

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 577.11:612.015.3:612.82]-092.9

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-4-461-469>

Поступила в редакцию 07.02.2020

Received 07.02.2020

Я. И. Новгородская, Е. М. Дорошенко, М. Н. Курбат

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь

ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИЙ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ПОСЛЕ МЕТИОНИНОВОЙ НАГРУЗКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Аннотация. Изучено влияние метиониновой нагрузки на состояние пула серосодержащих аминокислот и некоторых метаболически родственных им соединений в различных структурах головного мозга крыс. Данные соединения определяли методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Во всех исследованных регионах мозга нагрузка метионином в суточной дозе 3 г/кг приводила к однонаправленному дисбалансу серосодержащих соединений – повышению концентраций метионина и гипотаурина (наиболее выраженное в стриатуме), цистатионина (наиболее выраженное в больших полушариях). Значимое повышение концентрации таурина наблюдалось лишь в гипоталамусе и стриатуме. Во всех отделах мозга, кроме стриатума, отмечалось снижение уровня серина – предшественника транссульфурирования. В мозжечке, по сравнению с другими регионами мозга, наблюдалось повышение содержания цистеиновой кислоты и снижение уровня цистенсульфиновой, что указывает на то, что синтез таурина осуществляется преимущественно по пути окисления последней.

Ключевые слова: метиониновая нагрузка, мозг, серосодержащие аминокислоты

Для цитирования: Новгородская, Я. И. Изменение концентраций серосодержащих аминокислот в головном мозге после метиониновой нагрузки в эксперименте / Я. И. Новгородская, Е. М. Дорошенко, М. Н. Курбат // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 4. – С. 461–469. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-4-461-469>

Yana I. Novogrodskaya, Yevgeny M. Doroshenko, Mikhail N. Kurbat

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

CHANGES IN THE CONCENTRATION OF SULFUR-CONTAINING AMINO ACIDS IN THE BRAIN AFTER METHIONINE LOAD IN THE EXPERIMENT

Abstract. The effect of methionine overload on the state of the pool of sulfur-containing amino acids and their metabolites was studied in the various brain structures determined by reverse phase high performance liquid chromatography (HPLC). In all regions of the brain studied, methionine led to a unidirectional imbalance of sulfur-containing compounds: there was an increase in the concentrations of methionine, cystathionine and hypotaurine. The most pronounced increase in methionine and hypotaurine levels was observed in the striatum, cystathionine in the hemispheres. A significant increase in taurine concentration was observed only in the hypothalamus and striatum. In other parts of the brain a tendency to increase its level was shown. In all brain regions studied except the striatum, serine levels were decreased. In the cerebellum, in comparison with other regions, an increase in the level of cysteic acid and a decrease in the level of cysteinesulfinic acid were observed, which indicates that taurine synthesis is occurred mainly through the cysteine sulfinate oxidation.

Keywords: methionine load, brain, sulfur-containing amino acids

For citation: Novogrodskaya Ya. I., Doroshenko Ye. M., Kurbat M. N. Changes in the concentration of sulfur-containing amino acids in the brain after methionine load in the experiment. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 4, pp. 461–469 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-4-461-469>

Введение. Гипергомоцистеинемия, являющаяся фактором риска неврологических и психических расстройств, может быть обусловлена дефицитом фолатов, цистатионин-β-синтазы, витаминов B₁₂, B₆, B₂ или заменой нуклеотидов в генах N⁵,N¹⁰-метилентетрагидрофолатредуктазы (T428C, G458T, C459T, C677T, A1298C) [1, 2], редуктазы метионинсинтазы (A66G) [3], метионинсинтазы (A2756G) [4]. Продукт трансметилирования многочисленных субстратов – гомоцистеин (Hcy), а в большей степени продукт его окисления – гомоцистеиновая кислота (HCA) обладают нейротоксическим действием и частично обуславливают развитие когнитивных нарушений в результате развития окислительного стресса [5, 6].

Эксперименты *in vitro* показали, что цитотоксический эффект Hcy проявляется только в концентрациях свыше 1 ммоль/л. Исходя из этого, авторы считают, что Hcy является слабым нейротоксином [7]. А. А. Болдырев [8] в своих исследованиях также отмечал токсическое влияние Hcy на культуру нервных клеток. HSA локализуется в глиальных клетках префронтальной коры, гипоталамуса, а ее выход из астроцитов имеет место при стимулировании как ионотропных, так и метаболитных глутаматных рецепторов [9]. Многие исследователи отмечают, что токсическое действие Hcy и HSA направлено на глутаматные рецепторы NMDA-типа на нейронах, что приводит к проникновению в нейроны Ca^{2+} , вызывая накопление свободных радикалов [8, 10–12]. Активные формы кислорода реагируют с ненасыщенными жирными кислотами мембранных липидов и запускают реакции перекисного окисления. Вследствие увеличения проницаемости мембран для ионов водорода и кальция, разобщения процессов фосфорилирования и окисления в митохондриях клетка оказывается в условиях недостатка АТФ [13]. Имеются данные, свидетельствующие о том, что высокий уровень Hcy в крови связан с нарушениями пространственной ориентации, кратковременной и долговременной памяти у животных [14], обусловленными развитием окислительного стресса в мозге [15, 16]. Другие же авторы полагают, что Hcy может оказывать нейротоксическое действие, сходное с ксенобиотиками, такими как толуол и 1,2-диметилгидразин [17].

С. А. Blaise [18], основываясь на результатах иммуногистохимического исследования активности S-аденозилгомоцистеин гидролазы, предположил, что гипергомоцистеинемия, вызванная дефицитом витаминов группы В в период беременности, может приводить к неравномерному накоплению Hcy в тканях мозга развивающегося плода: в большей степени в зернистом слое мозжечка, пирамидном слое СА1 гиппокампа, стриатуме и субвентрикулярной зоне, выстилающей боковой желудочек мозга крыс, т. е. в областях, ответственных за двигательные функции, обучение и память. Накопление его в нейрональных клетках и астроцитах приводит к апоптотической гибели клеток [19].

К. Robert с соавт. [20] на основе иммуногистохимического метода выявили, что на ранних стадиях развития мозга мыши цистатионин- β -синтаза – фермент, отвечающий за превращение Hcy в цистатионин (Ctn), экспрессируется повсеместно, однако на поздних стадиях его экспрессия становится более тканеспецифичной. У взрослых особей высокий уровень экспрессии цистатионин- β -синтазы наблюдается в клетках Пуркинье и нейронах гиппокампа, низкий – в коре головного мозга, стриатуме, таламусе и спинном мозге [20]. Отмечено, что транссульфурирование в мозге – процесс незавершенный и может вызывать накопление цистатионина [21].

Вместе с тем остается неизученным влияние длительной метиониновой нагрузки и вызванной ею гипергомоцистеинемии на уровни основных компонентов пула низкомолекулярных серосодержащих соединений, а также метаболически связанных с ними компонентов пула свободных аминокислот в структурах головного мозга крыс. Такие данные позволили бы более точно оценить метаболические соотношения внутри пула и подойти к пониманию механизмов нейротоксического действия избытка Hcy.

Цель работы – исследование влияния метиониновой нагрузки на состояние пула серосодержащих аминокислот и родственных им соединений в функционально различных структурах головного мозга.

Материалы и методы исследования. В эксперименте было использовано 18 белых беспородных крыс-самцов массой 200–250 г. Крысы находились в стандартных условиях вивария с естественным световым режимом, получали воду и корм в достаточном количестве. Моделирование гипергомоцистеинемии осуществляли путем внутрижелудочного введения суспензии L-метионина в 1 % крахмальном растворе (Chem-Impex Int'l Inc., USA) в дозе 1,5 г/кг дважды в сутки в течение 21 сут. Контрольная группа получала эквивалентное количество 1 % крахмального раствора в том же режиме дозирования [22]. Эксперимент выполнен с соблюдением принципов Хельсинкской декларации о гуманном обращении с животными и одобрен комитетом по биомедицинской этике УО «Гродненский государственный медицинский университет».

Декапитацию проводили через 12 ч после последнего введения метионина (Met). После декапитации на холоду извлекали головной мозг, промывали его 0,9 % NaCl и выделяли отделы –

гипоталамус, средний мозг, мозжечок, большие полушария, стриатум. Гипоталамус и стриатум извлекали полностью, в среднем мозге забирали фронтальный срез на уровне нижних бугров четверохолмия, в который частично входят ретикулярная формация, черная субстанция, околоводопроводное серое вещество и сами бугры, в мозжечке выделяли левое полушарие. Фрагмент лобной доли с левой стороны выделяли после извлечения стриатума, который определяли визуально после вхождения в полость бокового желудочка [23]. Кровь забирали в пробирки с гепарином. Плазму крови отделяли путем центрифугирования при 3000 об/мин в течение 15 мин.

Образцы тканей мозга гомогенизировали в 10 объемах 0,2 М раствора хлорной кислоты, содержащего 0,2 мМ норвалина (nVal), 50 мг/л ЭДТА, 50 мг/л метабисульфита натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$). Пробы центрифугировали при 16 000 g в течение 15 мин при 4 °С, после чего супернатант немедленно отбирали и хранили до исследования при –18 °С. В хлорнокислых экстрактах ткани головного мозга определяли концентрации цистеиновой кислоты (CA), цистеинсульфиновой кислоты (CSA), серина (Ser), глицина (Gly), гипотаурина (HrTau), таурина (Tau), Met, Ctn, HCA методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с предколоночной дериватизацией *o*-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой и детектированием по флуоресценции [24]. Растворы стандартов, используемые для калибровки хроматографической системы, обрабатывали аналогичным способом. Использовали колонку Zorbax Eclipse Plus C_{18} с размером частиц 3,5 мкм (размеры колонки 2,1×150 мм) и заполненную таким же сорбентом предколонку с размером частиц 5 мкм (размеры предколонки 2,1×12,5 мм). Подвижная фаза: 0,1 М Na-ацетатный буфер, pH 6,15, содержащий 20 мг/л ЭДТА (A); ацетонитрил/вода 7/3 (об/об) (B); метанол/вода 7/3 (об/об) (C); 0,1 М Na-ацетатный буфер, pH 5,55, содержащий 20 мг/л ЭДТА (D). Разделение – с градиентным элюированием от 3,5 до 100 % B, с изменением соотношения B/C и A/D в ходе анализа, за 69,5 мин (полный цикл до начала дериватизации следующей пробы – 81 мин); температура колонки 35 °С [24].

Определение Hсу в плазме крови проводили методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с детектированием по флуоресценции. Метод основан на предколоночной дериватизации SH-содержащих соединений с аммоний-7-фторбензол-2-оксо-1,3-диазола-4-сульфонатом (SBD-F) [25]. Пробы плазмы смешивали с раствором N-ацетилцистеина (0,5 мМ) (внутренний стандарт) и раствором трис-(карбоксиил)фосфина (100 мг/мл) [26], затем инкубировали 30 мин при комнатной температуре. Белки осаждали 10 % трихлоруксусной кислотой и центрифугировали при 16 000 g в течение 15 мин при 4 °С. К безбелковому супернатанту добавляли смесь для дериватизации, состоящую из 1,55 М NaOH, 0,125 М Na-боратного буфера, pH 9,5 и раствора SBD-F (1 мг/мл), которую инкубировали 1 ч при 60 °С. В систему вводили 5 мкл реакционной смеси. Растворы стандартов, используемые для калибровки хроматографической системы, обрабатывали аналогичным способом. Использовали колонку Zorbax Eclipse Plus SB C_{18} размерами 2,1×150 мм. Подвижная фаза: 0,1 М NaH_2PO_4 , 17 мМ H_3PO_4 , 20 мг/л ЭДТА (A); ацетонитрил/вода 7/3 (об/об) (B); скорость потока 0,2 мл/мин; температура колонки 29 °С; градиент B от 0 до 12,7 % в течение 15 мин [24]. Ввиду различных принципов пробоподготовки оба метода не могут быть реализованы в одной и той же пробе биологического материала. Определить уровни Cys и Hсу в структурах мозга не представлялось возможным. В то же время известно, что метиониновая нагрузка вызывает повышение уровня Hсу в мозге [37].

При определениях использовали прибор ВЭЖХ Agilent 1200 с 4-канальной системой подачи растворителя с вакуумным дегазатором, термостатируемым автосамплером, термостатом колонок, детектором флуоресценции. Для обработки хроматограмм использовали программу Agilent ChemStation C.01.05, для приготовления подвижных фаз – реактивы квалификации ос.ч, трижды дистиллированную воду, при пробоподготовке – центрифугу Biofuge Primo R+, лабораторную баню Daihan WiseBath WB-11.

Статистическую обработку данных проводили с применением *t*-критерия Стьюдента для независимых выборок после контроля нормальности с помощью критерия Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллифорса и Шапиро–Уилка. При отклонении распределения от нормального достоверность различий между группами использовали медианный тест Манна–Уитни, различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$. Взаимосвязи между исследуемыми показателя-

ми выявляли с помощью корреляционного анализа. Результаты выражали в виде среднего и стандартной ошибки ($M \pm m$) для тканей мозга, медианы [нижней; верхней квантили] – для уровня Hcy в плазме крови и для показателей в ткани мозга, достоверно различающихся между группами только по непараметрическому тесту. Применяли пакет статистических программ Statistica 10.0 (серийный номер AXAR207F394425FA-Q).

Результаты и их обсуждение. Летальность животных опытной группы составила 5,6 %. Уровень Hcy в плазме крови крыс опытной группы составил 36,28 [32,29; 226,60] мкМ против 9,48 [8,05; 10,80] мкМ в контроле.

Нагрузка метионином привела к дисбалансу серосодержащих аминокислот и их производных в исследованных регионах мозга крыс (табл. 1, 2).

Т а б л и ц а 1. Концентрации низкомолекулярных серосодержащих и родственных соединений (нмоль/г) в среднем мозге, стриатуме и гипоталамусе крыс после метиониновой нагрузки ((среднее \pm средняя ошибка) и медиана [нижняя; верхняя квантили])

Table 1. Concentration of low-molecular weight sulfur-containing and related compounds (nmol/g) in midbrain, striatum and hypothalamus of rats after methionine load ((mean \pm s. e. m.) and median [lower; upper quartiles])

Показатель	Средний мозг		Стриатум		Гипоталамус	
	Контроль (n = 9)	Метионин (n = 8)	Контроль (n = 9)	Метионин (n = 8)	Контроль (n = 9)	Метионин (n = 8)
CA	1,2 \pm 0,14	1,6 \pm 0,21	1,7 \pm 0,33	1,1 \pm 0,13	7,9 \pm 0,65	7,5 \pm 0,35
CSA	2,8 \pm 0,64	3,6 \pm 0,27	1,18 [0,94; 1,32]	1,72 [1,50; 2,07]*	2,4 \pm 0,16	2,2 \pm 0,24
HCA	6,9 \pm 1,03	6,4 \pm 1,20	6,9 \pm 0,83	7,4 \pm 0,89	26,3 \pm 2,31	27,2 \pm 0,76
Ser	443,4 \pm 32,82	295,7 \pm 13,56*	712,6 \pm 52,72	537,7 \pm 48,96	340,4 \pm 13,72	251,6 \pm 17,0*
Gly	2451,1 \pm 190,3	2077,6 \pm 69,98	746,5 \pm 72,85	737,5 \pm 51,77	2548,9 \pm 241,4	2437,0 \pm 217,4
HpTau	45,51 \pm 17,79	381,3 \pm 74,26*	52,9 \pm 4,40	1189,4 \pm 189,3*	21,4 \pm 1,67	200,4 \pm 35,78*
Tau	2107,7 \pm 176,4	2501,8 \pm 176,4	6149,8 \pm 374,1	8495,4 \pm 520,1*	1319,5 \pm 74,52	1703,5 \pm 73,6*
Met	41,9 \pm 2,71	135,0 \pm 41,21*	37,3 \pm 2,63	155,8 \pm 44,29*	29,98 \pm 1,22	94,4 \pm 20,94*
Ctn	91,71 \pm 8,191	489,5 \pm 144,7*	53,1 \pm 3,09	470,5 \pm 136,33*	104,3 \pm 17,1	945,3 \pm 287,0*

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2: * – статистически достоверные изменения по сравнению с контролем, $p < 0,05$.

Во всех исследованных регионах мозга возрастала концентрация Met. Наиболее выраженное ее повышение наблюдалось в стриатуме – в 4,2 раза по сравнению с контролем. Уровень Ctn также возрастал во всех регионах, степень его повышения уменьшалась в ряду большие полушария > гипоталамус > стриатум > мозжечок > средний мозг, что может свидетельствовать о сохраненной активности цистатионин- β -синтазы. Это предположение подтверждает отрицательная корреляция в гипоталамусе и больших полушариях между уровнями Met и Ser ($r = -0,81$; $r = -0,74$), в мозжечке и среднем мозге между уровнями Ser и Ctn ($r = -0,73$; $r = -0,75$) и положительная корреляция в среднем мозге, больших полушариях и стриатуме между уровнями Met и Ctn ($r = 0,77$; $r = 0,92$; $r = 0,81$). Имеются данные, указывающие на высокую активность этого фермента в тканях мозга животных и человека в норме [27], в частности в мозжечке и гиппокампе [28]. Показано, что диета с высоким содержанием Met вызывает активацию транссульфурирования [28]. Вероятно, активность цистатионин- β -синтазы в мозге крыс повышается после длительной метиониновой нагрузки, однако скорость процесса лимитируется именно на уровне второй реакции транссульфурирования, что согласуется с данными работы [21].

Уровень HpTau статистически достоверно повышался во всех отделах мозга. При этом его уровни снижались в ряду стриатум > большие полушария > гипоталамус > средний мозг > мозжечок, а уровень Tau имел лишь тенденцию к повышению, но статистически значимое изменение его уровня отмечалось лишь в гипоталамусе и стриатуме (в 1,3 и 1,4 раза соответственно). В среднем мозге, гипоталамусе, больших полушариях и мозжечке выявлено снижение уровня Ser примерно в 1,5 раза, в то время как в стриатуме наблюдалась лишь тенденция к его снижению. В больших полушариях снижались одновременно уровни Ser и Gly (табл. 2).

Таблица 2. Концентрации низкомолекулярных серосодержащих и родственных соединений (нмоль/г) в больших полушариях и мозжечке крыс после метиониновой нагрузки (среднее \pm средняя ошибка)Table 2. Concentration of low-molecular weight sulfur-containing and related compounds (nmol/g) in hemispheres and cerebellum of rats after methionine load (mean \pm s. e. m.)

Показатель	Большие полушария		Мозжечок	
	Контроль (n = 9)	Метионин (n = 8)	Контроль (n = 9)	Метионин (n = 8)
CA	1,1 \pm 0,13	0,9 \pm 0,098	1,1 \pm 0,13	1,7 \pm 0,22*
CSA	0,7 \pm 0,17	0,8 \pm 0,11	3,4 \pm 0,43	1,9 \pm 0,21*
HCA	10,1 \pm 1,72	7,0 \pm 0,38	7,0 \pm 0,39	8,3 \pm 1,05
Ser	916,9 \pm 52,04	504,4 \pm 46,85*	624,8 \pm 20,71	320,8 \pm 25,35*
Gly	912,97 \pm 57,39	735,2 \pm 49,47*	638,9 \pm 46,47	699,2 \pm 93,48
HpTau	77,3 \pm 15,06	1405,6 \pm 180,02*	24,2 \pm 4,06	106,5 \pm 20,11*
Tau	4860,3 \pm 182,66	5426,2 \pm 270,06	3495,0 \pm 123,05	3704,2 \pm 210,07
Met	38,4 \pm 2,61	118,2 \pm 29,25*	29,1 \pm 1,33	99,6 \pm 30,14*
Ctn	26,6 \pm 3,25	272,3 \pm 87,10*	647,8 \pm 34,97	5294,9 \pm 792,85*

Нсу поступает во внеклеточную среду с помощью транспортных систем (ASC (аланин, серин и цистеин), L-транспортёров (валин, изолейцин, лейцин, тирозин, триптофан и фенилаланин), X_{AG}-транспортёров (глутамат и аспартат)) [29, 30], что может объяснять несовпадение выраженности наблюдавшихся эффектов в различных отделах мозга с выраженностью повышения уровня Met.

Значительное повышение уровня HpTau во всех отделах мозга на фоне незначительного повышения уровня Tau, возможно, обусловлено торможением гипотауриндегидрогеназы и цистеинсульфинатдекарбоксилазы. Возможно, Нсу является ингибитором этих реакций. Положительная корреляция между уровнями Ctn и HpTau ($r = 0,92$ в гипоталамусе, $r = 0,97$ в среднем мозге, $r = 0,74$ в больших полушариях, $r = 0,89$ в стриатуме) свидетельствует в пользу этого предположения.

Синтез Tau в мозжечке происходит преимущественно за счет окисления CSA, так как ее уровень понизился в 1,8 раза, CA – повысился в 1,4 раза, а синтез Tau за счет окисления HpTau, вероятно, заторможен (уровень HpTau повысился в 4,4 раза). С помощью флуоресцентных методов было показано нейротоксическое действие Нсу на нейроны мозжечка *in vitro* [31]. Апоптотическую гибель нейронов авторы связывали с чрезмерным проникновением Ca²⁺ через каналы NMDA-рецепторов, способных активироваться Нсу, и изменением митохондриального мембранного потенциала [31]. Подобные изменения были выявлены и в больших полушариях крыс [16]. Однако в больших полушариях Нсу практически не оказывал такого влияния *in vitro*, а лишь незначительно изменял митохондриальный мембранный потенциал, что связывают с особенностями активации Нсу структурных подтипов NMDA-рецепторов GluN1/GluN2B. NMDA-рецепторы подтипов GluN1/GluN2A рассматриваются как более предпочтительные нейрональные мишени Нсу [32]. Наряду с уменьшением уровня Ser происходило и снижение уровня Gly в больших полушариях. Это может объясняться тем, что Нсу частично является агонистом глутаматных сайтов и частично – антагонистом сайтов связывания глицина в NMDA-рецепторах. S. A. Lipton с соавт. [33] в своих исследованиях показали, что нейротоксические эффекты Нсу зависят от присутствия Gly. Последний необходим для вытеснения Нсу из его сайта связывания, что является основным условием для активации NMDA-каналов, однако цитотоксический эффект Нсу при этом повышается. В мозжечке же экспрессируются NMDA-рецепторы подтипов GluN2C и GluN2D, которые, вероятно, не десенситизируются Нсу [34]. Возможно, это объясняет относительно высокую устойчивость больших полушарий к нейротоксическому действию Нсу [35, 36].

Заключение. Введение метионина в суммарной суточной дозе 3 г/кг в сутки может считаться адекватной моделью гипергомоцистеинемии и приводит к изменениям в содержании низкомолекулярных серосодержащих и некоторых метаболически родственных им соединений, выраженность которых различна, но однонаправленна во всех отделах мозга.

Наиболее выраженные сдвиги наблюдались в мозжечке крыс. В среднем мозге выраженность нарушения метаболизма низкомолекулярных серосодержащих соединений была несколько ниже, но во всех отделах мозга проявлялась в повышении скорости транссульфурирования и синтеза гипотаурина.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Mutations of the MTHFR gene (428C>T and [458G>T+459C>T]) markedly decrease MTHFR enzyme activity / H. Yano [et al.] // *Neurogenetics*. – 2004. – Vol. 5, N 2. – P. 135–140. <https://doi.org/10.1007/s10048-004-0177-0>
2. Polymorphisms in MTHFR, MS and CBS genes and homocysteine levels in a Pakistani population / M. Yakub [et al.] // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol. 7, N 3. – P. e33222. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033222>
3. Association between premature ovarian failure, polymorphisms in MTHFR and MTRR genes and serum homocysteine concentration / N. Hou [et al.] // *Reproductive BioMedicine Online*. – 2016. – Vol. 32, N 4. – P. 407–413. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2016.01.009>
4. MTHFR C677T and MTR A2756G polymorphisms and the homocysteine lowering efficacy of different doses of folic acid in hypertensive Chinese adults / X. Qin [et al.] // *Nutr. J.* – 2012. – Vol. 11. – Art. 2. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-11-2>
5. Posttreatment with group II metabotropic glutamate receptor agonist 2R,4R-4-aminopyrrolidine-2,4-dicarboxylate is only weakly effective on seizures in immature rats / J. Folbergrová [et al.] // *Brain Res.* – 2009. – Vol. 1273. – P. 144–154. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.03.045>
6. Gundogdu, G. The sulfite molecule enhances homocysteine toxicity in SH-SY5Y cells / G. Gundogdu, Y. Dodurga, V. Kucukatay // *Mol. Biol. Reports*. – 2019. – Vol. 46, N 4. – P. 4017–4025. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-04850-3>
7. Ziemińska, E. Role of group I metabotropic glutamate receptors and NMDA receptors in homocysteine-evoked acute neurodegeneration of cultured cerebellar granule neurons / E. Ziemińska, A. Stafiej, J. W. Łazarewicz // *Neurochem. Int.* – 2003. – Vol. 43, N 4–5. – P. 481–492. [https://doi.org/10.1016/s0197-0186\(03\)00038-x](https://doi.org/10.1016/s0197-0186(03)00038-x)
8. Болдырев, А. А. Почему токсичен гомоцистеин? / А. А. Болдырев // *Природа*. – 2009. – № 10. – С. 18–23.
9. Benz, B. Glutamate-induced homocysteic acid release from astrocytes: possible implication in glia-neuron signaling / B. Benz, G. Grima, K. Q. Do // *Neuroscience*. – 2004. – Vol. 124, N 2. – P. 377–386. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.08.067>
10. Arzumanyan, E. S. Mechanisms of homocysteic acid neurotoxicity / E. S. Arzumanyan, M. S. Stepanova // *Neurochem. J.* – 2010. – Vol. 4, N 3. – P. 222–227. <https://doi.org/10.1134/s1819712410030104>
11. Махро, А. В. Влияние гомоцистеина и гомоцистеиновой кислоты на гранулярные клетки мозжечка / А. В. Махро, Е. Р. Булыгина, А. А. Болдырев // *Нейрохимия*. – 2006. – Т. 23, № 3. – С. 179–184.
12. Homocysteine-induced membrane currents, calcium responses and changes in mitochondrial potential in rat cortical neurons / P. A. Abushik [et al.] // *J. Evol. Biochem. Physiol.* – 2015. – Vol. 51, N 4. – P. 296–304. <https://doi.org/10.1134/s0022093015040055>
13. Bhatti, J. S. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders – a step towards mitochondria based therapeutic strategies / J. S. Bhatti, G. K. Bhatti, P. H. Reddy // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*. – 2017. – Vol. 1863, N 5. – P. 1066–1077. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.11.010>
14. Severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency in mice results in behavioral anomalies with morphological and biochemical changes in hippocampus / N. M. Jadavji [et al.] // *Mol. Gen. Metab.* – 2012. – Vol. 106, N 2. – P. 149–159. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2012.03.020>
15. Inhibitory effects of melatonin on neural lipid peroxidation induced by intracerebroventricularly administered homocysteine / G. Baydas [et al.] // *J. Pineal Res.* – 2003. – Vol. 34, N 1. – P. 36–39. <https://doi.org/10.1034/j.1600-079x.2003.02939.x>
16. Pineal protects the rat offspring from prenatal hyperhomocysteinemia / A. Arutjunyan [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2012. – Vol. 5, N 2. – P. 179–185.
17. Влияние пренатальной гипергомоцистеинемии на формирование памяти и содержание биогенных аминов в гиппокампе самок крыс / А. Д. Щербицкая [и др.] // *Нейрохимия*. – 2017. – Т. 34, № 4. – С. 296–302.
18. Gestational vitamin B deficiency leads to homocysteine-associated brain apoptosis and alters neurobehavioral development in rats / S. A. Blaise [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2007. – Vol. 170, N 2. – P. 667–679. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2007.060339>
19. Sachdev, P. S. Homocysteine and brain atrophy / P. S. Sachdev // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. – 2005. – Vol. 29, N 7. – P. 1152–1161. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2005.06.026>
20. Expression of the cystathionine-β-synthase (CBS) gene during mouse development and immunolocalization in adult brain / K. Robert [et al.] // *J. Histochem. Cytochem.* – 2003. – Vol. 51, N 3. – P. 363–371. <https://doi.org/10.1177/002215540305100311>
21. Finkelstein, J. D. Methionine metabolism in mammals / J. D. Finkelstein // *J. Nutr. Biochem.* – 1990. – Vol. 1, N 5. – P. 228–237. [https://doi.org/10.1016/0955-2863\(90\)90070-2](https://doi.org/10.1016/0955-2863(90)90070-2)
22. Медведев, Д. В. Способ моделирования тяжелой формы гипергомоцистеинемии у крыс / Д. В. Медведев, В. И. Звягина, М. А. Фомина // *Рос. мед.-биол. вестн. им. акад. И. П. Павлова*. – 2014. – Т. 22, № 4. – С. 42–46.
23. Glowinsky, J. Regional studies of catecholamines in the rat brain: the disposition of [³H]norepinephrine, [³H]dopamine and [³H]dopa in various regions of the brain / J. Glowinsky, L. L. Iversen // *J. Neurochem.* – 1966. – Vol. 13, N 8. – P. 655–669. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1966.tb09873.x>

24. Дорошенко, Е. М. Структура пула свободных аминокислот и их производных плазмы крови у пациентов с ишемической болезнью сердца и проявлением хронической сердечной недостаточности / Е. М. Дорошенко, В. А. Снежицкий, В. В. Лелевич // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2017. – Т. 15, № 5. – С. 551–555.
25. Hyperhomocysteinemia induced by folic acid deficiency and methionine load – applications of a modified HPLC method / P. Durand [et al.] // *Clinica Chimica Acta*. – 1996. – Vol. 252, N 1. – P. 83–93. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(96\)06325-5](https://doi.org/10.1016/0009-8981(96)06325-5)
26. Krijt, J. Measurement of homocysteine and other aminothiols in plasma: advantages of using tris(2-carboxyethyl) phosphine as reductant compared with tri-n-butylphosphine / J. Krijt, M. Vacková, V. Kožich // *Clin. Chem.* – 2001. – Vol. 47, N 10. – P. 1821–1828. <https://doi.org/10.1093/clinchem/47.10.1821>
27. Заичко, Н. В. Уровень гидроген сульфида и состояние антиоксидантной системы в мозге крыс при изолированной гипергомоцистеинемии и ее коррекции / Н. В. Заичко, П. А. Юрченко, Д. А. Фильчуков // *Мед. журн.* – 2016. – № 1. – С. 109–112.
28. Suppressed expression of cystathionine β -synthase and smaller cerebellum in Wistar Kyoto rats / M. Nagasawa [et al.] // *Brain Res.* – 2015. – Vol. 1624. – P. 208–213. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.07.043>
29. Jiang, X. Differential regulation of homocysteine transport in vascular endothelial and smooth muscle cells / X. Jiang [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2007. – Vol. 27, N 9. – P. 1976–1983. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.148544>
30. Homocysteine transport by human aortic endothelial cells: Identification and properties of import systems / B. Büdy [et al.] // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2006. – Vol. 446, N 2. – P. 119–130. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.12.014>
31. Коллапс энергетического баланса нейронов мозжечка как основа нейротоксического действия L-гомоцистеина / Л. С. Ситникова [и др.] // *Биол. мембраны*. – 2018. – Т. 35, № 4. – С. 261–270.
32. GluN2A subunit-containing NMDA receptors are the preferential neuronal targets of homocysteine / D. A. Sibarov [et al.] // *Front. Cell. Neurosci.* – 2016. – Vol. 10, N 246. – P. 1–11. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00246>
33. Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-D-aspartate receptor / S. A. Lipton [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 1997. – Vol. 94, N 11. – P. 5923–5928. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.11.5923>
34. High sensitivity of cerebellar neurons to homocysteine is determined by expression of GluN2C and GluN2D subunits of NMDA receptors / D. A. Sibarov [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2018. – Vol. 506, N 3. – P. 648–652. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.10.140>
35. Pro-nociceptive migraine mediator CGRP provides neuroprotection of sensory, cortical and cerebellar neurons via multi-kinase signaling / P. A. Abushik [et al.] // *Cephalalgia*. – 2017. – Vol. 37, N 14. – P. 1373–1383. <https://doi.org/10.1177/0333102416681588>
36. GluN2A-NMDA receptor-mediated sustained Ca^{2+} influx leads to homocysteine-induced neuronal cell death / S. N. Deep [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2019. – Vol. 294, N 29. – P. 11154–11165. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.008820>
37. Neurotrophins of the fetal brain and placenta in prenatal hyperhomocysteinemia / A. V. Arutjunyan [et al.] // *Biochemistry (Moscow)*. – 2020. – Vol. 85, N 2. – P. 213–223. <https://doi.org/10.1134/S000629792002008X>

References

1. Yano H., Nakaso K., Yasui K., Wakutani Y., Nakayasu H., Kowa H., Adachi Y., Nakashima K. Mutations of the MTHFR gene (428C>T and [458G>T+459C>T]) markedly decrease MTHFR enzyme activity. *Neurogenetics*, 2004, vol. 5, no. 2, pp. 135–140. <https://doi.org/10.1007/s10048-004-0177-0>
2. Yakub M., Moti N., Parveen S., Chaudhry B., Azam I., Iqbal M. P. Polymorphisms in MTHFR, MS and CBS genes and homocysteine levels in a Pakistani population. *PLoS ONE*, 2012, vol. 7, no. 3, p. e33222. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033222>
3. Hou N. O., Chen S., Chen F., Jiang M., Zhang J., Yang Y., Zhu B., Bai X., Hu Y., Huang H., Xu C. Association between premature ovarian failure, polymorphisms in MTHFR and MTRR genes and serum homocysteine concentration. *Reproductive BioMedicine Online*, 2016, vol. 32, no. 4, pp. 407–413. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2016.01.009>
4. Qin X., Li J., Cui Y., Liu Z., Zhao Z., Ge J. [et al.]. MTHFR C677T and MTR A2756G polymorphisms and the homocysteine lowering efficacy of different doses of folic acid in hypertensive Chinese adults. *Nutrition Journal*, 2012, vol. 11, art. 2. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-11-2>
5. Folbergrová J., Druga R., Tsenov G., Haugvicová R., Otáhal J. Posttreatment with group II metabotropic glutamate receptor agonist 2R,4R-4-aminopyrrolidine-2,4-dicarboxylate is only weakly effective on seizures in immature rats. *Brain Research*, 2009, vol. 1273, pp. 144–154. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.03.045>
6. Gundogdu G., Dodurga Y., Kucukatay V. The sulfite molecule enhances homocysteine toxicity in SH-SY5Y cells. *Molecular Biology Reports*, 2019, vol. 46, no. 4, pp. 4017–4025. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-04850-3>
7. Ziemińska E., Stafiej A., Łazarewicz J. W. Role of group I metabotropic glutamate receptors and NMDA receptors in homocysteine-evoked acute neurodegeneration of cultured cerebellar granule neurons. *Neurochemistry International*, 2003, vol. 43, no. 4–5, pp. 481–492. [https://doi.org/10.1016/s0197-0186\(03\)00038-x](https://doi.org/10.1016/s0197-0186(03)00038-x)
8. Boldyrev A. A. Why toxic of homocysteine? *Priroda* [Nature], 2009, no. 10, pp. 18–23 (in Russian).
9. Benz V., Grima G., Do K. Q. Glutamate-induced homocysteine acid release from astrocytes: possible implication in glia-neuron signaling. *Neuroscience*, 2004, vol. 124, no. 2, pp. 377–386. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.08.067>
10. Arzumanyan E. S., Stepanova M. S. Mechanisms of homocysteic acid neurotoxicity. *Neurochemical Journal*, 2010, vol. 4, no. 3, pp. 222–227. <https://doi.org/10.1134/s1819712410030104>

11. Makhro A. V., Bulygina E. R., Boldyrev A. A. Effect of homocysteine and homocysteinic acid on cerebellar granule cells. *Neirokhimiya* [Neurochemistry], 2006, vol. 23, no. 3, pp. 179–184 (in Russian).
12. Abushik P. A., Karelina T. V., Sibarov D. A., Stepanenko Y. D., Antonov S. M., Giniatullin R. A. Homocysteine-induced membrane currents, calcium responses and changes in mitochondrial potential in rat cortical neurons. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 2015, vol. 51, no. 4, pp. 296–304. <https://doi.org/10.1134/s0022093015040055>
13. Bhatti J. S., Bhatti G. K., Reddy P. H. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders – a step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*, 2017, vol. 1863, no. 5, pp. 1066–1077. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.11.010>
14. Jadavji N. M., Deng L., Leclerc D., Malysheva O., Bedell B. J., Caudill M. A., Rozen R. Severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency in mice results in behavioral anomalies with morphological and biochemical changes in hippocampus. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2012, vol. 106, no. 2, pp. 149–159. <https://doi.org/10.1016/j.jymgme.2012.03.020>
15. Baydas G., Kutlu S., Naziroglu M., Canpolat S., Sandal S., Ozcan M., Kelestimur H. Inhibitory effects of melatonin on neural lipid peroxidation induced by intracerebroventricularly administered homocysteine. *Journal of Pineal Research*, 2003, vol. 34, no. 1, pp. 36–39. <https://doi.org/10.1034/j.1600-079x.2003.02939.x>
16. Arutjunyan A., Kozina L., Stvolinskiy S., Bulygina Y., Mashkina A., Khavinson V. Pinealon protects the rat offspring from prenatal hyperhomocysteinemia. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2012, vol. 5, no. 2, pp. 179–185.
17. Shcherbitskaya A. D., Milyutina Yu. P., Zaloznyaya I. V., Arutyunyan A. V., Nalivaeva N. N., Zhuravin I. A. The effects of prenatal hyperhomocysteinemia on the formation of memory and the contents of biogenic amines in the rat hippocampus. *Neirokhimiya* [Neurochemistry], 2017, vol. 34, no. 4, pp. 296–302 (in Russian).
18. Blaise S. A., Nédélec E., Schroeder H., Alberto J. M., Bossenmeyer-Pouricé C., Guéant J. L., Daval J. L. Gestational vitamin B deficiency leads to homocysteine-associated brain apoptosis and alters neurobehavioral development in rats. *American Journal of Pathology*, 2007, vol. 170, no. 2, pp. 667–679. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2007.060339>
19. Sachdev P. S. Homocysteine and brain atrophy. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2005, vol. 29, no. 7, pp. 1152–1161. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbpp.2005.06.026>
20. Robert K., Vialard F., Thiery E., Toyama K., Sinet P. M., Janel N., London J. Expression of the cystathionine- β -synthase (CBS) gene during mouse development and immunolocalization in adult brain. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 2003, vol. 51, no. 3, pp. 363–371. <https://doi.org/10.1177/002215540305100311>
21. Finkelstein J. D. Methionine metabolism in mammals. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 1990, vol. 1, no. 5, pp. 228–237. [https://doi.org/10.1016/0955-2863\(90\)90070-2](https://doi.org/10.1016/0955-2863(90)90070-2)
22. Medvedev D. V., Zvyagina V. I., Fomina M. A. Modeling of severe hyperhomocysteinemia in rats. *Rossiiskii mediko-biologicheskii vestnik imeni akademika I. P. Pavlova* [Russian medical and biological bulletin named after academician I. P. Pavlov], 2014, vol. 22, no. 4, pp. 42–46 (in Russian).
23. Glowinsky J., Iversen L. L. Regional studies of catecholamines in the rat brain: the disposition of [3 H]norepinephrine, [3 H]dopamine and [3 H]dopa in various regions of the brain. *Journal of Neurochemistry*, 1966, vol. 13, no. 8, pp. 655–669. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1966.tb09873.x>
24. Doroshenko E. M., Snezhitskii V. A., Lelevich V. V. Structure of the pool of free amino acids and their derivatives in plasma of patients with ischemic heart disease and chronic cardiac insufficiency. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* [Journal of Grodno State Medical University], 2017, vol. 15, no. 5, pp. 551–555 (in Russian).
25. Durand P. P., Fortin L. J., Lussier-Cacan S., Davignon J., Blache D. Hyperhomocysteinemia induced by folic acid deficiency and methionine load – applications of a modified HPLC method. *Clinica Chimica Acta*, 1996, vol. 252, no. 1, pp. 83–93. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(96\)06325-5](https://doi.org/10.1016/0009-8981(96)06325-5)
26. Krijt J., Vacková M., Kožich V. Measurement of homocysteine and other aminothiols in plasma: advantages of using tris(2-carboxyethyl)phosphine as reductant compared with tri-n-butylphosphine. *Clinical Chemistry*, 2001, vol. 47, no. 10, pp. 1821–1828. <https://doi.org/10.1093/clinchem/47.10.1821>
27. Zaichko N. V., Yurchenko P. A., Fil'chukov D. A. The level of hydrogen sulphide and antioxidant system in rat brain in isolated hyperhomocysteinemia and its correction. *Meditsinskii zhurnal* [Medical journal], 2016, vol. 1, no. 55, pp. 109–112 (in Russian).
28. Nagasawa M., Ikeda H., Kawase T., Iwamoto A., Yasuo S., Furuse M. Suppressed expression of cystathionine β -synthase and smaller cerebellum in Wistar Kyoto rats. *Brain Research*, 2015, vol. 1624, pp. 208–213. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.07.043>
29. Jiang X., Yang F., Brailoiu E., Jakubowski H., Dun N. J., Schafer A. I., Yang X., Durante W., Wang H. Differential regulation of homocysteine transport in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2007, vol. 27, no. 9, pp. 1976–1983. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.148544>
30. Büdy B., O'Neill R. M., DiBello P. M., Sengupta S., Jacobsen D. W. Homocysteine transport by human aortic endothelial cells: Identification and properties of import systems. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2006, vol. 446, no. 2, pp. 119–130. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.12.014>
31. Sitnikova L. S., Ivanova M. A., Stepanenko Y. D., Karelina T. V., Sibarov D. A., Abushik P. A., Antonov S. M., Giniatullin R. Collapse of neuronal energy balance as a basis of L-homocysteine neurotoxicity. *Biochemistry (Moscow) Supplement. Series A: Membrane and Cell Biology*, 2018, vol. 12, no. 4, pp. 360–368 (in Russian).
32. Sibarov D. A., Abushik P. A., Giniatullin R., Antonov S. M. GluN2A subunit-containing NMDA receptors are the preferential neuronal targets of homocysteine. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2016, vol. 10, no. 246, pp. 1–11. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00246>

33. Lipton S. A., Kim W. K., Choi Y. B., Kumar S., D'Emilia D. M., Rayudu P. V., Arnelle D. R., Stamler J. S. Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-d-aspartate receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1997, vol. 94, no. 11, pp. 5923–5928. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.11.5923>

34. Sibarov D. A., Giniatullin R., Antonov S. M. High sensitivity of cerebellar neurons to homocysteine is determined by expression of GluN2C and GluN2D subunits of NMDA receptors. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, vol. 506, no. 3, pp. 648–652. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.10.140>

35. Abushik P. A., Bart G., Korhonen P., Leinonen H., Giniatullina R., Sibarov D. A., Levonen A. L., Malm T., Antonov S. M., Giniatullin R. Pro-nociceptive migraine mediator CGRP provides neuroprotection of sensory, cortical and cerebellar neurons via multi-kinase signaling. *Cephalgia*, 2017, vol. 37, no. 14, pp. 1373–1383. <https://doi.org/10.1177/0333102416681588>

36. Deep S. N., Mitra S., Rajagopal S., Paul S., Poddar R. GluN2A-NMDA receptor-mediated sustained Ca²⁺ influx leads to homocysteine-induced neuronal cell death. *Journal of Biological Chemistry*, 2019, vol. 294, no. 29, pp. 11154–11165. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.008820>

37. Arutjunyan A. V., Milyutina Y. P., Kerkeshko G. O., Zalozniaia I. V., Mikhel A. V., Shcherbitskaia A. D. Neurotrophins of the fetal brain and placenta in prenatal hyperhomocysteinemia. *Biochemistry (Moscow)*, 2020, vol. 85, no. 2, pp. 213–223. <https://doi.org/10.1134/S000629792002008X>

Информация об авторах

Новгородская Яна Иосифовна – аспирант. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: yananovogrodskaya@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-9505-6717>

Дорошенко Евгений Михайлович – канд. биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: dgi03@mail.ru

Курбат Михаил Николаевич – канд. мед. наук, доцент, заведующий лабораторией. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: vwmisha@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-9939-8749>

Information about the authors

Yana I. Novogrodskaya – Postgraduate student. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: yananovogrodskaya@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-9505-6717>

Yevgeny M. Doroshenko – Ph. D. (Biol.), Assistant Professor, Leading Researcher. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: dgi03@mail.ru

Mikhail N. Kurbat – Ph. D. (Med.), Assistant Professor, Head of the Laboratory. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: vwmisha@mail.ru. <https://orcid.org/0000-0001-9939-8749>