

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ И АСПАРТАТАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ У ЛЕГОЧНЫХ ПРЕСНОВОДНЫХ МОЛЛЮСКОВ

Пинчук П.Ю.*, Рымкевич А.С.**,

*магистрант ВГУ имени П.М. Машерова,

**студент 1 курса ВГУ имени П.М. Машерова, г. Витебск, Республика Беларусь

Научный руководитель – Чиркин А.А., д-р биол. наук, профессор

В настоящее время использование легочных пресноводных моллюсков в роли модельных организмов увеличивается. В 2016 году прудовик обыкновенный (*Lymnae stagnalis*) был принят в качестве стандартного тест-организма для экотоксикологических исследований в соответствии с рекомендациями организации экономического сотрудничества и развития. В последние годы *L. stagnalis* стал популярным объектом в эмбриологических исследованиях. В клинической практике определение сывороточных аминотрансфераз остаётся актуальным. Аспартатаминотрансфераза (АсАТ) – индикатор термогенеза и является важным показателем всей биоэнергетики организма. Аланинаминотрансфераза (АлАТ) – индикатор глюконеогенеза. Актуальной задачей является поиск более доступных источников аминотрансфераз и модельных организмов, в частности, легочных пресноводных моллюсков, широко распространенных в поверхностных водах Беларуси. Таким образом, цель работы заключается в определении активности АлАТ и АсАТ в гемолимфе прудовика обыкновенного (*Lymnae stagnalis*) и катушки роговой (*Planorbarius corneus*) как модельных организмов. Также, предполагается определить молекулярно-структурную гомологию изучаемых ферментов человека (*Homo sapiens*) и моллюска *Biomphalaria glabrata*, который относится к одному семейству, что и катушка роговая (*Planorbarius corneus*).

Материал и методы. Материалом для определения активности ферментов использовалась гемолимфа прудовика обыкновенного (*Lymnae stagnalis*) и катушки роговой (*Planorbarius corneus*). Для исследования молекулярно-структурной гомологии АсАТ (ЕС:2.6.1.1) и АлАТ (ЕС:2.6.1.2) использовались аминокислотные и нуклеотидные последовательности аминотрансфераз человека и моллюска *Biomphalaria glabrata*.

Определение активности АсАТ и АлАТ в гемолимфе проводились с использованием набора реагентов «Анализ Х» (Республика Беларусь).

Поиск аминокислотных последовательностей аминотрансфераз человека, осуществлялся в базе данных белковых последовательностей – UniProt (<https://www.uniprot.org/>). Поиск, исследуемых последовательностей для моллюска *Biomphalaria glabrata* осуществлялся с помощью базового инструмента – BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Шаблоны для построения 3D-моделей ферментов были взяты из банка данных белков PDB (<https://www.rcsb.org/>). По шаблону фермента человека с помощью ресурса SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) строили 3D-модель фермента моллюска [1].

Результаты и их обсуждение. В таблице 1 представлены данные об активности АсАТ и АлАТ в гемолимфе прудовика обыкновенного (*Lymnae stagnalis*), катушки роговой (*Planorbarius corneus*) и человека (*Homo sapiens*). Результаты биохимического анализа сыворотки крови людей возрастной группы 40-45 лет были заимствованы из справочного пособия [2]. Также, на основании полученных данных был рассчитан коэффициент де Ритиса АсАТ/АлАТ.

Активность АсАТ незначительно, но статистически достоверно превышала величины аналогичных показателей в сыворотке крови человека, а активность АлАТ была практически одинаковой в сыворотке крови человека и гемолимфе легочных пресноводных моллюсков. Незначительное повышение АсАТ и коэффициента де Ритиса, вероятно, связано с относительным преобладанием в организме моллюсков мышечного органа – ноги над другими органами [3].

Таблица 1

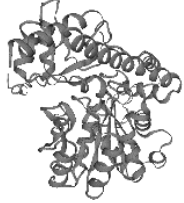
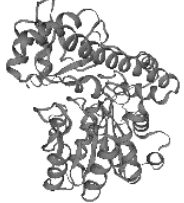

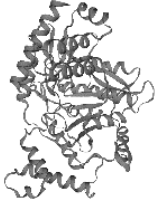
Активность АлАТ и АсАТ в гемолимфе прудовика обыкновенного (*Lymnae stagnalis*), катушки роговой (*Planorbarius corneus*) и человека (*Homo sapiens*)

Организм	коэффициент де Ритиса	АлАТ, Е/л	АсАТ, Е/л
Человек (<i>Homo sapiens</i>)	1,20	32,0±0,53	33,1±0,42
Прудовик (<i>L. stagnalis</i>)	1,40	30,6±1,95	43,0±2,42
Катушка роговая (<i>P.corneus</i>)	1,40	29,2±2,66	40,9±0,75

В таблице 2 представлены данные о структурно-молекулярной гомологии АсАТ и АлАТ человека (*Homo sapiens*) и моллюска *Biomphalaria glabrata*.

Таблица 2

Структурно-молекулярная гомология аминотрансфераз человека и моллюска *Biomphalaria glabrata*

Ферменты	Гомология молекул, %		Гомология структур, %	Трёхмерные структуры	
				<i>Homo sapiens</i>	<i>Biomphalaria glabrata</i>
АсАТ (EC:2.6.1.1)	AAS	48,00	47,57		
	NS	46,93			
АлАТ (EC:2.6.1.2)	AAS	60,00	62,44		
	NS	57,11			

При анализе молекулярно-структурной гомологии было выявлено, что АлАТ имеет больший процент идентичности с аминотрансферазами человека, чем АсАТ. Представленные данные показывают, что высокая степень гомологии ферментов у человека и моллюска сопряжена с формированием близких третичных структур белков. Это свидетельствует в пользу предположения, что сравниваемые аминотрансферазы человека и моллюсков выполняют однотипные функции.

Заключение. Приведенные материалы показывают, что все показатели как биохимического, так и биоинформатического анализа исследуемых ферментов коррелируют у человека и моллюсков. Это подтверждает возможность использовать легочных пресноводных моллюсков для моделирования ряда процессов (гипергликемия, окислительный стресс и др.) и в биофармацевтических исследованиях.

1. Чиркин, А.А. Молекулярно-биологические критерии отбора модельных организмов для биомедицинских исследований / А.А. Чиркин, П.Ю. Пинчук // Биохимия и молекулярная биология. – 2022. – Т. 1, № 1. – С. 114-118.

2. Чиркин А.А. Физиологические значения лабораторных тестов у населения Республики Беларусь: справ. пособие / А.А. Чиркин [и др.]; под ред. В.С. Улащика. – Минск: Адукацыя і выхаванне, 2010. – 88 с.

3. Милеева, П. Ю. Легочные пресноводные моллюски как модельные организмы для изучения обмена веществ / П. Ю. Милеева, К. В. Маковецкий // XII Машеровские чтения: материалы междунар. науч.-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых, Витебск, 19 октября 2018 г. / Витебский гос. ун-т им. П.М.Машерова; ред.-кол.: И.М. Прищепа (гл. ред.) [и др.]. – Витебск, 2018. – С. 51-53.