

**Выводы.** Таким образом обнаружено, что содержание Р-gr на поверхности плазматических мембран лимфоцитов доноров, подверженных воздействию токсической концентрации сульфата лития увеличено по сравнению с контролем (не обработанных солью лития), что может указывать на активацию экспрессии Р-gr, который способен участвовать в процессах детоксикации от токсических метаболитов, что является актуальным и полезным при решении вопроса для терапии препаратами лития.

Работа поддержана грантом БРФФИ Б23-107.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Yakusheva E. Functional activity of p-glycoprotein during experimental manipulations / E. Yakusheva, A. Shculkin, I. Chernych // I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald. –2024. Vol.22, – N 2, –P.76-79.

2. Тамашевский А.В., Гармаза Ю.М., Пасюков В.В., Слобожанина Е.И. Экспрессия транспортных и цитозольных белков при формировании множественной лекарственной устойчивости в клетках миеломы человека *in vitro* // А.В. Тамашевский Ю.М. Гармаза, В.В.Пасюков, Е.И. Слобожанина /Актуальные вопросы биологической физики и химии. – 2020. – Т. 4. – С. 672-678.

### **ИДЕНТИФИКАЦИЯ И РОЛЬ ГУАНИНОВЫХ КВАДРУПЛЕКСОВ В РЕГУЛЯЦИИ БИОЭНЕРГЕТИКИ, АПОПТОЗА И ФЕРРОПТОЗА В МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК *KLUYVEROMYCES LACTIS***

***Коваль А. Н., Алексейко Л. Н., Логвинович О. С., Сергеенко С. М.,  
Мышковец Н.С., Гринкевич М. В., Власенко А. О.***

*Гомельский государственный медицинский университет  
Гомель, Республика Беларусь*

**Актуальность.** Гуаниновые квадруплексы (G4) – вторичные структуры ДНК, формирующиеся в участках, богатых гуанином, – играют важную роль в регуляции клеточных процессов. В митохондриальной ДНК (мтДНК) G4 влияют на транскрипцию и репликацию генов, обеспечивающих биоэнергетику клетки [3]. У *Kluyveromyces lactis*, модельного организма с активным дыхательным метаболизмом, эти структуры могут модулировать экспрессию генов дыхательной цепи, таких как COX2 и CYTB, что критично для синтеза аденозинтрифосфата (АТФ). Кроме того, G4 связаны с программированной клеточной смертью – апоптозом и ферроптозом, – оказывая влияние на окислительный стресс и метаболизм железа [1]. Их стабилизация или нарушение в мтДНК рассматривается как перспективная терапевтическая мишень в онкологии, где митохондриальная дисфункция способствует прогрессированию рака и устойчивости к химиотерапии [1]. Изучение G4 в мтДНК *K. lactis* открывает новые горизонты для понимания их регуляторных

функций и разработки подходов к управлению митохондриальными процессами в норме и патологии.

**Цель.** Сравнить эффективность биоинформатических алгоритмов (G4-PREDICTOR v.1, v.2 и gquad) [4, 5] для идентификации G4 в мтДНК *K. lactis* и оценить их потенциальную роль в регуляции биоэнергетики, апоптоза и ферроптоза, а также их значение как мишеней для терапевтического воздействия.

**Материалы и методы исследования.** Объектом исследования служила мтДНК *K. lactis* (NC\_006077.1, длина 40 291 пар оснований). Анализ проводили с использованием трёх методов: 1) G4-PREDICTOR версии 1 – алгоритм, оценивающий стабильность G4 по параметру cG/cC score, где учитывается соотношение гуанинов и цитозинов; 2) G4-PREDICTOR версии 2 – обновлённая версия с повышенной чувствительностью; 3) gquad (пакет R) [5] – вероятностная модель, использующая параметр "likeliness" для поиска как стабильных, так и нерегулярных G4. Шаблон для G4 определялся как последовательность вида  $G_{3-5}N_{1-7}G_{3-5}N_{1-7}G_{3-5}N_{1-7}G_{3-5}$ , где G – гуанин, N – любой нуклеотид (A, T, C, G), а числа обозначают количество нуклеотидов в G-трактах (3–5) и петлях (1-7). Результаты валидировали через базу данных G4IPDB [4]. Критериями анализа были количество G4, их длина, распределение по цепям (sense и anti-sense), позиции в геноме и совпадение с экспериментальными данными. Особое внимание уделялось близости G4 к генам дыхательной цепи (COX1, COX2, CYTB) и некодирующим регионам, включая D-петлю.

**Результаты и обсуждение.** Митохондриальный метаболизм *K. lactis* обеспечивает энергетический гомеостаз через цикл Кребса и окислительное фосфорилирование, зависящие от экспрессии генов мтДНК. Сравнение эффективности методов предсказания G4 представлено в таблице 1:

Таблица 1 - Сравнение биоинформационных методов нахождения G4 в митохондриальной ДНК *Kluyveromyces lactis*.

Метод	Количество G4	Длина (п.н.)	Совпадение с G4IPDB	Особенности
G4-PREDICTOR v.1	28 (16 sense, 12 anti-sense)	12–30	5 мотивов (~18%)	Жёсткий отбор, пропуск слабых G4
G4-PREDICTOR v.2	200 (103 sense, 97 anti-sense)	8–30	12 мотивов (6%)	Высокая чувствительность, много ложноположительных
gquad	121	12–54	18 мотивов (~15%)	Сбалансированная точность, оценка "likeliness"

G4-PREDICTOR v.1 выявил 28 стабильных G4 (16 на sense-цепи, 12 на anti-sense) длиной 12–30 п.н., включая мотив GGGGGGGGGGGG (позиции 6612–6623) в гене COX2, кодирующем субъединицу комплекса IV дыхательной цепи. Совпадение с G4IPDB составило 5 мотивов (18%), что отражает жёсткий отбор

алгоритма, пропускающего менее стабильные G4. G4-PREDICTOR v.2 обнаружил 200 G4 (103 sense, 97 anti-sense) длиной 8–30 п.н., но только 12 мотивов (6%) подтверждены G4IPDB. Высокая чувствительность метода привела к значительному числу ложноположительных результатов, требующих дополнительной верификации. gquad идентифицировал 121 G4 длиной 12–54 п.н., включая нерегулярные структуры с длинными петлями, с совпадением 18 мотивов (15%) с G4IPDB [5]. Этот метод показал сбалансированную точность, выявляя как классические, так и переменные G4, что важно для анализа динамических процессов в мтДНК.

G4 в генах COX2, COX1 и CYTB, как показано в исследованиях мтДНК [2], могут регулировать транскрипцию, влияя на сборку дыхательной цепи и синтез АТФ. Их стабильность зависит от внутриклеточной концентрации ионов  $K^+$ , что связывает G4 с уровнем энергизации клетки [3]. При окислительном стрессе (например, под действием  $H_2O_2$ ) нестабильность мтДНК, обусловленная G4, усиливает продукцию активных форм кислорода (АФК), инициируя апоптоз через митохондриальную дисфункцию и высвобождение проапоптотических факторов [3]. Вторичные метаболиты растений, такие как кверцетин и берберин, стабилизируют G4 в мтДНК, усиливая окислительный стресс и апоптоз в раковых клетках, что делает их перспективными агентами для онкологии [1]. Например, кверцетин нарушает репликацию мтДНК, повышая образование АФК и вызывая митохондриальную дисфункцию, что особенно эффективно против раковых клеток с повышенной метаболической активностью [1].

G4 также участвуют в ферроптозе – железо-зависимой клеточной смерти. Их стабилизация под действием окислителей нарушает работу дыхательной цепи, усиливая АФК и перекисное окисление липидов. Связь с метаболизмом железа проявляется через регуляцию генов синтеза Fe-S-кластеров (например, HEM1), где IRE-подобные элементы в мРНК увеличивают накопление  $Fe^{2+}$ , катализирующего реакции Фентона и ферроптоз [1]. Таким образом, G4 в мтДНК *K. lactis* выступают как многофункциональные регуляторы, связывающие биоэнергетику с запрограммированной клеточной смертью и открывающие возможности для терапевтического воздействия в онкологии и других патологиях, связанных с митохондриальной дисфункцией.

### **Выводы**

1. G4-PREDICTOR v.1 эффективен для выявления стабильных G4 в промоторных и кодирующих регионах мтДНК, таких как COX2, регулирующих гены дыхательной цепи, но пропускает слабые структуры из-за жёсткого отбора.

2. G4-PREDICTOR v.2 обладает высокой чувствительностью, выявляя 200 G4, включая нестабильные мотивы, но требует верификации из-за ложноположительных результатов; gquad, идентифицируя 121 G4, включая нерегулярные структуры, обеспечивает сбалансированную точность и подходит для анализа динамической регуляции при стрессе.

3. G4 в мтДНК *K. lactis* регулируют биоэнергетику через влияние на транскрипцию генов дыхательной цепи, а также связаны с апоптозом и

ферроптозом, усиливая окислительный стресс и метаболизм железа, что делает их перспективной мишенью для воздействия растительными метаболитами в онкологии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Вторичные метаболиты растений и митохондриальные G-квадруплексы: терапевтический потенциал в лечении рака / А. Н. Коваль, А. В. Литвинчук, О. С. Логвинович [и др.] // Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине : сборник научных трудов 5-й Международной конференции, посвященной 155-летию со дня рождения профессора Е.С. Лондона, Санкт-Петербург, 05–06 декабря 2024 года. – Санкт-Петербург: Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, 2024. – С. 175-180.

2. Грицук, А. И. Роль гуаниновых квадруплексов как возможной мишени воздействия на митохондриальную днк при инкорпорации <sup>137</sup>Cs / А. И. Грицук, А. Н. Коваль // Радиобиология: актуальные проблемы : Материалы международной научной конференции, Гомель, 27–28 сентября 2018 года / Национальная академия наук Беларуси; Государственное научное учреждение «Институт радиобиологии национальной академии наук Беларуси; Международный научный центр минимизации радиационных рисков. – Гомель: Институт радиобиологии национальной академии наук Беларуси, 2018. – С. 50-53.

3. Содержание ионов калия в цитоплазме и гуаниновых квадруплексов в митохондриальной ДНК как показатели обеспеченности клетки энергией / А. Н. Коваль, Л. Н. Алексейко, О. С. Логвинович, Н. С. Мышковец // Биохимия и молекулярная биология. – 2024. – Т. 3, № S1(4). – С. 37-38.

4. G4IPDB: A database for G-quadruplex structure forming nucleic acid interacting proteins / Mishra S. K., Rawal K. K., Jha S. K. et al. // Scientific Reports. – 2016. – Vol. 6, № 1. – P. 38144.

5. gquad: Prediction of G Quadruplexes and Other Non-B DNA Motifs (ver. 2.1-2). – URL: <https://cran.r-project.org/package=gquad> (дата обращения: 28.03.2025).

## ИНГИБИТОРЫ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ НА ОСНОВЕ ФТОРЗАМЕЩЕННЫХ 3-АРИЛ-5-КАРБОКСАМИД-2- ИЗОКАЗОЛИНОВ

*Ковганко Н.Н., Пархач М.Е., Борисевич С.Н., Глинник С.В.,  
Принькова Т.Ю., Латушко Т.В., Галюк Е.Н.*

*Белорусский государственный медицинский университет,  
Минск, Беларусь*

**Актуальность.** Несмотря на обширную фармацевтическую разработку лекарственных препаратов, направленных на борьбу с тромбозами, проблемы, вызываемые этим заболеванием, остаются крайне серьезными. Тромбы, отрываясь от места образования, могут переноситься током крови в различные органы, вызывая тяжелейшие осложнения. Закупорка сосудов приводит к