%)	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	LYMP ($10^3/\mu\text{l}$)
Control	14.5 \pm 0.78	46 \pm 0.97	13.09 \pm 1.12	3.9 \pm 1.4
LPS-treated	8.02 \pm 0.87	25 \pm 0.76	22.45 \pm 0.94	9.01 \pm 1.3
LPS + Fludarabine	7.8 \pm 0.66	21 \pm 0.67	30.1 \pm 1.2	11.1 \pm 1.0
LPS + 2-NH ₂ -6-Cl-araPur	9.3 \pm 0.72	19 \pm 0.96	27.2 \pm 0.93	10.5 \pm 1.1
LPS + ara-CMP	6.1 \pm 0.75	19.4 \pm 0.71	35.6 \pm 1.1	10.4 \pm 0.94
LPS + TTU	6.8 \pm 0.85	21.7 \pm 0.72	34.1 \pm 1.1	9.9 \pm 1.1
LPS + Fludarabine phosphate	7.4 \pm 0.70	19 \pm 0.83	27.8 \pm 1.1	10.2 \pm 1.1
LPS + araC	5.6 \pm 0.81	17.7 \pm 0.85	29.3 \pm 0.96	9.3 \pm 0.99
LPS + cCMP	4.9 \pm 0.79	15.1 \pm 0.83	33.6 \pm 0.85	10.6 \pm 0.86

Table 2 – Biochemical status of laboratory rats in experimental systemic inflammation induced by bacterial endotoxin

Таблица 2 – Биохимический статус лабораторных крыс при экспериментальном системном воспалении, индуцированном бактериальным эндотоксином

Groups	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	BUN (mg/dl)	GLUC (mg/dl)	TP (g/dl)	Cl (mmol/l)
Control	142±1.1	36±1.4	19±0.78	112.03±0.88	9.5±0.98	103±1.2
LPS-treated	182±0.99	59±1.2	34±0.89	164±1.2	16±0.78	223±1.3
LPS + Fludarabine	189±1.2	67±0.99	43±0.65	171±1.1	23±0.93	227±0.99
LPS + 2-NH ₂ -6-Cl-araPur	174±0.82	54±1.1	39±0.88	167±1.2	20±0.87	225±1.1
LPS + ara-CMP	192±1.3	72±1.2	45±0.73	179±1.2	27±0.86	233±0.82
LPS + TTU	186±1.1	75±1.1	52±0.71	183±0.98	31±0.96	230±0.92
LPS + Fludarabine phosphate	191±0.89	65±1.0	39±0.73	176±0.83	19.8±0.87	220±1.1
LPS + araC	189±0.92	70±0.97	39±0.86	162±0.90	25±0.78	210±0.98
LPS + cCMP	192±0.97	76±0.84	43±0.81	174±0.86	29±0.97	227±0.94

Following administration of modified nucleosides or nucleotides to animals, symptoms of an acute inflammatory process increased, followed with disruption of the excretory and hepatobiliary systems. The nucleotides cCMP and ara-CMP, as well as the nucleoside TTU, exhibited the most dramatic effects, increasing total protein content by 1.8, 1.7, and 1.9 times, respectively, compared to the LPS-immunized group; and increasing ALT activity by 1.3, 1.2, and 1.3 times, respectively.

Conclusions

A study of the effects of modified 2-fluoro-arabinofuranosyladenine (fludarabine), 2-amino-6-chloro-arabinofuranosylpurine (2-NH₂-6-Cl-ara-Pur), arabinofuranosylcytosine (cytarabine, ara-C), [1-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-4-(1,2,4-triazol-1-yl)]uracil (TTU) nucleosides and 2-fluoro-arabinofuranosyladenine-5' O²,2'-monophosphate (fludarabine monophosphate), cytarabine-5'-monophosphate (ara-CMP) and O²,2'-cyclocytidine-5'-monophosphate (cyclocytidine monophosphate, cyclo-CMP) nucleotides, suggests that the modified nucleosides and nucleotides have modulating effect on the systemic inflammatory response.

The results of the research show a significant alteration in the hematological and biochemical patterns in the laboratory animals that were given the test chemicals.

Seven days after systemic administration of *E. coli* lipopolysaccharide, intraperitoneal administration of the investigated nucleosides and nucleotides alters the patterns of the inflammatory response, specifically increasing the severity of nephrotic and hepatobiliary syndromes of the inflammatory process. The most notable effects were produced by the TTU nucleoside, cCMP, and ara-CMP nucleotides.

References

- 1 Nguyen L. Antibiotic resistance mechanisms in *M. tuberculosis*: an update. *Arch Toxicol*. 2016 Jul;90(7):1585-604. doi: 10.1007/s00204-016-1727-6.
- 2 Yssel AEJ, Vanderleyden J, Steenackers HP. Repurposing of nucleoside- and nucleobase-derivative drugs as antibiotics

and biofilm inhibitors. *J Antimicrob Chemother*. 2017 Aug 1;72(8):2156-2170. doi: 10.1093/jac/dkx151.

- 3 De Clercq E, Li G. Approved Antiviral Drugs over the Past 50 Years. *Clin Microbiol Rev*. 2016 Jul;29(3):695-747. doi: 10.1128/CMR.00102-15.
- 4 Pathak AK, Pathak V, Seitz LE, Suling WJ, Reynolds RC. 6-Oxo and 6-thio purine analogs as antimycobacterial agents. *Bioorg Med Chem*. 2013 Apr 1;21(7):1685-95. doi: 10.1016/j.bmc.2013.01.054.
- 5 Kozmin SG, Stepchenkova EI, Chow SC, Schaaper RM. A critical role for the putative NCS2 nucleobase permease YjeD in the sensitivity of *Escherichia coli* to cytotoxic and mutagenic purine analogs. *mBio*. 2013 Oct 29;4(6):e00661-13. doi: 10.1128/mBio.00661-13.
- 6 Lundbæk JA, Collingwood SA, Ingólfsson HI, Kapoor R, Andersen OS. Lipid bilayer regulation of membrane protein function: gramicidin channels as molecular force probes. *J R Soc Interface*. 2009 Nov 29;7(44):373-95. doi: 10.1098/rsif.2009.0443.
- 7 Serpi M, Ferrari V, Pertusati F. Nucleoside Derived Antibiotics to Fight Microbial Drug Resistance: New Utilities for an Established Class of Drugs? *J Med Chem*. 2016 Dec 8;59(23):10343-10382. doi: 10.1021/acs.jmedchem.6b00325.
- 8 Shihad A, Khancheuski M, Sysa A, Gritskevitch E, Kvasnyuk E, Lemiasheuski V. In vitro Antimicrobial Activity Profile of Modified Pyrimidine Nucleosides Derivatives. *J. Pharm. Res. Int*. 2022 May 16;34(38A):34-45. doi: 10.9734/jpri/2022/v34i38A36216.
- 9 Christensen GD, Simpson WA, Bisno AL, Beachey EH. Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infect Immun*. 1982 Jul;37(1):318-26. doi: 10.1128/iai.37.1.318-326.1982.
- 10 Koronakis V, Cross M, Senior B, Koronakis E, Hughes C. The secreted hemolysins of *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, and *Morganella morganii* are genetically related to each other and to the alpha-hemolysin of *Escherichia coli*. *J Bacteriol*. 1987 Apr;169(4):1509-15. doi: 10.1128/jb.169.4.1509-1515.1987.
- 11 Rezaian S, Amirzaffari N, Tabarraei B, Jeedi-Tehrani M, Zarei O, Alizadeh R, Masjedani F, Zarnani AH. Extraction, Purification and Characterization of Lipopolysaccharide from *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. *Avicenna J Med Biotechnol*. 2011 Jan;3(1):3-9.
- 12 Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*. 2010 Sep 22;276/33-276/79.
- 13 Wolford ST, Schroer RA, Gohs FX, et al. Reference range database for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. *J Toxicol Health*. 1986 Nov;18:161-188. doi:10.1080/15287398609530859

Список цитированных источников

1. Nguyen, L. Antibiotic resistance mechanisms in M. tuberculosis: an update / L. Nguen // Arch. Toxicol. – 2016. – Vol. 90, № 7. – P. 1585–1604.
2. Yssel, A. E. J. Repurposing of nucleoside- and nucleobase-derivative drugs as antibiotics and biofilm inhibitors / A. E. J. Yssel, J. Vanderleyden, H. P. Steenackers // J. Antimicrob. Chemother. – 2017. – Vol. 72, № 8. – P.2156–2170.
3. De Clercq, E. Approved Antiviral Drugs over the Past 50 Years / E. De Clercq, G. Li // Clin. Microbiol. Rev. – 2016. – Vol. 29, № 3. – P. 695–747.
4. 6-Oxo and 6-thio purine analogs as antimycobacterial agents / A.K. Pathak [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2013. – Vol. 21, № 7. – P. 1685–1695.
5. A critical role for the putative NCS2 nucleobase permease YjcD in the sensitivity of Escherichia coli to cytotoxic and mutagenic purine analogs / S.G. Kozmin [et al.] // mBio. – 2013. – Vol. 4, № 6. – P.e00661–13.
6. Lipid bilayer regulation of membrane protein function: gramicidin channels as molecular force probes / J. A. Lundbæk [et al.] // J. R. Soc. Interface. – 2009. – Vol. 7, № 44. – P. 373–395.
7. Serpi, M. Nucleoside Derived Antibiotics to Fight Microbial Drug Resistance: New Utilities for an Established Class of Drugs? / M. Serpi, V. Ferrari, F. Pertusati // J. Med. Chem. – 2016. – Vol. 59, № 23. – P. 10343–10382.
8. In vitro Antimicrobial Activity Profile of Modified Pyrimidine Nucleosides Derivatives / A. Shihad [et al.] // J. Pharm. Res. Int. – 2022. – Vol. 34, № 38A. – P. 34–45.
9. Adherence of slime-producing strains of Staphylococcus epidermidis to smooth surfaces / G. D. Christensen [et al.] // Infect. Immun. – 1982. – Vol. 37, № 1. – P. 318–326.
10. The secreted hemolysins of Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, and Morganella morganii are genetically related to each other and to the alpha-hemolysin of Escherichia coli / V. Koronakis [et al.] // J. Bacteriol. – 1987. – Vol. 169, № 4. – P. 1509–1515.
11. Extraction, Purification and Characterization of Lipopolysaccharide from Escherichia coli and Salmonella typhi / S. Rezanian [et al.] // Avicenna. J. Med. Biotechnol. – 2011. – Vol. 3, № 1. – P. 3–9.
12. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // Official Journal of the European Union. – 2010. – P. 276/33–276/79.
13. Reference range database for serum chemistry and hematology values in laboratory animals / Wolford ST [et al.] // J. Toxicol. Health. – 1986. – Vol. 18. – P. 161–188.

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЙ И БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС В НОРМЕ И ПРИ СИСТЕМНОМ ВОСПАЛЕНИИ, ИНДУЦИРОВАННОМ БАКТЕРИАЛЬНЫМ ЭНДОТОКСИНОМ

А. Г. Сыса¹, Е. И. Квасюк¹, А. Шихад^{1,2}, М. С. Хассан²

¹ Белорусский государственный университет,

МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ, Минск, Республика Беларусь,

² Университет Аль-Кадисия, Колледж ветеринарной медицины, Дивания, Ирак

Введение. Широкое применение антибиотиков привело к возникновению и быстрому распространению резистентности у микроорганизмов. Потенциальной антибактериальной активностью обладают модифицированные нуклеозиды и нуклеотиды. Наряду с изучением механизмов их антибактериальной действия важно учитывать системные реакции организма-хозяина на введение этих соединений.

Цель исследования. В модельном эксперименте на лабораторных животных охарактеризовать изменения диагностически значимых гематологических и биохимических показателей крови при системном воспалении, вызванном введением липополисахарида *E. coli*, и его модуляции модифицированными нуклеозидами/нуклеотидами.

Материалы и методы. Исследование выполнено на крысах самцах Wistar. Животных иммунизировали липополисахаридом *E. coli* интраперитонеально, затем спустя 7 дней инъектировали модифицированными нуклеотидами и нуклеозидами. Оценивали гематологический и биохимический статус животных при экспериментальном системном воспалении.

Результаты. Синтезированы семь модифицированных нуклеозидов и нуклеотидов пуринового и пиримидинового ряда: флударабин, флударабина фосфат, 2-NH₂-6-Cl-araPur, ara-C, TTU, cCMP, ara-CMP. Проведены испытания на лабораторных животных с экспериментальным системным воспалительным процессом.

Заключение. Исследованные соединения усиливают выраженность нефротического и гепатобилиарного синдромов воспалительного процесса. Наиболее выраженными эффектами обладали нуклеотиды cCMP и ara-CMP, а также нуклеозид TTU.

Ключевые слова: Модифицированные нуклеозиды, эндотоксин, анемия, гепатобилиарная система, воспаление.

Для цитирования: Гематологический и биохимический статус в норме и при системном воспалении, индуцированном бактериальным эндотоксином / А. Г. Сыса [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2023. – Т. 2, № 2(3). – С. 38–42. (на английском).

Поступила 02.08.2023

МИКРОЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ПРИРОДНОГО МИНЕРАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА

Л. И. Надольник, В. Л. Мороз, А. В. Шуриберко, Е. Б. Белоновская, О. Е. Кузнецов
Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук
Беларуси, Гродно, Республика Беларусь

Введение. Разработка иммуномодулирующих композиций важна, учитывая высокий уровень стресса в современном обществе, а также эпидемию, связанную с COVID-19, заболеванием, которое значительно подавляет функции иммунной системы. Нельзя не учитывать и рост уровня вторичных иммунодефицитных состояний, связанных с лечением онкологических и других заболеваний.

Цель исследования. Оценить микроэлементный состав и изучить иммуномодулирующие свойства природного минерального комплекса *in vitro*.

Материалы и методы. Для исследования содержания макро- и микроэлементов в образцах природного минерального комплекса (ПМК) использовался метод масс-спектрометрического анализа с индуктивно связанной плазмой. Оценивалось влияние ПМК на фагоцитарную и метаболическую активность нейтрофилов в условиях *in vitro*. Концентрации исследуемого ПМК составляли 0,001–1,0 мг/мл среды.

Результаты. В ПМК выявлено содержание 40 химических элементов: макроэлементов (натрий, магний, кальций, железо, алюминий), микроэлементов (марганец, медь, цинк, молибден, хром, кобальт, ванадий, никель, бериллий, титан, селен, серебро, олово, сурьма, таллий, цезий), редкоземельных элементов (лантан, церий, празеодим, неодим, самарий, европий, гадолиний, тербий, диспрозий, гольмий, эрбий, торий, уран), тяжелые металлы (свинец, ртуть, стронций, барий) и мышьяк. Установлено, что ПМК в концентрациях 0,01–0,1 мг/мл стимулирует активность фагоцитарного звена иммунной системы в условиях угнетения функциональной активности нейтрофилов *in vitro*, повышает фагоцитарный индекс в 1,5 раза. Концентрация ПМК до 0,1 мг/мл увеличивает метаболическую активность нейтрофилов.

Заключение. ПМК представляет интерес для разработки новых биологически активных субстанций с целью их применения как средства для стимуляции/коррекции клеточного звена иммунной системы при вторичных иммунодефицитных состояниях, коррекции микроэлементного статуса организма.

Ключевые слова: природный минеральный комплекс, биоэлементы, фагоцитарный индекс, иммунитет, терапия.

Для цитирования: Микроэлементный состав и иммуномодулирующие свойства природного минерального комплекса /Л. И. Надольник [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2023. – Т. 2, № 2(3). – С. 43–49.

Введение

Разработка иммуномодулирующих композиций и биологически активных добавок, учитывая высокий уровень стресса в современном обществе, а также эпидемию, связанную с COVID-19 – заболеванием, которое значительно подавляет функции иммунной системы, приобретает в настоящий период важное значение. Нельзя не учитывать и значительный рост уровня иммунодефицитных состояний среди населения, связанных с лечением онкологических и других заболеваний [1].

Селен, цинк, медь и железо – основные микроэлементы, необходимые для нормальной работы иммунной системы. Роль других микроэлементов (магний, никель, хром и др.) также важна, однако широко не описана в современной литературе. Обеспеченность организма микроэлементами и другими нутриентами – условие нормального протекания всех метаболических процессов в организме, что обеспечивает адекватность функциониро-

вания иммунной системы и организма в целом, что позволяет рассматривать различные природные минеральные комплексы (ПМК) в качестве перспективных, для разработки биологически активных добавок (БАД) [2].

Фагоциты являются одним из главных компонентов врождённого иммунитета. Они обеспечивают первую линию защиты организма от инфекции. В основе защитной функции лейкоцитов лежит фагоцитарный процесс, заключающийся в их способности распознавать, поглощать и утилизировать чужеродные агенты, что позволяет оценить резервные возможности организма. Фагоцитарный индекс (ФИ) является высокочувствительным индикатором состояния клеточного иммунитета; характеристики фагоцитов служат важным инструментом иммунологической характеристики и общеклинической диагностики [3].

Метаболическая активность нейтрофилов определяется в тесте с нитрозолием тетросиним

(НСТ-тест). НСТ-тест характеризует бактерицидную активность фагоцитов, в основе активации фагоцитов лежит резкое усиление окислительных реакций. Спонтанный НСТ-тест – кислородзависимый фагоцитоз – характеризует степень активации антибактериальных кислородзависимых систем внутри клетки-фагоцита [3].

Предполагается, что природные минеральные комплексы могут обладать иммуномодулирующими свойствами, что можно в перспективе рассматривать как профилактический эффект, а также быть полезными для нормализации минеральной обеспеченности организма и коррекции минеральной недостаточности. Представляет интерес изучение состава и биологической активности природного минерального комплекса, образцы которого были исследованы в данной работе (природный минеральный комплекс на основе НОН-технологии, Такушевич Д.И.).

Цель исследования. Оценить микроэлементный состав и изучить иммуномодулирующие свойства природного минерального комплекса *in vitro*.

Материалы и методы

Качественный и количественный анализ химических элементов в исследуемом образце природного минерального комплекса (природный минеральный комплекс на основе НОН-технологии, Такушевич Д. И.) осуществляли методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС) на масс-спектрометре NexION 2000 ICP-MS. В работе использовали метод пробоподготовки с азотной кислотой (серии разведений образцов пробы), позволяющий определять концентрации химических элементов методом ИСП-МС: макроэлементы (натрий, кальций, железо, алюминий), тяжелые металлы (кадмий, свинец, ртуть, стронций, барий), мышьяк, микроэлементы (марганец, медь, цинк, молибден, хром, кобальт, ванадий, никель, бериллий, титан, селен, серебро, олово, сурьма, таллий, цезий).

Содержание редкоземельных элементов (лантан, церий, празеодим, неодим, самарий, европий, гадолиний, тербий, диспрозий, гольмий, эрбий, торий, уран) определяли количественно, используя внешний стандарт в качестве сравнения.

Содержание элементов в образце выражали в процентах от массы навески. Содержание химических элементов с низкой концентрацией представлено как качественная оценка менее обозначенного количества (например, молибден $<2 \times 10^{-5} \%$).

Исследование фагоцитарной активности нейтрофилов проведено на иммунокомпетентных клетках крови крыс Wistar. Для достижения поставленной цели были выполнены эксперименты на взрослых

крысах линии Wistar ($n=21$) со средней начальной массой $210,1 \pm 14,9$ г при свободном доступе животных к пище и воде, которые находились на стандартном рационе питания вивария Института биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси. На данное исследование получено разрешение Комитета по биомедицинской этике. Все эксперименты выполняли в соответствии с правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных, Международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с использованием животных, принятыми Международным советом научных обществ (CIOMS) в 1985 г., со ст. XI Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964 г.) и правилами лабораторной практики. После выведения животных из эксперимента цельная кровь бралась с антикоагулянтом (гепарин) для иммунологического исследования, добавляли взвесь ПМК в объеме 60 мкл в концентрации 1,0 мг/мл, 0,1 мг/мл, 0,01 мг/мл, 0,001 мг/мл и 10 % суспензию частиц латекса d-2, 0 мкм (Россия). Предварительно, ПМК разводился стерильным физиологическим раствором (0,15 моль/л NaCl) до исследуемых концентраций (опытные пробы). Образцы инкубировали в течение 60 минут при температуре 37°C. После инкубации котавили стекло-препараты, окрашивали по методу Романовского, микроскопировали. Оценивали показатель фагоцитарного индекса (ФИ; %).

Проведение НСТ-теста *in vitro*: исследование выполнено в 0,06 мл крови. В контрольные пробы вносили 0,06 мл физиологического раствора NaCl и 0,1 % раствор нитросинего тетразолия. В опытные образцы добавляли исследуемые концентрации ПМК. Инкубировали 30 мин при 37°C, центрифугировали в течение 5 мин при 700g. Надосадочную жидкость удаляли, из осадка готовили стекло-препараты, высушивали, проводили фиксацию, окраску (метод Романовского), микроскопию.

Учитывали количество формазан-положительных клеток в опытных и контрольных образцах. Референтные значения НСТ составляют 8–15 %. Отсутствие увеличения НСТ-положительных клеток (индуцированный НСТ-тест) указывает на истощение метаболических резервов нейтрофилов и возможность осложнений.

Результаты, полученные в ходе исследования, заносились в оригинальную базу данных. Статистическая обработка данных проводилась с использованием стандартного пакета прикладных статистических программ SPSS (лицензия StatSoft, Inc. STA999K347156-W). Различия между изучаемыми параметрами признавали достоверным при $p < 0,05$. Среди методов математической обработки использовали: изучение вида рас-

пределения и получение числовых характеристик: нормальное распределение – математическое ожидание (среднего) – M и среднего квадратического отклонения ($\pm\sigma$); если распределение переменных не соответствовало гауссовскому – использовали величины верхнего ($Q75$), нижнего квартилей (Q) и медианы (Me); выявление отклика на воздействие в двухвыборочной задаче: критерий Стьюдента (t), если распределение переменной не соответствовало нормальному, проводили тест Манна-Уитни (U), зависимых групп – тест Вилкоксона (Z); при сравнении долей (процентов) использовался метод Хила.

Результаты исследования

В составе исследуемом ПМК обнаружены макроэлементы: натрий, магний, кальций, железо, алюминий. В наибольшем количестве встречались алюминий, кальций и натрий. Результаты исследований представлены в таблицах 1–4.

В образцах ПМК обнаружено 16 микроэлементов: марганец, медь, цинк, молибден, хром,

кобальт, ванадий, никель, бериллий, титан, селен, серебро, олово, сурьма, таллий, цезий (таблица 2). Концентрация марганца, меди, цинка, кобальта, ванадия, бериллия, титана, сурьмы и цезия определены количественно: их содержание составило от $7 \times 10^{-4} \%$ до $7 \times 10^{-2} \%$, соответственно ($7-700$ мг/кг).

В исследуемых образцах ПМК присутствуют соли тяжелых металлов и мышьяк: мышьяк ($9 \times 10^{-5} \%$), свинец ($7 \times 10^{-4} \%$), стронций ($2 \times 10^{-2} \%$), барий ($3 \times 10^{-2} \%$) – таблица 4. Наличие данных элементов регламентировано предельно допустимыми концентрациями тяжелых металлов в соответствии с требованиями технических регламентов для продовольственного сырья и пищевых продуктов, установленная концентрация минимальна. С учетом производства готового продукта, следует ожидать их уменьшения.

В исследованиях *in vitro* оценивали функциональную активность нейтрофилов в реакции фагоцитоза опытных и контрольных образцов. Опытные образцы содержали ПМК; в контрольные про-

Таблица 1 – Содержание макроэлементов в образцах природного минерального комплекса (представлены средние значения), %, г/кг

Table 1 – Content of macroelements in samples of the natural mineral complex (average values are presented), %, g/kg

Химический элемент	Содержание химического элемента в образце, %	Содержание химических элементов в образце, г/кг
Na (натрий)	1,1	11,0
Mg (магний)	0,5	5,0
Ca (кальций)	1,2	12,0
Fe (железо)	0,2	2,0
Al (алюминий)	1,3	13,0

Примечание: в пробах содержится калий, но сложность его определения не позволяет вычислить концентрацию;

Note: the samples contain potassium, but the difficulty of determining it makes it impossible to calculate the concentration

Таблица 2 – Содержание микроэлементов в образцах природного минерального комплекса (представлены средние значения), %, мг/кг

Table 2 – Content of microelements in samples of the natural mineral complex (average values are presented), %, mg/kg

Химический элемент	Содержание химических элементов в образце, %	Содержание химических элементов в образце, мг/кг
Mn (марганец)	6×10^{-2}	600,0
Cu (медь)	7×10^{-4}	7,0
Zn (цинк)	3×10^{-3}	30,0
Mo (молибден)	$<2 \times 10^{-5}$	<0,2
Cr (хром)	$<2 \times 10^{-6}$	<0,02
Co (кобальт)	5×10^{-4}	5,0
V (ванадий)	5×10^{-4}	5,0
Ni (никель)	$<2 \times 10^{-5}$	<0,2
Be (бериллий)	1×10^{-4}	1,0
Ti (титан)	7×10^{-2}	700,0
Se (селен)	$<7 \times 10^{-6}$	<0,07
Ag (серебро)	$<1 \times 10^{-6}$	<0,01
Sn (олово)	$<1 \times 10^{-5}$	<0,1
Sb (сурьма)	1×10^{-5}	0,1
Tl (таллий)	$<3 \times 10^{-7}$	<0,003
Cs (цезий)	1×10^{-4}	1,0

Таблица 3 – Содержание редкоземельных элементов в образцах природного минерального комплекса (представлены средние значения), %, мг/кг

Table 3 – Content of rare earth elements in samples of the natural mineral complex (average values are presented), %, mg/kg

Химический элемент	Содержание химических элементов в образце, %	Содержание химических элементов в образце, мг/кг
La (лантан)	2×10^{-3}	10,0
Ce (церий)	4×10^{-3}	40,0
Pr (празеодим)	7×10^{-4}	7,0
Nd (неодим)	3×10^{-3}	30,0
Sm (самарий)	6×10^{-4}	6,0
Eu (европий)	1×10^{-4}	1,0
Gd (гадолиний)	7×10^{-4}	7,0
Tb (тербий)	1×10^{-4}	1,0
Dy (диспрозий)	7×10^{-4}	7,0
Ho (гольмий)	1×10^{-4}	1,0
Er (эрбий)	4×10^{-4}	4,0
Th (торий)	2×10^{-4}	2,0
U (уран)	2×10^{-4}	2,0

Таблица 4 – Содержание токсичных элементов в образцах природного минерального комплекса (представлены средние значения), %, мг/кг

Table 4 – Content of toxic elements in samples of the natural mineral complex (average values are presented), %, mg/kg

Химический элемент	Содержание химических элементов в образце, %	Содержание химических элементов в образце, мг/кг
As (мышьяк)	9×10^{-5}	0,9
Cd (кадмий)	$< 7 \times 10^{-8}$	$< 0,0007$
Pb (свинец)	7×10^{-4}	7,0
Hg (ртуть)	$< 1 \times 10^{-7}$	$< 0,001$
Sr (стронций)	2×10^{-2}	200,0
Ba (барий)	3×10^{-2}	300,0

бы добавлялась аликвота физиологического раствора. Анализировались дозозависимые эффекты пищевой добавки.

После добавления ПМК в концентрациях 1 мг/мл, 0,1 мг/мл, 0,01 мг/мл и 0,001 мг/мл в среду инкубации, спустя 60 минут выявлены эффекты повышения клеточной фагоцитарной активности. Фагоцитарная активность нейтрофилов повышалась в 1,5 раза по сравнению с контролем (рисунок 1 – *a, b, c*).

Стоит отметить, что фагоцитарная активность была на уровне максимальных значений и составляла 81 %, 86 %, 75 % и 69 %, соответственно (таблица 5). В контрольной группе, где при инкубации вводили раствор 0,9 % NaCl, клеточная активность ниже минимальных значений – 54 %.

ПМК в концентрациях 1,0 мг/мл, 0,1 мг/мл, 0,01 мг/мл и 0,001 мг/мл стимулировала фагоцитарную активность нейтрофилов крови; максимальный стимулирующий эффект выявлен при концентрации – 0,1 мг/мл (повышение показателя ФИ до 159,2 % по сравнению с контрольными пробами), что свидетельствует о значительной иммуностимулирующей активности.

Введение ПМК в концентрациях 0,1–0,01 мг/мл в среду инкубации приводило к усилению фагоци-

тарной активности нейтрофилов; при этом клетки приобретали усиленную функциональную активность, и процессы фагоцитоза достигали 89–95 % (таблица 6).

Отмечено статистически значимое увеличение функциональных возможностей клеток при концентрации 0,1 мг/мл.

В то же время ПМК в концентрации 0,01–0,1 мг/мл оказывала благоприятное воздействие на молекулярно-клеточные механизмы; при этом активность процессов фагоцитоза в присутствии данных концентраций оставалась высокой, отмечен стимулирующий эффект исследуемой добавки.

При исследовании процессов фагоцитоза у крыс с исходно сниженной функцией клеток (в ситуации, когда нарушены процессы распознавания и поглощения антигенов клетками, при снижении экспрессии рецепторного аппарата нейтрофилов) введение исследуемого ПМК приводило к активации фагоцитарной активности нейтрофилов. Относительное количество нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе, повышалось и достигало значений нормы (таблица 7).

В условиях экспериментальной иммуносупрессии и недостаточности рецепторного аппарата кле-

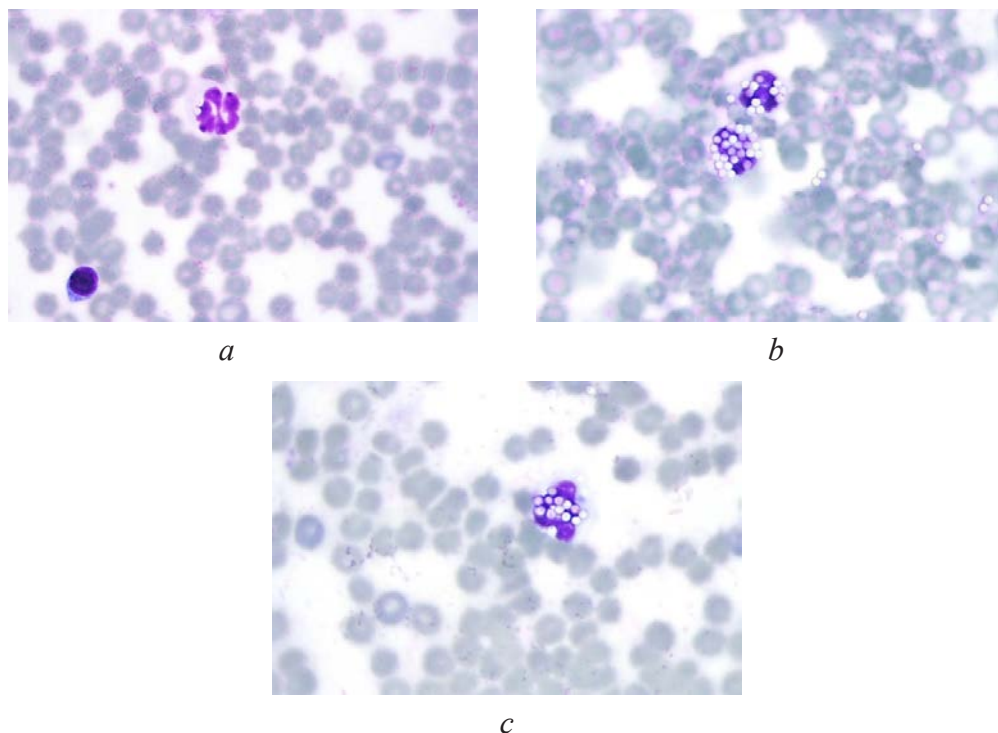


Рисунок 1 – Фагоцитарная активность лейкоцитов в присутствии природного минерального комплекса (*in vitro*):
a – неактивный нейтрофил; *b* и *c* – активированные нейтрофилы, ($\times 100$)

Figure 1 – Phagocytic activity of leukocytes in the presence of the natural mineral complex (*in vitro*):
a – inactive neutrophil; *b* and *c* – activated neutrophils, ($\times 100$)

ток введение ПМК в концентрациях 0,1–0,01 мг/мл восстанавливало способность клеток реагировать на антигены. Отмечалось усиление фагоцитарной активности нейтрофилов до уровня физиологической нормы. Клеточная активность повышалась в 1,3–1,5 раза, что свидетельствует об усилении факторов врожденного иммунитета.

Введение в среду инкубации клеток *in vitro* ПМК в концентрациях 0,1–0,01 мг/мл проявлялось усилением окислительно-восстановительных процессов в сравнении с контролем. Введение добав-

ки индуцировало генерацию клетками активных форм кислорода, стимулировало метаболическую активность нейтрофилов. При исходно повышенной метаболической активности введение ПМК приводило к стимуляции клетками кислородзависимых бактерицидных факторов (таблица 8).

Концентрация ПМК в дозе 1 мг/мл подавляла окислительно-восстановительные процессы, но при этом показатели оставались в пределах нормальных значений для данного вида животных. В ситуации исходно повышенной метаболической

Таблица 5 – Влияние природного минерального комплекса на фагоцитарную активность нейтрофилов, %, ($n=5-6$)

Table 5 – Effect of the natural mineral complex on the phagocytic activity of neutrophils, %, ($n=5-6$)

Показатель	Контроль	Опыт 1	Опыт 2	Опыт 3	Опыт 4
Концентрация «Имунон», мг/мл	0	1,0	0,1	0,01	0,001
ФИ, %	54%	81%	86%	75%	69%

Таблица 6 – Влияние природного минерального комплекса на фагоцитарную активность нейтрофилов клеток при их высокой активности, %, ($n=3-5$)

Table 6 – Effect of the natural mineral complex on the phagocytic activity of neutrophil cells at their high activity, %, ($n=3-5$)

Показатель	Контроль	Опыт 1	Опыт 2	Опыт 3	Опыт 4
Концентрация «Имунон», мг/мл	0	1,0	0,1	0,01	0,001
ФИ, %	82,50 \pm 1,55	–	94,25 \pm 2,0*	89,75 \pm 2,56	–

Примечание: – * $p < 0,05$ по сравнению с контрольной пробой

Note: – * $p < 0.05$ compared to control sample

активности нейтрофилов концентрация 1 мг/мл проявила эффекты коррекции генерации клетками активных форм кислорода, – что можно расценивать как защитный эффект, учитывая высокую токсичность активных форм кислорода. Эти данные предполагают наличие антиоксидантной активности у исследуемого минерального комплекса, механизмы которой могут быть опосредованы её специфическим микроэлементным составом.

У животных при сниженной метаболической активности нейтрофилов на фоне введения ПМК в среду инкубации клеток в концентрации 0,1 мг/мл выявлена тенденция к усилению метаболической активности на 35,3 % по сравнению с контрольными значениями (таблица 9).

Концентрация ПМК в 1 мг/мл снижала метаболическую активность клеток более чем в 3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Эти эффекты могут свидетельствовать о наличии механизмов, проявляющихся в присутствии высоких доз минерального комплекса, подавляющих кислородзависимые процессы в нейтрофилах, и механизмов стимуляции кислородзависимых процессов в условиях низких доз.

Таблица 7 – Влияние природного минерального комплекса на фагоцитарную активность нейтрофилов крыс при хронической алкогольной интоксикации, %, ($n=5-6$)

Table 7 – Effect of the natural mineral complex on the phagocytic activity of rat neutrophils during chronic alcohol intoxication, %, ($n=5-6$)

Показатель	Контроль	Опыт 1	Опыт 2	Опыт 3	Опыт 4
Концентрация «Имунон», мг/мл	0	1,0	0,1	0,01	0,001
ФИ, %	49,00±2,0	–	64,40±5,46*	74,25±1,44*	55,67±3,41

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с контрольной пробой

Note: * $p < 0.05$ compared to control sample

Таблица 8 – Влияние природного минерального комплекса на метаболическую активность нейтрофилов (НСТ-тест) при её активации, %, ($n=5-6$)

Table 8 – Effect of the natural mineral complex on the metabolic activity of neutrophils (NCT test) upon its activation, %, ($n=5-6$)

Показатель	Контроль	Опыт 1	Опыт 2	Опыт 3	Опыт 4
Концентрация «Имунон», мг/мл	0	1,0	0,1	0,01	0,001
НСТ, %	30,60±4,18	15,00±2,5*	33,0±3,0	41,83±3,98	–

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с контрольной пробой

Note: * $p < 0.05$ compared to control sample

Таблица 9 – Влияние природного минерального комплекса на метаболическую активность нейтрофилов при её нормальных значениях (НСТ-тест), %, ($n=3-5$)

Table 9 – Effect of the natural mineral complex on the metabolic activity of neutrophils at its normal values (NST test), %, ($n=3-5$)

Показатель	Контроль	Опыт 1	Опыт 2	Опыт 3	Опыт 4
Концентрация «Имунон», мг/мл	0	1,0	0,1	0,01	0,001
НСТ, %	11,33±0,40	3,53±0,50*	15,33±2,40	11,33±0,88	–

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной пробой

Note: * $p < 0.05$ compared to control sample

Таким образом, ПМК обладает высокой биологической активностью, восстанавливая клеточный иммунный ответ (фагоцитарное звено), что способствует повышению толерантности организма к чужеродным агентам и защите от воздействия неблагоприятных факторов среды (причины приобретенных вторичных иммунодефицитов), имеет дозозависимый эффект на фагоцитарную активность при тестировании *in vitro* (показаны иммуностимулирующие эффекты, восстановление клеточных метаболических процессов).

Заключение

Проведенные исследования образцов ПМК выявили достаточное количество биоэлементов (макро- и микроэлементы, редкоземельные элементы), что позволяет рассматривать данный минеральный комплекс в качестве богатого источника химических элементов, необходимых организму животных и человека.

В условиях угнетения функциональной активности нейтрофилов в концентрациях 0,01–0,1 мг/мл ПМК обладает стимулирующей активностью в отношении клеточного звена иммунного ответа

(фагоцитарного) – выраженный иммуномодулирующий эффект. ПМК оказывает действие на метаболическую активность нейтрофилов: кислород-зависимые процессы.

Полученные результаты показали, что исследуемый природный комплекс представляет значительный интерес для разработки на его основе новых биологически активных добавок и других продуктов с целью профилактики и возможной терапии иммунодефицитных состояний, а также состояний, требующих повышения резистентности организма при проводимых методах лечения (химиотерапия, лучевая терапия и др.). На основе данного комплекса разработана новая биологически активная добавка «ИММУНОН-БИО», исследования которой выполняется в настоящее время в Институте.

Список цитированных источников

1. Галактионов, В. Г. Иммунология / В. Г. Галактионов. – М.: Изд. центр «Академия», 2004. – 522 с.
2. Скальный, А. В. Биоэлементы в медицине / А. В. Скальный, И. А. Рудаков. – Оникс 21 век: Мир, 2004. – 272 с.
3. Хайтов, Р. М. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы: руководство для врачей / Р. М. Хайтов, Б. В. Пинегин, А. А. Ярилин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 352с.

References

1. Galaktionov VG. Immunologia. M.: Izd. tsentr«Akademiy», 2004, p. 522. (in Russian).
2. Skal'nyy AV. Bioelementy v meditsine. Oniks 21 vek, Mir, 2004, p. 272. (in Russian).
3. Khaitov RM. Rukovodstvo po klinicheskoy immunologii. Diagnostika zabolevaniy immunnoy sistemy: rukovodstvo dlya vrachey. M.: GEOTAR-Media, 2009, p. 352. (in Russian).

MICROELEMENT COMPOSITION AND IMMUNOMODULATING PROPERTIES OF NATURAL MINERAL COMPLEX

L. I. Nadolnik, V. L. Moroz, A. U. Shuriberka, E. B. Belonovskaya, A. Y. Kuzniatsou
Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus

Background. The development of immunomodulatory compositions is important given the high level of stress in modern society, as well as the epidemic associated with COVID-19, a disease that significantly suppresses the functions of the immune system. It is impossible not to take into account the increase in the level of secondary immunodeficiency conditions associated with the treatment of cancer and other diseases.

Objective. Evaluate the microelement composition and study *in vitro* the immunomodulatory properties of the natural mineral complex (NMC).

Materials and methods. The study the content of macro- and microelements in samples of the natural mineral complex, the method of mass spectrometric analysis with inductively coupled plasma was used. The effect of the food additive NMC on the phagocytic and metabolic activity of neutrophils under conditions of them *in vitro*. The concentration of the additive used was 1.0, 0.1, 0.01 and 0.001 mg/ml of medium.

Results. The food additive contained 40 chemical elements: macroelements (sodium, magnesium, calcium, iron, aluminum), microelements (manganese, copper, zinc, molybdenum, chromium, cobalt, vanadium, nickel, beryllium, titanium, selenium, silver, tin, antimony, thallium, cesium), rare earth elements (lanthanum, cerium, praseodymium, neodymium, samarium, europium, gadolinium, terbium, dysprosium, holmium, erbium, thorium, uranium), heavy metals (lead, mercury, strontium, barium) and arsenic. The additive NMC in concentrations of 0.01–0.1 mg/ml stimulates the activity of the phagocytic component of the immune system under conditions of inhibition of the functional activity of neutrophils *in vitro*, increases the phagocytic index by 1.5 times. Concentration of NMC up to 0.1 mg/kg increases the metabolic activity of neutrophils.

Conclusions. NMC is of interest for the development of new biologically active substances for the purpose of their use as a means for stimulation/correction of the cellular part of the immune system in case of secondary immunodeficiency states, correct the microelement status of the body.

Key words: food additive, NMC, bioelements, phagocytic index, immunity, therapy.

For citation: Nadolnik LI, Moroz VL, Shuriberka AU, Belonovskaya EB, Kuzniatsou AE. Microelement composition and immunomodulating properties of natural mineral complex. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2023, vol. 2, no. 2(3). pp. 43–49. (in Russian).

Поступила 21.09.2023

ОПЫТ ИЗУЧЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ BDNF И SAT1 В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЛИЦ, СОВЕРШИВШИХ СУИЦИДАЛЬНУЮ ПОПЫТКУ

С. В. Давидовский¹, Ж. А. Ибрагимова², А. В. Гончарик², Л. В. Картун², Е. В. Ходосовская²,
С. Е. Семерихина², Я. С. Давидовская²

¹Белорусская медицинская академия последипломного образования,
Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

Введение. В настоящее время обсуждается вопрос о возможности использования биомаркеров при оценке риска суицида.

Цель: установить наличие возможной взаимосвязи между содержанием нейротрофических белков BDNF и SAT1 в периферической крови и выраженностью суицидального поведения.

Материалы и методы. Были сформированы 3 исследовательские группы: лица, демонстрировавшие истинно суицидальное поведение; лица, совершившие различной степени самоповреждения (парасуицид); лица с диагнозом «Расстройство адаптации», суицидальных попыток ранее не совершавшие.

Определение содержания нейротрофических белков BDNF и SAT1 проводилось методом иммуноферментного анализа.

Результаты. Выявленные закономерности зависело от пола, у лиц мужского пола сниженный уровень BDNF являлся индикатором любого суицидального поведения, у лиц женского пола - индикатором парасуицидального поведения.

Сниженный уровень белка SAT1 у лиц мужского пола являлся индикатором истинно суицидального поведения, у лиц женского пола - парасуицидального, в том числе и истинно суицидального. Отсутствие изменений в показателях нейротрофического белка SAT1 не исключало вероятности совершения суицида у лиц женского пола.

Заключение. Определения содержания нейротрофических белков BDNF и SAT1 в периферической крови может быть использовано в качестве индикатора возможного суицидального поведения.

Ключевые слова: суицид, суицидальная попытка, BDNF, SAT1.

Для цитирования: Опыт изучения содержания нейротрофических белков bdnf и sat1 в плазме крови лиц, совершивших суицидальную попытку / С. В. Давидовский [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2023. – Т. 2, № 2(3). – С. 50–53.

Введение

В настоящее время внимание исследователей привлекает вопрос о возможности использования биомаркеров при оценке риска суицида [1, 2, 3]. В частности, считается, что определенную роль в развитии таких состояний может играть нарушение нейропластичности, большую роль в регуляции которых играет нейротрофический фактор мозга (Brain-Derived Neurotrophic Factor, BDNF), необходимый для выживания и развития нейронов как центральной, так и периферической нервной системы [4]. Еще одним индикатором суицидального поведения может быть нейротрофический белок SAT1 (spermidine/spermine N1-acetyltransferase 1), который вовлечен в регуляцию внутриклеточной концентрации полиаминов и их транспорта во внеклеточную среду [5].

Цель – установить наличие возможной взаимосвязи между содержанием нейротрофических белков BDNF и SAT1 в периферической крови и выраженностью суицидального поведения.

Материалы и методы

На основании ранее проведенных исследований [6] были сформированы 3 исследовательские группы: лица, совершившие суицидальную попытку с использованием высоколетальных способов ухода из жизни (далее ГЛИВС) в количестве 39 человек (30 мужчин и 9 женщин), мотивированные к совершению суицида; лица, совершившие суицидальную попытку другими различными способами (далее ГЛССРС) в количестве 72 человек (36 мужчин и 36 женщин), что в контексте данного исследования определяется как парасуицид; лица, проходившие лечение в психиатрическом стационаре, у которых было диагностировано «Расстройство адаптации», ранее суицидальных попыток не совершавшие (группа сравнения (ГС), в количестве 39 человек (30 мужчин и 9 женщин).

Определение содержания нейротрофических белков BDNF и SAT1 в плазме крови проводилось методом иммуноферментного анализа на спектро-

фотометре Stat Fax 2100 согласно инструкции производителя к диагностическим наборам. Исследование проводилось с использованием набора реагентов для ИФА Human BDNF ELISE Kit и фирмы Fine Test (Китай). Концентрация BDNF представлена в размерности пг/мл, SAT1 – нг/мл.

Исследования базировались на принципах, изложенных в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы медицинских исследований с участием человека в качестве объекта исследования». Пациенты включались в исследование после получения письменного согласия, форма информированного согласия была утверждена на заседании комитета по этике Государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования» от 13.06.2017 №2.

Критерии включения в исследования: возраст 18–75 лет, отсутствие интеллектуальной недостаточности, способность понимать заданные вопросы, наличие письменного согласия. Критерии исключения: наличие тяжелых соматических заболеваний, наличие острой психотической симптоматики (брёда и галлюцинаций), заболевания печени.

Исследование проводилось на базе отделения токсикологии городской клинической больницы скорой медицинской помощи г. Минска и государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр психического здоровья» Минздрава Беларуси в отделениях для лечения кризисных состояний и психиатрического отделения для лечения соматических состояний учреждения здравоохранения «10 городская клиническая больница».

Статистическая обработка проводилась с использованием лицензионного пакета SPSS Statistics версии 22. Для проверки наличия различий между средними значениями был применен однофакторный дисперсионный анализ, являющийся робастным к отклонениям от нормальности, на базе SPSS 22. Апостериорные попарные сравнения в рамках дисперсионного анализа проводились по кри-

терию Геймса-Хоуэлла для выборок с разной дисперсией и проверялись по *t*-критерию Стьюдента с учетом поправки Бонферрони на уровень значимости. Дополнительно выполнялась оценка различий между медианами групп с помощью программной реализации метода, разработанного для произвольных распределений.

Результаты и их обсуждение

Гипотеза о нормальности распределений BDNF в межквартильном диапазоне подтвердилась для ГЛССРС и ГЛИВС как в мужских, так и женских группах, но не подтвердилась для ГС. У лиц мужского пола отмечались статистически значимые различия средних значений и медиан показателя BDNF между ГС и каждой из групп суицидального риска.

У лиц женского пола отмечались различия средних и медиан между группами суицидального риска с уровнем значимости $p \leq 0,1$, что допустимо для исследований поискового характера [7].

Гипотеза о нормальности распределений SAT1 подтвердилась у лиц мужского пола для ГС и ГЛИВС, у лиц женского пола для всех групп. Непараметрический тест Краскела-Уоллиса показал неодинаковость распределений SAT1 в трех группах как у мужчин, так и у женщин. С учетом этого апостериорные попарные сравнения в рамках дисперсионного анализа проводились по критерию Геймса-Хоуэлла для выборок с разной дисперсией и проверялись по *t*-критерию Стьюдента с учетом поправки Бонферрони на уровень значимости.

Как следует из таблицы 2, значимые различия средних значений SAT1 у лиц мужского пола отмечаются между ГС и ГЛИВС ($p < 0,01$), тогда как у лиц женского пола достоверные различия отмечаются между ГС и ГЛССРС ($p < 0,01$).

Обсуждение

Проводимое нами исследование подтвердило значение BDNF для формирования суицидального по-

Таблица 1 – Оценка значимости различий показателя BDNF между группами

Table 1 – Assessment of the significance of BDNF differences between groups

		мужчины/male			Женщины/female		
		ГС	ГЛССРС	ГЛИВС	ГС	ГЛССРС	ГЛИВС
Колич./ quantity		17	18	16	5	18	5
ГС – ГЛССРС	среднее	**378	**240		251	162	
	медиана	*364	*201		222	152	
ГС – ГЛИВС	среднее	*378		*209	251		258
	медиана	*364		*165	222		257
ГЛССРС-ГЛИВС – ГЛИВС	среднее		240	209		**162	**258
	медиана		201	165		**152	**257

Примечание: * – значимость на уровне $p \leq 0,05$; ** – значимость на уровне $p \leq 0,1$

Notes: * – significance at $p \leq 0.05$; ** – significance at $p \leq 0.01$

Таблица 2 – Оценка значимости различий белка SAT1 между группами

Table 2 – Assessment of the significance of SAT1 differences between groups

		мужчины/male			женщины/female		
		ГС	ГЛССРС	ГЛИВС	ГС	ГЛССРС	ГЛИВС
Колич./ quantity		16	16	14	5	17	5
ГС – ГЛССРС	среднее	0,76	0,67		1,71	0,49	
	медиана	0,68	0,56		**1,580	**0,490	
ГС – ГЛИВС	среднее	**0,767		**0,430	1,71		1,12
	медиана	0,68		0,39	1,58		1,37
ГЛССРС – ГЛИВС	среднее		*0,67	*0,43		0,49	1,12
	медиана		0,56	0,39		0,49	1,37

Примечание: * – значимость на уровне $p \leq 0,05$; ** – значимость на уровне $p \leq 0,1$

Notes: * – significance at $p \leq 0.05$; ** – significance at $p \leq 0.01$

ведения, что ранее уже обсуждалось в научной литературе. Однако выявленные нами закономерности имеют гендерные различия. У мужчин сниженный уровень BDNF являлся индикатором любого суицидального поведения, включая склонность к суициду и самоповреждающему поведению, у женщин – парасуицидального поведения, но при этом отсутствие снижения уровня BDNF в периферической крови не исключало вероятности совершения суицида.

Белок SAT1 является ключевым катаболическим ферментом для полиаминов, уровень полиаминов в клетках контролирует жизнеспособность клеток, и значительное снижение уровня полиаминов может привести к апоптозу и, по-видимому, отражает способность к клеточной и организменной активности и росту [5]. В настоящее время установлено наличие изменений в экспрессии генов, связанных с полиаминами в мозге самоубийц, что, по-видимому, и обуславливает интерес исследователей к изучению уровня экспрессии гена SAT1 и его полиморфизма [8, 9].

Проведенное нами исследование выявило зависимость между уровнем нейротрофического белка SAT1 в периферической крови и суицидальным поведением, которое также имело гендерные различия. У мужчин сниженный уровень SAT1 являлся индикатором истинно суицидального поведения, у женщин — индикаторами парасуицидального, в том числе и суицидального поведения. Однако отсутствие изменений в показателях нейротрофического белка SAT1 не исключало вероятности совершения суицида у лиц женского пола. Следует отметить, что ранее проведенные исследования у лиц мужского пола выявили повышенную экспрессию гена SAT1, что может рассматриваться как подтверждение выводов нашего исследования в отношении лиц мужского пола.

Заключение

1. Уровень нейротрофических белков BDNF и SAT1 в периферической крови может использо-

ваться как прогностический показатель суицидального риска у мужчин и женщин, обращающихся за психиатрической помощью.

2. Зависимость между уровнем нейротрофических белков и суицидальным поведением имеет гендерные различия.

3. У лиц мужского пола сниженный уровень содержания BDNF является индикатором любого суицидального поведения, сниженный уровень SAT1 – индикатором истинно суицидального поведения. У лиц женского пола сниженные уровни BDNF и SAT1 являются индикаторами парасуицидального поведения.

Работа выполнена в рамках НИР «Изучить молекулярно-генетические предикторы суицидального поведения с целью разработки диагностических критериев повышенного риска суицида» Государственная программа научных исследований «Фундаментальные и прикладные науки – медицине» на 2016–2020 годы. (№ государственной регистрации: 20161106).

Список цитированных источников

1. Predicting suicidal behavior: are we really that far along? Comment on “Discovery and validation of blood biomarkers for suicidality” / H. Blasco-Fontecilla [et al.] // *Curr. Psychiatry Rep.* – 2013. – Vol. 15, № 424. doi: 10.1007/s11920-013-0424-x.
2. Understanding Suicide: From Diagnosis to Personalized Treatment. Biomarkers of Suicide: Predicting the Predictable? / P. Courtet [et al.] – Springer International Publishing Switzerland, 2016. – 444 p. doi: 10.1007/978-3-319-26282-6_7.
3. Biomarkers to Predict Risk, Classify Diagnostic Subtypes, and Identify Novel Therapeutic Targets: 5 Years of Promising Research. / J. N. Johnston [et al.] // *Int. J. Neuropsychopharm.* – 2022. – Vol. 25, № 3. – P. 197–214. doi: 10.1093/ijnp/pyab083.
4. Association between BDNF levels and suicidal behaviour: A systematic review protocol. / R. Eisen [et al.] // *Systematic Reviews.* – Vol. 4, № 1. – P. 56. doi:10.1186/s13643-015-0047-x.
5. Fiori, L. M. Identification and characterization of spermidine/spermine N1-acetyltransferase promoter variants in suicide completers. / L. M. Fiori, N. Mechawar, G. Turecki. // *Biol. Psychiatry.* – 2009. – Vol. 66, № 5. – P. 460–467. doi: 10.1016/j.biopsych.2009.04.002.

6. Давидовский, С. В. Особенности суицидального поведения среди жителей г. Минска / С. В. Давидовский // Здравоохранение. – 2016. – № 3. – С. 72–77.
7. Price, R. M. Distribution-Free Confidence Intervals for Difference and Ratio of Medians \ R. M. Price // Journal of Statistical Computation and Simulation. – 2002. – Vol. 72, № 2. – P. 119–124.
8. Discovery and validation of blood biomarkers for suicidality \ H. Le-Niculescu [et al.] // Mol. Psychiatry. – 2013. – Vol. 18. – P. 1249–1264.
9. Understanding and predicting suicidality using a combined genomic and clinical risk assessment approach / A. B. Niculescu [et al.] // Mol. Psychiatry. – 2015. – Vol. 20. № 11. – P. 1266–1285.
- 4 Eisen R, Perera S, Bawor M, Banfield L, Anglin R, Minuzzi L, Samaan Z. Association between BDNF levels and suicidal behaviour: a systematic review protocol. *Syst Rev*. 2015 Apr 24;4:56. doi: 10.1186/s13643-015-0047-x.
- 5 Fiori LM, Mechawar N, Turecki G. Identification and characterization of spermidine/spermine N1-acetyltransferase promoter variants in suicide completers. *Biol Psychiatry*. 2009 Sep 1;66(5):460-7. doi: 10.1016/j.biopsych.2009.04.002.
- 6 Davidovski SV. Osobennost' suitsidal'nogo povedeniya zhitelei g. Minska [Features of suicidal behavior among residents of Minsk]. *Zdravoohraneniya. [Healthre]*. 2016; 3: 72-77. (in Russian)
- 7 Price RM. Distribution-Free Confidence Intervals for Difference and Ratio of Medians. *Journal of Statistical Computation and Simulation*. 2002; 72(2):119-124.
- 8 Le-Niculescu H, Levey DF, Ayalew M, Palmer L, Gavrin LM, Jain N, Winiger E, Bhosrekar S, Shankar G, Radel M, Bellanger E, Duckworth H, Olesek K, Vergo J, Schweitzer R, Yard M, Ballew A, Shekhar A, Sandusky GE, Schork NJ, Kurian SM, Salomon DR, Niculescu AB 3rd. Discovery and validation of blood biomarkers for suicidality. *Mol Psychiatry*. 2013 Dec;18(12):1249-64. doi: 10.1038/mp.2013.95.
- 9 Niculescu AB, Le-Niculescu H, Levey DF, Phalen PL, Dainton HL, Roseberry K, Niculescu EM, Niezer JO, Williams A, Graham DL, Jones TJ, Venugopal V, Ballew A, Yard M, Gelbart T, Kurian SM, Shekhar A, Schork NJ, Sandusky GE, Salomon DR. Precision medicine for suicidality: from universality to subtypes and personalization. *Mol Psychiatry*. 2017 Sep;22(9):1250-1273. doi: 10.1038/mp.2017.128.

References

- 1 Blasco-Fontecilla H, Lopez-Castroman J, Giner L, Baca-Garcia E, Oquendo MA. Predicting suicidal behavior: are we really that far along? Comment on "Discovery and validation of blood biomarkers for suicidality". *Curr Psychiatry Rep*. 2013 Dec;15(12):424. doi: 10.1007/s11920-013-0424-x.
- 2 P. Courtet (ed.), Understanding Suicide: From Diagnosis to Personalized Treatment. Biomarkers of Suicide: Predicting the Predictable? Springer International Publishing Switzerland, 2016, 444 p. doi: 10.1007/978-3-319-26282-6_7
- 3 Johnston JN, Campbell D, Caruncho HJ, Henter ID, Ballard ED, Zarate CA. Suicide Biomarkers to Predict Risk, Classify Diagnostic Subtypes, and Identify Novel Therapeutic Targets: 5 Years of Promising Research. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2022 Mar 17;25(3):197-214. doi: 10.1093/ijnp/pyab083.

METHOD OF STUDYING NEUROTROPHIC PROTEIN'S BDNF AND SAT1 CONTENT IN BLOOD PLASMA OF PEOPLE WHO HAVE COMMITTED ATTEMPTED SUICIDE

S. V. Davidovsky¹, Zh. A. Ibragimova², A. V. Goncharik², L. V. Kartun²,
L. V. Chodosovskaya², S. E. Semerichina, Y. S. Davidouskya²

¹Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Introduction. At present the possibility of using biomarkers when evaluating risks of suicide is discussed.

Objective: to establish a potential correlation between neurotrophic protein's BDNF and SAT1 content in peripheral blood and expression of suicidal behavior.

Materials and methods. Three groups were formed: people showing genuine suicidal behavior; people who have committed a various degree self-harm (parasuicide); people who have been diagnosed with «Adjustment disorder» and haven't committed attempted suicide before.

To determine neurotrophic protein's BDNF and SAT1 content in blood plasma method of immunoenzymatic analysis was done, a spectrophotometer Stat Fax 2100 was used according to manufacturer's instructions for a diagnostic kit.

Results. The revealed regularities depended on gender. In males a low level of BDNF indicated any type of suicidal behavior, in women it indicated a parasuicidal behavior.

A low level of SAT1 protein in males is an indicator of a genuine suicidal behavior, in women – parasuicidal including genuine suicidal behavior. However, absence of changes in neurotrophic protein's SAT1 indicators didn't exclude a possibility of committing suicide in women.

Conclusion. Determining of neurotrophic protein's BDNF and SAT1 content in peripheral blood can be used to indicate a potential suicidal behavior.

Keywords: suicidal, suicidal attempt, BDNF, SAT1.

For citation: Davidovsky SV, Ibragimova ZhA, Goncharik AV, Kartun LV, Chodosovskaya LV, Semerichina SE, Davidouskya YS. Method of studying neurotrophic protein's bdnf and sat1 content in blood plasma of people who have committed attempted suicide. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2023, vol. 2, no. 2(3). pp. 50–53 (in Russian).

Поступила 22.08.2022

ЭФФЕКТЫ КОМПЛЕКСНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ И ГИПОДИНАМИИ НА ДОФАМИНЕРГИЧЕСКУЮ СИСТЕМУ ГОЛОВНОГО МОЗГА

*А. Е. Мамедова, В. В. Лелевич
Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Введение. В патогенезе алкогольной интоксикации и гиподинамии важная роль отводится изменению содержания дофамина. Ввиду того, что ранее изучалось лишь их однофакторное влияние на головной мозг, актуальным является моделирование комплексного воздействия указанных факторов на дофаминергическую систему головного мозга.

Цель исследования. Изучить характер изменений дофамина, его предшественников и метаболитов в стриатуме и среднем мозге крыс при совместном действии хронической алкогольной интоксикации и гиподинамии.

Материалы и методы. Моделирование гиподинамии проводилось путем помещения крыс в индивидуальные клетки-пеналы на сроки 14 и 28 суток. При моделировании хронической алкогольной интоксикации экспериментальным животным предоставлялся раствор этанола в качестве единственного источника жидкости в течение 14 и 28 суток.

Результаты. Алкогольная интоксикация сроком 14 суток приводила к падению уровня гомованилиновой кислоты (ГВК) в среднем мозге. Алкоголизация на фоне гиподинамии в течение 14 дней сопровождается снижением уровня ГВК и 3,4-диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК) в стриатуме. При 28-суточном комплексном воздействии указанных факторов в обоих отделах мозга отмечено падение концентрации ГВК.

Заключение. Гиподинамия (14 и 28 суток) не сопровождалась значимыми изменениями изучаемых показателей. Алкогольная интоксикация сроком 14 суток приводила к росту концентрации метаболитов дофамина в стриатуме. Комплексное воздействие указанных факторов в течение 28 дней приводило к снижению активности дофаминергической системы головного мозга крыс.

Ключевые слова: Хроническая алкогольная интоксикация, мозг, двигательная депривация.

Для цитирования: Эффекты комплексного воздействия хронической алкоголизации и гиподинамии на дофаминергическую систему головного мозга / А. Е. Мамедова, В. В. Лелевич // Биохимия и молекулярная биология. – 2023. – Т. 2, № 2(3). – С. 54–59.

Введение

Алкоголь является одним из наиболее широко используемых психоактивных веществ в мире. Согласно ВОЗ, в 2016 г. в результате вредного употребления этанола умерло более 3 миллионов человек, т.е. каждый двадцатый случай смерти был связан с алкоголем. Вызванные им изменения в работе головного мозга могут привести к нарушению когнитивных функций и изменению поведения. Более того, эти изменения являются важными факторами, способствующими развитию расстройств, связанных со злоупотреблением алкоголя и зависимостью [1].

Этанол – жирорастворимое нейротропное вещество, проникающее через гематоэнцефалический барьер и угнетающее функции центральной нервной системы (ЦНС) [2]. Он является токсичным для мозга соединением. Этиология и патогенез алкогольной зависимости являются результатом сложного взаимодействия биологических, психологических и социально-средовых факторов.

Нейротрансмиттеры ЦНС играют важную роль в развитии алкогольной зависимости. Установлен широкий спектр нейромедиаторов, связанных с метаболизмом алкоголя, включая дофамин, серотонин, γ -аминомасляную кислоту, глутамат, ацетилхолин, норадреналин другие [1]. Среди них важная роль в развитии алкогольной зависимости принадлежит биогенным аминам, которые представляют собой низкомолекулярные азотсодержащие соединения. Они образуются путем декарбоксилирования аминокислот или путем аминирования и переаминирования альдегидов и кетонов в ходе нормальных метаболических процессов в живых клетках и поэтому повсеместно распространены у животных, растений, микроорганизмов и человека [3].

Дофамин образуется под действием декарбоксилазы ароматических аминокислот из 3,4-диоксифенилаланина (ДОФА) [4]. Основным местонахождением тел дофаминергических нейронов является средний мозг. Здесь берут начало несколько

дофаминергических систем (путей), основными из которых являются:

– nigростриатная система (проекции нейронов направлены в стриатум, вырабатывается 80 % всего дофамина головного мозга);

– мезокортикальная система (основные проекции достигают коры больших полушарий);

– мезолимбическая система (дает большое количество различных проекций; особое влияние оказывает на лобную кору и гипоталамус) [5, 6].

Дофаминовые рецепторы входят в большое семейство рецепторов, связанных с G-белком. Выделяют пять подтипов рецепторов дофамина: D1, D2, D3, D4 и D5 [4]. По влиянию на синтез цАМФ эти рецепторы можно разделить на две группы:

1) D₁-подобные рецепторы (относятся D1- и D5-рецепторы) – связаны с G_s-белками и при взаимодействии с дофамином активируют аденилатциклазу.

2) D₂-подобные рецепторы (относятся D2-, D3- и D4-рецепторы) – связаны с G_i-белками и оказывают ингибирующее действие на аденилатциклазу, снижая уровень цАМФ [6, 7].

Разрушение nigростриарных клеток при болезни Паркинсона приводит к выраженному двигательному дефициту, что сопровождается сильным снижением содержания дофамина в стриатуме [4]. Это указывает на особое значение дофамина в регуляции произвольной двигательной активности. Кроме того, через контроль лобноподкорковых кругов, замыкающихся через гипоталамус, дофамин может влиять на когнитивные процессы, связанные с лобными долями [8]. Влияние нейронов черной субстанции на функциональное состояние стриатума опосредовано D1- и D2-рецепторами дофамина.

Движение является естественной потребностью организма [9]. Снижение двигательной активности приводит к ряду патологических изменений в организме человека. В первую очередь снижается нагрузка на мышечную, нервную и сердечно-сосудистую системы, вследствие чего в мышцах активируются катаболические процессы, снижается проприоцептивная чувствительность в них, нарушается точность и координация движений, уменьшается тонус сосудов и масса миокарда [10].

Данные о влиянии гиподинамии на содержание дофамина и его метаболитов в головном мозге крыс у разных исследователей несколько отличаются и зависят от сроков обездвиживания животных и используемых методов экспериментального моделирования, но во многом сводятся к тому, что двигательная депривация сопровождается снижением концентрации дофамина в мозге [11].

Влияние хронической алкогольной интоксикации на дофаминергическую систему хорошо изучено и продолжает изучаться. Установлено, что этанол приводит к интенсивному выбросу из депо дофамина с повышением продуктов его распада и при длительной алкогольной интоксикации его дефицит может носить угрожающих характер [12].

Гиподинамия и алкогольная зависимость на сегодняшний день являются одними из самых актуальных проблем. Рост заболеваемости и смертности от этих патологических состояний указывает на необходимость дальнейшего изучения механизмов их развития. Однако в человеческой популяции часто происходит наслаивание эффектов хронической алкогольной интоксикации на гиподинамию. Авторы не смогли найти в доступной литературе какие-либо исследования, посвященные комплексному воздействию этих двух факторов на организм человека. Ввиду того, что дофамин имеет важное значение как в развитии алкогольной зависимости, так и в регуляции двигательной активности, актуальным является изучение состояния дофаминергической системы головного мозга при сочетанном воздействии этих двух факторов.

Цель исследования. Установить характер изменений уровня дофамина, его предшественников и метаболитов при комплексном воздействии хронической алкогольной интоксикации и гиподинамии.

Материалы и методы

Опыты проводились на беспородных белых крысах-самцах массой 180–200 г. Возраст животных на момент включения в экспериментальную модель составил 2 месяца. Моделирование гиподинамии проводилось путем помещения крыс в индивидуальные клетки-пеналы, ограничивающие их подвижность, на сроки 14 и 28 суток [10]. Контрольная группа животных находилась в общей клетке с обычным двигательным режимом.

При моделировании хронической алкогольной интоксикации на фоне гиподинамии экспериментальным животным предоставлялся раствор этанола в качестве единственного источника жидкости в течение 14 и 28 суток. В течение первой недели использовался 10 % раствор этанола, в течение второй недели – 15 %, в течение третьей недели и далее – 20 %. Средняя степень потребления в группах с хронической алкогольной интоксикацией (ХАИ) составила 8,4–9,2 г/кг массы тела, а в группах с комплексным воздействием гиподинамии и ХАИ (ГД+ХАИ) – 10,2–11,3 г/кг.

Были сформированы следующие экспериментальные группы: 1-я – контроль, 2-я – гиподинамия 14 суток (ГД-14), 3-я – гиподинамия 28 суток (ГД-28), 4-я – хроническая алкогольная интоксика-

ция сроком 14 суток (ХАИ-14), 5-я – хроническая алкогольная интоксикация сроком 28 суток (ХАИ-28), 6-я – гиподинамия + ХАИ 14 суток (ГД+ХАИ-14), 7-я – гиподинамия + ХАИ 28 суток (ГД+ХАИ-28).

Декапитацию проводили на 15-е и 29-е сутки. Все манипуляции выполнялись в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

После декапитации извлекали отделы мозга и замораживали их в жидком азоте. Определение содержания компонентов дофаминергической системы проводилось с использованием ион-парной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) хлорнокислых экстрактов ткани с детектированием по природной флуоресценции в своей модификации [13]. Идентификацию определяемых соединений и количественную обработку хроматограмм проводили по методу внутреннего стандарта. Смесь стандартов включала: тирозин, ДОФА, дофамин, ГВК, ДОФУК и норадреналин в концентрациях 1 мкмоль/л. Обработку хроматограмм проводили с помощью программы Agilent ChemStation C.01.05 с ручной коррекцией базовой линии, в режиме расчета по внутреннему стандарту с использованием одноуровневой калибровки.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q) с применением t-критерия Стьюдента для независимых выборок после контроля нормальности распределения с помощью критерия Колмагорова-Смирнова. В случае отклонения распределения от нормального достоверность различий проверяли с помощью теста Краскела-Уоллиса и критерия Манна-Уитни. Для удобства все показатели выражали в виде медианы (Me) и квартилей (25, 75 %). Достоверно значимыми различия между группами считали при $p < 0,05$.

Результаты

Согласно полученным данным, при моделировании гиподинамией сроком 14 суток (таблица) в среднем мозге и стриатуме головного мозга крыс наблюдалось статистически значимое снижение концентрации тирозина по сравнению с контролем. Падение уровня тирозина может быть связано, с тем, что при гиподинамии содержание свободных аминокислот в плазме крови за счет распада мышечных белков повышается, что приводит к конкуренции между ароматическими аминокислотами и аминокислотами с разветвленной углеводородной цепью за транспортер нейтральных аминокислот [14]. Кроме того, данные изменения мо-

гут быть связаны с увеличением участия тирозина в других метаболических путях. Несмотря на достоверные изменения концентрации тирозина, уровень основного предшественника дофамина – ДОФА – не изменялся по сравнению с контролем в изученных отделах головного мозга крыс ни в одной экспериментальной группе.

При удлинении срока двигательной депривации до 28 суток (таблица) уровень тирозина в обоих отделах мозга продолжал падать по сравнению с контролем. В среднем мозге также отмечалось снижение уровней ДОФА, дофамина, ДОФУК и норадреналина по отношению ко 2-й группе, а в стриатуме – лишь тирозина.

Хроническая алкогольная интоксикация сроком 14 суток приводила к повышению концентрации тирозина в обоих отделах головного мозга крыс по сравнению с контрольной группой. В среднем мозге содержание ГВК также было выше, чем в контроле, что в определенной степени указывает на усиление выброса дофамина в синаптическую щель с последующей деградацией. Другие авторы отмечают рост уровня ГВК на данных сроках в стволе мозга [12]. На 28-е сутки ХАИ содержание тирозина как в среднем мозге, так и в стриатуме возвращалось к контрольным значениям (уровень тирозина статистически значимо был ниже, чем в группе ХАИ-14). В то же время концентрации ГВК и ДОФУК в среднем мозге также были достоверно меньше, чем в группе ХАИ-14.

Комплексное воздействие хронической алкогольной интоксикации и гиподинамии сроком 14 суток сопровождалось снижением в среднем мозге концентрации тирозина по сравнению с контролем. Содержание тирозина и ДОФУК при этом было ниже, чем в группах ГД-14 и ХАИ-14. В стриатуме уровень тирозина ГВК и ДОФУК падал по отношению к контролю, концентрация тирозина была ниже, чем во группе ГД-14, а тирозина и ГВК – чем в группе ХАИ-14. Данные изменения могут говорить о снижении выброса дофамина в синаптическую щель и/или его деградации.

При увеличении срока хронической алкогольной интоксикации на фоне гиподинамии до 28 суток в среднем мозге наблюдалось падение содержания тирозина и ГВК по сравнению с контролем. Уровень тирозина и ДОФА был ниже, чем в группе ХАИ-28. В стриатуме данные экспериментальные условия сопровождалось уменьшением содержания тирозина, 3-метокситирамина и ГВК по отношению к контролю и группе ХАИ-28, а также снижением концентрации ГВК по сравнению с группой ГД-28. Снижение уровня 3-метокситирамина, который определялся нами только в стриатуме,

Таблица – Содержание компонентов дофаминергической системы (нмоль/г) в среднем мозге и стриатуме крыс при ХАИ на фоне гиподинамии (медиана, 1-й и 3-й квартили)

Table – Content of components of the dopaminergic system (nmol/g) in the midbrain and striatum of rats during chronic alcohol intoxication against the background of physical inactivity (median, 1st and 3rd quartiles)

Показатель	контроль	ГД-14	ГД-28	ХАИ-14	ХАИ-28	ГД+ХАИ-14	ГД+ХАИ-28
Средний мозг							
Тирозин	88,09 (79,73; 121,15)	62,54 * (59,29; 72,73)	54,56 * ° (48,71; 60,58)	135,38 * (121,59; 138,45)	100,51 • (91,83; 116,32)	50,52 * ° • (44,88; 59,53)	55,72 * ■ (51,06; 62,13)
ДОФА	0,07 (0,05; 0,08)	0,09 (0,06; 0,12)	0,05 ° (0,04; 0,08)	0,10 (0,06; 0,12)	0,08 (0,07; 0,13)	0,07 (0,05; 0,09)	0,04 ■ (0,03; 0,06)
Дофамин	0,51 (0,45; 0,66)	0,62 (0,57; 0,85)	0,54 ° (0,42; 0,60)	0,78 (0,49; 0,82)	0,69 (0,62; 0,77)	0,43 (0,37; 0,70)	0,42 (0,36; 0,51)
ГВК	0,87 (0,45; 1,64)	1,44 (0,50; 1,90)	1,17 (0,78; 2,07)	1,72 * (1,46; 1,93)	0,88 • (0,52; 1,31)	1,26 (0,83; 1,65)	0,70 * (0,54; 1,37)
ДОФУК	2,44 (0,96; 4,23)	3,23 (1,62; 6,19)	1,36 ° (1,23; 1,99)	3,44 (2,99; 6,85)	1,90 • (1,40; 2,58)	2,39 ° • (1,47; 2,60)	1,70 (1,37; 2,63)
Норадреналин	10,24 (8,77; 11,70)	11,37 (10,86; 13,30)	9,85 ° (7,25; 10,83)	9,83 (8,33; 10,88)	10,57 (8,00; 14,40)	8,90 (3,04; 11,80)	10,66 (6,91; 11,87)
Стриатум							
Тирозин	121,05 (106,34; 144,89)	87,21 * (80,56; 92,17)	76,59 * ° (65,68; 84,40)	169,67 * (160,42; 208,85)	127,72 • (125,50; 159,32)	77,18 * • (65,91; 87,12)	82,40 * ■ (66,60; 86,58)
ДОФА	0,11 (0,08; 0,15)	0,08 (0,07; 0,13)	0,14 (0,07; 0,15)	0,12 (0,07; 0,18)	0,19 (0,12; 0,27)	0,11 (0,09; 0,16)	0,13 (0,10; 0,17)
Дофамин	80,52 (62,75; 93,50)	87,12 (74,16; 94,35)	85,63 (81,06; 96,72)	78,42 (63,13; 90,40)	78,98 (70,40; 88,38)	66,88 (47,46; 93,23)	64,39 (57,53; 83,22)
3-метокси-тирамин	2,29 (2,17; 3,02)	2,30 (1,93; 2,71)	2,20 (2,07; 2,59)	2,40 (2,05; 2,61)	2,75 (2,39; 2,92)	1,91 (1,39; 2,49)	1,87 * ■ (1,33; 2,17)
ГВК	3,38 (2,68; 4,68)	3,17 (2,41; 3,77)	3,20 (2,79; 3,57)	2,58 (2,41; 2,76)	3,49 (2,56; 4,09)	2,20 * ° • (1,83; 2,50)	2,72 * Δ ■ (2,36; 4,21)
ДОФУК	13,62 (9,97; 17,24)	12,30 (10,44; 15,20)	13,69 (9,48; 21,59)	11,88 (7,55; 14,07)	13,49 (12,29; 22,37)	10,03 * (6,60; 12,68)	13,92 (10,01; 21,87)
Норадреналин	2,06 (1,50; 2,57)	2,82 (1,83; 4,05)	1,59 (1,16; 2,57)	2,72 (2,29; 2,87)	1,60 (1,07; 2,74)	2,46 (2,06; 2,87)	2,67 (1,83; 3,58)

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; ° – $p < 0,05$ по сравнению со 2-й группой; Δ – $p < 0,05$ по сравнению с 3-й группой; • – $p < 0,05$ по сравнению с 4-й группой; ■ – $p < 0,05$ по сравнению с 5-й группой.

Note: * – $p < 0.05$ compared to the control group; ° – $p < 0.05$ compared to group 2; Δ – $p < 0.05$ compared with group 3; • – $p < 0.05$ compared to group 4; ■ – $p < 0.05$ compared to group 5.

в определенной степени указывает на снижение синаптического выброса дофамина.

Поскольку именно в стриатуме наблюдаются более выраженные изменения (нигростриатная дофаминергическая система), связанные с нарушениями двигательной активности, следствием

этого, скорее всего, будет являться изменение афферентной и эфферентной импульсации в ЦНС, что может привести к нарушению точной проприоцептивной чувствительности в мышцах, а также к нарушению точности и координации движений.

Заключение

1. При гиподинамии (14-28 суток) содержание метаболитов дофаминергической системы в стриатуме и среднем мозге не отличается от контрольных значений.

2. Хроническая алкогольная интоксикация сопровождается снижением уровня ГВК и повышением концентрации тирозина при краткосрочном воздействии (14 суток). Остальные изученные показатели при ХАИ-14 и ХАИ-28 статистически значимо по сравнению с контролем не изменялись.

3. Алкоголизация на фоне гиподинамии в течение 14 дней сопровождается снижением уровня тирозина и ГВК в стриатуме, что является признаком снижения активности дофаминергической системы. На увеличение сроков сочетанного воздействия хронической алкогольной интоксикации и гиподинамии до 28 суток оба отдела головного мозга крыс реагируют снижением концентрации тирозина и ГВК, а в стриатуме еще и 3-метокситирамина. Поскольку нигростриатная система отвечает за схему произвольной двигательной активности, то наблюдаемые изменения, скорее всего, будут приводить к нарушению точности и координации движений экспериментальных животных.

Список цитированных источников

1. Ма, Н. The dopamine system and alcohol dependence / Н. Ма, G. Zhu // *Shanghai archives of psychiatry*. – 2014. – Vol. 26, № 2. – P. 61–68. doi.10.3969/j.issn.1002-0829.2014.02.002.
2. Зиматкин, С. М. Окисление этанола в мозге / С. М. Зиматкин // *Журнал ГрГМУ*. – 2007. – № 3. – С. 17–20.
3. Charlet, K. The dopamine system in mediating alcohol effects in humans / K. Charlet, A. Beck, A. Heinz // *Curr. Top. Behav. Neurosci.* – 2013. – Vol. 13. – P. 461–488. doi.10.1007/7854_2011_130.
4. Latif, S. Dopamine in Parkinson's disease / S. Latif [et al.] // *Clin. Chim. Acta*. – 2021. – Vol. 522. – P. 114–126. Doi.10.1016/j.cca.2021.08.009.
5. Циркин, В. И. Роль дофамина в деятельности мозга / В. И. Циркин, В. И. Бакаев, Б. Н. Бейн // *Вятский медицинский вестник*. – 2010. – № 1. – С. 7–18.
6. Колотилова, О. И. Дофаминергическая система мозга / О. И. Колотилова, И. И. Кореньюк, Д. Р. Хусаинов, И. В. Черетаев // *Вестник Брянского университета*. – 2014. – № 6. – С. 97–106.
7. Klein, M.O. Dopamine: functions, signaling, and association with neurological diseases / M. O. Klein [et al.] // *Cell. Mol. Neurobiol.* – 2019. – Vol. 39, № 1. – P. 31–59. doi.10.1007/s10571-018-0632-3.
8. Левин, О. С. Дофаминергические системы в развитии когнитивных нарушений у пожилых: диагностические и терапевтические аспекты / О. С. Левин // *Неврология и ревматология*. – 2012. – № 1. – С. 26–29.
9. Liegro, C. M. D. Physical activity and brain health / C. M. D. Liegro, G. Schiera, P. Proia, I. D. Liegro // *Genes (Basel)*. – 2019. – Vol. 9, № 10. – P. 1–40. doi: 10.3390/genes10090720.
10. Федоров, И. В. Проблемы космической биологии. Обмен веществ при гиподинамии / И. В. Федоров. — М.: Наука, 1982. – Т. 44. – 254 с.

11. Мамедова, А. Е. Дофаминергическая система гипоталамуса и стриатума головного мозга крыс при комплексном воздействии гиподинамии и острой алкогольной интоксикации / А. Е. Мамедова, В. В. Лелевич, Е. М. Дорошенко // *Журнал ГрГМУ*. – 2021. – Т. 19, № 4. – С. 428–433. doi.10.25298/2221-8785-2021-19-4-428-433.
12. Лелевич, С. В. Центральные и периферические механизмы алкогольной и морфиновой интоксикации: монография / С. В. Лелевич. – Гродно: ГрГМУ, 2015. – 252 с.
13. Дорошенко, Е. М. Биогенные моноамины, их предшественники и метаболиты в мозге крыс при экспериментальной недостаточности кровообращения / Е. М. Дорошенко, Лелевич В. В. // *Нейрохимия*. – 2020. – Т. 37, № 3. – с. 240–248. doi.10.31857/S1027813320030036.
14. Fernstrom, J. D. Large neutral amino acids: dietary effects on brain neurochemistry and function / J. D. Fernstrom // *Amino Acids*. – 2013. – Vol. 45. – P. 419–430. doi.10.1007/s00726-012-1330-y.

References

1. Ma H, Zhu G. The dopamine system and alcohol dependence. *Shanghai archives of psychiatry*. 2014;6(2):61–68. doi: 10.3969/j.issn.1002-0829.2014.02.002.
2. Zimatkin SM. Okislenie etanola v mozge. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of the Grodno State Medical University]. 2007;3:17–20. (Russian).
3. Charlet K, Beck A, Heinz A. The dopamine system in mediating alcohol effects in humans. *Curr. Top. Behav. Neurosci.* 2013;13:461–488. doi: 10.1007/7854_2011_130.
4. Latif S, Jahangeer DM, Razia M, Ashiq A, Ghaffar M, Akram AE, Allam A, Bouyahya L, Garipova MA, Shariati M, Thiruvengadam MA. Ansari Dopamine in Parkinson's disease. *Clin. Chim. Acta*. 2021;522:114–126. doi: 10.1016/j.cca.2021.08.009.
5. Cirkin VI, Bakaev VI, Bejn BN. Rol dofamina v deyatelnosti mozga [The role of dopamine in brain activity]. *Vyatskij medicinskij vestnik* [Vyatka Medical Bulletin]. 2010;1:7–18. (Russian).
6. Kolotilova OI, Korenyuk II, Husainov DR, Chereetaev IV. Dofaminergicheskaya sistema mozga [Dopaminergic system of the brain]. *Vestnik Bryanskogo universiteta* [Bryansk University Bulletin]. 2014;6:97–106. (Russian).
7. Klein MO, Battagello DS, Cardoso AR, Hauser DN, Bittencourt JC, Correa RG. Dopamine: functions, signaling, and association with neurological diseases. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2019;39(1):31–59. doi: 10.1007/s10571-018-0632-3.
8. Levin OS. Dofaminergicheskie sistemy v razvitiy kognitivnyh narusheniy u pozhilyh: diagnosticheskie i terapevticheskie aspekty [Dopaminergic systems in the development of cognitive impairment in the elderly: diagnostic and therapeutic aspects]. *Nevrologiya i revmatologiya* [Neurology and rheumatology]. 2012;1:26–29. (Russian).
9. Liegro CMD, Schiera G, Proia P, Liegro ID. Physical activity and brain health. *Genes (Basel)*. 2019;9(10):1–40. doi: 10.3390/genes10090720.
10. Fedorov IV. *Problemy kosmicheskoy biologii. Obmen veshchestv pri gipodinamii*. М.: Nauka, 1982. Т. 44. 254 p. (Russian).
11. Mamedova AE, Lelevich VV, Doroshenko EM. Dofaminergicheskaya sistema gipotalamusa i striatuma golovnogogo mozga krysa pri kompleksnom vozdejstvii gipodinamii i ostroj alkohol'noj intoksikacii [Dopaminergic system of the hypothalamus and striatum of the rat brain with the combined effects of acute alcohol intoxication and physical inactivity]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo*

- medicinskogo universiteta* [Journal of the Grodno State Medical University]. 2021;19(4):428-433. doi: 10.25298/2221-8785-2021-19-4-428-433. (Russian).
- 12 Lelevich SV. *Centralnye i perifericheskie mekhanizmy alkogolnoj i morfinovoj intoksikacii*. Grodno: GrGMU; 2015. 252 p. (Russian).
- 13 Doroshenko EM, Lelevich VV. Biogennye monoaminy, ih predshestvenniki i metabolity v mozge krysa pri eksperimentalnoj nedostatochnosti krovoobrashcheniya [Biogenic monoamines, their precursors and metabolites in the brain of rats with experimental circulatory failure]. *Nejrohimiya* [Neurochemistry]. 2020;37(3):240-248. doi: 10.31857/S1027813320030036. (Russian).
- 14 Fernstrom JD. Large neutral amino acids: dietary effects on brain neurochemistry and function. *Amino Acids*. 2013;45:419–430. doi: 10.1007/s00726-012-1330-y.

EFFECTS OF THE COMPLEX INFLUENCE OF CHRONIC ALCOHOLIZATION AND HYPODYNAMY ON THE DOPAMINERGIC SYSTEM OF THE BRAIN

*A. E. Mamedova, V. V. Lelevich
Grodno State Medical University,
Grodno, Republic of Belarus*

Introduction. In the pathogenesis of alcohol intoxication and physical inactivity, an important role is played by changes in the content of dopamine. In view of the fact that only their single-factorial effect on the brain was previously studied, it is relevant to model the complex effect of these factors on the dopaminergic system of the brain.

Objective. To study the nature of changes in dopamine, its precursors and metabolites in the striatum and midbrain of rats under the combined action of chronic alcohol intoxication and physical inactivity.

Materials and methods. Simulation of physical inactivity was carried out by placing rats in individual cages-pencil cases for periods of 14 and 28 days. When modeling chronic alcohol intoxication, experimental animals were provided with an ethanol solution as the only source of fluid for 14 and 28 days.

Results. Alcohol intoxication for 14 days led to a decrease in the level of homovanillic acid (HVA) in the midbrain. Alcoholization on the background of physical inactivity for 14 days is accompanied by a decrease in the level of HVA and 3,4-dioxyphenylacetic acid (DOPA) in the striatum. With a 28-day complex effect of these factors, a decrease in the concentration of HVA was noted in both parts of the brain.

Conclusion. Physical inactivity (14 and 28 days) wasn't accompanied by significant changes in the studied parameters. Alcohol intoxication for 14 days led to an increase in the concentration of dopamine metabolites in the striatum. The combined effect of these factors for 28 days led to a decrease in the activity of the dopaminergic system of the rat brain.

Keywords: Chronic alcohol intoxication, brain, motor deprivation.

For citation: Mamedova AE, Lelevich VV. Effects of the complex influence of chronic alcoholization and hypodynamy on the dopaminergic system of the brain. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2023, vol. 2, no. 2(3). pp. 54–59 (in Russian).

Поступила 12.01.2023

РЕАКЦИЯ МОНОАМИНЕРГИЧЕСКИХ СИСТЕМ ГИПОТАЛАМУСА НА ХРОНИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ ОБОРУДОВАНИЯ WI-FI

В. М. Щемелев, Н. В. Чуешова

*Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси,
Гомель, Республика Беларусь*

Резюме. В связи с широким распространением источников электромагнитных полей (мобильные телефоны, устройства Wi-Fi) возник вопрос о безопасности воздействия данного вида излучения для организма.

Цель исследования. Оценка состояния дофамин- и серотонинергической систем гипоталамуса в условиях хронического воздействия электромагнитного поля оборудования Wi-Fi.

Материалы и методы. Проводили разделение биогенных аминов и родственных соединений в хлорнокислых экстрактах гипоталамуса крыс-самцов при помощи ион-парной высокоэффективной жидкостной хроматографии с детектированием по флуоресценции.

Результаты. Полученные данные позволяют говорить о влиянии электромагнитного поля оборудования Wi-Fi (2,45 ГГц, ППЭ = 0,26-1,56 мкВт/см², 24 ч/сутки) на обмен нейромедиаторов дофаминергической системы гипоталамуса как молодого, так и взрослого организма.

Заключение. Выявленные изменения обмена биогенных аминов их предшественников и производных в гипоталамусе как основном регуляторе нейроэндокринных функций, указывают на способность хронического воздействия электромагнитного поля оборудования Wi-Fi вызывать развитие различных патологических состояний, включая нарушения поведенческих реакций, а также дисбаланса гормонального статуса организма.

Ключевые слова: Электромагнитное излучение, Wi-Fi, крысы-самцы, гипоталамус, биогенные амины, серотонин, дофамин.

Для цитирования: Реакция моноаминергических систем гипоталамуса на хроническое воздействие электромагнитного поля оборудования Wi-Fi / В. М. Щемелев, Н. В. Чуешова // Биохимия и молекулярная биология. – 2023. – Т. 2, № 2(3). – С. 60–65.

Введение

В последние десятилетия электромагнитные поля (ЭМП) стали глобальным физическим фактором производственной среды, намного превышающим естественный электромагнитный фон, обусловленный резким увеличением количества источников электромагнитной энергии, к которым, в первую очередь, относятся радиотехнические объекты систем радио- и телевидения, в том числе и носимые (беспроводные) системы связи в диапазоне радиочастот. Сотовые (мобильные) телефоны и устройства Wi-Fi как источники низкоинтенсивного электромагнитного излучения привлекают особое внимание с точки зрения электромагнитной безопасности для человека [1, 2].

Результаты многочисленных исследований показали, что нервная система является наиболее чувствительной к воздействию электромагнитного излучения (ЭМИ) [3]. Есть сведения, что ЭМП устройств подвижной сотовой связи могут вызывать структурные и функциональные изменения в центральной нервной системе (ЦНС), в том числе головные боли, потерю памяти, расстройство

режимов сна и бодрствования, повышенную нервозность, снижение познавательной активности, когнитивные расстройства и нейрогенез, как у людей, так и у животных [4–6].

В большом количестве работ биологический эффект, вызываемый воздействием низкоинтенсивных ЭМП, объясняют развертыванием процесса, получившего название окислительного стресса (ОС), возникающего в клетках в результате гиперпродукции активных форм кислорода (АФК) [7]. По мнению Dasdag S. (2015) и Pall M. L. (2018), активация кальциевых каналов, повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера, а также изменение экспрессии микроРНК лежат в основе развития нейродегенеративных изменений в тканях головного мозга при воздействии ЭМП [8, 4].

В единичных на данный момент исследованиях основное внимание сосредоточено на изменении метаболизма нейромедиаторов в различных отделах головного мозга как основном факторе развития индуцированных ЭМП нарушений, возникающих в ЦНС [3, 9]. Было показано изменение содер-

жания основных метаболитов, отражающих состояние моноаминергических систем, в частности, установлено снижение уровня дофамина (DA), серотонина (5-НТ) и норадреналина (NE) [10, 11], активности моноаминоксидазы [10] и транскрипции тирозин- и триптофангидроксилазы в гиппокампе [11].

Огромный интерес представляет изучение воздействия ЭМП диапазона радиочастот (РЧ) на уровни нейротрансмиттеров гипоталамуса как основного отдела головного мозга, играющего роль интеграционного центра между периферической и вегетативной нервной системами. В обзорах Ezz H.A. et al. (2013) и Li H.J. et al. (2015) отмечают важную роль DA в гипоталамусе как предшественника NE, так и в качестве фактора, регулирующего секрецию некоторых гормонов, а также 5-НТ, ответственного за регуляцию физиологических функций, таких как настроение, питание, познание, память, боль, сон и поддержание температуры тела, которые были зарегистрированы как индикаторы повреждения головного мозга, вызванного влиянием ЭМП РЧ. Тем не менее, приведенные результаты основаны на данных при кратковременном воздействии, тогда как в повседневной жизни человек подвергается круглосуточному воздействию ЭМП РЧ как дома, так и на работе и др. Это, в свою очередь, порождает необходимость в проведении исследований, направленных на изучение эффектов длительного (хронического) воздействия ЭМП РЧ на организм и на метаболизм нейромедиаторов структур головного мозга, в частности.

В связи с вышеизложенным, актуальным представляется изучение содержания биогенных аминов, их предшественников и производных в гипоталамусе как основном центре нейроэндокринной регуляции при хроническом воздействии ЭМП устройств Wi-Fi на организм в период его постнатального развития.

Цель исследования — изучить содержание нейромедиаторов дофамина и серотонина и их метаболитов в гипоталамусе самцов крыс различных возрастных групп в условиях хронического воздействия электромагнитного поля устройства Wi-Fi.

Материалы и методы

Исследования выполнены на 48 белых крысах самцах линии Вистар массой 160,14±2,10 грамма и возрастом 50-52 дня на начало эксперимента. Исследования выполнены в соответствии с этическими нормами обращения с животными с соблюдением рекомендаций и требований «Европейской конвенции по защите экспериментальных живот-

ных» (Страсбург, 86/609/ЕЕС от 24.11.1986 г.), Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996) и ТКП 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика», утвержденными постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь (№ 56 от 28.03.2008 г.).

Воздействие ЭМП производили на весь организм животных, модулируя нахождение человека в условиях постоянного нахождения в окружении ЭМП (дома, на работе, учебе и др.). Крысы подвергались воздействию ЭМП устройства Wi-Fi в течение 3, 6 или 9 месяцев. Контролем служили животные аналогичного возраста, содержавшиеся в идентичных условиях вивария, но без воздействия изучаемого фактора. В каждой группе было по 8 животных.

Источником ЭМП являлся маршрутизатор Netis. Облучение проводилось на несущей частоте 2,45 ГГц, 24 час/день. Расстояние от источника излучения (роутер) до клетки составляло 20 см. Роутер размещался в центральной части рабочей зоны, в которой находились 4 пластиковые клетки с животными. Во время облучения осуществлялся дистанционный контроль наличия электромагнитного поля. Плотность потока электромагнитной энергии (ППЭ) в клетке измерялась прибором ПЗ-41 и находилась в пределах 0,26-1,56 мкВт/см².

По окончании воздействия крыс декапитуировали, выделяли гипоталамус с немедленной глубокой заморозкой в жидком азоте. Затем выделенный биологический материал гомогенизировали в 10-кратном объеме экстракционной среды, содержащей 0,2 М HClO₄, 10 мг Na₂S₂O₅, 10 мг ЭДТА, 100 мкл 10 мМ/л ванилиновой кислоты, 212 мл H₂O, не допуская разморозки. Гомогенизацию проводили на холоде, с помощью ультразвукового гомогенизатора Biologics Model 3000. Полученную суспензию центрифугировали в течение 15 мин при 12000 g. Затем отбирали супернатант и хранили при -80° С для последующей процедуры.

Разделение биогенных аминов и родственных соединений проводили с помощью ион-парной высокоэффективной жидкостной хроматографии на оборудовании системы Agilent серии 1100 с детектированием по флуоресценции. Внутренним стандартом являлась ванилиновая кислота. Подвижной фазой являлся буферный раствор, содержащий 6 г NaH₂PO₄, 0,061 г гидрата октансульфоната натрия, 0,02 г EDTA, 26 мл ацетонитрила, 0,8 мл CH₃COOH в 500 мл деионизированной воды, профильтрованный через нейлоновый фильтр с размером пор 0,22 мкм. Используемая колонка Zorbax Eclipse Plus C18 Narrow Bore 2,1×150 mm; 3,5-

Micron (Agilent Technologies) термостатировалась при 28° С. Скорость потока 0,2 мл/мин. Детектирование: длина волны возбуждения 280 нм, излучения – 340 нм [12].

Идентификация определяемых соединений и количественная обработка хроматограмм проводилась с использованием метода внутреннего стандарта, с помощью программы ChemStation версии В.04.03.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием электронных таблиц Microsoft Office Excel 2016 и пакета статистических программ GraphPad Prism 8.3. Значимость наблюдаемых отличий двух независимых групп по количественному признаку оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни (Mann-Whitney, U-test). Данные представлены как медиана (Me – 50-й процентиль), интерквартильный интервал 25–75 % (LQ; UQ) и размах min-max. Различия считали статистически значимыми при вероятности ошибки менее 5 % ($p \leq 0,05$).

Результаты

Гипоталамус, являясь компонентом гипоталамо-гипофизарной системы, представляет собой регулятор нейроэндокринных функций, который посредством синтеза веществ, управляющих работой гипофиза и внутренних органов, осуществляет поддержание внутреннего гомеостаза организма. Кроме того, в его функции входит контроль поведения, памяти, эмоций [13].

По окончании 3 месяцев хронического воздействия ЭМП от оборудования Wi-Fi у крыс наиболее значительные изменения были установлены в со-

держании нейромедиаторов и метаболитов дофаминергической системы (таблица 1), а именно: снижение тирозина (Tyr) на 11,3 % ($p=0,04$), норадреналина (NE) на 11,7 % ($p=0,02$) и адреналина (E) на 36,1 % ($p=0,01$), тогда как концентрация диоксифенилаланина (DOPA) увеличена на 66,6 % ($p=0,01$) при сравнении с контрольным уровнем.

В большом количестве работ отмечено угнетающее действие ЭМП радиодиапазона на протекающие многих метаболических процессов. Установленное нами падение уровня тирозина может быть связано со снижением его поступления в головной мозг, однако ввиду увеличения содержания DOPA наиболее вероятным представляется рост активности его гидроксирования при действии тирозингидроксилазы [11].

Обнаруженное статистически значимое падение уровней NE и E может быть связано со снижением гидроксирования DA. Известно, что NE в головном мозге играет роль в различных процессах, таких как стресс, внимание, сон, воспаление и реакции вегетативной нервной системы. Недостаточный уровень NE и E может вызвать цепочку реакций, заключающуюся в снижении выработки кортикотропин-рилизинг гормона и синтеза адренотропного гормона, и, как следствие – к снижению активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [14].

Анализ полученных данных о содержании триптофана и его метаболитов, отражающих состояние серотонинергической системы гипоталамуса у животных, подвергнутых облучению на протяжении 3 месяцев, показал увеличение уровня Trp на 12,5 % ($p=0,04$) и снижение 5-HT на 7,9 % ($p=0,05$).

Таблица 1 – Содержание биогенных аминов (нМ/г ткани) в гипоталамусе крыс-самцов, подвергнутых воздействию ЭМП Wi-Fi на протяжении 3 месяцев

Table 1 – The content of biogenic amines (nM/g tissue) in the hypothalamus of male rats exposed to EMF Wi-Fi for 3 months

Изучаемые показатели	Экспериментальные группы		p
	Контроль	Wi-Fi	
Tyr	87,47(82,87; 89,98)	77,61 (75,45; 84,31)	0,04
DOPA	1,35(1,12; 1,98)	2,25 (1,90; 2,50)	0,01
DA	3,96(3,66; 4,14)	3,70(3,62; 4,03)	0,54
NE	17,58(16,10; 18,69)	15,52 (13,50; 16,34)	0,02
E	0,72(0,66; 0,78)	0,46 (0,35; 0,63)	0,01
Trp	28,42(26,93; 29,41)	31,98 (28,50; 33,69)	0,04
5-HTP	0,13(0,12; 0,15)	0,12(0,11; 0,14)	0,34
5-HT	18,27(17,73; 19,01)	16,82 (16,00; 19,95)	0,05
5-НПА	6,99(6,58; 7,58)	7,58(6,81; 7,97)	0,40

Примечание: p – уровень значимости различий к группе необлученных животных (Mann-Whitney, U-test); Tyr – тирозин; DOPA – диоксифенилаланин; DA – дофамин; NE – норадреналин; E – адреналин; Trp – триптофан; 5-HTP – 5-гидрокси-триптофан; 5-HT – 5-гидрокси-триптамин или серотонин; 5-НПА – 5-гидроксииндолуксусная кислота

Note: p – level of significance of differences in the group of non-irradiated animals (Mann-Whitney, U-test); Tyr – tyrosine; DOPA – dioxyphenylalanine; DA – dopamine; NE – norepinephrine; E – adrenaline; Trp – tryptophan; 5-HTP – 5-hydroxy-tryptophan; 5-HT – 5-hydroxytryptamine or serotonin; 5-НПА – 5-hydroxyindoleacetic acid

Повышенный уровень Trp может быть обусловлен как увеличением его поступления в мозг, так и снижением его гидроксирования в результате подавления активности триптофангидроксилазы.

Установлено, что хроническое воздействие ЭМП устройства Wi-Fi на животных в течение 6 месяцев не вызывает значительных изменений в обмене нейромедиаторов обеих моноаминергических систем гипоталамуса, в отличие от выраженных изменений, выявленных у более молодых животных (таблица 2).

Тем не менее, необходимо отметить статистически значимое снижение содержания Trp на 12,8 % ($p=0,01$) по сравнению со значениями, полученными для контрольной группы.

Таблица 2 – Содержание биогенных аминов (нМ/г ткани) в гипоталамусе крыс-самцов, подвергнутых воздействию ЭМП Wi-Fi на протяжении 6 месяцев

Table 2 – The content of biogenic amines (nM/g tissue) in the hypothalamus of male rats exposed to EMF Wi-Fi for 6 months

Исследуемые показатели	Экспериментальные группы		p
	Контроль	Wi-Fi	
Tyr	98,58(92,37; 106,5)	86,01 (76,25; 89,92)	0,01
DOPA	0,35(0,11; 0,85)	0,15(0,11; 0,16)	0,49
DA	3,61(3,33; 4,09)	3,92(3,29; 3,97)	0,93
NE	18,99(17,78; 20,76)	18,96(16,32; 20,29)	0,70
E	0,21(0,19;0,21)	0,18(0,13;0,27)	0,47
Trp	25,89(23,83; 26,15)	24,25(22,07; 25,47)	0,39
5-HTP	0,16(0,15; 0,17)	0,15(0,12; 0,16)	0,18
5-HT	12,89(11,26; 13,65)	12,36(10,77; 13,44)	0,39
5-НПА	5,20(4,81; 5,33)	5,23(4,47; 5,47)	0,94

Примечание: p – уровень значимости различий к группе необлученных животных (Mann-Whitney, U-test); Tyr – тирозин; DOPA – диоксифенилаланин; DA – дофамин; NE – норадреналин; E – адреналин; Trp – триптофан; 5-HTP – 5-гидрокси-триптофан; 5-HT – 5-гидрокситриптамин или серотонин; 5-НПА – 5-гидроксииндолуксусная кислота

Note: p – level of significance of differences in the group of non-irradiated animals (Mann-Whitney, U-test); Tyr – tyrosine; DOPA – dioxyphenylalanine; DA – dopamine; NE – norepinephrine; E – adrenaline; Trp – tryptophan; 5-HTP – 5-hydroxytryptophan; 5-HT – 5-hydroxytryptamine or serotonin; 5-НПА – 5-hydroxyindoleacetic acid

Таблица 3 – Содержание биогенных аминов (нМ/г ткани) в гипоталамусе крыс-самцов, подвергнутых воздействию ЭМП Wi-Fi на протяжении 9 месяцев

Table 3 – The content of biogenic amines (nM/g tissue) in the hypothalamus of male rats exposed to EMF Wi-Fi for 9 months

Исследуемые показатели	Экспериментальные группы		p
	Контроль	Wi-Fi	
Tyr	86,19(78,59; 89,64)	66,35 (58,92; 75,28)	0,01
DOPA	0,35(0,15;0,68)	0,46(0,26;0,49)	0,90
DA	2,14(1,93; 2,3)	1,81 (1,61; 1,91)	0,03
NE	17,88(15,97;19,69)	17,52(16,41;18,36)	0,68
E	0,12(0,11;0,15)	0,11(0,09;0,13)	0,39
Trp	26,31(23,45; 27,13)	22,64(20,80; 25,99)	0,06
5-HTP	0,12(0,11; 0,13)	0,11(0,10; 0,12)	0,18
5-HT	27,79(25,60; 29,39)	25,96(23,21; 28,76)	0,31
5-НПА	9,40(8,93; 10,02)	8,26(7,45; 8,88)	0,06

Примечание: p – уровень значимости различий к группе необлученных животных (Mann-Whitney, U-test); Tyr – тирозин; DOPA – диоксифенилаланин; DA – дофамин; NE – норадреналин; E – адреналин; Trp – триптофан; 5-HTP – 5-гидрокси-триптофан; 5-HT – 5-гидрокситриптамин или серотонин; 5-НПА – 5-гидроксииндолуксусная кислота.

Note: p – level of significance of differences in the group of non-irradiated animals (Mann-Whitney, U-test); Tyr – tyrosine; DOPA – dioxyphenylalanine; DA – dopamine; NE – norepinephrine; E – adrenaline; Trp – tryptophan; 5-HTP – 5-hydroxytryptophan; 5-HT – 5-hydroxytryptamine or serotonin; 5-НПА – 5-hydroxyindoleacetic acid

котропина, а также снижение стимуляции выработки соматотропина [15]. В свою очередь, гиперпролактинемия может сопровождаться атрофией семенников и снижением концентрации тестостерона в крови, а также поведенческими сдвигами. Известно, что повышение выработки кортикотропина сопровождается индукцией образования и секреции кортикостероидов корковым слоем надпочечников. Избыточная секреция кортикостероидов может вызвать повреждения гиппокампа в результате их угнетающего действия на нейрогенез, и как следствие, развитие когнитивных расстройств. Кроме того, избыток кортикостероидов может быть ответственен за развитие нейродегенеративных нарушений [16].

Кроме того, можно отметить тенденцию ($p=0,06$) к снижению уровней Тгр и 5-НПА (5-гидроксииндолуксусная кислота) на 13,9 % и 12,1 % соответственно по сравнению с контролем. Снижение концентрации 5-НПА в гипоталамусе может быть обусловлено снижением активности процессов катаболизма 5-НТ.

Заключение

Таким образом, хроническое воздействие электромагнитного поля устройства Wi-Fi (2,45 ГГц, ППЭ = 0,26-1,56 мкВт/см², 24 ч/сутки) приводит к изменению обмена биогенных моноаминов, их предшественников и производных в гипоталамусе, направленность процессов которых зависит от возраста и длительности воздействия. Наиболее выраженные изменения отмечаются у более молодых животных, у которых наблюдается снижение образования продуктов катаболизма дофамина, таких как норадреналин и адреналин, которые, в свою очередь, играют важную роль в регуляторных процессах, тогда как у взрослого организма происходит снижение содержания непосредственно дофамина. Данные изменения могут спровоцировать развитие нарушений поведенческих реакций, снижение скорости нейрогенеза, вызвать разбалансировку продукции тропных гормонов и кортикостероидов, особенно в молодом организме.

Список цитированных источников

1. Григорьев, Ю. Г. Значимость адекватной информации по оценке опасности ЭМП сотовой связи для здоровья населения (первая четверть XXI века) / Ю. Г. Григорьев // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2020. – Т. 60. – № 5. – С. 532–540.
2. Zhi, W. J. Recent advances in the effects of microwave radiation on brains / W. J. Zhi, L. F. Wang, X. J. Hu // Military Medical Research. – 2017. – Vol. 4, № 1. – P. 1–14.
3. The effect of pulsed electromagnetic radiation from mobile phone on the levels of monoamine neurotransmitters in four different areas of rat brain / H. S. Aboul Ezz [et al.] // Eur.

- Rev. Med. Pharmacol. Sci. – 2013. – Vol. 17, № 13. – P. 1782–1788.
4. Pall, M. L. Wi-Fi is an important threat to human health / M. L. Pall // Environmental Research. – 2018. – Vol. 164. – P. 405–416.
5. Влияние электромагнитного излучения от сотовых телефонов на здоровье детей и подростков (Обзор литературы) / Н. В. Семенова [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 6. – С. 701–705.
6. Жаворонков, Л. П. Влияние электромагнитных излучений сотовых телефонов на здоровье / Л. П. Жаворонков, В. Г. Петин // Радиация и риск. – 2016. – Т. 25, № 2. – С. 43–56.
7. Oxidative mechanisms of biological activity of low-intensity radiofrequency radiation / I. Yakymenko [et al.] // Electromagnetic Biology and Medicine. – 2016. – Vol. 35, № 2. – P. 186–202.
8. Effects of 2.4 GHz radiofrequency radiation emitted from Wi-Fi equipment on microRNA expression in brain tissue / S. Dasdag [et al.] // International journal of radiation biology. – 2015. – Vol. 91, № 7. – P. 555–561.
9. Alterations of cognitive function and 5-HT system in rats after long term microwave exposure / J. H. Li [et al.] // Physiology & behavior. – 2015. – Vol. 140. – P. 236–246.
10. Buchner, K. Changes of clinically important neurotransmitters under the influence of modulated RF fields—a long-term study under real-life conditions / K. Buchner, H. Eger // Umwelt-Medizin-Gesellschaft. – 2011. – Vol. 24, № 1. – P. 44–57.
11. Effect of low-intensity microwave radiation on monoamine neurotransmitters and their key regulating enzymes in rat brain / K. Megha [et al.] // Cell biochemistry and biophysics. – 2015. – Vol. 73, № 1. – P. 93–100.
12. Дорошенко, Е. М. Биогенные моноамины, их предшественники и метаболиты в мозге крыс при экспериментальной недостаточности кровообращения / Е. М. Дорошенко, В. В. Лелевич // Нейрохимия. – 2020. – Т. 37, № 3. – С. 240–248.
13. Baloyannis, S. J. Hypothalamus in Health and Diseases / S. J. Baloyannis. – London ; IntechOpen, 2018. – 142 p.
14. Гудзь, В. П. К вопросу о механизме развития стресс-индуцированной патологии у животных: обзор / В. П. Гудзь, В. Н. Белявский // Экология и животный мир. – 2015. – № 2. – С. 32–37.
15. Этиология и патогенез болезни Паркинсона-взгляд на проблему сегодня / А. М. Бубликова [и др.] // Университетская клиника. – 2016. – Т. 12, № 2. – С. 67–69.
16. Гуляева, Н. В. Нейрохимия стресса: химия стресс-реактивности и чувствительности к стрессу / Н. В. Гуляева // Нейрохимия. – 2018. – Т. 35, № 2. – С. 111–114.

References

1. Grigor'ev Ju.G. Znachimost' adekvatnoj informacii po ocenke opasnosti JeMP sotovoj svjazi dlja zdorov'ja naselenija (pervaja chetvert' XXI veka). *Radiacionnaja biologija. Radiojekologija.* 2020;60(5):532-540. doi:10.31857/S0869803120050045
2. Zhi WJ, Wang LF, Hu XJ. Recent advances in the effects of microwave radiation on brains. *Mil Med Res.* 2017 Sep 21;4(1):29. doi: 10.1186/s40779-017-0139-0.
3. Aboul Ezz HS, Khadrawy YA, Ahmed NA, Radwan NM, El Bakry MM. The effect of pulsed electromagnetic radiation from mobile phone on the levels of monoamine neurotransmitters in four different areas of rat brain. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013 Jul;17(13):1782-8.

- 4 Pall ML. Wi-Fi is an important threat to human health. *Environ Res.* 2018 Jul;164:405-416. doi: 10.1016/j.envres.2018.01.035.
- 5 Semenova N.V., Denisov A.P., Denisova O.A., Kun O.A., Kuzjukova A.V. Vlijanie jelemektronnogo izlucheniya ot sotovyh telefonov na zdorov'e detej i podrostkov (obzor literatury). *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij.* 2016;6:701-705.
- 6 Zhavoronkov L.P., Petin V.G. Vlijanie jelemektronnogo izlucheniya sotovyh telefonov na zdorov'e. *Radiacija i Risk.* 2016;25(2):43-56.
- 7 Grigoriev, Y. Dosimetry in Bioelectromagnetics. 1st ed. Boca Raton: CRC Press; 2017. Chapter 15, Methodology of Standards Development for EMF RF in Russia and by International Commissions: Distinctions in Approaches; p. 315-337.
- 8 Yakymenko I, Tsybulin O, Sidorik E, Henshel D, Kyrylenko O, Kyrylenko S. Oxidative mechanisms of biological activity of low-intensity radiofrequency radiation. *Electromagn Biol Med.* 2016;35(2):186-202. doi: 10.3109/15368378.2015.1043557.
- 9 Dasdag S, Akdag MZ, Erdal ME, Erdal N, Ay OI, Ay ME, Yilmaz SG, Tasdelen B, Yegin K. Effects of 2.4 GHz radiofrequency radiation emitted from Wi-Fi equipment on microRNA expression in brain tissue. *Int J Radiat Biol.* 2015 Jul;91(7):555-61. doi: 10.3109/09553002.2015.1028599.
- 10 Buchner K, Eger H. Changes of clinically important neurotransmitters under the influence of modulated RF fields – a long-term study under real-life conditions. *Umwelt-Medizin-Gesellschaft.* 2011;24(1):44-57.
- 11 Megha K, Deshmukh PS, Ravi AK, Tripathi AK, Abegaonkar MP, Banerjee BD. Effect of Low-Intensity Microwave Radiation on Monoamine Neurotransmitters and Their Key Regulating Enzymes in Rat Brain. *Cell Biochem Biophys.* 2015 Sep;73(1):93-100. doi: 10.1007/s12013-015-0576-x.
- 12 Doroshenko E.M., Lelevich V.V. Biogenne monoaminy, ih predshestvenniki i metabolity v mozge krysa pri jeksperimental'noj nedostatochnosti krovoobrashheniya. [Biogenic monoamines, their precursors and metabolites in the brain of rats with experimental circulatory failure]. *Nejrohimija [Neurochemical journal].* 2020;37(3):240–248. doi:10.1134/S1819712420030034.
- 13 Baloyannis SJ, Gordeladze JO. Hypothalamus in Health and Diseases. London: IntechOpen; 2018. 142 p.
- 14 Gudz' V.P., Beljavskej V.N. K voprosu o mehanizme razvitiija stress-inducirovannoj patologii u zhivotnyh: obzor. *Jekologija i Zhivotnyj Mir.* 2015;2:32–37.
- 15 Bublikova AM, Statinova EA, Kocenko JuI, Sohina VS. Jetiologija i patogenez bolezni Parkinsona-vzglyad na problemu segodnja. *Universitetskaja Klinika.* 2016; 12(2): 67-69.
- 16 Guljaeva NV. Nejrohimija stressa: himija stress-reaktivnosti i chuvstvitel'nosti k stressu [The neurochemistry of stress: the chemistry of the stress response and stress vulnerability]. *Nejrohimija [Neurochemical journal].* 2018;35(2):111–114. doi:10.1134/S1819712418020058

THE RESPONSE OF MONOAMINERGIC SYSTEMS OF THE HYPOTHALAMUS TO CHRONIC EXPOSURE TO THE ELECTROMAGNETIC FIELD OF WI-FI EQUIPMENT

V. M. Schemelev, N. V. Chueshova

*Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus,
Gomel, Republic of Belarus*

Background. In connection with the wide distribution of sources of electromagnetic fields (mobile phones, Wi-Fi devices), the question arose about the safety of exposure to this type of radiation for the body.

Objective. Assessment of the state of the dopamine and serotonergic systems of the hypothalamus under chronic exposure to the electromagnetic field of Wi-Fi equipment.

Material and methods. The separation of biogenic amines and related compounds in perchloric acid extracts of the hypothalamus of male rats was carried out using ion-pair high-performance liquid chromatography with fluorescence detection.

Results. The data obtained allow us to speak about the influence of the electromagnetic field of Wi-Fi equipment (2.45 GHz, PET = 0.26-1.56 μW/cm², 24 h/day) on the exchange of neurotransmitters of the dopaminergic system in the hypothalamus of both young and adult organisms.

Conclusion. The revealed changes in the metabolism of biogenic amines of their precursors and derivatives in the hypothalamus, as the main regulator of neuroendocrine functions, indicate the ability of chronic exposure to the electromagnetic field of Wi-Fi equipment to cause the development of various pathological conditions, including behavioral disorders, as well as an imbalance in the hormonal status of the body.

Keywords: Electromagnetic radiation, Wi-Fi, male rats, hypothalamus, biogenic amines, serotonin, dopamine.

For citation: Schemelev VM, Chueshova NV. The response of monoaminergic systems of the hypothalamus to chronic exposure to the electromagnetic field of wi-fi equipment. *Biochemistry and Molecular Biology.* 2023, vol. 2, no. 2(3). pp. 60–65 (in Russian).

Поступила 31.10.2022

ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ ИЗУЧЕНИЯ БИОЭЛЕМЕНТОВ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ И ВОЗМОЖНОСТЬ ОЦЕНКИ ИХ ВЛИЯНИЯ НА РАЗВИТИЕ ОСЛОЖНЕНИЙ ЗАБОЛЕВАНИЯ

В. М. Мицура¹, Г. Н. Хованская², О. Е. Кузнецов²

*¹ Республиканский научно-практический центр радиационной медицины
и экологии человека, Гомель, Республика Беларусь*

*² Институт биохимии биологически активных соединений
Национальной академии наук Беларуси, Гродно, Республика Беларусь*

Введение. В последние годы активно изучаются особенности микроэлементного статуса у пациентов с различными заболеваниями, влияние баланса микроэлементов на этиологию и патогенез сахарного диабета (СД). Несмотря на многочисленные исследования, остаются не до конца изученными взаимосвязи метаболических процессов, приводящих к диабету, дисэлементозы, связанные с недостатком или избытком микро- и макроэлементов, поступающих с пищей; нарушения обменных процессов с участием углеводов и липидов на фоне гормонального дисбаланса, а также возможности их коррекции.

Цель. Оценить перспективность изучения биоэлементов у пациентов с сахарным диабетом и возможность оценки их влияния на развитие осложнений заболевания.

Материалы и методы. Анализ научных публикаций по уровню концентраций микро- и макроэлементов у пациентов с сахарным диабетом и методам их исследования.

Результаты. Представлены данные о перспективности изучения биоэлементов у пациентов с сахарным диабетом и возможность оценки их влияния на развитие осложнений заболевания.

Заключение. Изучение содержания биоэлементов в биологических материалах пациентов с сахарным диабетом актуально в настоящее время, что связано с развитием технологических возможностей современной клинико-лабораторной службы и с возросшим интересом к вопросам питания и метаболических расстройств. Понимание особенностей патогенетической и терапевтической значимости уровня биоэлементов у пациентов с СД имеет значение для диагностики, профилактики и лечения данной нозологии. В связи с этим необходимы масштабные исследования роли биоэлементов при сахарном диабете 1 и 2 типа, оценка их влияния на развитие осложнений при данном заболевании.

Ключевые слова: биоэлемент; пациенты; сахарный диабет; волосы; метод «сухой капли».

Для цитирования: Перспективность изучения биоэлементов у пациентов с сахарным диабетом и возможность оценки их влияния на развитие осложнений заболевания / В. М. Мицура, Г. Н. Хованская, О. Е. Кузнецов // Биохимия и молекулярная биология. – 2023. – Т. 2, № 2(3). – С. 66–73.

Введение

Сахарный диабет (СД) представляет собой серьезную медицинскую и социальную проблему, что обусловлено его широкой распространенностью, неуклонной тенденцией к увеличению числа больных, хроническим течением, частым развитием осложнений и формированием ранней инвалидности у пациентов [1]. Сегодня в мире насчитывается более 382 млн. больных, а по прогнозам экспертов, в 2025 году число людей, которые будут иметь СД, будет составлять около 570 млн. [2]. Прогрессирование СД и развитие осложнений (диабетической микроангиопатии и нейропатии) связано с многими факторами риска, которые могут изменять-

ся со временем, поэтому изучение патогенеза его развития крайне актуально [3].

Активно изучаются различные аспекты питания и его влияние на развитие и прогрессирование диабета [4]. Несмотря на большое количество накопленного материала по участию макро- и микроэлементов в биохимических и физиологических реакциях организма человека, их биологическая роль постоянно уточняется в новых научных исследованиях [5].

В последние годы предложен новый термин «биоэлементы» для определения элементов, постоянно входящих в состав организма, необходимых для его жизнедеятельности и проявляющих биологические свойства [6]. Научную дисциплину,

изучающую биоэлементы, предлагается назвать биоэлементологией. Эта дисциплина могла бы заложить основу для интеграции биоорганической химии, бионеорганической химии, биофизики, молекулярной биологии и других областей наук о жизни [7].

Биоэлементы можно определять в различных биологических материалах: крови, волосах, моче. Их уровни в крови более вариабельны, отражают текущее состояние в целом, тогда как анализ волос позволяет оценить их устойчивый дефицит или избыток, а также изучить влияние токсичных микроэлементов, накапливающихся более длительный период времени – от нескольких дней, месяцев, а иногда и лет (в зависимости от длины волоса) [8].

Содержание макро- и микроэлементов, как часть общей гомеостатической системы играет немаловажную роль в регуляции деятельности всех систем организма. Биологическое значение химических элементов раскрывается на всех уровнях жизнедеятельности: молекулярном, субклеточном, клеточном, тканевом и на уровне целого организма. Оно состоит в том, что биоэлементы активируют большинство ферментативных систем организма, стимулируют процессы тканевого дыхания, энергетического обмена, кроветворения, иммунные реакции, синтез биологически активных веществ [9].

Цель. Оценить перспективность изучения биоэлементов у пациентов с сахарным диабетом и возможность оценки их влияния на развитие осложнений заболевания.

Материалы и методы

Анализ научных публикаций по уровню концентраций микро- и макроэлементов у пациентов с сахарным диабетом и методам их исследования.

Результаты и обсуждение

Несмотря на значительное количество исследований, посвященных оценке дефицита/перегрузки основных микронутриентов при СД, врачи сталкиваются с трудностями при разработке рекомендаций по питанию такого рода пациентов. Установлено, что на фоне СД наблюдается дисбаланс жизненно необходимых макро- и микроэлементов [10, 11]. Было показано, что гомеостаз микроэлементов может быть изменен при сахарном диабете, а ранний их дисбаланс может играть важную роль в нарушении метаболизма инсулина [12]. Развитие инсулинорезистентности и, как следствие, сахарного диабета связывают с оксидативным стрессом, который в свою очередь, может быть следствием дефицита определенных микроэлементов [5, 13]

Большинство исследований посвящено изучению либо одного элемента, либо только ограни-

ченной комбинации биоэлементов. Так, установлено, что дефицит хрома (Cr) сопровождается нарушением метаболизма глюкозы, липидного обмена, уменьшением количества рецепторов инсулина и развитием инсулинорезистентности [14]. В ряде исследований показано, что повышенный уровень глюкозы в сыворотке крови усиливает выведение хрома из организма, что приводит к снижению его уровня у пациентов с СД 2-го типа [15].

Цинк (Zn) участвует в секреции и хранении инсулина, в регуляции активности рецептора инсулина и сигнального пути инсулина [16, 17]. При дефиците цинка наблюдается снижение выработки инсулина и повышение инсулинорезистентности, что в конечном итоге повышает риск развития диабета 2 типа [18, 19]. Но и сам диабет может нарушить гомеостаз цинка в организме [19]. У пациентов с сахарным диабетом 2 типа часто наблюдается снижение концентрации цинка в плазме и эритроцитах, тогда как в моче наблюдается увеличение [20]. Более того, всасывание цинка в пищеварительном тракте снижено у пациентов с диабетом 2 типа [21]. Метаанализ последних лет показал, что концентрация Zn в сыворотке значительно ниже у пациентов с диабетом 2 типа, а увеличение его потребления снижает концентрацию HbA1c в крови [22]. При этом, нарушение статуса Zn приводит к снижению его содержания в поджелудочной железе, что, в свою очередь, способствует развитию диабета, а также снижает всасывание железа в кишечнике [23].

Влияют на развитие СД и его осложнений и другие макро- и микроэлементы: кальций (Ca), магний (Mg), железо (Fe), медь (Cu), йод (I), селен (Se), кобальт (Co), кадмий (Cd), бор (B), марганец (Mn), молибден (Mo), ванадий (V) и др., однако данные литературы неоднозначны. Например, Luan F. et al. (2022) показано, что уровни V, Cr, Mn, Co, Se и Mo имели отрицательную корреляцию с гликозилированным гемоглобином (HbA1c) у пациентов с диабетом [24]. Средние уровни Zn, Mn и Cr были значительно снижены в образцах крови и волос пациентов с СД в сравнении с контрольной группой [18]. Flores C.R. et al. (2011) показали более высокие уровни сывороточных концентраций Al, Cd, Cu, Mn, Hg и Ni, и более низкие – Cr, Co и V у пациентов с СД в сравнении со здоровыми лицами [25]. При СД 1 типа не было выявлено дефицита микроэлементов, уровни Se, Cu и мышьяка были повышены, а концентрация Zn не отличалась от контрольной группы [26]. Нарушенный метаболизм микроэлементов может играть роль в развитии осложнений СД [27].

Кальций, считающийся одним из важнейших макроэлементов, выполняет множество регулятор-

ных функций в углеводном и жировом обмене. Он активно влияет на метаболические пути, связанные с секрецией инсулина. Данные исследований позволяют предположить, что комбинированные добавки витамина D и кальция могут играть роль в профилактике СД 2 типа в группах высокого риска [28].

Калий, другой важный макроэлемент, принимает активное участие в углеводном и жировом обмене путем регуляции нервных импульсов и мышечной активности, включая те, которые связаны с усвоением глюкозы. Он способствует поддержанию нормального уровня глюкозы в крови, обеспечивая гомеостаз и эффективную работу обменных процессов [29].

Магний играет непосредственную роль в углеводном и жировом обмене путем активации ферментов, необходимых для обработки глюкозы и жира. Опубликованные исследования указывают на более низкую заболеваемость диабетом 2 типа среди людей, потребляющих высокий уровень Mg в рационе по сравнению с людьми, придерживающимися диеты с низким содержанием Mg [30]. Пероральный прием магния улучшает показатели обмена глюкозы у людей с диабетом и может улучшить параметры чувствительности к инсулину у людей с высоким риском развития диабета [31].

Повышенное содержание меди, которая обладает прооксидантными свойствами, стимулирует продукцию пероксида водорода, что приводит к разрушению β -клеток и развитию гипергликемии, инсулинорезистентности и СД2 [32].

Присутствие некоторых токсичных микроэлементов (As, Pb, Cd) также может влиять на развитие сахарного диабета [33]. Так, диабетическая ретинопатия ассоциировалась с более высокими уровнями цезия и Cd в сыворотке крови у пациентов с СД 2 типа в Китае [34]. Мышьяк ассоциируется с повышенным риском развития СД 1 и 2 типов, что может быть опосредованным нарушением иммунной системы [35]. Была также установлена связь между уровнями в крови свинца и кадмия с повышенным риском смертности от всех причин и сердечно-сосудистых заболеваний среди пациентов с диабетом 2 типа [36].

Кроме определения уровня отдельных биоэлементов, наиболее информативным является определение их соотношений, которые позволяют более полно представить взаимодействие микро- и макроэлементов в метаболическом котле организма в целом. Так, предложен для анализа ряд соотношений: Cu/Zn [37], Zn/Fe [38], Cd/Zn [39] и др.

Осложнения сахарного диабета характеризуются как макрососудистые, включающие сердечно-сосу-

дистые заболевания, так и микрососудистые, к которым относятся ретинопатия, нефропатия и нейропатия, являющиеся причиной инвалидности и смертности у данной категории пациентов. В ряде экспериментальных исследований показано, что диабетические микрососудистые осложнения могут быть предотвращены или ослаблены различными биофакторами путем вмешательства в патофизиологию основного заболевания. [40]. Кроме того, проведенные исследования показали, что у пациентов с СД в сочетании с жировой дистрофией печени также имеют место различной степени нарушения в содержании микро- и макроэлементов. Нарушения биоэлементного обмена неблагоприятно отражаются на течении и исходе СД, поэтому целесообразно включать в комплексное исследование этих пациентов одновременное определение калия, натрия, кальция, магния, железа, цинка и меди с последующей их коррекцией [41].

Методы определения биоэлементов в биологических образцах различны. Для определения содержания биоэлементов применяют методы количественного химического анализа. Данные методы можно подразделить на две группы – методы, которые используют в клинической лабораторной диагностике (потенциометрический, фотометрический) и методы аналитической химии (спектральные методы анализа, масс-спектрометрия). Потенциометрический метод основан на использовании ионоселективных электродов, на базе последних разработаны ионоселективные анализаторы. Этот метод подходит для определения макроэлементов (ионов натрия, калия, хлора, кальция, лития, магния) в биологических жидкостях (в основном цельная кровь, плазма/сыворотка, моча). Фотометрические ферментативные методы определения разработаны для анализа отдельных макро- и микроэлементов, например натрия, калия, цинка, и варианты методик измерения концентрации данных биоэлементов адаптированы для биохимических анализаторов. Содержание микроэлементов в биологических образцах низкое, поэтому основные требования к методам определения концентрации биоэлементов – это сочетание низких пределов обнаружения, высокой чувствительности и селективности. Наилучшие пределы обнаружения достигаются методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой и методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией [42].

Наиболее информативным и достоверным методом анализа является метод масс-спектрометрического исследования с индукционно-связанной плазмой, позволяющий определить низкие кон-

центрации биоэлемента (до 10–12). При его применении возможно определение в одной пробе 60-ти и более макро-, микроэлементов, что важно при оценке взаимодействия биоэлементов в организме человека. Именно поэтому данная методика имеет значение в отношении определения концентраций редких и токсичных элементов, а также тяжелых металлов, присутствующих в биологическом материале в низких концентрациях [43].

Создание экономичных и экспрессных методик для анализа биологических жидкостей является актуальным вопросом в медицинской практике, спорте и судебно-медицинской экспертизе. На сегодняшний день, автоматизация анализа метода «сухой капли/пятен» совместно с современным оборудованием для хромато масс-спектрометрии может обеспечить специфичность и воспроизводимость результатов. Высушенная «капля крови» (от англ. Dried Blood Spot, DBS) – это метод пробоподготовки, который является относительно простым способом сбора небольших объемов крови, с помощью которого можно пренебречь взятием цельной крови и получением плазмы, замораживанием образцов. Методом DBS возможен анализ не только образцов крови, но также и других матриц, например, образцов мочи (dried urine spot, DUS), материнского молока и др. В настоящее время автоматизированный метод DBS широко используется для проведения скрининга заболеваний новорожденных в лабораториях всего мира [44], а также находит новые биомедицинские области применения, такие как терапевтический лекарственный мониторинг и судебно-токсикологические исследования [45, 46].

Исследование биологических образцов методом «сухой капли/пятен» (DBS) выгодно в регионах с ограниченными ресурсами, в скрининговых исследованиях, при хранении образцов в течении длительного времени [47], как неинвазивная альтернатива венепункции для измерения биомаркеров воздействия в здравоохранении и эпидемиологических исследованиях [48].

Необходимо учитывать, что при выполнении каждого рода методики анализа большое значение уделяется исследуемому биологическому образцу и методике пробоподготовки. Традиционно исследуемым биологическим образцом является сыворотка и/или плазма крови, которые широко описаны в научной литературе.

С развитием современных технологий стали шире применять исследования биоэлементного статуса в образцах волос (фиксированная динамика роста до 0,5 мм в день, неинвазивный метод диагностики): волосы растут медленно и поэтому хранят

долгосрочную «информацию» о микроэлементах. Кроме того, для исследования требуется небольшое количество биологического материала [49].

За последние годы опубликовано немало число работ по изучению накопления микроэлементов в волосах. В медицинских целях волосы пытались использовать в качестве инструмента диагностики. На основе микроэлементного состава волос оценивали микроэлементный статус питания, а также элементный статус популяции в целом [50]. Практически во всех исследованиях использовались усредненные оценки содержания элементов в волосах, причем выборки, по которым происходило усреднение, составляли сотни человек. Это обезличивает и огрубляет полученные результаты до такой высокой степени, что ограничивает ценность частных исследований проблемами глобального характера [51].

Вместе с тем существуют веские причины методического и аналитического характера, в силу которых результаты микроэлементного анализа волос возможно использовать в качестве однозначного индикатора экологического воздействия на организм или медицинского диагностического критерия [51]. Многолетними исследованиями установлено, что при интерпретации микроэлементного состава волос следует учитывать распределение микроэлементов по длине волоса. Это связано с тем, что общее содержание микроэлементов в волосах складывается из элементов эндогенного и экзогенного происхождения [52].

Таким образом, изучение жизненно необходимых элементов в волосах в условиях слабо выраженных внешних воздействий дает возможность выявить наличие на ранней стадии патологических процессов и внести соответствующую корректировку в профилактику заболевания.

Заключение

Несмотря на достаточное количество исследований, посвященных определению уровня биоэлементов при различных патологических состояниях в качестве диагностических маркеров, остается неясным механизм их включения в те или иные процессы при сахарном диабете и их взаимосвязь с развитием осложнений заболевания. Кроме того, ряд аспектов остается недостаточно исследованными, существует много противоречивых данных.

Изучение содержания биоэлементов в биологических материалах пациентов с сахарным диабетом актуально в настоящее время, что связано с развитием технических возможностей современной клинко-лабораторной службы и с возросшим интересом к вопросам питания и метаболических расстройств. Понимание особенностей патогене-

тической и терапевтической значимости уровня биоэлементов у пациентов с СД имеет значение для диагностики, профилактики и лечения данной нозологии. В связи с этим необходимы масштабные исследования роли биоэлементов при сахарном диабете 1 и 2 типа, оценка их влияния на развитие осложнений при данном заболевании.

Список цитированных источников

- Kleinberger, J. W. Personalized medicine in diabetes mellitus: current opportunities and future prospects / J. W. Kleinberger, T. I. Pollin // *Ann. N Y Acad. Sci.* – 2015. – Vol. 1346, № 1. – P. 45–56. doi: 10.1111/nyas.12757.
- Global, regional, and national burden and trend of diabetes in 195 countries and territories: an analysis from 1990 to 2025 / X. Lin [et al.] // *Sci. Rep.* – 2020. – Vol. 10, № 1. – P. 14790. doi: 10.1038/s41598-020-71908-9.
- Ceriello, A. Variability of risk factors and diabetes complications / A. Ceriello, F. Prattichizzo // *Cardiovasc. Diabetol.* – 2021. – Vol. 20, № 1. – P. 101. doi: 10.1186/s12933-021-01289-4.
- Ojo, O. Recent advances in nutrition and diabetes / O. Ojo // *Nutrients.* – 2021. – Vol. 13, № 5. – P. 1573. doi: 10.3390/nu13051573.
- Dubey, P. Role of minerals and trace elements in diabetes and insulin resistance / P. Dubey, V. Thakur, M. Chattopadhyay // *Nutrients.* – 2020. – Vol. 12, № 6. – P. 1864. doi: 10.3390/nu12061864.
- Скальный, А. В. Биоэлементология – новый термин или новое научное направление? / А. В. Скальный, И. А. Рудаков // *Вестник ОГУ.* – 2005. – № 2. – С. 4–8.
- Skalny, A. V. Bioelementology as an interdisciplinary integrative approach in life sciences: terminology, classification, perspectives / A. V. Skalny // *J. Trace. Elem. Med. Biol.* – 2011. – Vol. 1. – P. 3–10. doi: 10.1016/j.jtomb.2010.10.005.
- Hair trace elements in overweight and obese adults in association with metabolic parameters / M. G. Skalnaya [et al.] // *Biol. Trace. Elem. Res.* – 2018. – Vol. 186, № 1. – P. 12–20. doi: 10.1007/s12011-018-1282-5.
- Nordberg, M. Trace element research-historical and future aspects / M. Nordberg, G. F. Nordberg // *J. Trace. Elem. Med. Biol.* – 2016. – Vol. 38. – P. 46–52. doi: 10.1016/j.jtomb.2016.04.006.
- Alterations of serum trace elements in patients with type 2 diabetes / H. Zhang [et al.] // *J. Trace. Elem. Med. Biol.* – 2017. – Vol. 40. – P. 91–96. doi: 10.1016/j.jtomb.2016.12.017.
- Siddiqui, K. Variation in macro and trace elements in progression of type 2 diabetes / K. Siddiqui, N. Bawazeer, S. S. Joy // *ScientificWorldJournal.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 461591. doi: 10.1155/2014/461591.
- The beneficial effects of Zn on Akt-mediated insulin and cell survival signaling pathways in diabetes / W. Sun [et al.] // *J. Trace Elements Med. Boil.* – 2018. – Vol. 46. – P. 117–127.
- Assessment of trace elements levels in patients with Type 2 diabetes using multivariate statistical analysis / M. Badran [et al.] // *J. Trace Elements Med. Boil.* – 2016. – Vol. 33. – P. 114–119.
- Ngala, R. A. The effects of plasma chromium on lipid profile, glucose metabolism and cardiovascular risk in type 2 diabetes mellitus. A case - control study / R. A. Ngala, M. A. Awe, P. Nsiah // *PLoS One.* – 2018. – Vol. 13, № 7. – P. e0197977. doi: 10.1371/journal.pone.0197977.
- Relationship between Glycemic Status and Serum Chromium Level with Type 2 Diabetes Mellitus / H. Eva, Q. S. Akter, M. K. Alam // *Mymensingh Med. J.* – 2020. – Vol. 29, № 1. – P. 183–186.
- Wijesekara, N. Zinc, a regulator of islet function and glucose homeostasis / N. Wijesekara, F. Chimienti, M. B. Wheeler // *Diabetes Obes. Metab.* – 2009. – Vol. 11, № 4. – P. 202–214. doi: 10.1111/j.1463-1326.2009.01110.x.
- Khan, A. R. Metals in the pathogenesis of type 2 diabetes / A. R. Khan, F. R. Awan // *J. Diabetes Metab. Disord.* – 2014. – Vol. 13, № 1. – P. 16. doi: 10.1186/2251-6581-13-16.
- Copper, chromium, manganese, iron, nickel, and zinc levels in biological samples of diabetes mellitus patients / T. G. Kazi [et al.] // *Biol. Trace. Elem. Res.* – 2008. – Vol. 122, № 1. – P. 1–18. doi: 10.1007/s12011-007-8062-y.
- Saharia, G. K. Evaluation of serum zinc status and glycated hemoglobin of type 2 diabetes mellitus patients in a tertiary care hospital of assam / G. K. Saharia, R. K. Goswami // *J. Lab. Physicians.* – 2013. – Vol. 5, № 1. – P. 30–3. doi: 10.4103/0974-2727.115923.
- Al-Timimi, D. J. Zinc status in type 2 diabetic patients: relation to the progression of diabetic nephropathy / D. J. Al-Timimi, D. M. Sulieman, K. R. Hussien // *J. Clin. Diagn. Res.* – Vol. 8, № 11. – P. CC04–8. doi: 10.7860/JCDR/2014/10090.5082.
- Disturbed zinc homeostasis in diabetic patients by in vitro and in vivo analysis of insulinomimetic activity of zinc / J. Jansen [et al.] // *J. Nutr. Biochem.* – 2012. – Vol. 23, № 11. – P. 1458–1466. doi: 10.1016/j.jnutbio.2011.09.008.
- Zinc's role in the glycaemic control of patients with type 2 diabetes: a systematic review / G. B. de Carvalho [et al.] // *Biometals.* – 2017. – Vol. 30, № 2. – P. 151–162. doi: 10.1007/s10534-017-9996-y.
- Cascino, T. M. Nutrient deficiencies in heart failure: a micro problem with macro effects? / T. M. Cascino, S. L. Hummel // *J. Am. Heart Assoc.* – 2018. – Vol. 7, № 17. – P. e010447. doi: 10.1161/JAHA.118.010447.
- Associations between whole blood trace elements concentrations and HbA1c levels in patients with type 2 diabetes / F. Luan [et al.] // *Biometals.* – 2022. – Vol. 35, № 5. – P. 1011–1022. doi: 10.1007/s10534-022-00419-z.
- Trace elements status in diabetes mellitus type 2: possible role of the interaction between molybdenum and copper in the progress of typical complications / C. R. Flores [et al.] // *Diabetes Res. Clin. Pract.* – 2011. – Vol. 91, № 3. – P. 333–341. doi: 10.1016/j.diabres.2010.12.014.
- Do trace elements influence the course of newly diagnosed type 1 diabetes mellitus? / M. Rychert-Stos [et al.] // *Neuro. Endocrinol. Lett.* – 2022. – Vol. 43, № 5. – P. 247–256.
- Altered metabolism of copper, zinc, and magnesium is associated with increased levels of glycated hemoglobin in patients with diabetes mellitus / A. Viktorinová [et al.] // *Metabolism.* – 2009. – Vol. 58, № 10. – P. 1477–1482. doi: 10.1016/j.metabol.2009.04.035.
- The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis / A. G. Pittas [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2007. – Vol. 92, № 6. – P. 2017–2029. doi: 10.1210/jc.2007-0298.
- Dietary potassium intake and risk of diabetes: a systematic review and meta-analysis of prospective studies / L. D'Elia [et al.] // *Nutrients.* – 2022. – Vol. 14, № 22. – P. 4785. doi: 10.3390/nu14224785.
- Rates of hypomagnesemia and hypermagnesemia in medical settings / A. Catalano [et al.] // *Magnes. Res.* – 2021. – Vol. 34, № 1. – P. 1–8. doi: 10.1684/mrh.2021.0478.
- Oral magnesium supplementation for treating glucose metabolism parameters in people with or at risk of diabetes: a systematic review and meta-analysis of double-blind randomized controlled trials / N. Veronese [et al.] //

- Nutrients. – 2021. – Vol. 15, № 13 (11). – P. 4074. doi: 10.3390/nu13114074.
32. Trace elements in type 2 diabetes mellitus and their association with glycemic control / R. M. Hasanato [et al.] // *Afr. Health Sci.* – 2020. – Vol. 20, № 1. – P. 287–293. doi: 10.4314/ahs.v20i1.34.
 33. Status of toxic metals in biological samples of diabetic mothers and their neonates / N. F. Kolachi [et al.] // *Biol. Trace. Elem. Res.* – 2011. – Vol. 143, № 1. – P. 196–212. doi: 10.1007/s12011-010-8879-7.
 34. Zhu, X. Serum essential trace elements and toxic metals in Chinese diabetic retinopathy patients / X. Zhu, R. Hua // *Medicine (Baltimore)*. – 2020. – Vol. 99, № 47. – P. e23141. doi: 10.1097/MD.00000000000023141.
 35. Arsenic and diabetes mellitus: a putative role for the immune system / J. Liu [et al.] // *All Life*. – 2023. – Vol. 16, № 1. – P. 2167869. doi: 10.1080/26895293.2023.2167869.
 36. Associations of exposure to lead and cadmium with risk of all-cause and cardiovascular disease mortality among patients with type 2 diabetes / K. Zhu [et al.] // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* – 2022. – Vol. 29, № 51. – P. 76805–76815. doi: 10.1007/s11356-022-21273-z.
 37. Copper, zinc and copper/zinc ratio in chronic pancreatitis and pancreatic cancer / C. Fabris [et al.] // *Clin. Biochem.* – 1985. – Vol. 18, № 6. – P. 373–375. doi: 10.1016/s0009-9120(85)80078-3.
 38. Inhibition of zinc absorption by iron depends on their ratio / J. M. Pérès [et al.] // *J. Trace. Elem. Med. Biol.* – 2001. – Vol. 15, № 4. – P. 237–241. doi: 10.1016/S0946-672X(01)80039-0.
 39. Richter, P. Cadmium and cadmium/zinc ratios and tobacco-related morbidities / P. Richter, O. Faroon, R. S. Pappas // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. – 2017. – Vol. 29, № 14 (10). – P. 1154. doi: 10.3390/ijerph14101154.
 40. The role of biofactors in the prevention and treatment of age-related diseases / J. Frank [et al.] // *Biofactors*. – 2021. – Vol. 47, № 4. – P. 522–550.
 41. Роль нарушений биоэлементного обмена при неалкогольной жировой болезни печени у больных сахарным диабетом 2-го типа / Л. В. Журавлева [и др.] // *Гастроэнтерология*. – 2014. – Т. 53, № 3. – С. 30–34.
 42. Современные методы определения компонентов минерального обмена в биологических образцах / Р. Т. Тогузов [и др.] // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2007. – № 9. – С. 81.
 43. Биоэлементный статус организма у лиц с избыточной массой тела / А. Али [и др.] // *Наука и инновации*. – 2021. – № 11. – С. 75–79. doi: 10.29235/1818-9857-2021-11-75-79.
 44. Lemonde, H. Newborn screening for inborn errors of metabolism / H. Lemonde // *Paediatrics & Child Health*. – 2014. – Vol. 25. – P. 103–107.
 45. Beyond dried blood spot: current microsampling techniques in the context of biomedical applications / G. Nys [et al.] // *Trends in Analytical Chemistry*. – 2017. – Vol. 97. – P. 326–332.
 46. Automated high throughput analysis of antiretroviral drugs in dried blood spots / U. Duthaler [et al.] // *Journal of Mass Spectrometry*. – 2017. – Vol. 52. – P. 534–542.
 47. Detection of SARS-CoV-2 RNA and antibodies in diverse samples: protocol to validate the sufficiency of provider-observed, home-collected blood, saliva, and oropharyngeal samples / P. S. Sullivan [et al.] // *JMIR Public Health Surveill.* – 2020. – Vol. 6. – P. e19054.
 48. Effects of prenatal exposure and co-exposure to metallic or metalloids elements on early infant neurodevelopmental outcomes in areas with small-scale gold mining activities in Northern Tanzania / E. Nyanza [et al.] // *Environ. Int.* – 2021. – Vol. 149. – P. 106104.
 49. The psycho-social impact of hair loss among men: A multinational European study / M. Alfonso [et al.] // *Curr. Med. Res. Opin.* – 2005. – Vol. 21, № 11. – P. 1829–1836.
 50. Демидов, В. А. Оценка элементного статуса детей Московской области при помощи многоэлементного анализа детей / В. А. Демидов, А. В. Скальный // *Микроэлементы в медицине*. – 2001. – Т. 2, № 1. – С. 46–55.
 51. Скадорва, В. В. Взаимосвязь микро- и макроэлементного состава волос с фактическим питанием взрослого населения при диффузной алопеции / В. В. Скадорва // *Медицина*. – 2017. – № 1 (96). – С. 42–47.
 52. Evidence-based (S3) guideline for the treatment of androgenetic alopecia in women and in men / A. Blumeyer [et al.] // *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* – 2011. – Vol. 9, № 6. – P. S1–S7. doi: 10.1111/j.1610-0379.2011.07802.x.

References

- 1 Kleinberger JW, Pollin TI. Personalized medicine in diabetes mellitus: current opportunities and future prospects. *Ann NY Acad Sci.* 2015;1346(1):45-56. doi: 10.1111/nyas.12757.
- 2 Lin X, Xu Y, Pan X, Xu J, Ding Y, Sun X, Song X, Ren Y, Shan PF. Global, regional, and national burden and trend of diabetes in 195 countries and territories: an analysis from 1990 to 2025. *Sci Rep.* 2020;10(1):14790. doi: 10.1038/s41598-020-71908-9.
- 3 Ceriello A, Praticchizzo F. Variability of risk factors and diabetes complications. *Cardiovasc Diabetol.* 2021;20(1):101. doi: 10.1186/s12933-021-01289-4
- 4 Ojo O. Recent Advances in Nutrition and Diabetes. *Nutrients.* 2021;13(5):1573. doi: 10.3390/nu13051573.
- 5 Dubey P, Thakur V, Chattopadhyay M. Role of Minerals and Trace Elements in Diabetes and Insulin Resistance. *Nutrients.* 2020;12(6):1864. doi: 10.3390/nu12061864.
- 6 Skalnyj AV, Rudakov IA. Bioelementologija – novyj termin ili novoe nauchnoe napravlenie? *Vestnik OGU.* 2005;2:4-8. (Russian).
- 7 Skalny AV. Bioelementology as an interdisciplinary integrative approach in life sciences: terminology, classification, perspectives. *J Trace Elem Med Biol.* 2011;25(Suppl 1):S3-10. doi: 10.1016/j.jtemb.2010.10.005.
- 8 Skal'naya MG, Skalny AV, Grabeklis AR, Serebryansky EP, Demidov VA, Tinkov AA. Hair Trace Elements in Overweight and Obese Adults in Association with Metabolic Parameters. *Biol Trace Elem Res.* 2018;186(1):12-20. doi: 10.1007/s12011-018-1282-5.
- 9 Nordberg M, Nordberg GF. Trace element research-historical and future aspects. *J Trace Elem Med Biol.* 2016;38:46-52. doi: 10.1016/j.jtemb.2016.04.006.
- 10 Zhang H, Yan C, Yang Z, Zhang W, Niu Y, Li X, Qin L, Su Q. Alterations of serum trace elements in patients with type 2 diabetes. *J Trace Elem Med Biol.* 2017;40:91-96. doi: 10.1016/j.jtemb.2016.12.017.
- 11 Siddiqui K, Bawazeer N, Joy SS. Variation in macro and trace elements in progression of type 2 diabetes. *ScientificWorldJournal.* 2014;2014:461591. doi: 10.1155/2014/461591.
- 12 Sun W, Yang J, Wang W, Hou J, Cheng Y, Fu Y, Xu Z, Cai L. The beneficial effects of Zn on Akt-mediated insulin and cell survival signaling pathways in diabetes. *J. Trace Elements Med. Boil.* 2018;46:117-127.
- 13 Badran M, Morsy R, Soliman H, Elnimr T. Assessment of trace elements levels in patients with Type 2 diabetes using multivariate statistical analysis. *J. Trace Elements Med. Boil.* 2016;33:114-119.
- 14 Ngala RA, Awe MA, Nsiah P. The effects of plasma chromium on lipid profile, glucose metabolism and cardiovascular risk in type 2 diabetes mellitus. A case - control study. *PLoS One.* 2018;13(7):e0197977. doi: 10.1371/journal.pone.0197977.

- 15 Eva H, Akter QS, Alam MK. Relationship between Glycemic Status and Serum Chromium Level with Type 2 Diabetes Mellitus. *Mymensingh Med J.* 2020;29(1):183-186.
- 16 Wijesekara N, Chimienti F, Wheeler MB. Zinc, a regulator of islet function and glucose homeostasis. *Diabetes Obes Metab.* 2009;11(Suppl4):202-14. doi: 10.1111/j.1463-1326.2009.01110.x.
- 17 Khan AR, Awan FR. Metals in the pathogenesis of type 2 diabetes. *J Diabetes Metab Disord.* 2014;13(1):16. doi: 10.1186/2251-6581-13-16.
- 18 Kazi TG, Afridi HI, Kazi N, Jamali MK, Arain MB, Jalbani N, Kandhro GA. Copper, chromium, manganese, iron, nickel, and zinc levels in biological samples of diabetes mellitus patients. *Biol Trace Elem Res.* 2008;122(1):1-18. doi: 10.1007/s12011-007-8062-y.
- 19 Saharia GK, Goswami RK. Evaluation of serum zinc status and glycated hemoglobin of type 2 diabetes mellitus patients in a tertiary care hospital of assam. *J Lab Physicians.* 2013;5(1):30-3. doi: 10.4103/0974-2727.115923.
- 20 Al-Timimi DJ, Sulieman DM, Hussien KR. Zinc status in type 2 diabetic patients: relation to the progression of diabetic nephropathy. *J Clin Diagn Res.* 2014;8(11):CC04-8. doi: 10.7860/JCDR/2014/10090.5082.
- 21 Jansen J, Rosenkranz E, Overbeck S, Warmuth S, Mocchegiani E, Giacconi R, Weiskirchen R, Karges W, Rink L. Disturbed zinc homeostasis in diabetic patients by in vitro and in vivo analysis of insulinomimetic activity of zinc. *J Nutr Biochem.* 2012;23(11):1458-66. doi: 10.1016/j.jnutbio.2011.09.008.
- 22 de Carvalho GB, Brandão-Lima PN, Maia CS, Barbosa KB, Pires LV. Zinc's role in the glycemic control of patients with type 2 diabetes: a systematic review. *Biometals.* 2017;30(2):151-162. doi: 10.1007/s10534-017-9996-y.
- 23 Cascino TM, Hummel SL. Nutrient Deficiencies in Heart Failure: A Micro Problem With Macro Effects? *J Am Heart Assoc.* 2018;7(17):e010447. doi: 10.1161/JAHA.118.010447.
- 24 Luan F, Chen Y, Xu Y, Jiang X, Liu B, Wang Y. Associations between whole blood trace elements concentrations and HbA1c levels in patients with type 2 diabetes. *Biometals.* 2022;35(5):1011-1022. doi: 10.1007/s10534-022-00419-z.
- 25 Flores CR, Puga MP, Wrobel K, Garay Sevilla ME, Wrobel K. Trace elements status in diabetes mellitus type 2: possible role of the interaction between molybdenum and copper in the progress of typical complications. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011;91(3):333-41. doi: 10.1016/j.diabres.2010.12.014.
- 26 Rychert-Stos M, Walczak M, Horodnicka-Jozwa A, Romanowska H, Katuszonek D, Wyka K, Chojnacka H, Marciniak W, Lubiński J, Petriczko E. Do trace elements influence the course of newly diagnosed type 1 diabetes mellitus? *Neuro Endocrinol Lett.* 2022;43(5):247-256.
- 27 Viktorínová A, Toserová E, Krizko M, Duracková Z. Altered metabolism of copper, zinc, and magnesium is associated with increased levels of glycated hemoglobin in patients with diabetes mellitus. *Metabolism.* 2009;58(10):1477-82. doi: 10.1016/j.metabol.2009.04.035.
- 28 Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(6):2017-29. doi: 10.1210/jc.2007-0298.
- 29 D'Elia L, Masulli M, Cappuccio FP, Zarrella AF, Strazzullo P, Galletti F. Dietary Potassium Intake and Risk of Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Studies. *Nutrients.* 2022;14(22):4785. doi: 10.3390/nu14224785.
- 30 Catalano A, Bellone F, Chilà D, Loddo S, Morabito N, Basile G, Benvenega S, Corica F. Rates of hypomagnesemia and hypermagnesemia in medical settings. *Magnes Res.* 2021;34(1):1-8. doi: 10.1684/mrh.2021.0478.
- 31 Veronese N, Dominguez LJ, Pizzol D, Demurtas J, Smith L, Barbagallo M. Oral Magnesium Supplementation for Treating Glucose Metabolism Parameters in People with or at Risk of Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis of Double-Blind Randomized Controlled Trials. *Nutrients.* 2021;13(11):4074. doi: 10.3390/nu13114074.
- 32 Hasanato RM. Trace elements in type 2 diabetes mellitus and their association with glycemic control. *Afr Health Sci.* 2020;20(1):287-293. doi: 10.4314/ahs.v20i1.34.
- 33 Kolachi NF, Kazi TG, Afridi HI, Kazi N, Khan S, Kandhro GA, Shah AQ, Baig JA, Wadhwa SK, Shah F, Jamali MK, Arain MB. Status of toxic metals in biological samples of diabetic mothers and their neonates. *Biol Trace Elem Res.* 2011;143(1):196-212. doi: 10.1007/s12011-010-8879-7.
- 34 Zhu X, Hua R. Serum essential trace elements and toxic metals in Chinese diabetic retinopathy patients. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(47):e23141. doi: 10.1097/MD.00000000000023141.
- 35 Liu J, Hermon T, Gao X, Dixon D, Xiao H. Arsenic and Diabetes Mellitus: A Putative Role for the Immune System. *All Life.* 2023;16(1):2167869. doi: 10.1080/26895293.2023.2167869.
- 36 Zhu K, Zhang Y, Lu Q, Geng T, Li R, Wan Z, Zhang X, Liu Y, Li L, Qiu Z, He M, Liu L, Pan A, Liu G. Associations of exposure to lead and cadmium with risk of all-cause and cardiovascular disease mortality among patients with type 2 diabetes. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2022;29(51):76805-76815. doi: 10.1007/s11356-022-21273-z.
- 37 Fabris C, Farini R, Del Favero G, Gurrieri G, Piccoli A, Sturniolo GC, Panucci A, Naccarato R. Copper, zinc and copper/zinc ratio in chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Clin Biochem.* 1985;18(6):373-5. doi: 10.1016/s0009-9120(85)80078-3.
- 38 Pérès JM, Bureau F, Neuville D, Arhan P, Bouglé D. Inhibition of zinc absorption by iron depends on their ratio. *J Trace Elem Med Biol.* 2001;15(4):237-41. doi: 10.1016/S0946-672X(01)80039-0.
- 39 Richter P, Faroon O, Pappas RS. Cadmium and Cadmium/Zinc Ratios and Tobacco-Related Morbidities. *Int J Environ Res Public Health.* 2017;14(10):1154. doi: 10.3390/ijerph14101154.
- 40 Frank J, Kisters K, Stirban OA, Obeid R, Lorkowski S, Wallert M, Egert S, Podszun MC, Eckert GP, Pettersen JA, Venturelli S, Classen HG, Golombek J. The role of biofactors in the prevention and treatment of age-related diseases. *Biofactors.* 2021;47(4):522-50.
- 41 Zhuravleva LV, Lahno OV, Civenko OI, Zhuravleva AK, Gorjushko JuA. Rol' narushenij biojelementnogo obmena pri nealkogol'noj zhirovoj bolezni pečeni u bol'nyh sahnarnym diabetom 2-go tipa. *Gastroenterologija.* 2014;53(3):30-34. (Russian).
- 42 Toguzov RT, Sokolova NA, Savina MI. Sovremennyye metody opredelenija komponentov mineral'nogo obmena v biologicheskikh obrazcah. *Klinicheskaja laboratornaja diagnostika.* 2007;9:81. edn: IBETOD. (Russian).
- 43 Ali A, Loseva L, Krupskaja T, Kuznecov O. Biojelementnyj status organizma u lic s izbytochnoj massoj tela [Bioelement status of the body in overweight persons]. *Nauka i innovacii.* 2021;(11):75-79. doi: 10.29235/1818-9857-2021-11-75-79. (Russian).
- 44 Lemonde H. Newborn screening for inborn errors of metabolism. *Paediatrics & Child Health.* 2014;25:103-107.
- 45 Nys G, Kok M, Servais A-C, Fillet M. Beyond dried blood spot: current microsampling techniques in the context of

- biomedical applications. *Trends in Analytical Chemistry*. 2017;97:326-332
- 46 Duthaler U, Berger B, Erb S, Bategay M, Letang E, Gaugler S, Krähenbühl S. Automated high throughput analysis of antiretroviral drugs in dried blood spots. *Journal of Mass Spectrometry*. 2017;52:534-542
- 47 Sullivan PS, Sailey C, Guest JL, Guarner J, Kelley C, Siegler AJ, Valentine-Graves M, Gravens L, Del Rio C, Sanchez TH. Detection of SARS-CoV-2 RNA and antibodies in diverse samples: protocol to validate the sufficiency of provider-observed, home-collected blood, saliva, and oropharyngeal samples. *JMIR Public Health Surveill*. 2020;6:e19054
- 48 Nyanza E, Bernier F, Martin J, Manyama M, Hatfield J, Dewey D. Effects of prenatal exposure and co-exposure to metallic or metalloid elements on early infant neurodevelopmental outcomes in areas with small-scale gold mining activities in Northern Tanzania. *Environ Int*. 2021;149:106104.
- 49 Alfonso M, Richter Appelt H, Tosti A, Viera MS, Garcia M. The psycho-social impact of hair loss among men: A multinational European study. *Curr Med Res Opin*. 2005;21(11):1829-36
- 50 Demidov VA, Skal'nyj AV. Ocenka jelementnogo statusa detej Moskovskoj oblasti pri pomoshhi mnogojelementnogo analiza detej. *Mikrojelementy v medicine* [Trace elements in medicine]. 2001;2(1):46-55. (Russian).
- 51 Skadorva VV. Vzaimosvjaz' mikro- i makrojelementnogo sostava volos s fakticheskim pitaniem vzroslogo naselenija pri diffuznoj alopecii. *Medicina*. 2017;1(96):42-47. (Russian).
- 52 Blumeyer A, Tosti A, Messenger A, Reygagne P, Del Marmol V, Spuls PI, Trakatelli M, Finner A, Kiesewetter F, Trüeb R, Rzyany B, Blume-Peytavi U. Evidence-based (S3) guideline for the treatment of androgenetic alopecia in women and in men. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2011;9(Suppl 6):S1-S7. doi: 10.1111/j.1610-0379.2011.07802.x.

THE PROSPECTS OF BIOELEMENTS STUDY IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS AND THE POSSIBILITY OF ASSESSING THEIR INFLUENCE ON THE COMPLICATIONS DEVELOPMENT OF THE DISEASE

V. M. Mitsura¹, G. N. Khavanskaya², A. Y. Kuzniatsou²

¹ *Republican Scientific and Practical Centre of Radiation
Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus*

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

Background. In recent years, the peculiarities of microelement status in patients with various diseases, the influence of the balance of microelements on the etiology and pathogenesis of diabetes mellitus have been actively studied. Despite numerous studies, the interrelations of metabolic processes leading to diabetes, dyselementosis associated with the deficiency or excess of micro- and macroelements supplied with food, metabolic disorders involving carbohydrates and lipids against the background of hormonal imbalance, as well as the possibilities of their correction remain not fully understood.

The objective of the study is to evaluate the prospects of studying bioelements in patients with diabetes mellitus and the possibility of assessing their influence on the development of complications of the disease.

Materials and Methods. Analysis of scientific research on the concentration of micro- and macroelements in patients with diabetes mellitus and methods of their study.

Results. The data on the prospects of bioelements studying in patients with diabetes mellitus and the possibility of assessing their influence on the prognosis of the development of complications of the disease are presented.

Conclusion. The study of bioelement content in biological materials of patients with diabetes mellitus is relevant at present, which is associated with the development of technical capabilities of modern clinical and laboratory service and with the increased interest in the issues of nutrition and metabolic disorders. Understanding the peculiarities of pathogenetic and therapeutic significance of bioelement levels in patients with DM is important for the diagnosis, prevention and treatment of this nosology. In this regard, large-scale studies of the role of bioelements in type 1 and type 2 diabetes mellitus and assessment of their influence on the development of complications in this disease are necessary.

Keywords: bioelement; patients; diabetes mellitus; hair; Dried Blood Spot; DBS.

For citation: Mitsura VM, Khavanskaya GN, Kuzniatsou AY. The prospects of bioelements study in patients with diabetes mellitus and the possibility of assessing their influence on the complications development of the disease. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2023, vol. 2, no. 2(3). pp. 66–73 (in Russian).

Поступила 12.09.2023

СИНЕРГИЯ ЭФФЕКТОВ ДЕСИАЛИРОВАНИЯ ГЛИКОКОНЬЮГАТОВ АЛКОГОЛЕМ ОПРЕДЕЛЯЕТ ПЕРСОНАЛЬНУЮ ОРГАНОТРОПНОСТЬ, «СПЕЦИФИЧНОСТЬ» АЛКОГОЛИЗМА И ЕГО ЛЕЧЕНИЯ

Т. В. Чернобровкина^{1,2}, Е. В. Брюн¹, С. А. Полятыкин¹, А. Г. Малыгина¹, М. Г. Кондратюк³

¹ *Московский научно-практический центр наркологии*

Департамента здравоохранения Москвы, Москва, Российская Федерация

² *Кафедра наркологии, психиатрии и психотерапии Академии постдипломного образования*

ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства России», Москва, Российская Федерация

³ *Психиатрическая клиническая больница № 4 Департамента здравоохранения*

Москвы им. П. Д. Ганнушкина, Москва, Российская Федерация

Введение. Сиазированные гликоконъюгаты (гликопротеины, гликолипиды) в структурах органов и систем, определяя свойства электроотрицательности клеточных мембран, их иммуногенности, адгезивности и экспрессии рецепторов биоактивных молекул, выполняют важнейшие сигнальную и регуляторную роль как в функционировании в норме, так и в патогенезе многих заболеваний в организме человека. При хронической алкоголизации метаболиты алкоголя проявляют не только токсикогенные эффекты, но и через десиалирующее, деструктурирующее действие на гликоконъюгаты (иммуноглобулины, ферменты, клетки крови, регуляторы систем воспаления, тромбоза, комплемента) опосредуют развитие избирательной органопатологии, определяют вклад в толерантность к алкоголю.

Целью являлось изучить предпосылки к использованию гликопротеомного анализа крови (на примере трансферрина) в диагностике взрослых больных алкоголизмом и подростков группы риска, потребляющих алкоголь.

Методы включали обзор литературы по теме, а также клинико-архивный подход с анализом результатов клинико-лабораторных исследований проходивших наблюдение и лечение в МНПЦН ДЗМ взрослых больных алкоголизмом мужчин и мальчиков-подростков 7-18 лет группы риска, хаотически потребляющих алкоголь.

Результаты позволяют предполагать, что синергетически взаимодействующие последствия эффектов производимого алкоголем десиалирования гликоконъюгатов (в частности, на примере многофункционального трансферрина крови) могут играть кооперативную роль в генезе системных коморбидных патологий у взрослых больных алкоголизмом и у подростков при пагубном употреблении алкоголя без сформированной зависимости. По мнению авторов, гликосиалобиология дает новые возможности для объективизации диагностики избирательной алкогольной органопатологии, персонализированного подхода к терапии и ведению больных алкоголизмом на этапах болезни, профилактике инвалидизации и смертности от алкоголя в населении.

Ключевые слова: алкоголизм, гликоконъюгаты, трансферрин, коморбидность, органотропизм, сиаловая кислота, ферроптоз, персонализация, диагностика.

Для цитирования: Синергия эффектов десиалирования гликоконъюгатов алкоголем определяет персональную органотропность, «специфичность» алкоголизма и его лечения / Т. В. Чернобровкина [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2023. – Т. 2, № 2(3). – С. 74–84.

Введение

Распространенность алкоголизма среди населения продолжает представлять собой серьезную проблему общественного здоровья и экономики многих стран, принимая во внимание фактор омоложения заболевания алкогольной зависимостью [1] и его коморбидные формы [2, 3]. Учитывая высокий уровень латентности формирования наркологических расстройств и то, что смертность при алкоголизме часто бывает обусловлена терминальными состояниями коморбидно протекающих за-

болеваний [4, 5], актуальной задачей является разработка чувствительных методов ранней объективной диагностики алкоголь-ассоциированной органопатологии для своевременного эффективного лечения, предотвращения инвалидности и смертности, особенно среди пациентов трудоспособного возраста, а также и среди хаотически алкоголизирующихся подростков группы риска. Параллельно задачам обоснования и развития методов диагностики встают вопросы о механизмах развития коморбидной патологии при алкогольной

интоксикации и о факторах, определяющих избирательной характер алкогольного органотропизма у индивидуумов. Вследствие доказанных работами многих исследователей тесных патофизиологических связей между воспалительными процессами тканевого происхождения с аутоиммунной реакцией организма становятся более понятными некоторые механизмы патологии отделов нервной, сердечно-сосудистой систем, почек и системы мочевого выведения, болезней других внутренних органов [6, 7, 8]. Выявляются пути формирования сочетанных патологий, связанные с последствиями aberrантного сialiрования ряда биорегуляторов гликопротеидной природы, (ферментов, гормонов, системы комплемента) под влиянием алкогольной интоксикации, курения никотина [9, 10]

В обзоре [11] обсуждается вклад индуцируемого алкоголем вмешательства в сialовый статус организма (через изменение активности сialiдаз и объема циркулирующих сialовых кислот, десialiрование биоактивных гликоидов, среди которых трансферрин, иммуноглобулины G, A, тромбоциты, эритроциты, ряд ферментов, включая многофункциональную гам-

ма-глутамилтрансферазу) в развитие у больных алкоголизмом морфо-функциональных нарушений почек и системы мочевого выведения, поражений легких, сосудистого эндотелия, нейронов и нейроглии, функционирования слизистых и паренхимальных органов и тканей. В результате производимого метаболитами алкоголя (ацетальдегидом, ацетатом и их аддуктами с эндотоксинами) десialiрования молекул биорегуляторов нарушаются структура и свойства и самих биорегуляторов, и их рецепторов на экспрессирующих мембранах клеток, органов и систем. Считается, что этанол и его метаболит АЦА могут вызывать ремоделирование Гольджи и оказывать ингибирующее действие на гликозилтрансферазы [12; 13]. Это может лежать в основе формирования целого ряда патологий у наркологических больных [14], которые описаны морфологическими, гистохимическими методами и патогенетически раскрываются как последствия дефицитной и aberrантной сialiзации молекул биологических регуляторов физиологических процессов и реакций адаптации.

На примере трансферрина, рецепторы которого представлены во всех органах и системах организма

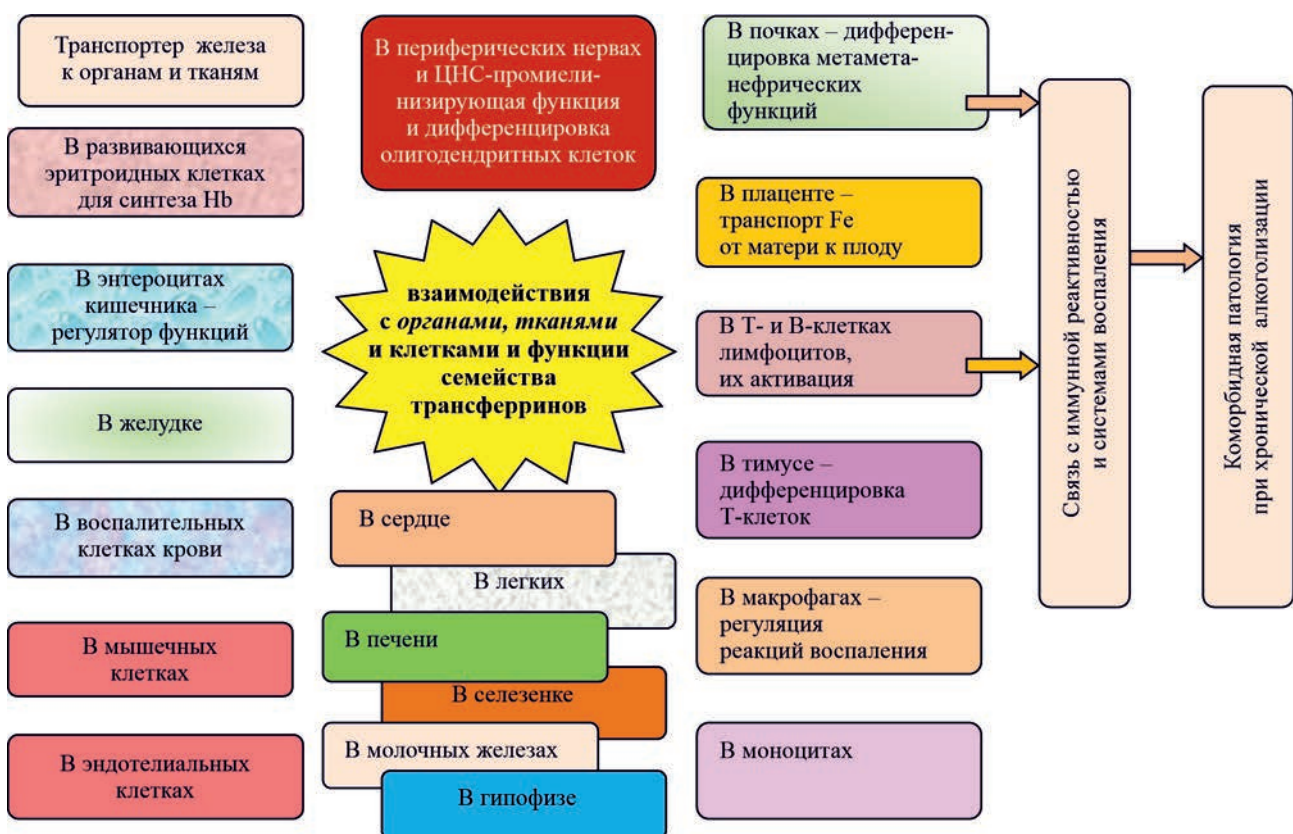


Рисунок. Широкая представленность рецепторов семейства трансферрина в тканях и органах объясняет роль aberrантно сialiрованных форм ТФ в развитии органопатологии, а также их биомаркерную роль в диагностике и значение в мишенивой терапии при алкогольной интоксикации.

Figure. The wide representation of transferrin family receptors in tissues and organs provides a pathoforming role for aberrantly sialylated forms of TF in the development of organopathology, as well as their biomarker role and significance in target therapy for alcohol intoxication.

(рисунок), возможно проследить клинически выраженные и описанные последствия накопления и синергетических взаимодействий структурно-функциональных перестроек трансферрина и других гликоконъюгатов с реакциями воспалительно-иммунных ответов организма при алкоголизации (таблица 1).

В гликопротеомике, широко используемой сегодня в диагностике многих заболеваний, подчеркивается, что *в разной степени сialiрированные гликаны ряда гликопротеинов* (трансферрина, гаптоглобина, альфа-фетопротеина и других) *по-разному*

распределяются в органах и системах. Причем гликаны белков не только дифференцированно распределяются по органам и системам, но и в самих органах локализованы по-разному в органеллах или структурно-функциональных отделах (для мозга, например, – в нейронах коры, гиппокампе, глиальных волокнах). Так что статус гликозилирования белков, детектируемый в крови или спинно-мозговой жидкости (СМЖ) не обязательно отражает гликановый статус белков в самой ткани мозга, тем более – в его отделах [15, 16].

Таблица 1 – Формирование клиничко-патологических процессов в результате накопления и взаимодействия аберрантно сialiрированных биоактивных молекул

Table 1 – Formation of clinical and biological processes as a result of the accumulation and interaction of aberrantly sialiриated bioactive molecules

Участники воспалительно-иммунного ответа организма на эндогенные и экзогенные патогены		Звенья патогенеза и биомаркеры структурнофункциональных состояний систем и органов	
Исходное состояние(норм) биомолекул	Нарушение структуры и функции (микрогетерогенность)	Звенья патогенеза критерии (метаболизма +гликопротеомика)	Дисфункциональные и патологические клинические проявления
IgG	Накопление агалактозилированных форм IgG (IgG-G0; IgG-G1; IgG-G2)	1. Снижение уровня сialiрирования IgG-G0 и других форм IgG 2. выявление полиморфизмов лектина	Нарушение баланса между воспалением и иммунореактивностью, риск развития нейровоспаления Нарушение связывания лектинов с белками
IgA	Нарушение сialiризации (аберрантное сialiрирование) IgA, накопление IgA 1 и образование агрегатов IgA1-полимерного IgA1 (pIgA1)	1. Накопление аберрантно сialiрированных Ig A1 в мезангиальном пространстве почек. 2. Взаимодействие pIgA1 с рецептором Tf эритроидных предшественников (TfR1), повышая их чувствительность к эритропоэтину	Активация реакций системы Комплекмента и формирование <i>тубулоинтерстициальной нефропатии</i> (ТИН) Активация эритропоэза, перепроизводство эритроцитов и формирование необъяснимого синдрома <i>полицитемия/эритроцитоз</i> , повышение Hb, уровня гематокрита
Трансферрин (Tf)	Десialiризация Tf и нарушение микрогетерогенности трансферрина	1. Изменение соотношения изофракций ТГ 2. Изменение захвата и клиренса Tf печенью 3. Нарушение транспорта и распределения железа	Нарушение связывания Tf с коллагеном Накопление фибрина... развитие <i>фиброза</i> , затем – ... <i>цирроза</i> Повышение ферритина, развитие <i>окислительного стресса</i> , феноменов <i>ферроптоза</i> -гибели клеток и <i>ферроаутофагии</i>
Тромбоциты (Тгс)	Изменение сialiрирования тромбоцитов	Нарушение взаимодействия Тгс с фактором Виллебранда Нарушение взаимодействия Тгс с другими клетками крови; Нарушение взаимодействия Тгс с эндотелием	Тромбоцитопения; Тромбоцитоз; Риск развития <i>тромбоза</i>
Эритроциты (Эр)	Нарушение сialiрирования эритроцитов	Изменение параметра ширины эритроцитов И ширины гемоглобина	Нарушение эритропоэза Развитие анемии Нарушение дыхания (гипоксия) и функционирования тканей

Проблема существования взаимосвязи структурных особенностей гликанов с их территориальным распределением в организме и значения этого для молекулярной диагностики пока не решена исследователями полностью [16], хотя доказана роль сигнальной функции гликанов, осуществляемой именно с участием сиаловых кислот. В крови гликаны трансферрина (как сиалодефицитные, так и полноценно сиалированные фракции) могут присутствовать в разных соотношениях, зависящих от состояния здоровья исследуемого. Могут присутствовать и т.н. «мозгоспецифические» фракции трансферрина и из спинномозговой жидкости. Подчеркивается, например, что гликаны «мозгового типа» отличаются уникальностью структуры (по степени разветвленности углеводных цепочек и по стереоизомерии) от гликанов, полученных из крови. Более того, соотношение разных типов трансферринов в крови не постоянно, и это используется при дифференциальной диагностике неврологических болезней [17, 18, 19]. Таким образом, дифференцированное и непостоянное распределение фракций трансферрина может быть связано как с различающимся диапазоном функций трансферринов и разной их региональной локализацией в норме, так и с видом поражения ткани мозга.

По предварительным, нашим данным, в полученном методом изоэлектрофокусировки профиле микрогетерогенности трансферрина в крови некоторых взрослых мужчин, проходящих экспертное обследование на алкоголизацию, наблюдалось как повышение суммарного уровня сиалодефицитных фракций трансферрина (CDT), что подтверждало

предшествующую алкоголизацию, так и изменение количественного отношения полноценно сиалированных фракций (3-сиало-ТФ, 4-сиало-ТФ и 5+6-сиало-ТФ) к фракции CDT (таблица 2). Более того, в группе из 60 взрослых больных алкоголизмом, проходивших клинико-диагностическое обследование на этапе реабилитации, профиль гликанов трансферрина крови, изученный методом капиллярного электрофореза, проявлял себя по-разному у больных в разных клинических состояниях – при устойчивой ремиссии или в состояниях синдрома отмены отягощенного, неотягощенного типа. У некоторых больных алкоголизмом кроме повышения в крови суммарного уровня асиалированных и низко-сиалированных трансферринов (CDT-фракции) была значительно снижена по сравнению с нормой доля наиболее функционально активной формы – тетра-сиалированного- трансферрина – и, соответственно, снижен коэффициент отношения фракций 4-сиало-ТФ/CDT. Это предполагало наличие коморбидных осложнений основного аддиктивного заболевания и требовало проведения дополнительных консультаций и прицельного лабораторного исследования для усовершенствования проводимой терапии. В поисках объяснения и оценки в перспективе значения этого наблюдения для клинической практики есть несколько нуждающихся в проверке версий, по одной из которых позволяет предположить изменение уровней экспрессии рецепторов для деструктурированных форм трансферрина в некоторых органах и тканях и связь этого с определенной, мишеневой для каждого индивида, органопатологией, с индивидуальной чувствительностью

Таблица 2 – Особенности удельного (в %) распределения сиалированных гликомных фракций (профиля микрогетерогенности) трансферрина (ТФ) крови и соотношения полноценно сиалированных фракций с CDT-фракцией, в плазме крови у лиц, контролируемых на алкогольную интоксикацию, (M±m)

Table 2 – Features of the specific (%) distribution of sialylated glycome fractions (microheterogeneity profile) of transferrin (TF) in the blood and the ratio of fully sialylated fractions to the CDT fraction in the blood plasma of individuals monitored for alcohol intoxication, (M±m)

Подэкспертные мужчины (34-65 лет) n=50	Фракции микрогетерогенности транс-феррина (ТФ) (в % от общего пула)				Коэффициенты отношения фракций в профиле микрогетерогенности ТФ к CDT		
	2-syalo-ТФ(CDT) (Норма до 1,7 %)	3-syaloТФ	4-syaloТФ (Норма 80-90 %)	5-syalo-ТФ	3-syalo-ТФ/ CDT	4-syalo-ТФ/ CDT	5-syalo-ТФ/ CDT
Не употребляющие алкоголь, n=45	0,92± 0,36	3,57± 0,23	83,36± 4,12	12,43± 0,43	4,36 ±3,03	99,32± 5,15	14,69 ± 1,97
	<i>p</i> ≤0,05	<i>p</i> >0,05	<i>p</i> >0,05	<i>p</i> >0,05	<i>p</i> <0,05	<i>p</i><0,01	<i>p</i> <0,05
Употребляющие алкоголь (n = 5)	4,02 ± 0,7	4,2 ± 0,56	80,88 ± 12,24	10,9 ± 1,38	1,30± 1,12	24,31± 5,31	3,21 ± 0,19

Примечание: *p* – значимость различий между группами (Mann-Whitney U Test)

Note: *p* – significance of differences between groups (Mann-Whitney U Test)

к токсичности алкоголя, то есть с различной толерантностью к алкоголю. А учитывая уже получаемые доказательства существования в мозге тканеспецифических ферментов для гликозилирования тканеспецифических белков, наряду с ферментами смешанного типа гликозилирования [16], можно думать, что даже получаемый путем изоэлектрической фокусировки спектр фракций в профиле микрогетерогенности белков крови с определенной приближенностью (судя по степени изменения относительного содержания фракций) позволяет судить о морфо-функциональной целостности или же болезненном состоянии ткани (органа) у обследуемого.

Принимая во внимание, что **алкоголь как био- и токсический патоген может избирательно и по разным механизмам деструктурировать трансферрин, дифференцированно экспрессируемый в разных органах и в разных компартментах органов**, применяемый для диагностики алкоголизации методический подход, основанный на определении увеличения общего пула сиалодефицитных форм трансферрина (CDT) в крови, требует осторожности в интерпретации и нуждается сегодня в пересмотре границ его диагностической информативной ценности как биомаркера алкоголизма, так как зависит от ряда новых, еще не уточненных до конца факторов.

Через изменение экспрессии рецепторов десиалированные алкоголем формы трансферрина опосредуют сигнальную модуляцию физиологических процессов, происходящих, например, в тимусе или в мышечных клетках, в моноцитах, в альвеолярном эпителии, в почках, в Т- и В-лимфоцитах, в гипофизе, гиппокампе, в желудке или энтероцитах кишечника, в развивающихся эритроидных клетках или в плаценте. Так проявляются индивидуальные особенности органотропности алкоголя и коморбидность алкоголизма, то есть индивидуальная «специфичность» формирования и протекания основного заболевания у каждого больного алкоголизмом. Однако некоторые последствия десиалирования при алкогольной нагрузке организма имеют универсальное клиническое значение (гибель клеток и всего органа) и проявляют строго последовательные фазы развития, как например описанные феномены *ферроптоза* [20–24] и *ферриавтофагии* [25, 26], указанные в таблице 1. Представляется важным обсудить развитие опасных последствий концентрационного и функционального дисбаланса железа в организме лиц, употребляющих алкоголь, учитывая связь нарушений обмена железа с привносимыми алкогольной интоксикацией изменениями в структуру и функции главного переносчика железа – транс-

феррина. Нарушение транспорта, утилизации и клиренса железа закономерно может повлечь развитие так называемых железо-зависимых патологических процессов, регулируемых избыточными концентрациями железа, а именно: индукцию окисления липидов, накопление перекисных продуктов и запуск (или активизацию) механизма ферроптоза – одной из форм программируемой гибели клеток. Траектории и клинические проявления таких «железо-зависимых» путей молекулярно-клеточных механизмов органопатологии подробно описаны клиническими биофизиками и биохимиками. Нарушения концентрации и распределения железа вызывают каскад биохимических реакций *окислительно-токсического механизма гибели клеток* [20–23], а именно: усиление перекисного окисления липидов и образования активных кислородных радикалов, который развивается, в том числе, и при инфекционном поражении (например, Covid-19 [27]), при заболеваниях сердечно-сосудистой системы [21, 28], и при заболеваниях головного мозга, включая нейродегенеративные болезни [15, 24].

Железо характеризуют как биологический агент – «двуликий янус», обладающий противоположными свойствами: с одной стороны – как фактор, регулирующий важные процессы жизнедеятельности, например, участие в таких важнейших процессах, как донорство и перенос электронов в клеточных дыхательных цепях, как функционирование многих ферментативных процессов, поскольку железо входит в активный центр ферментов, а с другой – как фактор, участвующий в регулируемых программах гибели клеток [20]. В клетках многих, если не всех тканей железо индуцирует перекисное окисление липидов (ПОЛ) в биомембранах, запускаемое гидроксильным радикалом (НО•), образующимся в реакции Фентона (двухвалентного железа Fe⁺² с перекисью водорода). Поэтому вызванное алкогольной деструктуризацией трансферрина (через десиалирование) нарушение своевременной транспортировки железа играет большую роль в накоплениях железа, индукции ПОЛ с образованием высокотоксичных радикалов НО• и проявлениями внутриорганизменной и внутриклеточной токсичности. Степень алкоголизации, то есть частота приема и концентрация алкоголя в организме, может служить запускающим и лимитирующим звеном еще не до конца исследованных процессов ферроптоза и ферритинофагии [26] и обусловливаемых этими механизмами болезней печени (фиброза), почек, сердца [25, 29, 30] и эндотелия сосудов [31], а также развития нейродегенеративных расстройств и заболеваний [24], определяя у больных алкоголь-

ной зависимостью *индивидуальную картину алкогольной органопатологии*. Насколько это специфично для алкоголя как экзопатогенных факторов – вопрос, заслуживающий отдельного обсуждения, учитывая небезучастность эндогенного этанола, а также фактор курения, которое также провоцирует ферритинопатию [9, 10, 29]. В то же время для наркологии как медицинской и социальной науки степень переносимости индивидом токсичности алкоголя (метаболической и функциональной толерантности к алкоголю) должна быть максимально объективизирована, поскольку это важно для адекватной оценки реабилитационного потенциала пациента, обоснования лечения (включая дозы лекарств) и прогнозирования хода болезни с учетом всех известных и составляющих биохимической конституции, регулирующих состояние здоровья и уровни адаптации.

Известно, что толерантность к алкоголю определяется способностью организма метаболизировать алкоголь и выводить высоко органотоксичный продукт окисления алкоголя (ацетальдегид) из организма. Однако помимо собственной токсичности ацетальдегид в соединении с малоновым диальдегидом способен ингибировать активный центр сиалотрансфераз, нарушая сиалирование трансферрина. Возрастающая доля дефицитного по содержанию сиаловых кислот трансферрина при злоупотреблении алкоголем увеличивает подверженность тканей, в которых представлены рецепторы трансферрина, усиленным окислительным процессам, синергетически связанным с реакциями воспаления, с дисрегуляцией многих адаптационных и защитных функций организма. Важно отметить, что особенность описанного патофизиологического механизма зависимых от железа процессов ферроптоза и ферритинофагии заключается в его способности запускаться при пониженных и повышенных концентрациях находящегося в обороте и/или в тканях железа, то есть при нарушениях баланса железа как участника нескольких взаимосвязанных процессов. Получается, что **трансферрин выполняет в организме роль триггера в поддержании необходимого балансного состояния железа** во многих, если не во всех взаимосвязанных функциях или реакциях организма, зависящих от железа, и это обеспечивается определенными концентрациями в биосредах и разнообразием форм гликанового профиля трансферрина.

При нарушениях или блокировании функции сиалилтрансфераз патогенами разной природы: физической (радиация, температура), биологической (инфекционной, бактериальной), химической (синтетической) или токсикобиологической (ацетальдегид) сиалирование гликанов трансфер-

рина протекает ущербно. В циркулирующем пуле снижается доля полноценно сиалированных молекул трансферрина и растет доля дефицитных или aberrантно сиалированных его форм, следствием чего является накопление и отложения нереализованного железа и развитие ферро-патологий. При злоупотреблении алкоголем в дозах, не адекватных метаболическим системам детоксикации и выведения алкоголя из организма, десиалированный трансферрин увеличивает подверженность тканей, где экспрессированы его рецепторы, окислительным процессам, синергетически связанным с реакциями воспаления, иммунореактивностью, гормональной регуляцией многих других адаптационно-приспособительных функций. В условиях хронического и нарастающего окислительного стресса развивается ферритинопатология. Обнаружены не только гендерные различия в изменении ферритина крови у больных алкоголизмом, но и зависимость ферритинопатий от клинического состояния: тяжести синдрома отмены алкоголя и другой симптоматики [32], а также от эпигенетически действующих факторов, среди которых приводятся фактор голодания и недопоставка в организм аминокислот (цистеина и L-глутамина), истощение пула универсального эндогенного детоксиканта – восстановленного глутатиона, что подтверждает тесное функциональное взаимодействие ферроптоза и звеньев клеточного метаболизма.

Обсуждаемые в настоящей статье на примере трансферрина особенности участия десиалированных гликоконъюгатов в адаптационно-приспособительных ответах организма, их вклад в формирование обменных расстройств и пограничных с патологией нарушений реактивности, включая когнитивные процессы и поведение, особенно важны при исследовании последствий алкоголизации у взрослых, употребляющих алкоголь в умеренных дозах, *не указывающих на алкоголизм* визуализирующими методами лабораторной экспертизы – отклонением величины CDT-теста, а также (и особенно) у детей и подростков группы риска, хаотически принимающих алкоголь, по казуистической статистике – с 5–7 лет.

Инициированные нами исследования в амбулаторном отделении Детского реабилитационного центра МНПЦ наркологии ДЗ Москвы показывают, что у подростков, хаотически употребляющих алкоголь, находящихся под наблюдением в связи диагнозом «пагубное употребление алкоголя» – Z 72.0 или F 10.0 (по МКБ-10), стандартное определение в крови профиля сиалогликанов трансферрина для объективизации употребления алкоголя оказалось неэффективным. Из 218 подрост-

ков лишь у семерых было обнаружено превышение нормального уровня сиалодефицитной фракции трансферрина (CDT-теста). Ожидаемого увеличения CDT не наблюдалось даже у трех подростков (1 девочки и 2 мальчиков) после случаев острого отравления алкоголем тяжелой и средней степени. Причины ограничения (отсутствия) работоспособности известного диагностического теста ставят вопрос о возрасте созревания и формирования сиалового статуса организма и его регулирующих функций могут явиться предметом отдельного обсуждения. В то же время, примечательно, что, как и у взрослых больных алкоголизмом, у алкоголизирующихся подростков диагностически значимым критерием алкоголизации может оказаться показатель относительного снижения уровня в крови наиболее функционально активной, полноценно сиалированной изоформы в профиле микрогетерогенности трансферрина – тетра-сиало-ТФ.

Действительно, в пилотном исследовании группы лиц подросткового возраста с диагнозами Z 72.0 или F 10.0 оказалось, что на фоне индифферентного поведения CDT-теста в профиле микрогетерогенности трансферрина в плазме крови уменьшалась величина или обнаруживалась тенденция к снижению соотношения 4-сиало-ТФ/2-сиало-ТФ. Такое перераспределение удельного содержания в разной степени сиалированных гликанов (на примере фракций моно-, ди-, 3-, 4-, 5- и 6-сиалотрансферринов) может служить альтернативным диагностическим критерием, по крайней мере, если не скрытой врожденной особенности метаболизма или патологии, то нарушенного гликопротеомного баланса и уровня адаптации в организме, предвестником развития дисгармонии функций, индуцированного алкоголизацией формирования состояния нездоровья.

Наше предположение опирается на данные литературы об участии именно полноценно сиалированных гликоформ семейства трансферринов в регуляции в норме функций свертывающей системы крови, эритропоэза, функций сосудистого эндотелия, фильтрационной способности почек и обмена соединительной ткани [34, 35], и о негативном модулировании алкоголем функций системы коагулологии [36], а также на предварительные наши наблюдения заметных нарушений в показателях тромбокрита, гематокрита и эритропоэза в большой выборке алкоголизирующихся детей и подростков (данные готовятся к публикации). Подобные отклонения возможны благодаря тому, что только при нормальной экспрессии рецепторов трансферрина в клетках и тканях протекает нормальное обеспечение клеток, органа (системы) железом и их полноценное функционирование [23,

29, 35]. При снижении же уровня сиалирования и/или при aberrантных формах сиалирования трансферрина и изменении экспрессии рецепторов трансферрина в тканях с определенной вероятностью ускоряются процессы «физиологического старения»: ухудшается обеспечение тканей кислородом и увеличиваются процессы закисления, воспаления, что приводит к нарушениям функционального метаболического баланса органа (системы) и синергического взаимодействия их с другими органами. Объяснение таких закономерностей вытекает из уже описанных структурных особенностей гликановых профилей ряда гликоконъюгатов крови у соматических больных, больных системными аутоиммунными заболеваниями и онкологией [11, 33].

Обсуждение и заключение

Обзор опубликованных данных и выявленные в собственных наблюдениях категории проходящих лечение и реабилитацию больных алкоголизмом такие клинические особенности как широкая вариативность, многообразие, и в то же время избирательность эффектов алкоголизации, осуществляемых через десиалирование биомолекул-регуляторов, что подтверждалось аналитической регистрацией изменений профиля микрогетерогенности трансферрина, предполагает развитие на разных этапах алкоголизма системной патологии, при несвоевременном выявлении способствующей развитию инвалидности. Трансферрин как гликопротеид, подверженный десиалированию при систематической алкоголизации, является потенциальным участником различных нарушений алкоголем регуляции процессов воспаления, склерогенеза, коагулологии и развития миокардиальной дистрофии и дизритмии, нефропатии и нейропатологии, многоклеточного зашлаковывания и клеточной гибели, которые в совокупности составляют своеобразный сетевой механизм нарушения нормального функционирования и адаптации. Поэтому десиалирование и изменение экспрессии рецепторов трансферрина под действием алкоголя на уровне молекулярной патофизиологии фактически означает начало развития системной патологии и ранней медленной смерти лиц, злоупотребляющих алкоголем, приводя, в целом, на популяционном уровне, к снижению уровня общественного здоровья и депопуляции.

Продемонстрированные в клинических описаниях и экспериментальных исследованиях эффекты индуцируемого алкоголем десиалирования биорегуляторов метаболизма и адаптационных ответов организма в виде реакций апоптотической гибели клеток органов представляют серьезную

угрозу здоровью и жизни больных алкоголизмом и серьезный вызов современной наркологии и общественной медицине, требующий усовершенствования подходов к персонализации прогнозирования, ранней диагностики и профилактики скрыто формирующейся коморбидности не только лиц, злоупотребляющих алкоголем, но и предотвращения развития скрытых системных заболеваний у алкоголизирующихся детей и подростков, особенно в семьях, отягощенных алкогольным анамнезом.

Гликопротеомные нарушения и их маркеры помогают объяснить, с одной стороны, полиморбидность при алкоголизме, а с другой – индивидуальную специфичность протекания основного заболевания и избирательный органотропизм алкоголя у взрослых больных, а у алкоголизирующихся подростков – могут иметь практическую значимость в прогнозировании и прицельной профилактике угрожающей алкоголь-опосредованной органопатологии. По мнению авторов внедрение гликопротеомики в практическую наркологию будет способствовать объективизации ранней диагностики алкогольной органопатологии, персонализированному подходу к терапии и ведению больных алкоголизмом на этапах болезни, а также профилактике инвалидизации и смертности от алкоголя в населении.

Список цитированных источников

- Скворцова, Е. С. Употребление алкоголя среди современных городских подростков-школьников [Электронный ресурс] / Е. С. Скворцова, Е. И. Бабушкина // Социальные аспекты здоровья населения. – Сетевое издание. – 2023. – Т. 69 (3). – Режим доступа: <http://vestnik.Mednet.ru/content/view/1487/30/lang.ru/>. doi:10.21045/2071 – 5021– 2023– 69 – 3– 10.
- Артемчук, А. Ф. Экологические основы коморбидности аддиктивных заболеваний / А. Ф. Артемчук, И. К. Сосин, Т. В. Чернобровкина / Под ред. Т. В. Чернобровкиной. – Харьков: Коллоквиум, 2013. – 1148 с.
- Костюк, Г. П. Интеллектуальное снижение у больных шизофренией с коморбидными сахарным диабетом II типа и алкоголизмом / Г. П. Костюк, Д. И. Черепашин, П. В. Аронов, Г. Н. Бельская, И. А. Никифоров // Медицинский Совет. – 2021. – Т. 21. – С. 26–34. doi.org/10.21518/2079-701X-2021-21-2-26-34.
- Брюн, Е. А. О мониторинге смертности населения, связанной с употреблением психоактивных веществ / Е. А. Брюн, Л. И. Летникова, А. Ю. Евдокимов, Ю. Б. Шевцова, В. Ю. Скрябин // Общественное здоровье. – 2021. – № 1 (1). – С. 44–55. doi:10.21045/2782-1676-2021-1-1-44-55.
- Каткова, И. П. Бремя алкогольной смертности в России и ряде европейских стран / И. П. Каткова, С. И. Рыбальченко // Проблемы современной экономики. – 2018. – Т. 3 – № 6. – С. 206–213.
- Клюшник, Т. П. Нейробиология шизофрении и клиникопсихопатологические корреляты (к построению клинко-биологической модели) / Т. П. Клюшник, А. Б. Смулевич, С. А. Зозуля, Е. И. Воронова // Психиатрия. – 2021. – № 19 (1). – С. 6–15. doi: 10.30629/2618-6667-2021-19-1-6-15.

- Лищук, С. В. Морфологические особенности IgG4-связанных поражений различных локализаций / С. В. Лищук, И. А. Казанцева, Е. А. Дубова, К. А. Павлов, О. Р. Катунина, А. М. Борбат, Ю. Д. Удалов // Архив патологии. – 2019. – № 81 (5). – С. 22–29. doi:10.17116/patol20198105122.
- Черепнин, М. А. IgG4-ассоциированный панкреатит – трудности диагностики и лечения / М. А. Черепнин, Е. В. Серова, С. И. Бердников, Е. В. Чупраков, Ю. Б. Говорина // Лечащий врач. – 2021. – № 2. – С. 35–37.
- Knezevic, A. Effects of aging, body mass index, plasma lipid profiles and smoking on human plasma N-glycans / A. Knezevic, O. Gornik, O. Polasek, M. Pucic, I. Redzic, M. Novokmet, P. M. Rudd, A. F. Wright, H. Campbell, I. Rudan, G. Lauc // Glycobiology. – 2010. – Vol. 20 (8). – P. 959–969. doi:10.1093/glycob/cwq051.
- Yoshida, M. Involvement of cigarette smoke-induced epithelial cell ferroptosis in COPD pathogenesis / M. Yoshida [et al.] // Nat. Commun. – 2019. – Vol. 10 (1). – 3145. doi: 10.1038/s41467-019-10991-7.
- Чернобровкина, Т. В. Сиалогликопатология в механизмах алкоголь-ассоциированной полиморбидности имеет сходство с поражениями при коронавирусной инфекции (в 3-х частях) / Т. В. Чернобровкина, С. Г. Копоров // Наркология. – 2022. – Том 21 (3). – С. 39–64.
- Gong, M. Down-regulation of liver Gal β 1, 4GlcNAc α 2, 6-sialyltransferase gene by ethanol significantly correlates with alcoholic steatosis in humans / M. Gong [et al.] // Metabolism – 2008. – Vol. 57 (12). – P. 1663–1668. doi:10.1016/j.metabol.2008.07.021.
- Ghosh, P. Long-term ethanol exposure impairs glycosylation of both N- and O-glycosylated proteins in rat liver / P. Ghosh, Q.-H. Liu, M. R. Lakshman // Metabolism. – 1995. – Vol. 44. – P. 890–898. doi:10.1016/0026-0495(95)90242-2.
- Пауков, В. С. Патологическая анатомия алкогольной болезни / В. С. Пауков, Ю. А. Ерохин // Альманах клинической медицины. – 2020. – № 48 (2). – С. 84–93. doi:10.18786/2072-0505-2020-48-015.
- Abe, E. Expression of Transferrin protein and Messenger RNA in Neural Cells from Mouse and Human Brain Tissue / E. Abe [et al.] // Metabolites. – 2022. – Vol. 12 (7). – P. 594–605. doi:10.3390/metabol2070594.
- Baerenfaeger, M. Glycoproteomics in Cerebrospinal Fluid Reveals Brain-Specific Glycosylation Changes / M. Baerenfaeger [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – Vol. 24 (3). – 1937. doi:10.3390/ijms24031937.
- Murakami, Y. Transferrin isoforms in cerebrospinal fluid and their relation to neurological diseases / Y. Murakami, K. Saito., H. Ito, Y. Hashimoto // Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci. – 2019. – Vol. 95 (5). – P. 198–210. doi: 10.2183/pjab.95.015.
- Hoshi, K. A unique glycan-isoform of transferrin in cerebrospinal fluid: A potential diagnostic marker for neurological diseases / K. Hoshi [et al.] // Biochim. Biophys. Acta BBA – Gen. Subj. – 2017. – Vol. 1861 (10). – P. 2473–2478. doi: 10.1016/j.bbagen.2017.07.002473–2478.
- Vanderver, A. Sensitivity and specificity of decreased CSF asialotransferrin for eIF2B-related disorder / A. Vanderver [et al.] // Neurology. – 2008. – Vol. 70 (23). – P. 2226–2232. doi: 10.1212/01.wnl.0000313857.54398.0e.
- Iron Catalysis of Lipid Peroxidation in Ferroptosis: Regulated Enzymatic or Random Free Radical Reaction? / D. A. Stoyanovsky [et al.] // Free Radical Biology and Medicine. – 2018. – Vol. 133. – P. 153–161. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.008.
- Подзолков, В. И. Ферроптоз-ассоциированное повреждение как потенциальная мишень в терапии сердечно-сосуди-

- дистых заболеваний / В. И. Подзолков, А. И. Тарзиманова, Л. А. Пономарева, Е. Н. Попова, А. Б. Пономарев // Терапевтический архив. – 2022. – № 94 (12). – С. 1421–1425. doi: 10.26442/00403660.2022.12.201996.
22. Николаев, А. А. Биохимические механизмы ферроптоза // Молекулярная медицина. – 2023. — № (2). – С. 19–24. doi: 10.29296/24999490-2023-02-03.
 23. Qiu, Y. The Application of Ferroptosis in Diseases / Y. Qiu [et al.] // Rev. Pharmacol. Res. — 2020. – Vol. 159. – 104919. doi: 10.1016/j.phrs.2020.104919.
 24. Costa, I. Molecular mechanisms of ferroptosis and their involvement in brain diseases / I. Costa [et al.] // Pharmacol. Ther. – 2023. – Vol. 244. – 108373. doi: 10.1016/j.pharmtherap.2023.108373.
 25. Ito, J. Iron derived from autophagy-mediated ferritin degradation induces cardiomyocyte death and heart failure in mice / J. Ito [et al.] // Elife. – 2021. – Vol. 10. — e62174. doi: 10.7554/eLife.62174.
 26. Jin, X. Ferritinophagy in the etiopathogenic mechanism of related diseases / X. Jin [et al.] // J. Nutr. Biochem. – 2023. – Vol. 117. – 109339. doi: 10.1016/j.jnutbio.2023.109339.
 27. Dahan, Sh. A. Ferritin as a marker of severity in COVID-19 patients: a fatal correlation / Sh. Dahan [et al.] // Israil Med. Assoc. Journal. – 2020. – Vol. 22 (8). – P. 494–500.
 28. Huang, F. Phosphatidylethanolamine aggravates Angiotensin II-induced atrial fibrosis by triggering ferroptosis in mice / F. Huang [et al.] // Front. Pharmacol. – 2023. – Vol. 14. – 1148410. doi: 10.3389/fphar.2023.1148410.
 29. Jin, X. Ferritinophagy in the etiopathogenic mechanism of related diseases / X. Jin [et al.] // J. Nutr. Biochem. – 2023. – Vol. 117. – 109339. doi: 10.1016/j.jnutbio.2023.109339.
 30. Menon, A. V. Cardiac iron overload promotes ferroptosis and cardiac dysfunction in mice with sickle cell disease / A. V. Menon, H. P. Tsai, J. Kim // The FASEB Journal. – 2020. – Vol. 34 (S1). – P. 1–1. doi: 10.1096/fasebj.2020.34.s1.02704.
 31. Qin, X. Ferritinophagy is involved in the zinc oxide nanoparticles-induced ferroptosis of vascular endothelial cells / X. Qin [et al.] // Autophagy. – 2021. – Vol. 17(12). — P. 4266–4285. doi: 10.1080/15548627.2021.1911016.
 32. Yehia, A. Sex difference in the association between blood alcohol concentration and serum ferritin / A. Yehia, A. L. Sousa Ricardo, O. A. Abulseoud // Sec. Addictive Disorders. – 2023. – Vol. 14. – P. 1230406. doi: org/10.3389/fpsy.2023.1230406
 33. Gao, M. Glutaminolysis and Transferrin Regulate Ferroptosis / M. Gao, P. Monian [et al.] // Mol. Cell. – 2015. – Vol. 59 (2). – P. 298–308. doi: 10.1016/j.molcel.2015.06.011.
 34. Cano, A. Transferrin isoforms, old but new biomarkers in hereditary fructose intolerance / A. Cano [et al.] // J. Clin. Med. – 2021. – Vol. 10 (13). – P. 2932. doi: 10.3390/jcm10132932.
 35. Tang, X. Transferrin plays a central role in coagulation balance by interacting with clotting factor / X. Tang [et al.] // Cell Res. – 2020. – Vol. 30 (2). – P. 1190132. doi:10.1038/s41422-019-0260-6.
 36. Wickramasinghe, S. N. Correlation between acetaldehyde-modified haemoglobin, carbohydrate-deficient transferrin (CDT) and haematological abnormalities in chronic alcoholism. / S. N. Wickramasinghe, B. Corridan, R. Hasan, D. H. Marjot // Alcohol. Alcohol. – 1994. – Vol. 29 (4). – P. 415–423.
- References**
- 1 Skvortsova ES. Upotrebleniye alkogolya sredi sovremennykh gorodskikh podrostkov-shkolnikov. *Cotsialnyye aspekty zdorovia naseleniya*. Setevoye izdaniye. 2023;69(3):10. Rezhim dostupa: <http://vestnik.Mednet.ru/content/view/1487/30/lang.ru/>. doi: 10.21045/2071–5021–2023–69–3–10. (Russian).
 - 2 Artemchuk AF, Sosin IK, Chernobrovkina TV. *Ekologicheskie osnovy komorbidnosti addiktivnykh zaboolevanij*. Pod red. T.V. Chernobrovkinoy. – Har'kov: Kollokvium. 2013; 1148 s. (Russian).
 - 3 Kostyuk GP, Cherepahin DI, Aronov PV, Bel'skaya GN, Nikiforov IA. Intellektual'noe snizhenie u bol'nykh shizofrenij s komorbidnymi saharnym diabetom II tipa i alkogolizmom. *Medicinskij Sovet*. 2021;(21-2):26-34. doi: org/10.21518/2079-701H-2021-21-2-26-34. (Russian).
 - 4 Bryun EA, Letnikova LI, Evdokimov AYU, Shevcova YuB, Skryabin VYu. O monitoringe smertnosti naseleniya, svyazannoj s upotrebleniem psihoaktivnykh veshchestv. *Obshchestvennoe zdorov'e*. 2021;1(1):44-55. doi: 10.21045/2782-1676-2021-1-1-44-55. (Russian).
 - 5 Katkova IP, Rybal'chenko SI. Bremya alkogol'noj smertnosti v Rossii i ryade evropejskikh stran. *Problemy Sovremennoj Ekonomiki*. 2018;3(6):S.206-213. (Russian).
 - 6 Klyushnik TP, Smulevich AB, Zozulya SA, Voronova EI. Nejobiologiya shizofrenii i klinikopsihopatologicheskie korrelyaty (k postroeniyu kliniko-biologicheskoy modeli). *Psihiatriya*. 2021;19(1):6-15. doi: 10.30629/2618-6667-2021-19-1-6-15. (Russian).
 - 7 Lishchuk SV, Kazanceva IA, Dubova EA, Pavlov KA, Katunina OR, Borbat AM, Udalov YuD. Morfologicheskie osobennosti IgG4-svyazannykh porazhenij razlichnykh lokalizacij. *Arhiv Patologii*. 2019;81(5):22-29. doi: org/10.17116/patol20198105122. (Russian).
 - 8 Cherepnin MA, Serova EV, Berdnikov EV, Chuprakov SI, Govorina YB. IgG4-associated pancreatitis - difficulties in diagnosis and treatment. Attending doctor. *Lechashchij Vrach*. 2021;2:35-37. (Russian).
 - 9 Knezevic A, Gornik O, Polasek O, Pucic M, Redzic I, Novokmet M, Rudd P.M, Wright A.F, Campbell H, Rudan I, Lauc G. Effects of aging, body mass index, plasma lipid profiles, and smoking on human plasma N-glycans. *Glycobiology*. 2010 Aug;20(8):959-69. doi: 10.1093/glycob/cwq051.
 - 10 Yoshida M, Minagawa S, Araya J, Sakamoto T, Hara H, Tsubouchi K, Hosaka Y, Ichikawa A, Saito N, Kadota T, Sato N, Kurita Y, Kobayashi K, Ito S, Utsumi H, Wakui H, Numata T, Kaneko Y, Mori S, Asano H, Yamashita M, Odaka M, Morikawa T, Nakayama K, Iwamoto T, Imai H, Kuwano K. Involvement of cigarette smoke-induced epithelial cell ferroptosis in COPD pathogenesis. *Nat Commun*. 2019 Jul 17;10(1):3145. doi: 10.1038/s41467-019-10991-7.
 - 11 Chernobrovkina TV, Koporov SG. Sialoglycopathology in the mechanisms of alcohol-associated polymorbidity is similar to lesions during coronavirus infection (in 3 parts). *Narcology*. 2022;21(3):39-64. doi: 10.25557/1682-8313.2022.04.43-57. (Russian).
 - 12 Gong M, Castillo L, Redman RS, Garige M, Hirsch K, Azuine M, Amdur RL, Seth D, Haber PS, Lakshman MR. Down-regulation of liver Galbeta1, 4GlcNAc alpha2, 6-sialyltransferase gene by ethanol significantly correlates with alcoholic steatosis in humans. *Metabolism*. 2008 Dec;57(12):1663-8. doi: 10.1016/j.metabol.2008.07.021.
 - 13 Ghosh P, Liu QH, Lakshman MR. Long-term ethanol exposure impairs glycosylation of both N- and O-glycosylated proteins in rat liver. *Metabolism*. 1995 Jul;44(7):890-8. doi: 10.1016/0026-0495(95)90242-2.
 - 14 Paukov VS, Erohin YuA. Patologicheskaya anatomiya alkogol'noj bolezni. *Al'manah klinicheskoy mediciny*.

- 2020;48(2): 84-93. doi: 10.18786/ 2072-0505-2020-48-015. (Russian).
- 15 Abe E, Fuwa TJ, Hoshi K, Saito T, Murakami T, Miyajima M, Ogawa N, Akatsu H, Hashizume Y, Hashimoto Y, Honda T. Expression of Transferrin Protein and Messenger RNA in Neural Cells from Mouse and Human Brain Tissue. *Metabolites*. 2022 Jun 26;12(7):594. doi: 10.3390/metabo12070594.
 - 16 Baerenfaenger M, Post MA, Langerhorst P, Huijben K, Zijlstra F, Jacobs JFM, Verbeek MM, Wessels HJCT, Lefeber DJ. Glycoproteomics in Cerebrospinal Fluid Reveals Brain-Specific Glycosylation Changes. *Int. J. Mol. Sci.* 2023 Jan 18;24(3):1937. doi: 10.3390/ijms24031937.
 - 17 Murakami Y, Saito K, Ito H, Hashimoto Y. Transferrin isoforms in cerebrospinal fluid and their relation to neurological diseases. *Proc. Jpn. Acad. Se. B Phys. Biol. Sci.* 2019;95(5):198-210. doi: 10.2183/pjab.95.015.
 - 18 Hoshi K, Matsumoto Y, Ito H, Saito K, Honda T, Yamaguchi Y, Hashimoto Y A. Unique glycan-isoform of transferrin in cerebrospinal fluid: A potential diagnostic marker for neurological diseases. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2017 Oct;1861(10):2473-2478. doi: 10.1016/j.bbagen.2017.07.005.
 - 19 Vanderver A, Hathout Y, Maletkovic J, Gordon ES, Mintz M, Timmons M, Hoffman EP, Horzinski L, Niel F, Fogli A, Boespflug-Tanguy O, Schiffmann R. Sensitivity and specificity of decreased CSF asialotransferrin for eIF2B-related disorder. *Neurology*. 2008 Jun 3;70(23):2226-32. doi: 10.1212/01.wnl.0000313857.54398.0e.
 - 20 Stoyanovsky DA, Tyurina YY, Shrivastava I, Bahar I, Tyurin VA, Protchenko O, Jadhav S, Bolevich SB., Kozlov AV, Vladimirov YA, Shvedova AA, Philpott CC, Bayir H, Kagan VE. Iron catalysis of lipid peroxidation in ferroptosis: Regulated enzymatic or random free radical reaction? *Free Radic Biol Med.* 2019 Mar;133:153-161. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.008.
 - 21 Podzolkov VI, Tarzimanova AI, Ponomareva LA, Popova EN, Ponomarev AB. Ferroptosis-associated damage as a potential target in the treatment of cardiovascular diseases. *Therapeutic archive.* 2022;94(12):1421-1425. doi: 10.26442/00403660.2022.12.201996. (Russian).
 - 22 Nikolaev AA. Biochemical mechanisms of ferroptosis. *Molecular Medicine.* 2023;(2):19-24. doi: org/10.29296/24999490-2023-02-03. (Russian).
 - 23 Qiu Y, Cao Y, Cao W, Jia Y, Lu N. The Application of ferroptosis in diseases. *Pharmacol Res.* 2020. Sep;159:104919. doi: 10.1016/j.phrs.2020.104919.
 - 24 Costa I, Barbosa DJ, Benfeito S, Silva V, Chavarria D, Borges F, Remião F, Silva R. Molecular mechanisms of ferroptosis and their involvement in brain diseases. *Pharmacol. Ther.* 2023; Apr;244:108373. doi: 10.1016/j.pharmthera.2023.108373.
 - 25 Ito J, Omiya S, Rusu MC, Ueda H, Murakawa T, Tanada Y, Abe H, Nakahara K, Asahi M, Taneike M, Nishida K, Shah AM, Otsu K. Iron derived from autophagy-mediated ferritin degradation induces cardiomyocyte death and heart failure in mice. *Elife.* 2021; Feb 2;10:e62174. doi: 10.7554/eLife.62174.
 - 26 Jin X, Jiang C, Zou Z, Huang H, Li X, Xu S, Tan R. Ferritinophagy in the etiopathogenic mechanism of related diseases. *J. Nutr. Biochem.* 2023; Jul;117:109339. doi: 10.1016/j.jnutbio.2023.109339.
 - 27 Dahan S, Segal G, Katz I, Hellou T, Tietel M, Bryk G, Amital H, Shoenfeld Y, Dagan A. Ferritin as a marker of severity in COVID-19 patients: a fatal correlation. *Isr. Med. Assoc. J.* 2020; Aug;22(8):494-500.
 - 28 Huang F, Liu X, Liu J, Xie Y, Zhao L, Liu D, Zeng Z, Liu X, Zheng S, Xiao Z. Phosphatidylethanolamine aggravates Angiotensin II-induced atrial fibrosis by triggering ferroptosis in mice. *Front. Pharmacol.* 2023; May 23;14:1148410. doi: 10.3389/fphar.2023.1148410.
 - 29 Jin X, Jiang C, Zou Z, Huang H, Li X, Xu S, Tan R. Ferritinophagy in the etiopathogenic mechanism of related diseases. *J. Nutr. Biochem.* 2023; Jul;117:109339. doi: 10.1016/j.jnutbio.2023.109339.
 - 30 Menon AV, Tsai HP, Kim J. Cardiac iron overload promotes ferroptosis and cardiac dysfunction in mice with sickle cell disease. *The FASEB Journal.* 2020; 34 (S1): 1-1. doi:10.1096/fasebj.2020.34.s1.02704.
 - 31 Qin X, Zhang J, Wang B, Xu G, Yang X, Zou Z, Yu Ch. Ferritinophagy is involved in the zinc oxide nanoparticles-induced ferroptosis of vascular endothelial cells. *Autophagy.* 2021;17:4266-85. doi: 10.1080/15548627.2021.1911016.
 - 32 Yehia A, Sousa RAL, Abulseoud OA. Sex difference in the association between blood alcohol concentration and serum ferritin. *Front Psychiatry.* 2023; Jul 21;14:1230406. doi: 10.3389/fpsy.2023.1230406.
 - 33 Gao M, Monian P, Quadri N, Ramasamy R, Jiang X. Glutaminolysis and transferrin regulate ferroptosis. *Mol Cell.* 2015; Jul 16;59(2):298-308. doi: 10.1016/j.molcel.2015.06.011.
 - 34 Cano A, Alcalde C, Belanger-Quintana A, Cañedo-Villarroya E, Ceberio L, Chumillas-Calzada S, Correcher P, Couce ML, García-Arenas D, Gómez I, Hernández T, Izquierdo-García E, Martínez Chicano D, Morales M, Pedrón-Giner C, Petrina Jáuregui E, Peña-Quintana L, Sánchez-Pintos P, Serrano-Nieto J, Unceta Suarez M, Vitoria Miñana I, de Las Heras J. Transferrin isoforms, old but new biomarkers in hereditary fructose intolerance. *J Clin Med.* 2021; Jun 30;10(13):2932. doi: 10.3390/jcm10132932.
 - 35 Tang X, Zhang Z, Fang M, Han Y, Wang G, Wang S, Xue M, Li Y, Zhang L, Wu J, Yang B, Mwangi J, Lu Q, Du X, Lai R. Transferrin plays a central role in coagulation balance by interacting with clotting factors. *Cell Res.* 2020 Feb;30(2):119-132. doi: 10.1038/s41422-019-0260-6.
 - 36 Wickramasinghe SN, Corridan B, Hasan R, Marjot DH. Correlations between acetaldehyde-modified haemoglobin, carbohydrate-deficient transferrin (CDT) and haematological abnormalities in chronic alcoholism. *Alcohol Alcohol.* 1994 Jul;29(4):415-23.

SYNERGY OF EFFECTS OF DESIALIATION OF GLYCOCONJUGATES WITH ALCOHOL DETERMINES PERSONAL ORGANOTROPICITY, “SPECIFICITY” OF ALCOHOLISM AND ITS TREATMENT

T. V. Chernobrovkina^{1,2}, E. V. Brun¹, S. A. Polyatykin¹, A. G. Malygina¹, M. G. Kondratyuk³

¹ FGBUZ “Moscow Scientific and Practical Center of narcology of the Department of Health of the city of Moscow”, Moscow, Russian Federation

² Department of Narcology, Psychiatry and Psychotherapy of the Academy of Postgraduate Education of the Federal State Budgetary Institution “Federal Scientific and Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency of Russia”, Moscow, Russian Federation

³ GBUZ PKB No.4 DZM named after Gannushkin, Moscow, Russian Federation

Introduction. Sialylated glycoconjugates (glycoproteins, glycolipids) in the structures of organs and systems, determining the properties of the electronegativity of cell membranes, their immunogenicity, adhesiveness and expression of receptors for bioactive molecules, play an important signaling and regulatory role both in the normal functioning and in the pathogenesis of many diseases in the human body [Brewing, cooking,]. In chronic alcoholization, alcohol metabolites exhibit not only toxicogenic effects, but also through a desialyzing, destructuring effect on glycoconjugates (immunoglobulins, enzymes, blood cells, regulators of inflammatory systems, thrombogenesis, complement) mediate the development of selective organopathology and determine the contribution to alcohol tolerance.

The goal was to study the prerequisites for the use of glycoproteomic blood analysis (using transferrin as an example) in the diagnosis of adult patients with alcoholism and adolescents at risk who consume alcohol. Methods included a review of the literature on the topic, as well as a clinical and archival approach with analysis of the results of clinical and laboratory studies of adult alcoholic men and adolescent boys aged 7-18 years, at risk group, who chaotically consume alcohol, who were observed and treated at the Moscow Scientific Research Center for Health Care.

Methods included a review of the literature on the topic, as well as a clinical and archival approach with an analysis of the results of clinical and laboratory studies of adult alcoholic men and adolescent boys at risk who chaotically consumed alcohol who were observed and treated at the Moscow Scientific Research Center for Health Care.

The results suggest that the synergistically interacting consequences of the effects of desialylation of glycoconjugates produced by alcohol (in particular, using the example of multifunctional blood transferrin) can play a cooperative role in the genesis of systemic comorbid pathologies in adult patients with alcoholism and in adolescents with harmful use of alcohol without formed dependence. According to the authors, glycosialobiology provides new opportunities for objectifying the diagnosis of selective alcoholic organopathology, a personalized approach to the treatment and management of patients with alcoholism at the stages of the disease, the prevention of disability and early mortality from alcohol in the population.

Key words: alcoholism, glycoconjugates, transferrin, comorbidity, organotropism, sialic acid, ferroptosis, personalization, diagnostics.

For citation: Chernobrovkina TV, Brun EV, Polyatykin SA, Malygina AG, Kondratyuk MG. Synergy of effects of desialiation of glycoconjugates with alcohol determines personal organotropicity, “specificity” of alcoholism and its treatment. *Biochemistry and Molecular Biology*. 2023, vol. 2, no. 2(3). pp. 74–84 (in Russian).

Поступила 01.09.2023

**К 80-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ЧЛЕНА-КОРРЕСПОНДЕНТА
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ,
ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК, ПРОФЕССОРА
АНДРЕЯ ГЕОРГИЕВИЧА МОЙСЕЁНКА**



Как быстро летит время! 1 июня исполнилось 80 лет одному из первых учеников основателя Гродненской биохимической школы академика Юрия Михайловича Островского – Мойсеёнку Андрею Георгиевичу. Он был в числе первых студентов Гродненского медицинского института, пришедших заниматься биохимией в студенческий научный кружок при только что созданной кафедре биохимии, первым председателем студенческого научного общества Гродненского медицинского института. Вместе с Юрием Михайловичем участвовал в формировании научного коллектива первого академического учреждения на Гродненщине – Отдела регуляции обмена веществ Академии наук БССР, открытого в 1970 г. и реорганизованного в 1985 г. в Институт биохимии. В Институте биохимии НАН Беларуси Андрей Георгиевич был и старшим научным сотрудником, и ученым секретарем, и заведующим лабораторией, и заместителем директора по научной работе, и и.о. директора института. Принимал активное участие в строительстве нового корпуса института на БЛК, 50. Однако административная стезя оказалась для Андрея Георгиевича не столь притягательной, как путь решения проблем в биохимии, и он, начав с руководства созданной под его началом в сентябре 1981 г. лаборатории коферментов (с 2003 г. –

лаборатория, а затем отдел витаминов и коферментов), сосредоточил свое внимание на изучении проблем фундаментальной биохимии. По результатам этой работы Андрей Георгиевич организовал и провел в 1977 г. первый всесоюзный симпозиум по пантотеновой кислоте, изучению особенностей метаболизма и роли которой в регуляции функций организма при различных патологических состояниях он не изменяет и до настоящего времени (участвовал в первом и втором международных симпозиумах по проблемам биохимии пантотеновой кислоты в Лондоне (2014 г.) и Марселе (2016 г.), опубликовал фундаментальный обзор «Система метаболизма CoA и ацетил-CoA головного мозга в механизмах нейродегенерации» в журнале «Биохимия» (Москва) в 2023 г. и др.

А. Г. Мойсеёнок, член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук, профессор, является известным ученым в области биохимии витаминов и коферментов, микроэлементов, нутрициологии, создания новых средств метаболической терапии и профилактических композиций на их основе. Им установлена патогенетическая роль системы кофермента А (КоА) в поддержании антиоксидантной защиты организма, в частности, в формировании резистентности к поражающему действию ишемическо-реперфузионного, радиа-

ционно-обусловленного синдрома, а также при моделировании нейродегенеративной патологии. Проведено сравнительное исследование биоэффективности селеносодержащих субстанций, установлен новый механизм действия селена в стабилизации селенопротеинов.

Исследованиями научного коллектива под руководством А. Г. Мойсеенка доказано, что производные пантотеновой кислоты – предшественники КоА – обладают антиапоптотическим действием в условиях окислительного стресса *in vivo* и в модельных системах, оказывают выраженное влияние на редокс-статус клеток, в том числе клеток с высокой лекарственной устойчивостью. Впервые показано, что этот эффект сопряжен с воздействием системы биосинтеза КоА на стационарное состояние глутатиона-SH и процессы редокс-сигналирования. Обоснована научная концепция физиологической роли системы КоА в формировании клеточного редокс-потенциала. Им установлены механизмы биоэффективности селеносодержащих субстанций и стабилизации селенопротеинов. В 2016–2020 гг. А. Г. Мойсеенок инициировал исследования по механизмам действия кальциферолов, с 2020 г. провел анализ мировых исследований по взаимосвязи D-витаминного статуса и развития осложнений ковида, организовал научные мероприятия по обсуждению роли микронутриентного статуса и системы глутатиона в профилактике постковидного синдрома. С 2022 г. руководит исследованиями механизмов антиоксидантных свойств системы биосинтеза КоА и их сопряженности с системой глутатиона в нейроструктурах ЦНС при моделировании системного воспаления.

Список публикаций А. Г. Мойсеенка включает более 612 основных научных работ, в т.ч. 218 журнальных статей, а также 6 монографий и 6 глав в коллективных монографиях, 24 авторских свидетельства на изобретения и патенты. Под его руководством выполнены и защищены 25 кандидатских и докторских диссертаций. Андрей Георгиевич является основателем и научным редактором издания «Питание и обмен веществ». Участвовал (вместе с член-корреспондентом НАН Беларуси З. В. Ловкисом) в организации и проведении первого национального конгресса «Наука, питание и здоровье» (июнь 2017 г.). Ряд разработок, выполненных под руководством Андрея Георгиевича, имеют международный приоритет (18 патентов и авторских свидетельств на изобретения).



Андрей Георгиевич инициировал и поддерживал международное сотрудничество с исследователями и научными коллективами Москвы, Киева, Риги, Вильнюса, Иркутска, Читы, Варшавы, Вены, Берлина, Белостока, Гданьска, Лондона, Одессы, Львова. Участник и руководитель ряда проектов по международному сотрудничеству с российскими, польскими и украинскими научными учреждениями, в частности, с 2005 г. с Институтом высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН (г. Москва), с которым подписан долгосрочный договор о проведении совместных исследований в области разработки фармакологических средств и нутрицевтиков, обладающих нейротропной активностью. Участник международного сотрудничества с Институтом питания РАН (г. Москва), Институтом биологии клетки НАНУ (г. Львов). Совместно с украинскими коллегами разрабатывает концепцию о роли редокс-механизмов в действии противоопухолевых средств. По инициативе Андрея Георгиевича коллектив Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси выступил организатором 1-ой Белорусско-польско-литовской научной конференции «Границы биологических наук. Сигналинг и метаболизм», посвященной 250-летию академика А. Снядецкого (ноябрь 2018 г.).

Коллектив Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси от всей души желает Андрею Георгиевичу сохранять и далее такую же творческую энергию, широту научных интересов и энтузиазм в решении новых научных проблем. Здоровья и успехов!

Коллектив сотрудников Института биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси

НАУЧНЫЙ СЕМИНАР
«ГОРИЗОНТЫ СИСТЕМЫ МЕТАБОЛИЗМА CoA»,
ПОСВЯЩЕННЫЙ ЮБИЛЕЮ ЧЛЕНА-КОРРЕСПОНДЕНТА
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ, ПРОФЕССОРА
АНДРЕЯ ГЕОРГИЕВИЧА МОЙСЕЁНКА



1 июня 2023 г. исполнилось 80 лет заведующему Отделом витаминологии инутрицевтики республиканского научно-исследовательского унитарного предприятия «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси» члену-корреспонденту, профессору, доктору биологических наук Мойсеёнку Андрею Георгиевичу. Вместе с академиком Островским Ю. М. он прошел многолетний путь создания и развития академического института в Гродно, стал основателем научной школы в области коферментологии, а с начала 90-х годов был руководителем института и его ведущего подразделения. Научная, научно-организационная и общественная деятельность Андрея Георгиевича получила признание в научном сообществе и сфере культуры Беларуси, на его родине Дисненщине и Принеманском крае.

В юбилейный день состоялся научно-практический семинар, отражающий основное научное направление деятельности члена-корреспондента А.Г. Мойсеёнка «НОВЫЕ ГОРИЗОНТЫ СИСТЕМЫ МЕТАБОЛИЗМА CoA». С докладом на тему «Новые представления о функции системы кофермента A в механизмах нейропротекции» выступил юбиляр, а также его ученики и соратники (Н. П. Канунникова, проф., д.б.н., Л. И. Надольник, д.б.н., В. А. Гуринович, к.б.н., О. В. Титко, И. Н. Катковская). С приветственным словом и поздравлениями от имени Президиума и Отделения медицинских наук НАН Беларуси выступил академик-секретарь Отделения медицинских наук НАН Беларуси

В. Г. Богдан. По решению Президиума НАН Беларуси А. Г. Мойсеёнку был вручен нагрудный знак им. В. М. Игнатовского. В постановлении Президиума НАН Беларуси от 05.05.2023 г. указывается «Уручыць нагрудны знак адзнакі імя У.М. Ігнатоўскага Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі, занесены ў Дзяржаўны геральдычны рэгістр Рэспублікі Беларусь, Майсеёнку Андрэю Георгіевічу, галоўнаму навуковаму супрацоўніку рэспубліканскага навукова-даследчага ўнітарнага прадпрыемства “Інстытут біяхіміі біялагічна актыўных злучэнняў Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі”, доктару біялагічных навук, прафесару, члену-карэспандэнту, за шматгадовую плённую навуковую дзейнасць, значны асабісты ўклад у развіццё акадэмічнай навукі, высокія дасягненні па ўкараненні вынікаў даследаванняў і ў сувязі з 80-годзем з дня нараджэння». Своему известному в науке земляку прислали приветствие Председатель Глубокского райисполкома А. Н. Шубский и Председатель Совета депутатов В. М. Телица. Известен вклад Андрея Георгиевича в пополнении фондов местного музея и архива.

Директор Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси доцент О. Е. Кузнецов и проректор УО «Гродненский государственный медицинский университет» профессор С. Б. Вольф наградили юбиляра почетными грамотами и ценными подарками. Ученица Андрея Георгиевича, ныне декан УО «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы», доцент Н. З. Башун удостоила юбиляра теплыми поздравлениями и университетским сувениром. Была оглашена благодарность Совета ботанических садов стран СНГ в адрес А. Г. Мойсеёнка за плодотворное сотрудничество и вклад в развитие историко-биологической науки (академик В. П. Решетников, доцент Е. В. Спиридович).

Высокая оценка научной и научно-практической деятельности А. Г. Мойсеёнка дана в приветствии федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи (академики РАН В. А. Тутельян, Д. Б. Никитюк), Института геохимии и аналитической химии им. В. Н. Вернадского РАН (член-корреспондент РАН Р. Х. Хамизов, профессор, Заслуженный деятель науки Российской Федерации В. В. Ермаков), РУП «Научно-практический центр НАН Бе-



ларуси по продовольствию» (ген. директор А. В. Мелешня, академик З. В. Ловкис). Теплые поздравления и добрые пожелания прозвучали в приветственных обращениях к юбиляру ректора УО «Белорусский государственный медицинский университет», члена-корреспондента С. П. Рубниковича, ректора Полесского государственного университета В. И. Дуная, директора РНПЦ травматологии и ортопедии члена-корреспондента М. А. Герасименко. В поздравлении директора Института языковедения им. Я. Купалы НАН Беларуси И. Л. Копылова отмечена деятельность юбиляра в изучении и сохранении историко-культурного наследия страны, малой родины (Поставщины и Глубочкины). В приветствии к юбиляру констатируется: «Вы з’яўляецеся знаўцам не толькі беларускай гісторыі, культуры і мовы, але і беларускай душы...Вашы думкі, ацэнкі, меркаванні маюць асаблівую вагу сярод беларускіх вучоных-гуманітарыяў і краязнаўцаў. Вы належыце да той кагорты людзей, якія сваёй нязгаснай жыццёвай энергіяй пранесенай праз дзесяцігоддзі, запальваюць і натхняюць іншых”.

Тесная связь Андрея Георгиевича с малой родиной прозвучала в словах приветствия и поздравлении земляков директора Воропаевской СШ В. Н. Жука, которую юбиляр окончил в 1959 г., и директора зонального государственного архива в г. Глубоком, в стенах которого будущий профессор появился на свет в тяжелые военные годы. Получено приветствие от коллектива Глубокского историко-этнографического музея, фонды которого пополнены Андреем Георгиевичем.

Соратники по работе в области нейробиологии, витаминологии и микроэлементологии из учреждений Москвы, Минска и Гродно также отметились поздравлениями и пожеланиями дальнейшей совместной работы (Н. В. Гуляева, В. М. Коденцо-

ва, Н. В. Жилинская и др. г. Москва; Отдел питания РНПЦ по продовольствию; Н. А. Гресь, БГМУ; лаборатория прикладной биохимии ИБОХ НАНБ, г. Минск; сотрудники кафедры биохимии ГрГМУ; сотрудники Отдела витаминологии и нутрицевтики и коллеги, Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси г. Гродно).

Поступили приветствия и творческие пожелания из дальнего зарубежья. В них международное признание научного труда А.Г. Мойсеенка в изучении кофермента А и смежных вопросов витаминологии (профессор С. Хайфлик, США; профессор И. Гоут, Великобритания; профессор А. Штутович, Гданьск, РП).

Коллектив кафедры медицинской биохимии Гданьского медицинского университета, который является наследником медицинского факультета Виленского университета, воспитавшем отца Андрея Георгиевича, Георгия Никифоровича, и с которым Андрей Георгиевич имеет тесные научные связи в области нейробиологии, присвоил ему титул “WYJATKOWEGO JUBILATA” на ближайший год за профессионализм, интеллигентность и исключительное чувство юмора. Верность традициям медико-биологической науки и образования, характерная для члена-корреспондента А. Г. Мойсеенка особо отметил в приветствии академик В. Н. Решетников.

В канун юбилея в журнале «Биохимия» (Biochemistry, Moscow) опубликован обзор «Система метаболизма CoA и ацетил-CoA головного мозга в механизмах нейродегенерации А. Г. Мойсеенко, Н. П. Канунникова // Биохимия. – 2023. – Т. 88, вып.4. – С. 569 – 587”.

Коллектив сотрудников Института биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси

IN MEMORIAM
ГОЛУБОВИЧ ВЛАДИМИР ПЕТРОВИЧ
(02.01.1950–08.06.2023)



8 июня 2023 года Белорусская наука понесла тяжелую утрату, ушел из жизни Владимир Петрович Голубович, крупный учёный в области биохимии и биоорганической химии, заместитель Председателя ОО «Белорусское общество биохимиков и молекулярных биологов», профессор, доктор биологических наук, заведующий лабораторией прикладной биохимии Института биоорганической химии НАН Беларуси.

Владимир Петрович родился 2 января 1950 г. в г. Минске в семье служащих, после окончания средней школы поступил на физический факультет Белгосуниверситета имени В. И. Ленина, который окончил в 1972 г. По распределению стажировался в Институте физико-органической химии АН БССР, где окончил 6-месячные курсы по прикладной математике. С марта 1973 г. направлен на работу в отдел биоорганической химии института физико-органической химии АН БССР (в 1974 г. реорганизованного в Институт биоорганической химии АН БССР), с которым более 50 лет связана научная и трудовая деятельность В. П. Голубовича. Ровесник вновь созданного института, он прошел путь от стажера-исследователя до главного научного сотрудника, заведующего лабораторией. Активный и увлеченный наукой Владимир Петрович защитил в 1978 г. кандидатскую диссертацию по специальности биофизика, посвященную биогенным аминам, а в 1986 году в МГУ им. М. В. Ломо-

носова – докторскую диссертацию «Исследование зависимости структура-функция в рядах природных низкомолекулярных биорегуляторов (пептиды, биогенные амины и др.) и прогнозирование биологической активности». 1 июня 2001 г. он стал основателем лаборатории прикладной биохимии.

Многогранная сфера научных интересов Голубовича В.П. является замечательным примером соединения теории и практики. Важное место в его научной деятельности занимало создание теоретических основ прогнозирования биологической активности химических соединений на основе комплекса различных расчетных методов теоретического конформационного анализа, квантово-химического расчета, математической статистики и др. Сотрудниками лаборатории под руководством В. П. Голубовича получены новые высокоактивные пептидные соединения различной природы и спектра активности. Были синтезированы аналоги гипоталамических регуляторных гормонов тиролиберина и люлиберина, и нейрогипофизарных – вазопрессина и окситоцина, ряд других нейропептидов. Спектр активности синтезированных соединений широк, это стимуляторы памяти и обучаемости, терморегуляторы, анксиолитики, противозипилептические, ингибиторы алкогольной зависимости. Исследование активных сайтов белков крови привело к созданию высокоактивных антитромботических соединений, субстратов и ингибиторов протеиназ.

Владимир Петрович был инициатором и участником ряда межведомственных и межрегиональных проектов, примечательны его научные связи с Институтом биохимии АН БССР (ныне Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси), которые были начаты еще в 80-е годы и привели к обоснованию новой концепции антифибринолитической активности. Сотрудничество с биохимиками Гродно сохранялось до последних дней жизни учёного и предполагало развитие нового направления в получении субстратов и ингибиторов протеолиза и биосорбентов.

Голубович В.П. вел большую работу по подготовке кадров, был авторитетным, заботливым, требовательным наставником, под его руководством защищено более 10 кандидатских диссертаций, много дипломных работ. Тематика диссертаций – яркое свидетельство широты научных интересов Владимира Петровича: исследование структурно-функциональных отношений нейропептидов бомбезина, вещества Р и синтез их активных аналогов синтез гипоталамических гормонов и их аналогов, математическое моделирование и прогнозирование процесса энзиматической деградации пептидных соединений, создание новых программ для моделирования белково-пептидных взаимодействий, синтез модифицированных фрагментов фибриногена, обладающих антиагрегационной активностью, дизайн новых субстратов и ингибиторов эластазы, разработка новых матриц для гемосорбентов. Последняя кандидатская диссертация, выполненная под руководством Владимира Петровича, успешно защищена в июне 2023 года, после смерти руководителя.

В 2013 г. годы благодаря усилиям В. П. Голубовича в Институте биоорганической химии создан участок по выпуску гемосорбентов – уникальное производство, единственное в Беларуси. Для нужд отечественной медицины выпускается линейка сорбентов, которые используются при лечении тяжелых заболеваний («ЛПС-Гемо», «Антилипопротеид», «Анти-IgE-Гемо», «Гемо-Протеазсорб»), разрабатываются и проходят необходимые испытания новые гемосорбенты, предложенные Владимиром Петровичем.

Библиография трудов Владимира Петровича Голубовича – еще одно свидетельство широты его научных интересов и глубокой эрудиции. В соавторстве им опубликовано шесть монографий, а также около 300 других печатных работ, получено 20 авторских свидетельств и патентов. Его работы известны в Республике Беларусь и за рубежом, получили признание научного сообщества. В. П. Голубович неоднократно принимал участие в работе международных и республиканских конференций и симпозиумов. Он был активным участником Конгрессов и текущей работы Белорусского общества биохимиков и молекулярных биологов.

Память об этом замечательном, интеллигентном и разностороннем человеке, посвятившем свою жизнь науке, надолго сохранится в сердцах его коллег.

*Кузнецов О. Е.,
Мартиневич В. П.,
Грибовская О. В.,
Мойсеёнок А. Г.*

Азизбекян Сергей Гургенович – старший научный сотрудник, руководитель группы, Институт физико-органической химии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 13, 220072, г. Минск, Республика Беларусь); e-mail: mechanochem@ifoch.bas-net.by

Sergey G. Azizbekyan – Senior Researcher, Head of the Group, Institute of Physical Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (13, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus); e-mail: mechanochem@ifoch.bas-net.by

Акуневич Анастасия Александровна – аспирант, Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220083 г. Минск, Республика Беларусь); e-mail: akunevichna@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-5917-1929>

Anastasia A. Akunevich – Postgraduate Student, Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220083 Minsk, Republic of Belarus); e-mail: akunevichna@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-5917-1929>.

Байкова Александра Владиславовна – студентка, Белорусский государственный медицинский университет (220116 г. Минск пр. Держинского 83); e-mail: alexandra.baikova@gmail.com

Aliaxandra V. Baykova – Student, Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus); e-mail: alexandra.baikova@gmail.com

Белоновская Елена Брониславовна – ст. науч. сотрудник, отдел доклинического и экспериментального исследования, Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. А. Тызенгауза, 7, 230023 г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: ms.belonovskaya@yandes.ru

Elena B. Belonovskaya – Senior Scientific Employee of the Department of Preclinical and Experimental Research, Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (A. Tyzenhauz Square, 7, 230023 Grodno, Republic of Belarus); e-mail: ms.belonovskaya@yandes.ru

Богдевич Евгений Валерьянович – аспирант, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси (пл. А. Тызенгауза, д. 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: yauhenibogdevich@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0003-9825-098X>

Yauheni V. Bahdzevich – PhD student, The Institute of Biochemistry Biologically Active Compounds, The National Academy of Sciences of

Belarus (7, A. Tyzenhauz Sq., 230023, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: yauhenibogdevich@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0003-9825-098X>

Брюн Елена Владимировна – врач психиатр-нарколог, зав. детским реабилитационным центром (филиалом) ГБУЗ «Московский научно-практический центр наркологии ДЗМ» (Москва, ул. Остоженка, д.53а)

Elena V. Brun – Psychiatrist-Narcologist, Head of the Children's Rehabilitation Center (Branch) of the State Medical Institution "Moscow Scientific and Practical Center of Narcology DZM". Moscow, Ostozhenka str., 53a

Букиша Екатерина Витальевна – младший научный сотрудник, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси (пл. А. Тызенгауза, д. 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: kasper@ibiochemistry.by; <https://orcid.org/0009-0001-0236-9691>

Ekaterina V. Buksha – Junior Research, The Institute of Biochemistry Biologically Active Compounds, The National Academy of Sciences of Belarus (7, A. Tyzenhauz Sq., 230023, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: kasper@ibiochemistry.by; <https://orcid.org/0009-0001-0236-9691>

Гончарик Антонина Викторовна – старший научный сотрудник, лаборатория биохимических методов исследования, Белорусский государственный медицинский университет (220116 г. Минск пр. Держинского 83); e-mail: lbmibgmu@mail.ru

Antonina V. Goncharik – Senior Research Associate of the Laboratory of Biochemical Research Methods, Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus); e-mail: lbmibgmu@mail.ru

Гуринович Валерий Александрович – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси (пл. А. Тызенгауза, д. 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: gurinovich@ibiochemistry.by; <https://orcid.org/0009-0001-4928-6957>

Valery A. Gurinovich – PhD (Biology), Senior Researcher, The Institute of Biochemistry Biologically Active Compounds, The National Academy of Sciences of Belarus (7, A. Tyzenhauz Sq., 230023, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: gurinovich@ibiochemistry.by; <https://orcid.org/0009-0001-4928-6957>

Давидовская Яна Сергеевна – сотрудник лаборатории биохимических методов исследования,

Белорусский государственный медицинский университет (220116 г. Минск пр. Держинского 83); e-mail: yana.davidouskaia@gmail.com

Yana S. Davidouskaya – Researcher at the Laboratory of Biochemical Research Methods, Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus); e-mail: yana.davidouskaia@gmail.com

Давидовский Сергей Владимирович – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры психотерапии и медицинской психологии, Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки 3, 220013 г. Минск, Республика Беларусь); e-mail: davidouski@yandex.ru

Siarhey V. Davidouski – PhD (Medicine), Assistant Professor, Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3, Brovki str., 220013, Minsk, Republic of Belarus); e-mail: davidouski@yandex.ru

Ермолович Марина Анатольевна – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114 г. Минск, Республика Беларусь); e-mail: yermalovich@mail.ru

Marina A. Yermalovich – D. Sc. (Medicine), Leading Researcher, Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114 Minsk, Republic of Belarus); e-mail: yermalovich@mail.ru

Ибрагимова Жанна Аркадьевна – канд. биол. наук, заведующий лаборатории биохимических методов исследования, Белорусский государственный медицинский университет (220116 г. Минск пр. Держинского 83); e-mail: lbmibgmu@mail.ru

Janna A. Ibragimova – PhD (Biology), Head of the Laboratory of Biochemical Research Methods, Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus); e-mail: lbmibgmu@mail.ru

Канунникова Нина Павловна – доктор биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник, Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. А. Тызенгауза, 7, 230023 г. Гродно, Республика Беларусь); профессор кафедры технологии, физиологии и гигиены питания, Гродненский государственный университет имени Янки Купалы (230023, ул. Ожешко, 22, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: n.kanunnikova@gmail.com

Nina P. Kanunnikava – PhD, MD (Biology), Professor, Leading Research Associate, Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances, National Academy of Science of Belarus (7, A. Tyzengauz square, 230023 Grodno, Republic of Belarus); Professor of Department of Technology, Physiology, and Hygiene of Nutrition, Yanka Kupala Grodno State University

(230023, 22, Ozheshko str., Grodno, Belarus); e-mail: n.kanunnikova@gmail.com

Картун Людмила Викторовна – старший научный сотрудник лаборатории биохимических методов исследования, Белорусский государственный медицинский университет (220116 г. Минск пр. Держинского 83); e-mail: lbmibgmu@mail.ru

Ludmila V. Kartun – Senior Research Associate of the Laboratory of Biochemical Research Methods, Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus); e-mail: lbmibgmu@mail.ru

Катковская Инна Николаевна – научный сотрудник, Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. А. Тызенгауза, 7, 230023 г. Гродно, Республика Беларусь)

Ina M. Katkouskaya – Research Associate, Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (7, A. Tyzengauz square, 230023 Grodno, Republic of Belarus)

Квасюк Евгений Иванович – д-р хим. наук, профессор, Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А.Д.Сахарова БГУ (ул. Долгобродская, 23/1, 220070 Минск, Республика Беларусь); e-mail: ekvasyuk@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4029-8289>

Evgeniy I. Kvasyuk – DSc (Chemistry), Professor, Belarusian State University, ISEI BSU (23/1, Dolgobrodskaya str., 220070 Minsk, Republic of Belarus); e-mail: ekvasyuk@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4029-8289>

Кондратюк Марина Геннадьевна – врач психиатр-нарколог ГБУЗ «Психиатрическая клиническая больница № 4 Департамента здравоохранения Москвы им. П. Д. Ганнушкина» (Москва, Потешная ул., 3)

Marina G. Kondratyuk – Psychiatrist-Narcologist of the State Medical Institution "Psychiatric Clinical Hospital No. 4 of the Department of Healthcare of Moscow named after P.D.Gannushkin" (Moscow, Poteshnaya str., 3)

Кузнецов Олег Евгеньевич – кандидат биологических наук, доцент, директор Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. А. Тызенгауза, 7, 230023 г. Гродно, Республика Беларусь); тел. e-mail: olegkuznetsov@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1348-8688>

Aleh Y. Kuzniatsou – PhD (Biology), Associate Professor, Director of the 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: olegkuznetsov@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1348-8688>

Лелевич Владимир Валерьянович – доктор мед. наук, профессор, заведующий кафедрой биохимии Гродненского государственного медицинского университета (230009, ул. Горького, 80, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: vlelevich@yandex.ru

Vladimir V. Lelevich – D. Sc. (Medicine), Professor, Head of the Department of Biochemistry; Grodno State Medical University (230009, 80, Gorkogo str., Grodno, Republic of Belarus); e-mail: vlelevich@yandex.ru

Леонов Николай Николаевич – канд. физ.-мат. наук, вед. науч. сотрудник, Институт социологии НАН Беларуси (ул. Сурганова, 1/2, 220072, г. Минск, Республика Беларусь); e-mail: nick.leonov@gmail.com

Nicolay N. Leonov – PhD (Phys. and Math.), Leading Researcher, Institute of Sociology of the National Academy of Sciences of Belarus (1/2, Surganov Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus); e-mail: nick.leonov@gmail.com

Логинова Наталья Васильевна – д-р хим. наук, профессор, Белорусский государственный университет (пр. Независимости 4, 220030 Минск, Республика Беларусь); e-mail: loginonv@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-0531-3594>

Natalia V. Loginova – Dr. Hab., Prof., Belarusian State University (4, Nezavisimosti Avenue, 220030 Minsk, Republic of Belarus); e-mail: loginonv@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-0531-3594>

Лукиенко Елена Петровна – канд. мед. наук, зав. лабораторией, Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. А. Тызенгауза, 7, 230023 г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: lukgrodno@mail.ru

Elena P. Lukiyenko – PhD, Senior Researcher, Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances, National Academy of Science of Belarus (7, A. Tyzengauz square, 230023 Grodno, Republic of Belarus); e-mail: lukgrodno@mail.ru

Максимчик Юрий Зигмундович – старший научный сотрудник, отраслевая научно-исследовательская лаборатория «ДНК-технологий» учреждения образования «Гродненский государственный аграрный университет» (ул. Академическая, д. 10, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: yurym979@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0004-6132-230X>

Yuri Z. Maksimchyk – Senior Researcher, Applied-Research Laboratory of «DNA-technologies» of Educational Institution «Grodno State Agrarian

University» (10, Akademicheskaya St., 230030, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: yurym979@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0004-6132-230X>

Малыгина Александра Геннадьевна – врач-ординатор, психиатр-нарколог ГБУЗ «Московский научно-практический центр наркологии ДЗМ» (Москва 109390, Люблинская, 37/1)

Alexandra G. Malygina – resident physician, psychiatrist-narcologist of the State Medical Institution "Moscow Scientific and Practical Center of Narcology DZM" (Moscow 109390, Lublinskaya, 37/1)

Мамедова Анастасия Евгеньевна – ассистент кафедры биологической химии, Гродненский государственный медицинский университет (г. Гродно, ул. Горького, 80); e-mail: kopats_93@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9183-3216>

Anastasija Y. Mamedova – Assistant at the Department of Biological Chemistry, Grodno State Medical University (230009, 80, Gorkogo str., Grodno, Republic of Belarus); e-mail: kopats_93@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9183-3216>

Мицюра Виктор Михайлович – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе, Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека (246040, г. Гомель, ул. Ильича, 290); e-mail: mitsura_victor@tut.by; <https://orcid.org/0000-0002-0449-5026>

Viktar M. Mitsura – PhD, D. Med. Sci., Professor, Deputy Director for Research of the Republican Research and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology (290, Il'icha str., 246040 Gomel city, Republic of Belarus); e-mail: mitsura_victor@tut.by; <https://orcid.org/0000-0002-0449-5026>

Мойсеёнок Андрей Георгиевич – член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биол. наук, профессор, зав. отделом, Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. А. Тызенгауза, 7, 230023 г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: andrey.moiseenok@tut.by

Andrey G. Moiseenok – Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belarus, MD (Biology), Professor, Head of the Department, Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances, National Academy of Science of Belarus (7, A. Tyzengauz square, 230023 Grodno, Republic of Belarus); e-mail: andrey.moiseenok@tut.by

Мороз Валентина Леопольдовна – ст. науч. сотрудник отдела доклинического и экспериментального исследования, Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. А. Тызенгауза, 7, 230023 г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: valmor655@gmail.com

Valentina L. Moroz – Senior researcher of the department of preclinical and experimental research, 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: valmor655@gmail.com

Надольник Лилия Ивановна – д-р биол. наук, заведующий отделом доклинического и экспериментального исследования, Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. А. Тызенгауза, 7, 230023 г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: lnadolnik@gmail.com

Liliya I. Nadolnik – D. Sc. (Biology), Head of the department of preclinical and experimental research, 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: lnadolnik@tut.by

Полятыкин Сергей Анатольевич – врач психиатр-нарколог, зав. наркологическим диспансером (филиал № 4) ГБУЗ «Московский научно-практический центр наркологии ДЗМ» (Москва, ул. Щербаковская, д. 57/20)

Sergey A. Polyatykin – psychiatrist-narcologist, head of the narcological dispensary (Branch No. 4) of the State Medical Institution "Moscow Scientific and Practical Center of Narcology DZM" (Moscow, Shcherbakovskaya str., 57/20)

Радута Елена Францевна – ст. науч. сотр., 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: e.raduta@ibiochemistry.by; <https://orcid.org/0000-0001-8020-1838>;

Alena F. Raduta – Senior Researcher, The Republican Scientific Research Unitary Enterprise “The Institute of Biochemistry Biologically Active Compounds, The National Academy of Sciences of Belarus” (7, A. Tyzenhauz Sq., 230023, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: e.raduta@ibiochemistry.by; <https://orcid.org/0000-0001-8020-1838>

Савич Виктория Валерьевна – научный сотрудник, ГНУ «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси» (220084, ул. Купревича, 2, Минск, Республика Беларусь); e-mail: collectionmbio@bas-net.by

Viktoriya V. Savich – Researcher, Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (220084, Kuprevich str., 2, Minsk, Belarus); e-mail: collectionmbio@bas-net.by

Семерихина Стелла Евгеньевна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории

биохимических методов исследования, Белорусский государственный медицинский университет (220116 г. Минск пр. Держинского 83); e-mail: lbmibgmu@mail.ru

Stella. E. Semerichina – PhD (Biology), Senior Research Associate of the Laboratory of Biochemical Research Methods, Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus); e-mail: lbmibgmu@mail.ru

Сидоренко Анастасия Вячеславовна – канд. биол. наук, доцент, Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси (220084, ул. Купревича, 2, Минск, Республика Беларусь); e-mail: collectionmbio@bas-net.by; <https://orcid.org/0000-0001-8447-9538>

Anastasiya V. Sidarenka – PhD (Biology), Associate Professor Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (220084, Kuprevich str., 2, Minsk, Belarus); e mail: collectionmbio@bas-net.by; <https://orcid.org/0000-0001-8447-9538>

Сутько Ирина Петровна – канд. биол. наук, доцент, старший научный сотрудник, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси (пл. А. Тызенгауза, д. 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: irynasutsko@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-9599-6944>

Iryna P. Sutsko – PhD (Biology), Associate Professor, Senior Researcher, The Institute of Biochemistry Biologically Active Compounds, The National Academy of Sciences of Belarus (7, A. Tyzenhauz Sq., 230023, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: irynasutsko@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-9599-6944>

Сыса Алексей Григорьевич – канд. хим. наук, доцент, Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А.Д.Сахарова БГУ (ул. Долгобродская, 23/1, 220070 Минск, Республика Беларусь); e-mail: aliaksei.sysa@iseu.by; <https://orcid.org/0000-0001-8881-5973>

Aliaksei G. Sysa – PhD, (Chemistry), Associate Professor, Belarusian State University, ISEI BSU (23/1, Dolgobrodskaya str., 220070 Minsk, Republic of Belarus); e-mail: aliaksei.sysa@iseu.by; <https://orcid.org/0000-0001-8881-5973>

Титко Оксана Викторовна – научный сотрудник, Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. А. Тызенгауза, 7, 230023 г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: o.titko@mail.ru

Oksana V. Titko – Reseach Associate, 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: o.titko@mail.ru

Фалетров Ярослав Вячеславович – канд. хим. наук, доцент, Белорусский государственный университет (пр. Независимости 4, 220030 Минск, Республика Беларусь), Учреждение Белорусского государственного университета «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем» (ул. Ленинградская 14, 220006 Минск, Республика Беларусь); e-mail: yaroslav82@tut.by; <https://orcid.org/0000-0001-8168-5897>

Yaroslav V. Faletrov – PhD (Chemistry), Associate Professor, Belarusian State University (4, Nezavisimosti Avenue, 220030 Minsk, Republic of Belarus), Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University (14, Leningradskaaya St., 220006 Minsk, Republic of Belarus); e-mail: yaroslav82@tut.by; <https://orcid.org/0000-0001-8168-5897>

Хассан С. Малик – аспирант, Университет Аль-Кадисия, Колледж ветеринарной медицины (ул. Альхами, 3013 Дивания, Ирак); e-mail: sa3340887@gmail.com

Malik S. Hassan – PhD Student, University of Al-Qhadisyah, College of Veterinary Medicine (3013, Aljamiah str. Al Diwaniyah, Republic of Iraq); e-mail: sa3340887@gmail.com

Хованская Галина Николаевна – кандидат медицинских наук, доцент, заместитель директора по научной работе, Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. А. Тызенгауза, 7, 230023 г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: galinahov@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8849-4786>

Halina N. Khavanskaya – PhD (Medicine), Associate Professor, Deputy Director for Research of 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: galinahov@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8849-4786>

Ходосовская Елена Вячеславовна – старший научный сотрудник, лаборатория биохимических методов исследования, Белорусский государственный медицинский университет (220116 г. Минск пр. Держинского, 83); e-mail: lbmibgmu@mail.ru; leno4ka_579@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0840-6729>

Alena V. Khadasouskaya – Senior Research Associate of the Laboratory of Biochemical Research Methods, Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus); e-mail: lbmibgmu@mail.ru; leno4ka_579@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0840-6729>

Хрусталёв Владислав Викторович – д-р биол. наук, доцент, заведующий кафедрой, Белорусский

государственный медицинский университет (пр. Держинского, 83, 220083 г. Минск, Республика Беларусь); e-mail: vvkhrustalev@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1373-3329>

Vladislav V. Khrustalev – D. Sc. (Biology), Associate Professor, Head of the Department, Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220083 Minsk, Republic of Belarus); e-mail: vvkhrustalev@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1373-3329>

Виктория Игоревна Чепрасова – канд. техн. наук, ст. науч. сотрудник, Белорусский государственный технологический университет (ул. Свердлова, 13а, 220006 г. Минск, Республика Беларусь); e-mail: cheprasova@belstu.by

Victoria I. Cheprasova – PhD (Technology), Senior Researcher, Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova, 220006 Minsk, Republic of Belarus); e-mail: cheprasova@belstu.by

Чернобровкина Тамара Васильевна – д-р мед. наук, профессор, ведущий научный сотрудник ГБУЗ «Московский научно-практический центр наркологии ДЗМ» (Москва 109390, Люблинская, 37/1); профессор кафедры наркологии, психиатрии и психотерапии Академии постдипломного образования ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр ФМБА России» (Москва 125371, Волоколамское шоссе, 91); e-mail: chernobrovkina44@mail.ru

Tamara V. Chernobrovkina – D. Sc. (Medicine), Professor, Leading researcher at the Moscow Scientific and Practical Center of Narcology DZM (Moscow 109390, Lublinskaya, 37/1), Professor of the Department of Narcology, Psychiatry and Psychotherapy of the Academy of Postgraduate Education of the Federal State Budgetary Institution "Federal Scientific and Clinical Center of the FMBA of Russia" (Moscow 125371, Volokolamsk highway, 91); e-mail: chernobrovkina44@mail.ru

Чуешова Наталья Владимировна – канд. биол. наук, заведующий отделом, Государственное научное учреждение «Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси» (ул. Федюнинского 4, 246007 г. Гомель, Республика Беларусь); e-mail: natalya-chueshova@tut.by; <https://orcid.org/0000-0002-4854-1717>

Natalya V. Chueshova – PhD (Biology), department head, State Scientific Institution "Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus" (Fedyuninskogo st. 4, 246007 Gomel, Republic of Belarus); e-mail: natalya-chueshova@tut.by; <https://orcid.org/0000-0002-4854-1717>

Шихад Аруед Абд Али Шихад – аспирант, Белорусский государственный университет, МГЭИ

им. А.Д.Сахарова БГУ (ул. Долгобродская, 23/1, 220070 Минск, Республика Беларусь); e-mail: arshedalmnasori@gmail.com

Shihad Arshed AbdAli Shihad – PhD student, Belarusian State University, ISEI BSU (23/1, Dolgobrodskaya str., 220070 Minsk, Republic of Belarus); e-mail: arshedalmnasori@gmail.com

Шкуматов Владимир Макарович – д-р биол. наук, профессор, Белорусский государственный университет (пр. Независимости 4, 220030 Минск, Республика Беларусь), Учреждение Белорусского государственного университета «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем» (ул. Ленинградская 14, 220006 Минск, Республика Беларусь); e-mail: biopharm@bsu.by; <https://orcid.org/0000-0003-1652-5701>

Vladimir M. Shkumatov – D. Sc. (Biology), Professor, Belarusian State University (4, Nezavisimosti Avenue, 220030 Minsk, Republic of Belarus), Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University (14, Leningradskaya St., 220006 Minsk, Republic of Belarus); e-mail: biopharm@bsu.by; <https://orcid.org/0000-0003-1652-5701>

Шляхтун Алексей Генрихович – заведующий отраслевой лабораторией, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси (пл. А. Тызенгауза, д. 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: shlyahntun@ibiochemistry.by; <https://orcid.org/0000-0002-7618-9589>.

Alexej H. Shlyahntun – Head of the Applied-Research Laboratory, The Institute of Biochemistry Biologically Active Compounds, The National Academy of Sciences of Belarus (7, A. Tyzenhauz Sq., 230023, Grodno, Republic of Belarus); e-mail: shlyahntun@ibiochemistry.by; <https://orcid.org/0000-0002-7618-9589>

Шуриберко Алексей Владимирович – зав. сектором молекулярной биологии, Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. А. Тызенгауза, 7, 230023 г. Гродно, Республика Беларусь); e-mail: shuriberko@ibiochemistry.by

Aliaksei U. Shuriberka – Head of the Sector of Molecular Biology, Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (7, A. Tyzenhauz square, 230023 Grodno, Republic of Belarus); e-mail: shuriberko@ibiochemistry.by

Щемелев Владислав Михайлович – младший научный сотрудник, Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси (ул. Федюнинского 4, 246007 г. Гомель, Республика Беларусь); e-mail: shemelev_vlad@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5552-0965>

Vladislav M. Schemelev – junior researcher, Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (Fedyuninskogo st. 4, 246007 Gomel, Republic of Belarus); e-mail: shemelev_vlad@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5552-0965>

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 (Background, Objective, Material and Methods, Results, Conclusions, Keywords) полностью соответствовать русскоязычной и быть грамотной с точки зрения английского языка (статьи, представленные на английском языке, должны содержать информацию о статье на белорусском (русском) языке);

- основной текст статьи;
- благодарности: если присутствует информация о финансировании (поддержке грантами проектов и т. п.), ее следует давать на русском (белорусском) и английском языках под заголовками «Благодарности» («Падзякі»), «Acknowledgements»;
- конфликт интересов (в случае его отсутствия необходимо указать: «Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов»);
- список цитированных источников;
- список цитированных источников в романском алфавите («References»);
- сведения об авторах на русском и английском языках: для каждого автора следует указать фамилию, имя и отчество (полностью), звание, должность, место работы с указанием полного адреса, адрес электронной почты, личный идентификатор ORCID (Open Researcher and Contributor ID). Для оперативной связи с редакцией указывается контактный номер телефона ответственного автора (в журнале не публикуется). Образец оформления статьи размещен на сайте журнала.

4. Основной текст статьи должен быть четко структурированным: введение, цель исследования, материалы и методы, результаты и их обсуждение, заключение (выводы). В русско- и белорусскоязычных статьях подрисуночные подписи, заголовки и примечания таблиц следует делать на двух языках – русском (белорусском) и английском. В подрисуночных подписях не должно быть аббревиатур. Внутририсуночные обозначения 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.

EKZON

Изготовитель ОАО «Экзон»
Брестская обл., г. Дрогичин, ул. Ленина, 202
www.ekzon.by

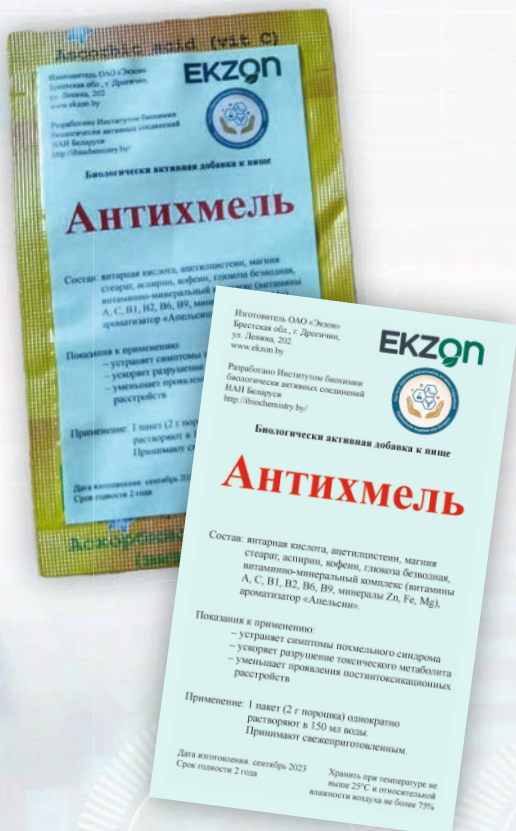


Разработано Институтом биохимии
биологически активных соединений
НАН Беларуси
www.ibiochemistry.by

Биологически активная добавка к пище

АНТИХМЕЛЬ

содержит компоненты,
которые способствуют ускорению метаболизма алкоголя,
уменьшению его токсического влияния
и снижению выраженности похмельного синдрома



Состав:

янтарная кислота, ацетилцистеин, магния стеарат, аспирин, кофеин, глюкоза безводная, витаминно-минеральный комплекс (витамины А, С, В1, В2, В6, В9, минералы Zn, Fe, Mg), ароматизатор «Апельсин».

Показания к применению:

устраняет симптомы похмельного синдрома; ускоряет разрушение токсического метаболита; уменьшает проявления постинтоксикационных расстройств

Применение:

1 пакет (2 г порошка) однократно растворяют в 150 мл воды. Принимают свежеприготовленным.

Срок годности 2 года

68%

Том / Vol. 2 • № 2(3)/2023

Биохимия и молекулярная биология • Biochemistry and Molecular Biology

Подписные индексы:
для индивидуальных подписчиков 00990
для ведомственных подписчиков 009902

Subscription indexes
For individuals 00990
For legal entities 009902

ISSN 2957-7349



9 772957 734000