

УДК 616.379-008.64:616-056.257:616.61:577.29
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-1-32-42>

Исследование уровней экспрессии сплайсинговых изоформ SIRT1 и генов – регуляторов митохондриального гомеостаза в печени больных сахарным диабетом 2-го типа и ожирением

Воронова С.С., Бограя М.М., Горбачева А.М., Вульф М.А., Газатова Н.Д., Литвинова Л.С.

Балтийский федеральный университет (БФУ) им. И. Канта
Россия, 236041. г. Калининград, ул. А. Невского, 14

РЕЗЮМЕ

Цель. Оценка ассоциации между уровнем экспрессии изоформ сиртуина 1 (*SIRT1*) и генами белков, связанных с митохондриальным гомеостазом (*PGC-1 α* , *PPAR- γ* , *PPAR- α* , *TFAM*, *MFN2*, *OPA1*, *DRP1*) в печени больных сахарным диабетом второго типа (СД2).

Материалы и методы. В исследование включено 59 пациентов, которые были разделены на две группы: 1) контрольная группа, индекс массы тела (ИМТ) менее 30 кг/м², без кардиометаболических нарушений; 2) пациенты с СД2, ИМТ более 30 кг/м². Выполнялся биохимический анализ показателей крови пациентов, а уровень экспрессии генов интереса в печеночной ткани изучали с помощью количественной полимеразной цепной реакцией с обратной транскрипцией.

Результаты. Обнаружено, что сплайсинговые изоформы *SIRT1 V1*, *V2* и *V3* стабильно экспрессировались в печени у больных СД2. Выявлено, что изоформы *SIRT1* встречаются не только по отдельности, но и в различных сочетаниях. Экспрессия изоформы *SIRT1 V3* значительно повышалась в группе больных, в то время как остальные анализы значительно не различались между группами. Изоформа *SIRT1 V3* положительно коррелировала с уровнем глюкозы. Стоит отметить, что общий *SIRT1* не показал значимых корреляций с генами интереса и биохимическими показателями, что только подтверждает необходимость изучения экспрессии изоформ отдельно.

Заключение. Изоформы *SIRT1* стабильно экспрессировались в печени, уровень экспрессии изоформы *SIRT1 V3* был значительно выше у больных СД2. Результаты работы могут послужить основой для дальнейших, более точечных исследований взаимодействий между сплайсинговыми изоформами *SIRT1* с белками митохондриального гомеостаза на посттрансляционном уровне.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, альтернативный сплайсинг, изоформы сиртуина 1, митохондриальный гомеостаз, митохондриальная динамика

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке гранта государственного задания FZWM-2024-0012.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Балтийского федерального университета им. И. Канта (заключение № 40 от 26.06.2023).

Для цитирования: Воронова С.С., Бограя М.М., Горбачева А.М., Вульф М.А., Газатова Н.Д., Литвинова Л.С. Исследование уровней экспрессии сплайсинговых изоформ SIRT1 и генов – регуляторов митохондриального гомеостаза в печени больных сахарным диабетом 2-го типа и ожирением. *Бюллетень сибирской медицины*. 2026;26(1):32–42. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-1-32-42>.

The expression levels of SIRT1 splicing isoforms and genes regulating mitochondrial homeostasis in the liver of patients with type 2 diabetes mellitus and obesity

Voronova S.S., Bograya M.M., Gorbacheva A.M., Vulf M.A., Gazatova N.D., Litvinova L.S.

Immanuel Kant Baltic Federal University
14 Nevsky Str., 236041 Kaliningrad, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To evaluate the association between the expression levels of sirtuin 1 (*SIRT1*) splicing isoforms and the genes associated with mitochondrial homeostasis (*PGC-1 α* , *PPAR- γ* , *PPAR- α* , *TFAM*, *MFN2*, *OPA1*, and *DRP1*) in the liver of patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM).

Materials and methods. The study included 59 patients who were divided into two groups: 1) control group, body mass index (BMI) < 30 kg/m², without cardio-metabolic disorders; 2) patients with T2DM, BMI > 30 kg/m². A biochemical analysis of the patients' blood parameters was performed, and the expression level of the genes of interest in the liver tissue was studied using quantitative RT-PCR.

Results. It was found that the *SIRT1* splicing isoforms *V1*, *V2*, and *V3* were stably expressed in the liver of patients with T2DM. *SIRT1* isoforms occur not only individually, but also in various combinations. The expression of the *SIRT1 V3* isoform was significantly increased in the group of patients, while the remaining analytes did not significantly differ between the groups. The *SIRT1 V3* isoform positively correlated with glucose levels. It is worth noting that the total *SIRT1* did not show significant correlations with the genes of interest and biochemical parameters, which only confirms the need to study the expression of isoforms separately.

Conclusion. *SIRT1* isoforms were stably expressed in the liver, and the expression level of *SIRT1 V3* isoform was significantly higher in patients with T2DM. The results of this work can serve as a basis for further studies of interactions between *SIRT1* splicing isoforms and mitochondrial homeostasis proteins at the post-translational level.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, alternate splicing, mitochondria, mitochondrial fission and fusion, liver

Conflict of interest. The authors declare no obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was supported by state assignment FZWM-2024-0012.

Conformity with the principles of ethics. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (2000) and the Protocol to the Convention on Human Rights and Biomedicine (1999). The study was approved by the local Ethics Committee of Immanuel Kant Baltic Federal University (Minutes No. 40 dated June 26, 2023). All participants signed a consent form to participate in the study.

For citation: Voronova S.S., Bograya M.M., Gorbacheva A.M., Vulf M.A., Gazatova N.D., Litvinova L.S. The expression levels of SIRT1 splicing isoforms and genes regulating mitochondrial homeostasis in the liver of patients with type 2 diabetes mellitus and obesity. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2026;26(1):32–42. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-1-32-42>.

ВВЕДЕНИЕ

Встречаемость сахарного диабета 2 типа (СД2) тревожно возросла за последние 40 лет [1]. Особенно при СД2 страдает печень – последние метаанализы подтверждают, что у больных СД2 примерно в 60% случаев развивается стеатоз, стеатогепатит и фиброз печеночной ткани [2]. Центральной причиной развития коморбидной патологии печени при СД2 считается инсулинорезистентность, ассоциированная с дисфункцией жировой ткани [3]. Активный липолиз, происходящий в результате дисфункции жировой

ткани [3], приводит к увеличению количества свободных жирных кислот (СЖК) в кровотоке [4].

Печень усиленно депонирует СЖК, однако их избыток ассоциирован не только со стеатозом, но и с развитием окислительного стресса. Так, повышенное β -окисление СЖК приводит к накоплению активных форм кислорода (АФК) в гепатоцитах [5]. Окислительный стресс является неотъемлемым компонентом СД2 [6] и губительно воздействует на клетку. Окислительный стресс приводит к нарушению митохондриального гомеостаза [7] и развитию митохондриальной дисфункции – дисрегуляции

митофагии [8] и митохондриальной динамики (МД) [9], снижению копийности митохондриальной ДНК (мтДНК) [10] и биогенеза митохондрий [11].

Широко известен факт, что митохондриальная дисфункция играет ключевую роль в патогенезе СД2, так как инсулинорезистентность и гипергликемия приводят в конечном итоге к дисрегуляции потребления энергетических субстратов всеми тканями тела [12]. Это дестабилизирует не только энергетический гомеостаз, но и впоследствии генерацию АФК, МД и апоптоз: дисбаланс этих процессов при СД2 приводит к последующему дефициту жизненно важных функций, включая нарушение работы гепатоцитов и клеток миокарда, выработки инсулина β -клетками, гомеостаза нейронов и пр. [13].

Митохондриальный гомеостаз – комплексный процесс, который контролируется на многих молекулярных уровнях: через МД (слияние/деление митохондрий), процессы митофагии, митохондриального разобщения, антиоксидантные системы [12], но также и другие процессы, которые вошли в фокус интереса исследователей относительно недавно: гетероплазмия мтДНК, роль некодирующих РНК, эпигенетическая регуляция митохондриального генома и транскриптома [13].

Также в этом аспекте интересно явление митохондриального гормезиса (небольшое увеличение концентрации АФК, приводящее к улучшению митохондриального гомеостаза): было показано, что митогормезис может активировать SIRT1/3 и через него AMPK и PGC-1 α , восстанавливая тем самым нормальный митохондриальный гомеостаз [14]. Таким образом, исследование молекулярных механизмов поддержания/нарушения митохондриального гомеостаза является важной задачей в контексте выявления патогенеза коморбидностей, вызванных СД2.

Митохондриальный гомеостаз в клетке регулируется как ядерным, так и митохондриальным геномом [7]. Так, основными игроками являются: 1) транскрипционные факторы – TFAM, NRF-1, NRF-2, контролирующие экспрессию генов мтДНК [7]; 2) рецепторы, активируемые пролифераторами пероксисом (PPARs), которые относятся к суперсемейству ядерных гормональных рецепторов [7, 15]. PPAR- α как транскрипционный фактор регулирует экспрессию генов, кодирующих ферменты, метаболизирующие жирные кислоты, и активность митохондриального β -окисления в печени [16]. PPAR- γ , в свою очередь, стимулирует липогенез *de novo* [17]; 3) коактиваторы транскрипции из семейства PGC-1 (PGC-1 α , PGC-1 β и PRC), способствующие поддержанию митохондриального биогенеза [18], в особенности

PGC-1 α [19]; 4) белки, ассоциированные с митохондриальным делением (DRP1) и слиянием [20] (MFN1, MFN2, OPA1).

Многие исследователи сегодня концентрируются на очевидных аспектах нарушения митохондриального гомеостаза в печени, например, роли транскрипционных факторов, ассоциированных с митохондриальным биогенезом [21] или экспрессии генов, регулирующих окислительное фосфорилирование [22]. Безусловно, это важные звенья в патогенезе нарушения митохондриального гомеостаза, однако не менее актуальным является изучение регуляторов более высокого уровня, в частности гистоновой деацетилазы сирутин 1 (SIRT1).

SIRT1 широко изучен в контексте СД2 и его коморбидностей [23, 24]. Известно, что на посттрансляционном уровне SIRT1 регулирует работу многих белков, ассоциированных с митохондриальным гомеостазом [25]. Деацетилирование повышает активность транскрипционного кофактора PGC-1 α [26, 27], транскрипционного фактора PPAR- α [28] и подавляет активность PPAR- γ [29, 30]. Деацетилирование, в том числе через белки семейства SIRT (SIRT1 и SIRT3), ассоциировано с регуляцией баланса в МД. Известно, что деацетилирование Drp1 приводит к снижению активности этого белка – подавлению деления митохондрий [31], а деацетилирование MFN2 [32], Opa1 [33], напротив, стимулирует активное их слияние. Кроме того, было показано, что изоформы SIRT1 могут участвовать в регуляции окислительного фосфорилирования и образования аденозинтрифосфата (АТФ) через деацетилирование I комплекса дыхательной цепи митохондрий [34].

Особого внимания заслуживает тот факт, что ген *SIRT1* подвержен значительному альтернативному сплайсингу [35]. Выделяют три изоформы *SIRT1* (рис. 1). Первая изоформа (V1, идентификатор транскрипта ENST00000212015.11) является канонической, состоит из девяти экзонов (ex1–9) и имеет длину в 747 остатков аминокислот (АК). Данная изоформа содержит два сайта сигнала ядерной локализации (NLS), которые кодируются в ex1 и ex3, и два сайта сигнала ядерного экспорта (NES) – аналогично в ex1 и ex7. Ни вторая (V2), ни третья изоформа (V3) не имеют ни первого, ни третьего экзона. Таким образом, данные изоформы являются исключительно цитоплазмическими, что было подтверждено [35].

Вторая изоформа (ENST00000432464.5) имеет укороченный N-конец и состоит из 452 остатков АК. При этом транскрипт, кодирующий V2, имеет восемь экзонов: семь экзонов, аналогичных V1 (ex2, ex4–9), и один уникальный для этой изоформы экзон (ex1'). Но так как рамка считывания захватывает область от

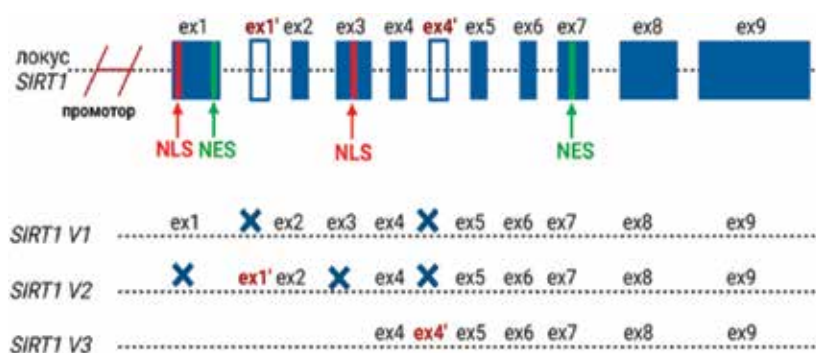


Рис. 1. Строение изоформ *SIRT1* [35]. NLS – сигнал ядерной локализации, NES – сигнал ядерного экспорта

ex4 до ex9, *V2* отличается от *V1* только укороченным N-концом и уникальных участков не имеет.

Третья изоформа (ENST00000406900.5) – самая короткая, длиной 444 АК. *V3* на N-конце имеет уникальную последовательность из 11 остатков АК. Связано это с тем, что у *V3*, как и *V2*, есть варибельный экзон, но в отличие от второй изоформы, этот экзон (ex4') входит в рамку считывания.

Данные различия, как предполагается [34], влияют не только на локализацию изоформ, но и на их функциональную активность. Однако этот вопрос не рассматривался в контексте печеночной ткани человека.

Таким образом, целью нашего исследования явилась оценка ассоциации между уровнем экспрессии изоформ *SIRT1* и генами белков, связанных с митохондриальным гомеостазом (*PGC-1α*, *PPAR-γ*, *PPAR-α*, *TFAM*, *MFN2*, *OPA1*, *DRP1*) в печени больных СД2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Постановка диагноза и включение участников исследования проводили в областной клинической больнице г. Калининграда. Перед плановой абдоминальной операцией, проводимой под общим наркозом, участники проходили стандартную корректировку диеты. Все пациенты с ожирением прекращали прием лекарств, влияющих на углеводный и липидный обмен веществ, за 36 ч до операции. Взятие венозной крови производили утром натощак в день операции.

Во время операции были получены образцы печени объемом до 0,5 см³ для выделения РНК (биоптаты помещали в 600 мкл раствора RNAlater (Ambion, США)). Исследование проводили в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2000 г.) и Протоколом к Конвенции о правах человека и биомедицине (1999 г.). Исследование одобрено локальным этическим комитетом Балтийского федерального университета им. И. Канта (заключение № 40 от 26.06.2023). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения: лица старше 21 года, направленные на плановую операцию брюшной

полости по различным показаниям: герниопластика, резекция желудка и патологии желчного пузыря и желчных протоков (желчнокаменная болезнь, холецистит, полипоз, киста и т.д.). Критерии исключения: инфекционные заболевания печени, сопутствующие соматические и инфекционные заболевания в острой воспалительной стадии, известная инфекция вируса иммунодефицита человека или любые злокачественные или доброкачественные новообразования. Лица моложе 21 года или те, кто отказался проходить медицинские и лабораторные обследования во время исследования или подписывать форму информированного согласия, также исключались.

В исследование было включено 59 пациентов (средний возраст составил $49,15 \pm 10,96$ лет, 23 мужчины, 36 женщин), которые были разделены на две группы: 1) контрольная группа (28 человек, 13 мужчин, 15 женщин), индекс массы тела (ИМТ) менее 30 кг/м², без кардиометаболических нарушений; 2) пациенты с СД2 (31 человек, 10 мужчин, 21 женщина) с ИМТ более 30 кг/м².

Материалом для биохимических исследований явилась кровь, полученная путем пункции локтевой вены, взятая утром натощак до операции в вакуумные пробирки с активатором образования сгустка для получения сыворотки. Анализ биохимических показателей крови проводили на анализаторе Furuno CA-180 (Furuno Electric Company, Япония) с использованием тест-систем DiaSys (DiaSys Diagnostic Systems, Германия).

Материалом для исследования экспрессии генов интереса служили биоптаты печеночной ткани. Суммарная РНК была выделена из части образца печени объемом примерно 100 мкл с помощью ExtractRNA (ЗАО «Евроген», Россия) согласно протоколу производителя. Выделенная суммарная РНК была элюирована в 50 мкл воды, свободной от РНКаз. Концентрацию РНК измеряли непосредственно сразу после выделения на приборе Implen NanoPhotometer N (Implen, Германия). Образцы хранили при -80 °C до проведения обратной транскрипции с последующей

полимеразной цепной реакцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР).

Универсальную обратную транскрипцию проводили с использованием набора MMLV RT kit (ЗАО «Евроген», Россия) с добавлением ингибитора РНКазы RiboCare (ЗАО «Евроген», Россия) в соответствии с протоколом производителя. Для постановки количественной ПЦР использовали смесь HS SYBR PCR (ЗАО «Евроген», Россия). Последовательности праймеров приведены по тексту ниже, температура отжиг всех праймеров составляла 62 °С. Амплификацию и считывание результатов ПЦР проводили на термоциклере CFX96 (Bio-Rad, Hercules, США). После амплификации кривые плавления анализировали для проверки специфичности реакций.

Для нормализации данных по экспрессии генов в качестве внутреннего контроля использовали референсный ген *RPLP0*. Использовались следующие последовательности праймеров:

SIRT1-F: AGGAGCAGATTAGTAGGCGGC,
SIRT1-R: TGGACTCTGGCATGTCCCAC,
V1-F: AGGGCGAGGAGGAGGAAGAG,
V1-R: GTCCAGTCACTAGAGCTTGCA,
V2-F: TTCGCTCTTTTCCCTCCGTCC,
V2-R: ACAGAAAGTTATCTGGCTGCT,
V3-F: CTGTGCAGTGAAGGAAAACA,
V3-R: GATTCCCGCAACCTGTTCGA,
PPAR-γ-F: GATGACAGCGACTTGGCAATA,
PPAR-γ-R: GGCTTGTAGCAGTTGTCTT,
PPAR-α-F: GCCCTGTCTGCTCTGTGGA,
PPAR-α-R: GCCGAGCTCCAAGCTACTCTT,
PGC-1α-F: TGCTCGGAGCTTCTCAAATATC,
PGC-1α-R: CCCAAGGGTAGCTCAGTTTATC,
MFN2-F: CCAGCGTCCCATCCCTCT,

MFN2-R: TCCACACCACTCCTCCAACA,
DRP1-F: TCTGGAGGTGGTGGGGTTG,
DRP1-R: TGGGTTTTGATTTTTCTTCTGCTAAT,
OPA1-F: ATCTGTGGATGCTGAACGCA,
OPA1-R: GAATCCTGCTTGGACTGGCT,
PRKAA1-F: ACAGAGATCGGGATCAGTTAG,
PRKAA1-R: GAGGTCACAGATGAGGTAAGA,
TFAM-F: CGCTCCCCCTTCAGTTTTGT,
TFAM-R: TACCTGCCACTCCGCCCTAT,
RPLP0-F: GGCGACCTGGAAGTCCAAC,
RPLP0-R: CCATCAGCACCACAGCCTTC.

Пороговые циклы транскриптов были преобразованы в относительные значения экспрессии с использованием метода $2^{-\Delta Ct}$ и далее для нормализации были трансформированы в \log_{10} . Выбросы были идентифицированы и исключены с использованием метода ROUT ($Q = 1\%$). Нормальность распределения данных оценивалась с использованием теста Шапиро – Уилка. Если данные соответствовали нормальному распределению, гипотезу о равенстве выборочных средних проверяли с использованием *t*-критерия Стьюдента с критерием Уэлча, в ином случае применяли непараметрический тест Манна – Уитни. Разница встречаемости транскриптных комбинаций изоформ SIRT1 между группами была оценена при помощи критерия χ^2 . Корреляции определяли с использованием метода Спирмена. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 9.3.1.

Для изоформ *SIRT1* и SIRT1 общего были разработаны праймеры (рис. 2), таким образом, чтобы они отжигались только на специфичные для изоформ участки.



Рис. 2. Дизайн праймеров для изоформ SIRT1. *SIRT1 V1–V3* – изоформы *SIRT1* и специфические праймеры для них; *SIRT1* общ. – праймеры, которые отжигаются на все изоформы *SIRT1*; ex1–9 – экзоны гена *SIRT1*

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнительный анализ клинических и биохимических показателей групп, включенных в исследование, представлен в таблице. Группа контроля значимо различалась от группы исследования по ИМТ, уровню глюкозы натощак, триглицеридов и липопротеинов высокой плотности. По остальным антропометрическим и биохимическим показателям группы между собой значимо не различались.

Был изучен уровень экспрессии генов интереса в биоптатах печени. Нами не было обнаружено значи-

мых различий в экспрессии мРНК транскрипционных факторов *PGC-1 α* ($p = 0,1275$), *PPAR- γ* ($p = 0,8047$), *PPAR- α* ($p = 0,7927$) (рис. 3, *a*). Также значимо не отличался уровень экспрессии генов, ассоциированных с МД *TFAM* ($p = 0,4188$), *MFN2* ($p = 0,6295$), *OPA1* ($p = 0,5149$), *DRP1* ($p = 0,7507$) (рис. 3, *a*). Уровень экспрессии субъединицы АМПК *PRKAA1* ($p = 0,1430$) и *SIRT1* общ. ($p = 0,5609$), а также изоформ *V1* ($p = 0,3166$), *V2* ($p = 0,2254$) значимо не изменялся, однако уровень экспрессии изоформы *V3* был значимо повышен у пациентов с СД2 по сравнению с контрольной группой в 1,3 раза ($p = 0,0009$) (рис. 3, *b*).

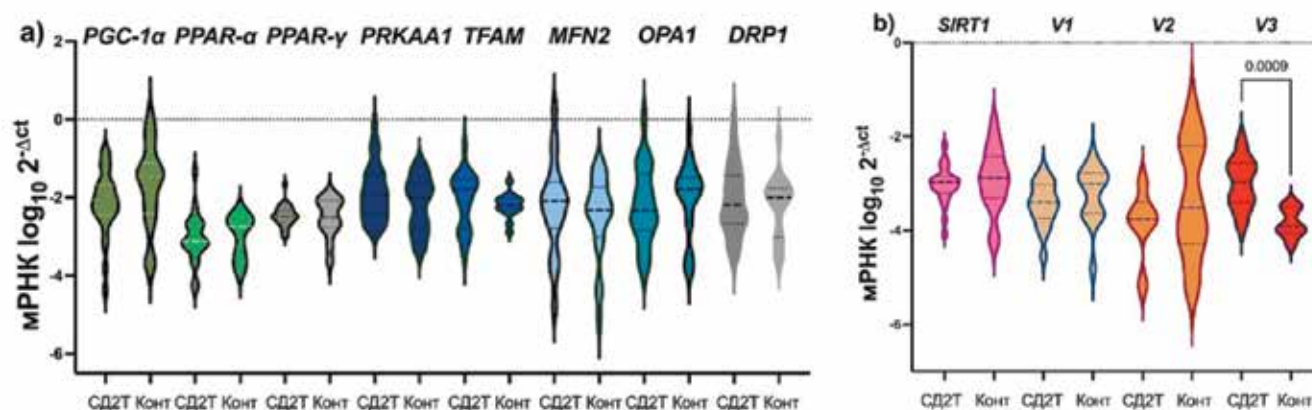


Рис. 3. Уровень экспрессии генов интереса: *a* – гены, ассоциированные с митохондриальным гомеостазом *PGC-1 α* , *PPAR- α* , *PPAR- γ* , *PRKAA1* и МД *TFAM*, *MFN2*, *OPA1* и *DRP1*; *b* – *SIRT1* и его изоформы. Статистический анализ проведен с использованием критерия Шапиро – Уилка, непарного теста Манна – Уитни, непарного *t*-теста Стьюдента с критерием Уэлча. Конт – условно здоровые доноры, СД2Т – больные сахарным диабетом 2-го типа

Т а б л и ц а

Клинические и биохимические показатели исследуемых групп, $M \pm SD$			
Показатель	Контрольная группа, $n = 28$	Сахарный диабет, $n = 31$	p
ИМТ, кг/м ²	24,12 \pm 3,78	49,49 \pm 10,61	<0,0001**
Возраст, годы	51,07 \pm 13,43	47,22 \pm 7,52	0,2009**
Пол, м/ж	13/15	10/21	0,2965***
Глюкоза натощак, ммоль/л	4,56 \pm 0,54	7,45 \pm 1,98	<0,0001*
Холестерин, ммоль/л	5,27 \pm 1,10	5,30 \pm 0,91	0,9066**
Триглицериды, ммоль/л	1,17 \pm 0,44	2,01 \pm 1,09	<0,0001*
Липопротеины высокой плотности, ммоль/л	1,44 \pm 0,37	1,23 \pm 0,73	0,0036*
Липопротеины низкой плотности, ммоль/л	3,18 \pm 0,84	2,97 \pm 0,71	0,5544*
Аланинаминотрансфераза, ммоль/л	17,85 \pm 13,87	22,45 \pm 15,07	0,2010*
Аспаргатаминотрансфераза, ммоль/л	24,27 \pm 15,23	21,00 \pm 8,36	0,2040*

Анализ проведен через: * – непарный тест Манна – Уитни, ** – непарный тест Стьюдента с критерием Уэлча, *** – точный тест Фишера

В процессе изучения экспрессии изоформ *SIRT1* выявлено, что изоформы *SIRT1* встречаются не только по отдельности, но и в различных сочетаниях. Был проведен анализ встречаемости транскриптных комбинаций изоформ *SIRT1* (рис. 4) в зависимости от группы исследования/сравнения.

Выявлено, что у больных СД2 изоформа *V2* не встречалась в индивидуальном виде, в то время как изоформа *V3* в индивидуальном виде встречалась только у больных СД2, а сочетание изоформ *V2* + *V3* не встречалось ни у больных, ни у здоровых. У 15 человек не было детектировано ни одной изоформы

SIRT1. Сочетание изоформ в целом значительно различалось между больными СД2 и контрольной группой ($p = 0,0047$) (рис. 4). Процессы, контролируемые паттерны экспрессии изоформ *SIRT1*, на сегодняшний день не изучены.



Рис. 4. Анализ сочетания изоформ в зависимости от группы исследования. Статистический анализ проведен с использованием критерия χ^2

Результаты корреляционного анализа представлены на рис. 5. Стоит отметить, что общий *SIRT1* не показал значимых корреляций с генами интере-

са (*PGC-1 α* , *PPAR- γ* , *PPAR- α* , *TFAM*, *MFN2*, *OPA1*, *DRP1*), что только подтверждает необходимость изучения экспрессии изоформ отдельно. В отличие от *SIRT1* общего, сплайсинговые изоформы *SIRT1* разнонаправленно коррелировали с генами, ассоциированными с митохондриальным гомеостазом.

Уровень экспрессии изоформы *V1* значительно коррелировал с уровнем экспрессии *PGC-1 α* , *PPAR- α* , *PPAR- γ* ($r = 0,73$, $r = 0,73$, $r = 0,45$, $p < 0,05$), *PRKAA1* ($r = 0,50$, $p < 0,05$), а также с уровнями экспрессии генов МД *MFN2*, *OPA1*, *DRP1* ($r = 0,45$, $r = 0,50$, $r = 0,45$, $p < 0,05$).

Уровень экспрессии изоформы *V2* положительно коррелировал с уровнем экспрессии *PGC-1 α* ($r = 0,69$, $p < 0,05$), а также с *PRKAA1* ($r = 0,58$, $p < 0,05$) и генами МД *MFN2*, *OPA1*, *DRP1* ($r = 0,74$, $r = 0,65$, $r = 0,57$, $p < 0,05$). В свою очередь, уровень экспрессии изоформы *V3* значительно коррелировал только с уровнем экспрессии *MFN2* ($r = 0,53$, $p < 0,05$). Кроме того, была обнаружена сильная положительная корреляция между *V3* и уровнем глюкозы ($r = 0,68$, $p < 0,05$).

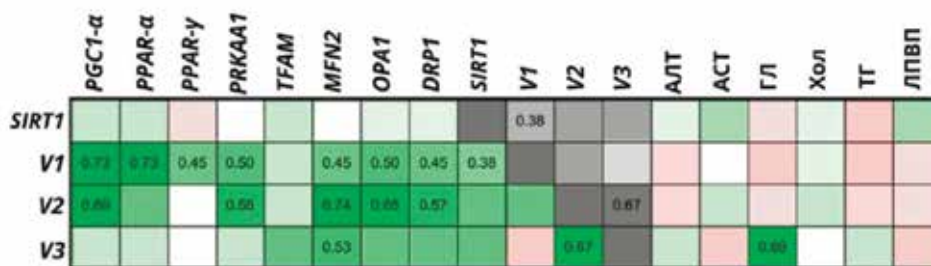


Рис. 5. Корреляционная матрица. Коэффициент Спирмена, показаны только значимые корреляции ($p < 0,05$). АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспаргатаминотрансфераза; ГЛ – глюкоза натощак; Хол – общий холестерин; ТГ – триглицериды; ЛПВП – липопротеины высокой плотности

ОБСУЖДЕНИЕ

В рамках данной работы впервые была всесторонне изучена экспрессия гистоновой деацетилазы *SIRT1* в образцах печени больных СД2 и ожирением и условно здоровых доноров с учетом различных сплайсинговых изоформ *SIRT1*, а также их взаимосвязь с экспрессией основных сигнально-ассоциированных генов.

Транскрипционные факторы *PGC-1 α* , *PPAR- γ* , *PPAR- α* , *TFAM*, ассоциированные с митохондриальным биогенезом и синтезом АТФ, а также гены МД *MFN2*, *DRP1* и *OPA1* достаточно разносторонне изучены в контексте СД2 и его коморбидностей. Например, было показано, что экспрессия *PGC-1 α* подавлена у пациентов с СД2 в скелетных мышцах [36, 37].

На мышинных моделях стеатоза печени было показано, что уровень экспрессии и продукции *Pgc-1 α*

в печени значительно снижался, что приводило к подавлению экспрессии митохондриального транскрипционного фактора *Tfam* [21], также значительно снижался уровень экспрессии *PPAR- α* , в то время как уровень экспрессии *PPAR- γ* повышался [38].

На клеточной модели стеатоза печени (HepG2 + олеиновая кислота) *in vitro* было обнаружено, что продукция *SIRT1* и *PGC-1 α* значительно снижалась, при этом уменьшение уровня *SIRT1* напрямую подавляло деление митохондрий за счет снижения уровня белка MFF [39]. Выявлено, что в модели окислительного стресса (HepG2 + трет-бутилгидропероксид) экспрессия *TFAM*, *DRP1* и *MFN2* была значительно снижена [40]. В соответствии с этими результатами экспрессия и продукция *Mfn2* были снижены в печени в крысиной модели инсулинорезистентности [41].

В нашем исследовании показано, что уровень экспрессии всех перечисленных генов в печени па-

циентов с СД2 и ожирением оставался неизменным. Подобного рода данные, касающиеся исследований, выполненных на печеночной ткани человека (при СД2 или его коморбидностях, в частности стеатозе и стеатогепатите), немногочисленны.

Так, в англоязычной литературе не было найдено сведений о характере экспрессии генов *PRKAA1*, *TFAM*, *MFN2*, *DRP1*, *OPA1* в печени человека при СД2. В то же время установлено, что уровень экспрессии *PGC-1 α* значительно снижался у пациентов с ожирением и СД2 в печеночной ткани [42]. Такой же характер изменения экспрессии наблюдался при стеатозе печени [43], что сопровождалось увеличением уровня метилирования промотора этого гена. В другом исследовании уровень *PPAR- α* в печеночной ткани человека негативно коррелировал со степенью стеатоза и наличием стеатогепатита и позитивно – с уровнем адипонектина [44]. Напротив, уровень *PPAR- γ* был повышен у субъектов с неалкогольной жировой болезнью печени [45]. Причины, по которым эти гены в нашем исследовании не изменяли своей экспрессии, не до конца ясны и нуждаются в дальнейшем исследовании.

По *SIRT1*, однако, были получены уникальные результаты. Ранее на животных моделях было показано, что экспрессия *Sirt1* значительно снижалась при СД2 или его коморбидностях [46, 47]. В целом роль *SIRT1* при инсулинорезистентности в печени определяют как протекторную: он улучшает регуляцию глюконеогенеза и митохондриального биогенеза [48]. Данные по экспрессии *SIRT1* в печени у человека ограничены, однако предполагают, что характер экспрессии *SIRT1* в целом схож с клеточными и мышечными моделями, имея тенденцию к снижению [49, 50].

Нами было показано, что экспрессия общего *SIRT1* в печени не изменялась у пациентов с СД2 и ожирением по сравнению с контрольной группой. Однако это не касается отдельных изоформ *SIRT1*: так, экспрессия *V3* значительно повышалась у больных СД2 ($p = 0,0009$). Сверх того, уровень экспрессии *V3* положительно коррелировал с глюкозой ($r = 0,68$, $p < 0,05$), что указывает на фундаментальную, еще пока совершенно не изученную связь этой субъединицы с патогенезом СД2.

Были обнаружены различия в паттернах экспрессии транскриптов *SIRT1* между группами исследования. У обеих групп наиболее часто наблюдалось сочетание всех трех изоформ. Но изоформа *V2* единично экспрессировалась только в контрольной группе, в то время как изоформа *V3* в индивидуальном виде встречалась только у больных СД2. В целом встречаемость транскриптных комбинаций изо-

форм *SIRT1* значительно отличалась между контрольной группой и группой исследования (критерий χ^2 , $p = 0,0047$).

Согласно данным корреляционного анализа, общий *SIRT1* не показал ни одной значимой корреляции с генами интереса – это неожиданный и интересный результат, только подтверждающий, что необходимо рассматривать сплайсинговые изоформы *SIRT1* по отдельности. При этом изоформы *SIRT1* индивидуально показали положительные корреляции со многими генами интереса: главное, на что стоит обратить внимание, – изоформы *SIRT1* показывают несколько разные сигнатуры корреляций, а именно ядерная *V1* и цитоплазматическая изоформы *V2* схожи в своих ассоциациях с уровнями экспрессии генов МД (положительно коррелируют с *MFN2*, *DRP1* и *OPA1*), а также с *PGC-1 α* и *PRKAA1*, но различны в аспекте связи с транскрипционными факторами *PPAR- γ* и *PPAR- α* : *V1* с ними значимо коррелирует, в то время как *V2* – нет. В то же время *V3* показала корреляцию только с *MFN2*, что дополнительно подчеркивает ее гипотетический особый статус в печени.

Таким образом, изоформы *SIRT1* могут являться новыми звеньями в регуляции митохондриального гомеостаза при СД2. Особенно важно изучать изоформы по отдельности, поскольку они имеют разный характер экспрессии и, вероятно, различным образом регулируют метаболические процессы в клетке, в том числе митохондриальный гомеостаз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сплайсинговые изоформы *SIRT1 V1*, *V2* и *V3* стабильно экспрессировались в печени у больных СД2, уровень экспрессии *SIRT1 V3* был значительно повышен в печени больных СД2. Изучение сплайсинговых изоформ *SIRT1* всесторонне необходимо в контексте молекулярных механизмов нарушения/поддержания митохондриального гомеостаза. Вероятно, изоформы *SIRT1* по-разному регулируют этот процесс. Полученная карта корреляций может быть использована для проведения дальнейших точечных исследований взаимодействий между изоформами *SIRT1* и белками митохондриального гомеостаза.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Tinajero M.G., Malik V.S. An update on the epidemiology of type 2 diabetes: a global perspective. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 2021;50:337–355. DOI: 10.1016/j.ecl.2021.05.013.
2. En Li Cho E., Ang C.Z., Quek J., Fu C.E., Lim L.K.E., Heng Z.E.Q. et al. Global prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes mellitus: an updated systematic review and meta-analysis. *Gut.* 2023;72:2138–2148. DOI: 10.1136/gutjnl-2023-330110.

3. Nogueira J.P., Cusi K. Role of insulin resistance in the development of nonalcoholic fatty liver disease in people with type 2 diabetes: from bench to patient care. *Diabetes Spectr.* 2024;37:20–28. DOI: 10.2337/dsi23-0013.
4. Galicia-Garcia U., Benito-Vicente A., Jebari S., Larrea-Sebal A., Siddiqi H., Uribe K.B. et al. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21:6275. DOI: 10.3390/ijms21176275.
5. Chen Z., Tian R., She Z., Cai J., Li H. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Free Radic. Biol. Med.* 2020;152:116–141. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.02.025.
6. Bhatti J.S., Sehrawat A., Mishra J., Sidhu I.S., Navik U., Khullar N. et al. Oxidative stress in the pathophysiology of type 2 diabetes and related complications: Current therapeutics strategies and future perspectives. *Free Radic. Biol. Med.* 2022;184:114–134. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2022.03.019.
7. Li Y.-F., Xie Z.-F., Song Q., Li J.-Y. Mitochondria homeostasis: Biology and involvement in hepatic steatosis to NASH. *Acta Pharmacol. Sin.* 2022;43:1141–1155. DOI: 10.1038/s41401-022-00864-z.
8. Apostolova N., Vezza T., Muntane J., Rocha M., Victor V.M. Mitochondrial dysfunction and mitophagy in type 2 diabetes: pathophysiology and therapeutic targets. *Antioxid. Redox Signal.* 2023;39:278–320. DOI: 10.1089/ars.2022.0016.
9. Van Huynh T., Rethi L., Rethi L., Chen C.-H., Chen Y.-J., Kao Y.-H. The complex interplay between imbalanced mitochondrial dynamics and metabolic disorders in type 2 diabetes. *Cells.* 2023;12:1223. DOI: 10.3390/cells12091223.
10. Huang C., Chen L., Li J., Ma J., Luo J., Lv Q. et al. Mitochondrial DNA copy number and risk of diabetes mellitus and metabolic syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2023;109:e406–417. DOI: 10.1210/clinem/dgad403.
11. Whitaker R.M., Corum D., Beeson C.C., Schnellmann R.G. Mitochondrial biogenesis as a pharmacological target: a new approach to acute and chronic diseases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2016;56:229–249. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-010715-103155.
12. Rovira-Llopis S., Bañuls C., Diaz-Morales N., Hernandez-Mijares A., Rocha M., Victor V.M. Mitochondrial dynamics in type 2 diabetes: Pathophysiological implications. *Redox. Biol.* 2017;11:637–645. DOI: 10.1016/j.redox.2017.01.013.
13. Pinti M.V., Fink G.K., Hathaway Q.A., Durr A.J., Kunovac A., Hollander J.M. Mitochondrial dysfunction in type 2 diabetes mellitus: an organ-based analysis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2019;316:e268–e285. DOI: 10.1152/ajpendo.00314.2018.
14. Sharma K. Mitochondrial hormesis and diabetic complications. *Diabetes.* 2015;64:663–672. DOI: 10.2337/db14-0874.
15. Desvergne B., Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr. Rev.* 1999;20:649–688. DOI: 10.1210/edrv.20.5.0380.
16. Pawlak M., Lefebvre P., Staels B. Molecular mechanism of PPAR α action and its impact on lipid metabolism, inflammation and fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *J. Hepatol.* 2015;62:720–733. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.10.039.
17. Ahmadian M., Suh J.M., Hah N., Liddle C., Atkins A.R., Downes M. et al. PPAR γ signaling and metabolism: the good, the bad and the future. *Nat. Med.* 2013;19:557–566. DOI: 10.1038/nm.3159.
18. Scarpulla R.C. Metabolic control of mitochondrial biogenesis through the PGC-1 family regulatory network. *Biochim. Biophys. Acta.* 2011;1813:1269–1278. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2010.09.019.
19. Halling J.F., Pilegaard H. PGC-1 α -mediated regulation of mitochondrial function and physiological implications. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 2020;45:927–936. DOI: 10.1139/apnm-2020-0005.
20. Chen W., Zhao H., Li Y. Mitochondrial dynamics in health and disease: mechanisms and potential targets. *Sig. Transduct. Target Ther.* 2023;8:1–25. DOI: 10.1038/s41392-023-01547-9.
21. Aharoni-Simon M., Hann-Obercyger M., Pen S., Madar Z., Tirosch O. Fatty liver is associated with impaired activity of PPAR γ -coactivator 1 α (PGC1 α) and mitochondrial biogenesis in mice. *Lab. Invest.* 2011;91:1018–1028. DOI: 10.1038/labinvest.2011.55.
22. Misu H., Takamura T., Matsuzawa N., Shimizu A., Ota T., Sakurai M. Genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately upregulated with fasting hyperglycaemia in livers of patients with type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2007;50:268–277. DOI: 10.1007/s00125-006-0489-8.
23. Guclu A., Erdur F.M., Turkmen K. The emerging role of sirtuin 1 in cellular metabolism, diabetes mellitus, diabetic kidney disease and hypertension. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 2016;124:131–139. DOI: 10.1055/s-0035-1565067.
24. Kitada M., Koya D. SIRT1 in type 2 diabetes: mechanisms and therapeutic potential. *Diabetes Metab. J.* 2013;37:315–325. DOI: 10.4093/dmj.2013.37.5.315.
25. Tang B.L. Sirt1 and the mitochondria. *Mol. Cells.* 2016;39:87–95. DOI: 10.14348/molcells.2016.2318.
26. Khan S.A., Sathyanarayan A., Mashek M.T., Ong K.T., Wollaston-Hayden E.E., Mashek D.G. ATGL-catalyzed lipolysis regulates SIRT1 to control PGC-1 α /PPAR- α signaling. *Diabetes.* 2015;64:418–426. DOI: 10.2337/db14-0325.
27. Nemoto S., Fergusson M.M., Finkel T. SIRT1 functionally interacts with the metabolic regulator and transcriptional coactivator PGC-1 {alpha}. *J. Biol. Chem.* 2005;280:16456–16460. DOI: 10.1074/jbc.M501485200.
28. Purushotham A., Schug T.T., Xu Q., Surapureddi S., Guo X., Li X. Hepatocyte-specific deletion of SIRT1 alters fatty acid metabolism and results in hepatic steatosis and inflammation. *Cell Metab.* 2009;9:327–338. DOI: 10.1016/j.cmet.2009.02.006.
29. Picard F., Kurtev M., Chung N., Topark-Ngarm A., Senawong T., Machado De Oliveira R. et al. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature.* 2004;429:771–776. DOI: 10.1038/nature02583.
30. Han L., Zhou R., Niu J., McNutt M.A., Wang P., Tong T. SIRT1 is regulated by a PPAR $\{\gamma\}$ -SIRT1 negative feedback loop associated with senescence. *Nucleic Acids Res.* 2010;38:7458–7471. DOI: 10.1093/nar/gkq609.
31. Hu Z., Zhang H., Wang Y., Li B., Liu K., Ran J. et al. Exercise activates Sirt1-mediated Drp1 acetylation and inhibits hepatocyte apoptosis to improve nonalcoholic fatty liver disease. *Lipids Health Dis.* 2023;22:33. DOI: 10.1186/s12944-023-01798-z.

32. Sooyeon L., Go K.L., Kim J.-S. Deacetylation of mitofusin-2 by sirtuin-1: A critical event in cell survival after ischemia. *Mol. Cell Oncol.* 2016;3:e1087452. DOI: 10.1080/23723556.2015.1087452.
33. Samant S.A., Zhang H.J., Hong Z., Pillai V.B., Sundaresan N.R., Wolfgeher D. et al. SIRT3 deacetylates and activates OPA1 to regulate mitochondrial dynamics during stress. *Mol. Cell Biol.* 2014;34:807–819. DOI: 10.1128/MCB.01483-13.
34. Patyal P., Ameer F.S., Verma A., Zhang X., Azhar G., Shrivastava J. et al. The role of sirtuin-1 isoforms in regulating mitochondrial function. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2024;46:8835–8851. DOI: 10.3390/cimb46080522.
35. Zhang X., Ameer F.S., Azhar G., Wei J.Y. Alternative splicing increases sirtuin gene family diversity and modulates their subcellular localization and function. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22:473. DOI: 10.3390/ijms22020473.
36. Patti M.E., Butte A.J., Crunkhorn S., Cusi K., Berria R., Kashyap S. et al. Coordinated reduction of genes of oxidative metabolism in humans with insulin resistance and diabetes: Potential role of PGC1 and NRF1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003;100:8466–8471. DOI: 10.1073/pnas.1032913100.
37. Mootha V.K., Lindgren C.M., Eriksson K.-F., Subramanian A., Sihag S., Lehar J. et al. PGC-1 α -responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. *Nat. Genet.* 2003;34:267–273. DOI: 10.1038/ng1180.
38. Alshawsh M.A., Alsalahi A., Alshehade S.A., Saghir S.A.M., Ahmeda A.F., Al Zarzour R.H. et al. A comparison of the gene expression profiles of non-alcoholic fatty liver disease between animal models of a high-fat diet and methionine-choline-deficient diet. *Molecules.* 2022;27:858. DOI: 10.3390/molecules27030858.
39. Jiang Y., Chen D., Gong Q., Xu Q., Pan D., Lu F. et al. Elucidation of SIRT-1/PGC-1 α -associated mitochondrial dysfunction and autophagy in nonalcoholic fatty liver disease. *Lipids. Health Dis.* 2021;20:40. DOI: 10.1186/s12944-021-01461-5.
40. Shunkina D., Dakhnevich A., Shunkin E., Khaziakhmatova O., Shupletsova V., Vulf M. et al. gp130 Activates mitochondrial dynamics for hepatocyte survival in a model of steatohepatitis. *Biomedicines.* 2023;11:396. DOI: 10.3390/biomedicines11020396.
41. Gan K.-X., Wang C., Chen J.-H., Zhu C.-J., Song G.-Y. Mitofusin-2 ameliorates high-fat diet-induced insulin resistance in liver of rats. *World J. Gastroenterol.* 2013;19:1572–1581. DOI: 10.3748/wjg.v19.i10.1572.
42. Shen J., Zhu B. Integrated analysis of the gene expression profile and DNA methylation profile of obese patients with type 2 diabetes. *Mol. Med. Rep.* 2018;17:7636–7644. DOI: 10.3892/mmr.2018.8804.
43. Sookoian S., Rosselli M.S., Gemma C., Burgueño A.L., Fernández Gianotti T., Castaño G.O. et al. Epigenetic regulation of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease: impact of liver methylation of the peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α promoter. *Hepatology.* 2010;52:1992–2000. DOI: 10.1002/hep.23927.
44. Francque S., Verrijken A., Caron S., Prawitt J., Paumelle R., Derudas B. et al. PPAR α gene expression correlates with severity and histological treatment response in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *J. Hepatol.* 2015;63:164–173. DOI: 10.1016/j.jhep.2015.02.019.
45. Westerbacka J., Kolak M., Kiviluoto T., Arkkila P., Sirén J., Hamsten A. et al. Genes involved in fatty acid partitioning and binding, lipolysis, monocyte/macrophage recruitment, and inflammation are overexpressed in the human fatty liver of insulin-resistant subjects. *Diabetes.* 2007;56:2759–2765. DOI: 10.2337/db07-0156.
46. Deng X.-Q., Chen L.-L., Li N.-X. The expression of SIRT1 in nonalcoholic fatty liver disease induced by high-fat diet in rats. *Liver Int.* 2007;27:708–715. DOI: 10.1111/j.1478-3231.2007.01497.x.
47. Li Y., Xu S., Giles A., Nakamura K., Lee J.W., Hou X. et al. Hepatic overexpression of SIRT1 in mice attenuates endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in the liver. *FASEB J.* 2011;25:1664–1679. DOI: 10.1096/fj.10-173492.
48. Cao Y., Jiang X., Ma H., Wang Y., Xue P., Liu Y. SIRT1 and insulin resistance. *J. Diabetes Complications.* 2016;30:178–183. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2015.08.022.
49. Wu T., Liu Y., Fu Y., Liu X., Zhou X. Direct evidence of sirtuin downregulation in the liver of non-alcoholic fatty liver disease patients. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 2014;44:410–418.
50. Castro R.E., Ferreira D.M.S., Afonso M.B., Borralho P.M., Machado M.V., Cortez-Pinto H. et al. MIR-34a/SIRT1/p53 is suppressed by ursodeoxycholic acid in the rat liver and activated by disease severity in human non-alcoholic fatty liver disease. *J. Hepatology.* 2013;58:119–125. DOI: 10.1016/j.jhep.2012.08.008.

Вклад авторов

Воронова С.С., Горбачева А.М. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных. Бограя М.М. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания. Вульф М.А. – обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания. Газатова Н.Д. – анализ и интерпретация данных. Литвинова Л.С. – обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Воронова София Сергеевна – студентка, БФУ им. И. Канта, г. Калининград, nraven352@icloud.com, <https://orcid.org/0000-0002-3358-6226>

Бограя Мария Михайловна – мл. науч. сотрудник, Центр иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград, mbograya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4543-7850>

Горбачева Анна Михайловна – студентка, БФУ им. И. Канта, г. Калининград, murmanskshania@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0009-0004-8862>

Вульф Мария Александровна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, Центр иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград, mary-jean@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4989-045X>

Газатова Наталья Динисламовна – канд. биол. наук, зав. лабораторией экспериментальных препаратов крови, Центр иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград, NGazatova@kantiana.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4646-3436>

Литвинова Лариса Сергеевна – д-р мед. наук, доцент, директор Центра иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград, larisalitvinova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5231-6910>

(✉) **Воронова София Сергеевна**, nraven352@icloud.com

Поступила в редакцию 25.05.2025;
одобрена после рецензирования 08.07.2025;
принята к публикации 04.09.2025