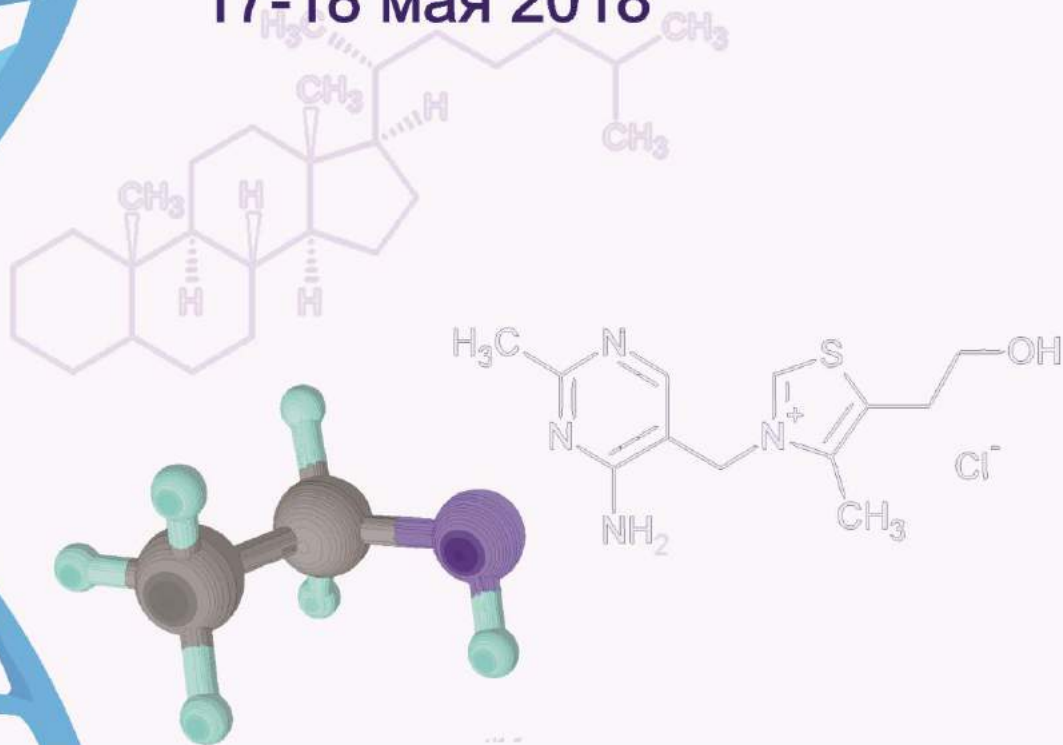




# II Белорусский биохимический конгресс

**Современные проблемы биохимии  
и молекулярной биологии**

Гродно  
17-18 мая 2018



Минск, 2018

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ

РЕСПУБЛИКАНСКОЕ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЕ  
УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ «ИНСТИТУТ БИОХИМИИ  
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НАЦИОНАЛЬНОЙ  
АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ»

## **СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ БИОХИМИИ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ**

(г. Гродно, 17-18 мая 2018 г.)

*Сборник научных статей*

*(статьи в сборнике опубликованы в авторской редакции)*

*Под общей редакцией*

*доктора медицинских наук, профессора И.Н.Семенени  
доктора биологических наук, профессора, члена-корреспондента  
НАН Беларуси А.Г.Мойсеёнка*

*Минск  
2018*

УДК  
ББК  
С

**Современные проблемы биохимии и молекулярной биологии** : сборник статей II Белорусского биохимического конгресса (г. Гродно, 17-18 мая 2018 г.) / под общ. ред. доктора мед. наук, проф. И.Н. Семенени и доктора биол. наук, проф., члена-корр. НАН Беларуси А.Г. Мойсеенка. – Минск : ИВЦ Минфина, 2018. – 795 с.

В сборнике освещается круг вопросов, связанных с современными проблемами развития биохимии и молекулярной биологии, в частности, биохимии витаминов и коферментов, биохимии алкоголизма и наркомании, актуальным проблемам биохимии и молекулярной биологии злокачественного роста, различным аспектам регуляции метаболических процессов в норме и патологии, использования биологически активных природных соединений в целях лечения и профилактики некоторых заболеваний, биохимии питания, биотехнологий, другим вопросам. Опубликованы памятные материалы об ушедших из жизни ученых-биохимиках.

Сборник представляет интерес для студентов, аспирантов, научных и научно-педагогических работников, практических врачей, изучающих современные проблемы биохимии и молекулярной биологии.

УДК  
ББК

ISBN

© Национальная академия наук Беларуси, 2018  
© РНИУП “Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси”, 2018  
© Оформление. УП “ИВЦ Минфина”, 2018

Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации. Материалы 68-ой научной сессии сотрудников университета. – Витебск: ВГМУ, 2013. – С. 503-504.

3. Биохимия: Пособие для студентов высших учебных заведений / Н.Ю. Коневалова, И.Н. Гребенников, С.П. Козловская, В.А. Куликов, Л.Г. Орлова, С.С. Осочук, Г.Н. Фомченко, В.В. Яцкевич / Под ред. проф. Н.Ю. Коневаловой. – Витебск: ВГМУ, 2017. – 689 с.

4. Рабочая тетрадь для практических занятий по биохимии для студентов 3 курса фармацевтического факультета. Учебное пособие/Н.Ю. Коневалова, Л.А. Марченко, И.Н. Гребенников, В.А. Куликов, С.П. Козловская, Л.Г. Орлова, Е.Ю. Телепнева, Г.Н. Фомченко, В.В. Яцкевич. Под ред. проф. Н.Ю. Коневаловой. – Витебск, ВГМУ. – 2017. – 198 с.

УДК 577.322.5:519.876.5

**КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ АНИОННОГО  
ТРАНСПОРТЕРА МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ СПОРТСМЕНОВ  
ЦИКЛИЧЕСКИХ ВИДОВ СПОРТА В УСЛОВИЯХ  
ЕГО ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ**

*А.Ф.Марцинкевич, С.С.Осочук*

*УО «Витебский государственный медицинский университет»,  
Витебск, Республика Беларусь*

**Резюме.** В работе проведено компьютерное моделирование анионного транспортера мембран эритроцитов в условиях его окислительной модификации. На основе симуляции сравнивались нативная, а также модифицированная 4-гидроксиноненалем молекулы анионного транспортера. Показано, что взаимодействие между анионным транспортером и продуктами перекисного окисления липидов способно увеличить подвижность полипептидной цепи, и, вероятно, изменить активность трансмембранного переноса анионов.

**COMPUTER SIMULATION OF STRUCTURE OF ERYTHROCYTE  
MEMBRANE ANIONIC TRANSPORTER IN ATHLETES OF CYCLIC  
SPORTS UNDER CONDITION OF ANIONIC TRANSPORTER OXIDATIVE  
MODIFICATION**

*A.F.Martsinkevich, S.S.Osochuk*

*Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus*

**Summary.** In the present work, computer simulation of the anion transport membrane of erythrocyte membranes under oxidative modification has been carried out. Based on the simulation, the native, as well as the modified 4-hydroxynonenal,

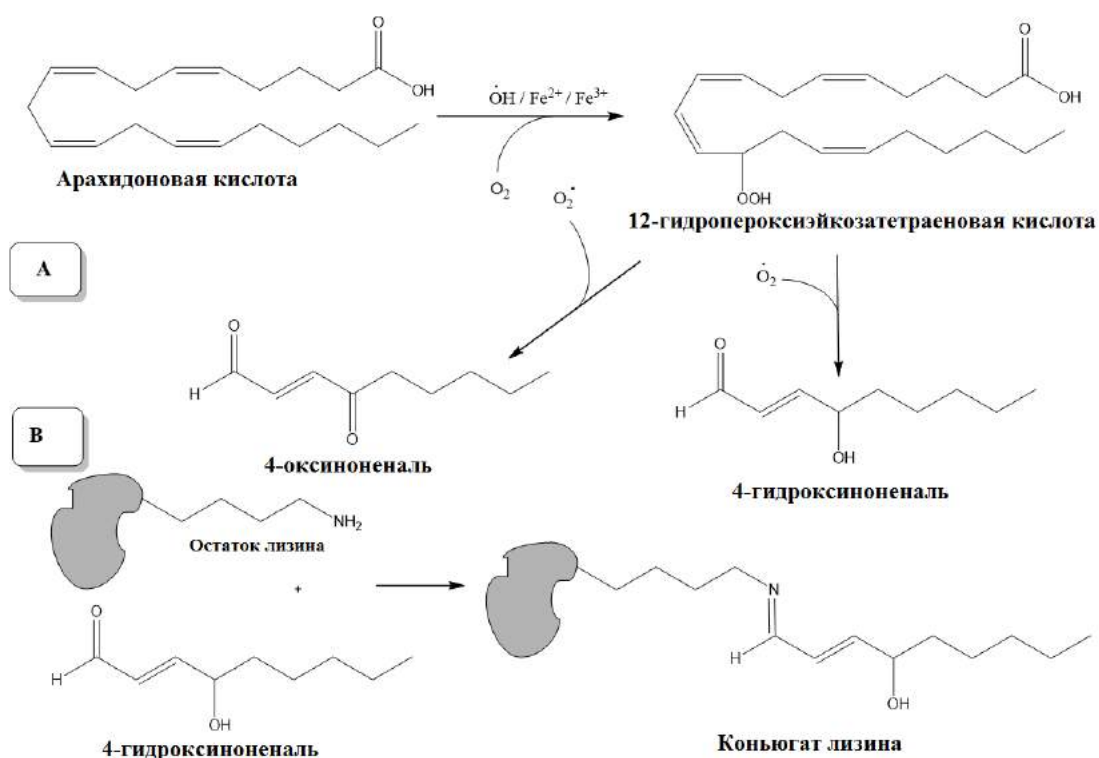
anion transport molecule was compared. It is shown that the interaction between the anionic transporter and products of lipid peroxidation can increase the mobility of the polypeptide chain, and, probably, increase the activity of transmembrane exchange of anions.

**Введение.** Согласно современным представлениям, перенос кислорода через мембрану эритроцита (МЭ) опосредуется работой специфических транспортеров, аквапоринов-1 [1]. Для аквапоринов, как и для любых иных мембранных белков, характерна связь между активностью и состоянием липидного микроокружения [2]. Помимо аквапоринов на интенсивность трансмембранного переноса кислорода существенное влияние оказывает эффект Бора, заключающийся в изменении сродства гемоглобина к кислороду в зависимости от содержания углекислого газа в эритроците. В свою очередь, результативность этого эффекта в значительной степени определяется белками полосы 3 (анионными транспортерами), обеспечивающими трансмембранный перенос молекул углекислого газа.

Учитывая, описанный нами ранее факт повышенной перекисной модификации белков мембран эритроцитов у спортсменов в зависимости от уровня спортивного мастерства [3], мы предположили, что окислительная модификация липидного бислоя МЭ может участвовать в регуляции активности трансмембранных белков. Анализ первичной структуры трансмембранных белков эритроцитов показал, что одним из наиболее предрасположенных к окислительной модификации белков, является анионный транспортер, в составе которого определено значительное количество лизина [8], который взаимодействует с карбонильными группами продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Как правило, ПОЛ рассматривается как негативное явление, способное снизить активность мембранных белков. Однако это противоречит, обнаруженной нами ранее, повышенной окислительной модификацией белков МЭ у спортсменов, в сочетании с повышенной активностью трансмембранного переноса кислорода и работоспособностью [3]. К тому же, в ряде работ отмечается снижение эффективности тренировочного процесса при использовании антиоксидантов [4, 5], что вносит дополнительные противоречия в обсуждаемое явление.

Одним из количественно преобладающих продуктов ПОЛ является 4-гидроксиноненаль (4-HNE, рисунок 1А), который представляет собой метаболит арахидоновой кислоты [6]. 4-HNE реакционноспособное соединение [7] и активно связывается с лизином (рисунок 1В).

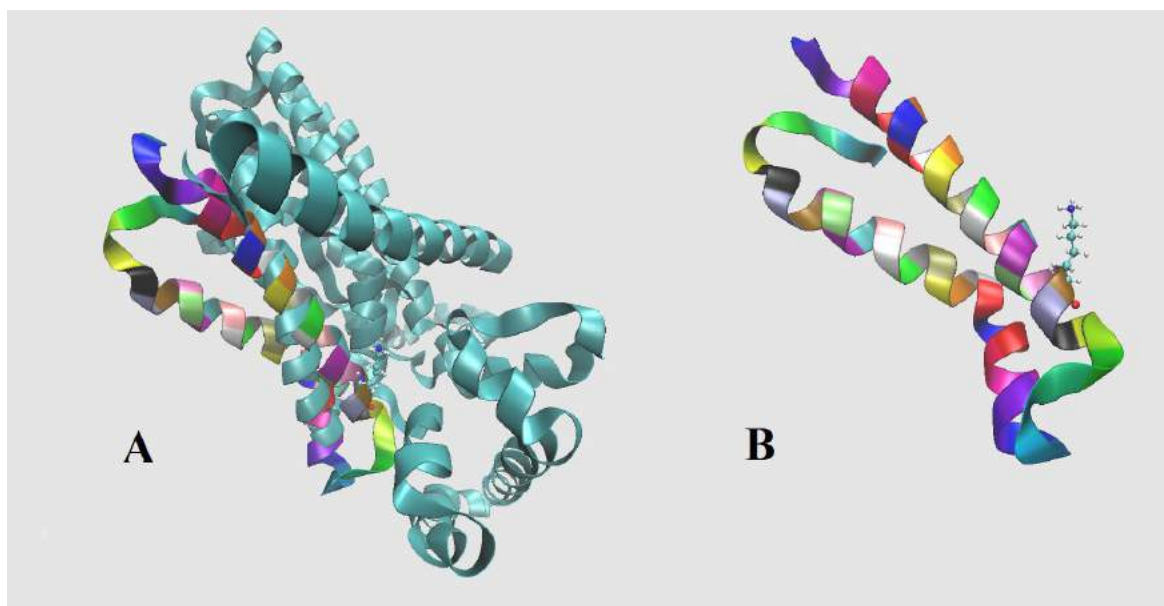


**Рис. 1 – Схема образования 4-гидроксиноненяля (А) и реакция его конденсации с аминогруппой бокового радикала лизина**

Введение в молекулу анионного транспортера остатка 4-HNE способно значительно изменить его конформацию и функциональную активность. В доступной нам литературе не было найдено работ, посвященных окислительной модификации анионного транспортера, что позволило сформировать цель настоящего исследования как: компьютерное моделирование анионного транспортера мембран эритроцитов в условиях окислительной модификации 4-HNE.

**Материалы и методы исследования.** В качестве объекта исследования использовалась рентгенокристаллографическая структура анионного транспортера (4YZF), полученная из банка данных белков [8]. Данная модель представляет собой димер белка полосы 3, состоящий из 12 полипептидных цепей, формирующих 11 трансмембранных (ТМ) регионов. В пятом и шестом трансмембранном регионе (ТМ5 и ТМ6) в положениях 539 и 590 присутствуют остатки лизина, способные образовывать конъюгаты с 4-HNE. Согласно экспериментальным данным, аминокислотная последовательность от 567 остатка до 630 включительно, непосредственно вовлечена в транспорт углекислого газа [8]. В ходе исследования была создана белковая молекула, содержащая модификации в указанных положениях.





**Рис. 2 – Общий вид модифицированного анионного транспортера (А) и участок полипептидной цепи, вовлеченный в транспорт углекислого газа (В)**

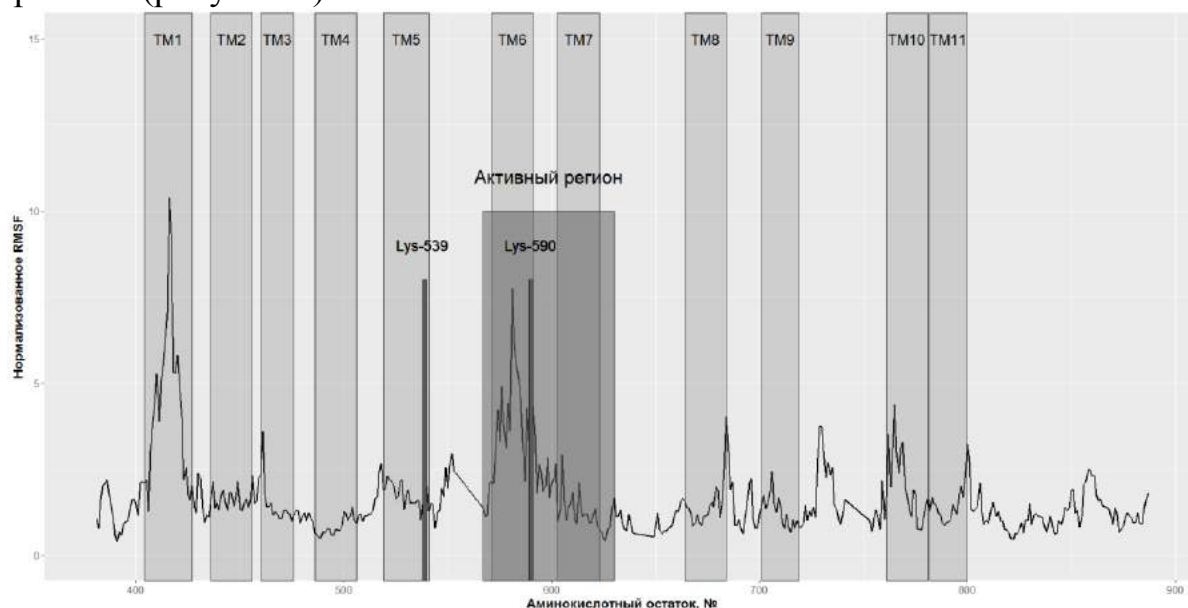
Моделирование молекулярной динамики осуществляли при помощи консольной утилиты Nanoscale Molecular Dynamics (NAMD) [9]. Согласно протоколу симуляции, вокруг молекулы создавалась гидратная оболочка размером в  $5\text{\AA}$ , затем происходила минимализация потенциальной энергии и установление равновесия в системе при постоянных значениях температуры и давления. Количественной мерой конформационных изменений, вызванных модификацией, служило значение среднеквадратических колебаний (RMSF), численно равное амплитуде колебаний  $C\alpha$  атомов полипептидной цепи в процессе симуляции по сравнению с первоначальным состоянием. Также исследовался нормализованный показатель RMSF, равный отношению RMSF для модифицированной и нативной молекулы белка.

Статистический анализ данных выполняли с использованием пакета прикладных программ R 3.4.4 [10]. Так как согласно критерию Шапиро-Уилка распределение исследуемых признаков отличалось от нормального, применялись методы непараметрической статистики. Для определения отличий между нативной и модифицированной молекулами использовалась линейная модель со смешанными эффектами, построение корреляционной матрицы осуществляли на основании rho Спирмена. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования и их обсуждение.** В ходе исследования было показано, что введение в белковую молекулу остатков 4-HNE, статистически значимо изменяет ее конформационные свойства. Коэффициент корреляции между значениями RMSF нативной и модифицированной молекул был достаточно низким – 0,2144, но статистически значимым ( $p \ll 0,001$ ), что может свидетельствовать о направленном изменении подвижности полипептидной цепи, вызванном образованием конъюгатов лизина.

Вместе с тем, модифицированная молекула анионного транспортера имела ряд отличий, выраженных, что примечательно, в увеличении подвижности

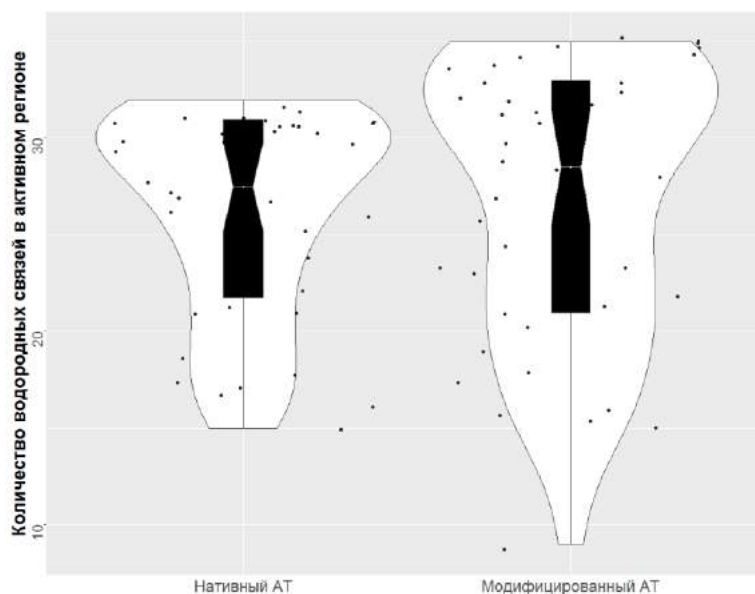
углеродного скелета в зоне контактов с мембраной (TM1, TM3, TM5, TM6, TM8, TM10, TM11). Кроме того, подвижность региона, отвечающего за трансмембранный перенос углекислого газа, может значительно – до 7 раз – возрасти (рисунок 3).



**Рис. 3 – Нормализованное значение RMSF с указанием трансмембранных участков (TM1, ..., TM11), модифицированных остатков лизина и активного региона**

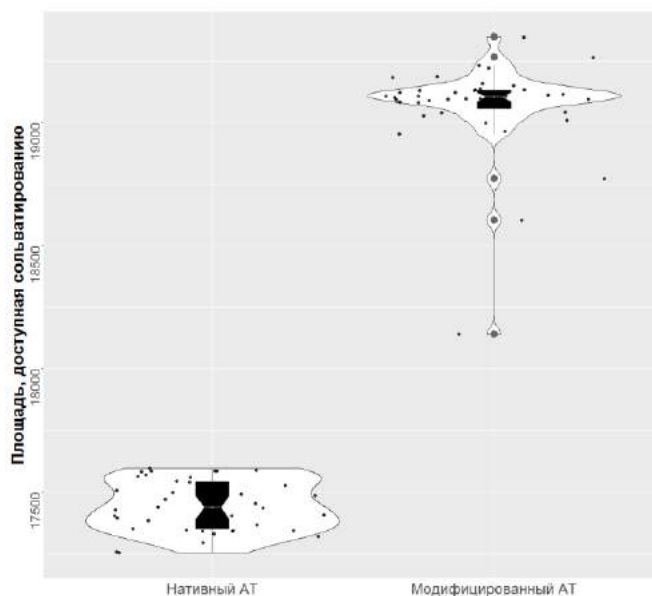
Отмеченная повышенная подвижность полипептидной цепи в активном регионе, может расцениваться двояко, облегчая, с одной стороны конформационные переходы и, с другой стороны, дестабилизируя модифицированную молекулу. Так как непосредственное установление активности анионного транспортера требует либо эмпирического исследования, (либо моделирования молекулярной динамики), сопряженного со значительными вычислительными трудностями, нами была проведена оценка количества водородных связей, присутствующих в активном регионе. Исходя из полученных данных (рисунок 4), анионный транспортер, модифицированный продуктами ПОЛ, в среднем имеет несколько большую, однако статистически не значимую, возможность к образованию водородных связей.





**Рис. 4 – Количество водородных связей в активном регионе нативного и модифицированного анионного транспортера**

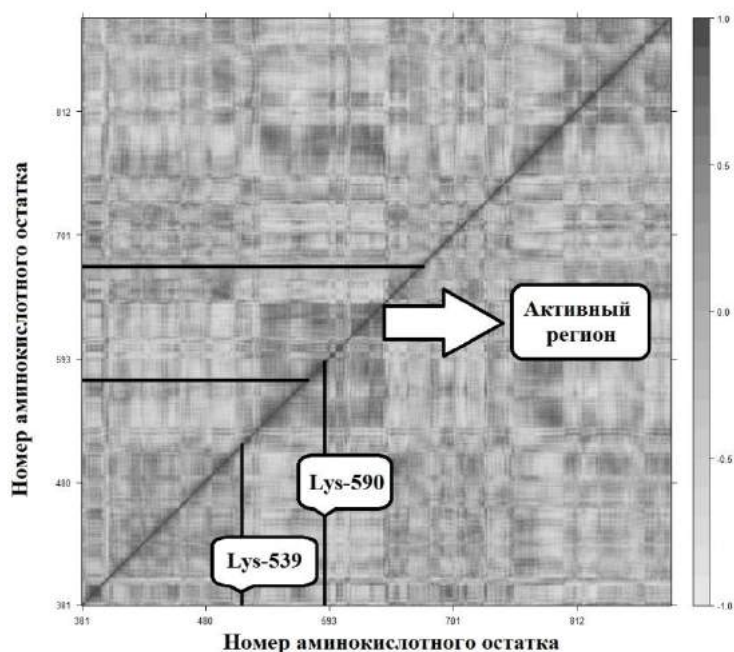
Возможно, одним из факторов, определяющих стабильность модифицированной молекулы является увеличение ( $p \ll 0,001$ ) площади, доступной для сольватирования (рисунок 5).



**Рис. 5 – Площадь активного региона, доступная сольватированию для нативной и модифицированной молекулы анионного транспортера**

Модифицированная молекула образует конформации, стабилизированные за счет, как внутримолекулярных водородных связей, так и за счет взаимодействия с окружающими молекулами растворителя (воды). Таким образом, на основании косвенных данных, можно предположить, что в ходе модификации, анионный транспортер приобретает большую подвижность, сохраняя в активном регионе стабильность, присущую нативной молекуле.

Следующим этапом анализа было подтверждение влияния модификации на подвижность всего углеродного скелета анионного транспортера (рисунок 6).



**Рис. 6 – Матрица кросс-корреляции подвижности  $C\alpha$  атомов модифицированной молекулы анионного транспортера**

Как и при исследовании нормализованного значения RMSF, матрица кросс-корреляции показывает, что введение в молекулу анионного транспортера остатков 4-HNE может влиять на регионы, пространственно удаленные от места непосредственной модификации. Темные участки на рисунке 6, расположенные напротив Lys-539 и Lys-590 соответствуют зонам повышенной подвижности, которые коррелируют с флуктуациями в местах образования конъюгатов лизина.

Достаточно затруднительно однозначно трактовать данный факт, однако, учитывая описанное нами ранее [3] увеличение активности трансмембранного переноса кислорода у спортсменов, мы склонны предполагать, что в сочетании с неизменной стабильностью молекулы транспортера, возросшая подвижность углеродного скелета будет обеспечивать увеличение трансмембранной активности анионного транспортера по углекислому газу.

### **Заключение.**

- образование конъюгатов лизина в структуре анионного транспортера способно значительно изменить его конформацию;
- высокая подвижность полипептидной цепи, в сочетании с неизменным количеством водородных связей, а также возросшей площадью, доступной для сольватирования, может свидетельствовать о возможном изменении функциональной активности модифицированной молекулы анионного транспортёра

### Список литературы.

1. Zwiazek, J.J. Significance of oxygen transport through aquaporins / J.J. Zwiazek [et al.] // Scientific Reports. - 2017. - № 7. - P. 1-12.
2. Lee, A.G. How lipids affect the activities of integral membrane proteins / A.G. Lee // Biochimica et Biophysica Acta. – 2004. – № 1666. – P. 62 – 87.
3. Физико-химические свойства мембран эритроцитов спортсменов циклических видов спорта [Текст] / С. С. Осочук, А. Ф. Марцинкевич // Вестник Витебского государственного медицинского университета : ежеквартальный научно-практический журнал. — 2013. — Т. 12, № 3. — С. 25-31.
4. Gomez-Cabrera, M. C. Oral administration of vitamin C decreases muscle mitochondrial biogenesis and hampers training-induced adaptations in endurance performance / M. C. Gomez-Cabrera [et al.] // Am J Clin Nutr. – 2008. – № 87. – P. 142–149.
5. Paulese, G. Can supplementation with vitamin C and E alter physiological adaptations to strength training? / G. Paulsen [et al.] // BMC Sports Sci Med Rehabil. – 2014. – № 6. – P. 28–40.
6. Spickett, C.M. The lipid peroxidation product 4-hydroxy-2-nonenal: Advances in chemistry and analysis / C.M. Spickett // Redox Biology. – №1. – 2013. – P. 145–152.
7. Ashraf, G.M. Proteomic identification of carbonylated proteins and their oxidation sites / G.M. Ashraf, F.E. Regnier // J Proteome Res. – № 8. – 2010. – P. 3766–3780.
8. RCSB Protein Data Bank [Electronic resource]. – Mode of access: <https://www.rcsb.org/structure/4YZF>. – Date of access: 20.03.2018.
9. Philips, J.C. Scalable molecular dynamics with NAMD / J.C. Philips [et al.] // Journal of Computational Chemistry. – 2005. – №26. – P. 1781–1802.
10. The R Project for Statistical Computing [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.r-project.org>. – Date of access: 02.04.2018.

УДК 616.716.8+616.314:577.118:599.323.4

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВЛИЯНИЯ АТОРВАСТАТИНА И $\alpha$ -КАЛЬЦИДОЛА НА МИНЕРАЛИЗАЦИЮ КОСТНОЙ ТКАНИ ЧЕЛЮСТИ И ЗУБА ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС

*С.С.Осочук, О.С.Яковлева*

*УО «Витебский ордена Дружбы народов государственный медицинский университет»,  
Витебск, Республика Беларусь*

**Резюме.** Целью работы было сравнение влияния длительного приема аторвастатина и  $\alpha$ -кальцидола на минерализацию костной ткани лабораторных крыс. Эксперимент проводился 90 дней. Минеральный состав костной ткани