

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

Обзорная статья

УДК 57.016.4+576.32/.36
doi:10.18499/2225-7357-2026-15-1-95-104
1.5.22 – клеточная биология



Свойства тканенеспецифической щелочной фосфатазы семенников млекопитающих

Е. А. Пономаренко¹✉, В. А. Мхитаров¹, К. А. Артемьева¹, Е. В. Кузнецова¹,
Е. И. Гоуфман¹, А. В. Лопухов², Н. Л. Клячко², О. В. Макарова¹

¹Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского, Москва, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Аннотация. Ферментативные системы живых организмов катализируют биохимические реакции и являются важным компонентом функционирования органов и систем. Щелочная фосфатаза (ЩФ) локализована на плазматических мембранах клеток и катализирует гидролиз фосфоэфирной связи. Этот фермент обнаружен в печени, костях, почках, кишечнике, плаценте и во многих других органах и тканях. Уровни активности ЩФ могут изменяться при различных заболеваниях. Несмотря на универсальность механизма действия, функция ЩФ изучена недостаточно. Приведена характеристика изоферментов ЩФ как тканенеспецифической, так и тканеспецифических: кишечной, зародышевой, плацентарной. Выполнен анализ литературных данных по изучению функции тканенеспецифической ЩФ в кальцификации костей, в накоплении клетками жировой ткани триглицеридов, в эмбриональном развитии и при сперматогенезе. В обзоре представлен анализ данных о локализации ЩФ в семенниках млекопитающих. ЩФ выявлена в перитубулярных клетках семенных канальцев, в сперматогониях. Слабая реактивность на ЩФ была в клетках Сертоли. Фермент имеет видовую специфичность: его обнаружили в семенниках крыс, мышей, собак, морских свинок и яичках человека. У хомяков, кроликов, летучих мышей ЩФ нет. Охарактеризована молекулярная структура ЩФ и ее свойства по отношению к стандартным ингибиторам. Однако влияние фермента на дифференцировку первичных половых клеток, на созревание клеток сперматогенеза в семенниках млекопитающих не изучено. Необходимо проведение дальнейших исследований по установлению роли ЩФ в физиологии клеток и тканей репродуктивной системы, включая мейоз половых клеток.

Ключевые слова: щелочная фосфатаза; изоформа щелочной фосфатазы; ингибитор щелочной фосфатазы; семенники

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа финансировалась за счет средств бюджета НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», тема госзадания №125021302125-6, а также поддержана темой госзадания МГУ им. М.В. Ломоносова № 121041500039-8.

Для цитирования: Пономаренко Е.А., Мхитаров В.А., Артемьева К.А., Кузнецова Е.В., Гоуфман Е.И., Лопухов А.В., Клячко Н.Л., Макарова О.В. Свойства тканенеспецифической щелочной фосфатазы семенников млекопитающих // Журнал анатомии и гистопатологии. 2026. Т. 15, №1. С. 95–104. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2026-15-1-95-104>

REVIEW ARTICLES

Review article

Properties of Tissue-Nonspecific Alkaline Phosphatase from Mammalian Testes

Е. А. Ponomarenko¹✉, V. A. Mkhitarov¹, K. A. Artem'eva¹, E. V. Kuznetsova¹,
E. I. Goufman¹, A. V. Lopukhov², N. L. Klyachko², O. V. Makarova¹

¹Petrovsky National Research Center of Surgery, Moscow, Russia

²Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Abstract. The enzyme systems of living organisms catalyse biochemical reactions and are an important component of the functioning of organs and systems. Alkaline phosphatase is localised on the plasma membranes of cells and catalyses the hydrolysis of the phosphoester bond. This enzyme is found in liver, bone, kidney, intestine, placenta and many other organs and tissues. Levels of alkaline phosphatase activity can be altered in various diseases. Despite the universality of the mechanism of action, the function of alkaline phosphatase is poorly understood. Characteristics of alkaline phosphatase isoenzymes, both tissue-specific and tissue-specific: intestinal, germinal, placental. The analysis of literature data on the study of tissue-specific alkaline phosphatase function in bone calcification, in the accumulation of triglycerides by adipose tissue cells, in embryonic development and in spermatogenesis is performed. This review presents an analysis of data on the localisation of alkaline phosphatase in mammalian testes. Alkaline phosphatase was detected in the peritubular cells of the seminiferous

tubules and in spermatogonia. Weak reactivity to alkaline phosphatase was observed in Sertoli cells. The enzyme is species-specific: it has been detected in the testes of rats, mice, dogs, guinea pigs, and human testes. Hamsters, rabbits, and bats do not express alkaline phosphatase. The molecular structure of alkaline phosphatase and its properties in relation to standard inhibitors have been characterised. However, the effect of the enzyme on the differentiation of primary germ cells and on the maturation of spermatogenesis cells in mammalian testes has not been studied. Further studies are needed to determine the role of alkaline phosphatase in the physiology of cells and tissues of the reproductive system, including germ cell meiosis.

Keywords: alkaline phosphatase; isozyme of alkaline phosphatase; inhibitor of alkaline phosphatase; testes

Conflict of interests: the authors declare no conflict of interests.

Funding: the study was funded from the budget of the Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Petrovsky National Research Centre of Surgery, under state assignment No. 125021302125-6, and was also supported by the state assignment of Lomonosov Moscow State University No. 121041500039-8.

For citation: Ponomarenko E.A., Mkhitarov V.A., Artem'eva K.A., Kuznetsova E.V., Goufman E.I., Lopukhov A.V., Klyachko N.L., Makarova O.V. Properties of tissue-nonspecific alkaline phosphatase from mammalian testes. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2026. V. 15, №1. P. 95–104. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2026-15-1-95-104>

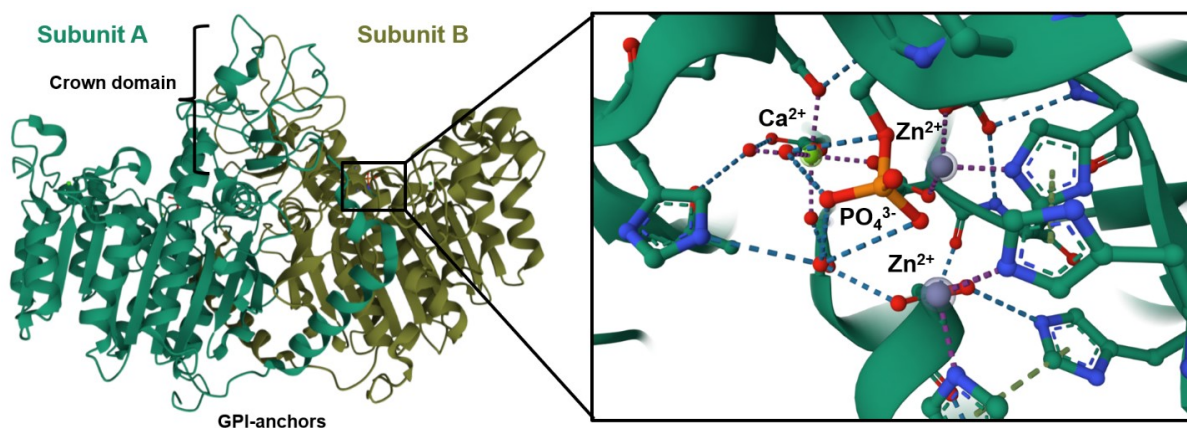


Рис. 1. Трехмерная структура плацентарной щелочной фосфатазы человека, кристаллография, PDB 1ZEB (Protein Data Bank).

Fig. 1. Three-dimensional structure of human placental alkaline phosphatase, crystallography, PDB 1ZEB (Protein Data Bank)

Введение

Щелочные фосфатазы (ЩФ) – ферменты, которые относятся к классу гидролаз, они катализируют реакции гидролиза фосфоэфирной связи и участвуют в процессах фосфорилирования [9, 33]. Каждая субъединица фермента содержит центральную сердцевину из протяженного β -листа, окруженную α -спиралями, и другую часть, состоящую из протяженной N-концевой α -спирали с «домом короны». Домен короны, который можно описать как свободную интерфейсную петлю, имеет аминокислотные остатки, которые связываются с ингибиторами фермента (рис. 1). Фермент закрепляется на поверхности плазматической мембраны с помощью якоря – гликозил-фосфатидинозитола (GPI) [25, 27, 33].

Механизм действия ЩФ был исследован на примере белка бактерии *E. coli*. Полагают, что подобный механизм свойственен и для фермента млекопитающих [5]. По современным представлениям, механизм гидролитической активности ЩФ реализуется в активных центрах фермента, содержащих металлы (ионы Zn^{2+} и Mg^{2+}), при комплексном взаимодействии с аминокислотами (рис. 2)[5].

На рис. 2 описаны этапы взаимодействия субстрата фенолфосфатдианиона и координирующее влияние иона цинка в активном центре фермента. Формируется ковалентная связь между фосфатом субстрата с протонированной гидроксильной группой Ser92 с образованием фосфосерина. Молекула воды вытесняет первый продукт гидролиза из координационной сферы иона Zn^{2+} и взаимодействует с депротонированным остатком Glu429. Образующийся гидроксил-анион нуклеофильно атакует атом фосфора фосфатной группы с образованием неорганического фосфата и последующим восстановлением исходного состояния активного центра [5]. Исследования с использованием хиральных субстратов показали сохранение стереоконфигурации, что свидетельствует о последовательных нуклеофильных атаках в процессе S_N2 -замещения и служит подтверждением этого механизма каталитической реакции. Известно, что при $pH > 7.5$ лимитирующей стадией является диссоциация неорганического фосфата из активного центра фермента, в то время, как при $pH < 7.5$ скорость процесса ограничивается гидролизом фосфосерина. Стоит заметить, что неорганический фосфат является конкурентным ингибитором фермента

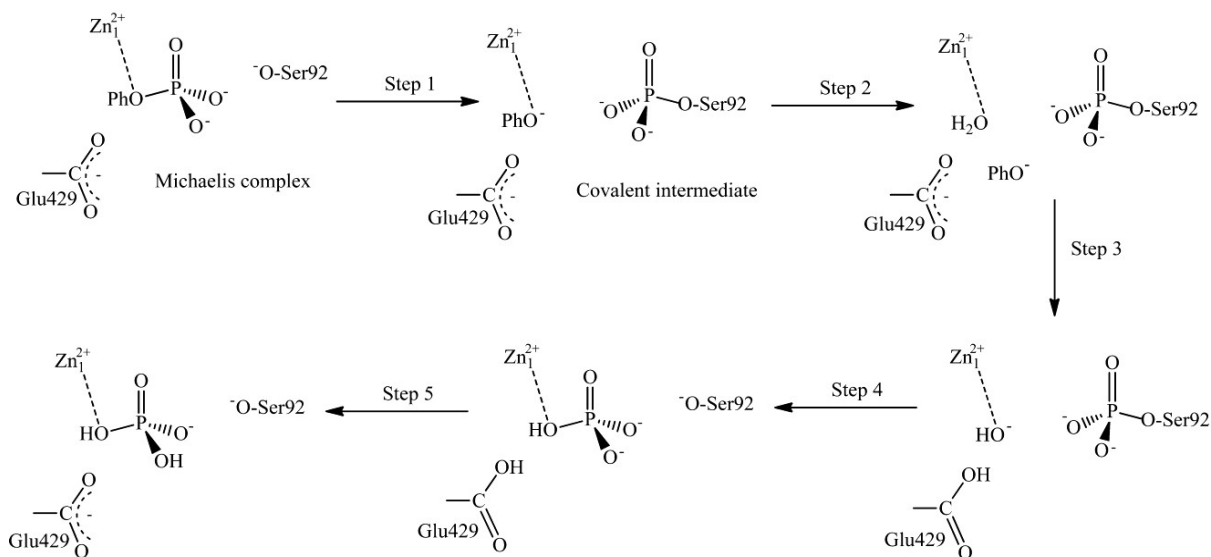


Рис. 2. Механизм реакции гидролиза фенолфосфатдиданиона, катализируемой плацентарной щелочной фосфатазой. Напечатано с разрешения [5] и ACS Publications®.
 Fig. 2. Mechanism of phenylphosphate dianion hydrolysis catalyzed by placental alkaline phosphatase. Reprinted with permission from [5] and ACS Publications®.

Таблица 1
Отношение изоферментов ЩФ к ингибированию аминокислотами [6, 14, 15, 18, 20, 21, 24] и к воздействию температур
The relationship of ALP isoenzymes to inhibition by amino acids [6, 14, 15, 18, 20, 21, 24] and to the effect of temperature

Фактор воздействия	Изофермент ЩФ			
	Кишечная	Зародышевая	Плацентарная	Тканенеспецифическая
L-гомоаргинин	–	–	–	+
L-фенилаланин	+	–	+	–
L-триптофан	+	–	+	–
L-гистидин	+	–	+	+
L-лейцин	–	+	+	–
Термостабильная	–	+	+	–

($K_i \sim 1 \text{ мкМ}$), что было детально показано для бактериальной фосфатазы *E. coli* [29].

Таким образом, активные центры фермента ЩФ содержат ионы металлов Zn^{2+} и Mg^{2+} . Механизм гидролитической активности фермента осуществляется с помощью последовательного взаимодействия фосфата субстрата с ионом цинка и аминокислотами Ser92, Glu429. Образующийся в результате неорганический фосфат удаляется из активного центра.

Изоферменты щелочной фосфатазы

В настоящее время выделяют 4 изофермента ЩФ: кишечная, плацентарная (встречается у людей и некоторых приматов), зародышевая, тканенеспецифическая. Тканенеспецифическая ЩФ выявлена в печени, костях, почках [38].

Принадлежность к тому или иному изоферменту определяется по следующим свойствам ЩФ: термочувствительность (термостабильность), ферментативную активность, а также степень ингибирования аминокислотами, такими как гомоаргинин и фенилаланин [15]. Так, кишечная ЩФ, зародышевая, плацентарная и тканенеспецифическая

по-разному взаимодействуют с аминокислотами и для них ингибирующий эффект может отсутствовать (табл. 1).

Ингибиторы ЩФ: фенилаланин, гомоаргинин воздействуют избирательно на тканенеспецифические и тканенеспецифические ЩФ. В состав гомоаргинина входит алкилуглеводородная цепь и иминогруппа гуанидинового фрагмента, которые являются необходимыми структурными компонентами ингибирующего влияния этой аминокислоты на фермент-субстратный комплекс тканенеспецифической ЩФ. Механизм ингибирования – стереоспецифический, именно L-изомеры аминокислот являются ингибиторами фермента [10].

К тканеспецифическим ингибиторам ЩФ относят L-фенилаланин, L-триптофан, L-лейцин, к тканенеспецифическим – L-гомоаргинин, L-аргинин, левамизол и имидазол. Описана видовая специфичность ингибиторов. Так ЩФ печени у человека, крысы, мыши и собаки была ингибирована L-гомоаргинином, а у птиц (голубь) – нет. L-фенилаланин ингибирует кишечную ЩФ человека и крысы [10].

L-гомоаргинин и L-аргинин являются активными ингибиторами тканенеспецифи-

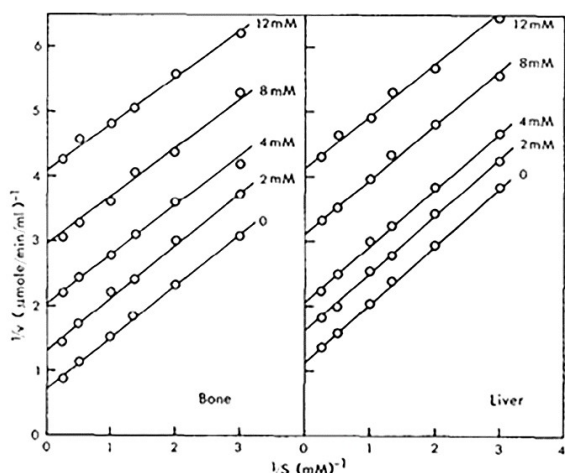


Рис. 3. График зависимости начальной скорости реакции от концентрации субстрата в координатах Лайнуивера-Берка при различных концентрациях L-гомоаргинина для щелочной фосфатазы костей и печени. Анализы ферментов проводили при 37°C и варьировании концентрации фенолфосфата [20].

Fig. 3. Lineweaver-Burk plot of the initial reaction rate versus substrate concentration at various concentrations of L-homoarginine for bone and liver alkaline phosphatase. Enzyme assays were performed at 37°C with varying concentrations of phenyl phosphate [20].

ческих ЩФ [10, 20]. Однако L-гомоаргинин, являющийся ингибитором ЩФ костей и печени человека, не влияет на изоферменты ЩФ других органов. При анализе действия разных концентраций ингибитора (L-гомоаргинина) 2, 4, 8, 12 мМ и субстрата (фенилфосфата) от 0,33 до 4,0 мМ при постоянной концентрации ЩФ формируются параллельные прямые активности фермента в двойных обратных координатах $1/v$, $1/[S]$, что свидетельствует о бесконкурентном характере ингибирования и блокировании фермент-субстратного комплекса (рис. 3) [20].

L-гистидин является ингибитором фосфатаз кишечника и костей у крыс [3]. Эта аминокислота может блокировать до 90% ЩФ сыворотки крови. При определении свойств ЩФ и ингибирующего влияния L-гистидина, было выявлено разное взаимодействие в зависимости от источника фермента. Для этого проводили сначала обработку полученного фермента трипсином, затем L-гистидином. Кишечная и костная ЩФ продолжали ингибироваться гистидином после обработки трипсином. Ингибирующий эффект для плацентарной ЩФ в этих условиях увеличился. Печеночная и сывороточная ЩФ перестали ингибироваться гистидином [37].

Также было исследовано ингибирующее влияние левамизола на ЩФ в различных тканях крыс с помощью цитохимического метода [4]. Показано, что левамизол ингибирует ЩФ печени, почек, костей, но не кишечника.

При описании свойств фосфатаз проводят исследования с установлением влияния

pH, температуры, концентрации ионов Mg^{2+} . На активность фермента влияет pH раствора, если в активном центре фермента есть протоноакцепторные группы. Наличие таких групп в структуре фермента определяет изменения его активности при колебаниях pH в оптимум-диапазоне. Большинство ферментов активны при pH 7,0–7,5 и изменения pH до крайних значений, значительно выходящих за рамки оптимума, ведет к структурным изменениям молекулы фермента [2]. Оптимум активности для ЩФ лежит в диапазоне 8,0–10,4 [3, 20].

Щелочной pH активности фермента связывают с переносом протона с Ser102 на OH^- группу иона магния, что происходит в щелочных условиях до соединения активного центра фермента с субстратом. Таким образом, происходит активация фермента ЩФ [39].

При добавлении постоянной концентрации ингибитора ЩФ и изменении pH доля ингибирования фермента может изменяться. Было показано, что при проведении ингибирования тканеспецифической (костной) ЩФ при постоянной концентрации L-гистидина 0,02 М в условиях измененного pH доля ингибированного фермента составила 96% при pH 9,5, 90% – при pH 9,0, 75% – при pH 8,5, 63% – при pH 8,0 и 20% – при pH 7,5 [3]. В то время как при взаимодействии 5 мМ L-триптофана и плацентарной ЩФ, ингибирующий эффект не изменялся при колебаниях pH в диапазоне от 9,0–10,5 [21].

Скорость химических реакций увеличивается в 2–3 раза при повышении температуры на каждые 10°C. Однако в дальнейшем, из-за высокой температуры фермент денатурируется и инактивируется [2]. Исследована ингибирующая активность L-триптофана на плацентарную ЩФ в зависимости от температуры 37, 42, 50, 60°C и выявлено, что с увеличением температуры возрастает константа ингибирования $K_i = 0,6, 1,1, 4,0, 9,0$ (мМ) [21]. При исследовании влияния температуры на ингибирующие эффекты L-гомоаргинина было выявлено, что V_{max} для печеночной и костной ЩФ увеличивается при повышении температуры от 5 до 50°C, что свидетельствует о более термостабильной конформации фермента при взаимодействии фермент-субстрат-ингибитор [20].

Таким образом, повышение температуры может снижать эффективность ингибирования фермента или вызывать конформационные изменения ЩФ в присутствии ингибитора, что повышает ее термостабильность.

На эффективность ингибирования ЩФ могут оказывать влияние ионы магния. Так доля ингибирования ЩФ кости L-гистидином возрастала от 15 до 40% при повышении концентрации ионов магния от 0,0001 М до 0,04 М, менее выраженный эффект ингибирования наблюдался у кишечной ЩФ [3].

Ингибиторами могут быть не только аминокислоты, но и антитела. Антитела могут различать похожие белковые конформации, проявляя специфические ингибирующие свойства к активному центру фермента, действуя как структурные зонды. Антитела к ЩФ получают методом фагового дисплея, отбирая их по специфическому бесконкурентному ингибитору. Например, для плацентарной ЩФ специфичным ингибитором является трипептид Phe-Gly-Gly, состоящий из одного остатка L-фенилаланина и последовательно соединенных двух остатков глицина. Отобранные методом фагового дисплея антитела к этому ингибитору проявляют такие же свойства, ингибируя по бесконкурентному типу плацентарную ЩФ [31].

В настоящее время продолжается поиск ингибиторов ЩФ. Повышенная экспрессия тканенеспецифической ЩФ снижает уровень пирофосфата – эндогенного ингибитора обызвествления мягких тканей, что приводит к усилению кальцификации при ряде заболеваний: эластической псевдоксантоме, генерализованной артериальной кальцификации младенцев. Ингибирование тканеспецифической ЩФ для повышения уровня пирофосфата является терапевтической стратегией, позволяющей предотвратить эктопическую кальцификацию мягких тканей у таких больных. Так, крупная фармкомпания (Daiichi Sankyo, Токио) опубликовала исследования свойств нового специфического бесконкурентного ингибитора тканенеспецифической ЩФ – DS-1211. Продемонстрирована четкая взаимосвязь между увеличением дозы этого ингибитора, уменьшением активности фосфатазы и возрастанием пиридоксаль-5'-фосфата и эндогенного пирофосфата. Поэтому их можно отнести к биомаркерам ингибирующего воздействия DS-1211. Возможно, пиридоксаль-5'-фосфат может быть чувствительным субстратом, на который влияет ингибирование тканеспецифической ЩФ [34].

У человека каждая из 4 изоформ ЩФ кодируются определенными генами. Три гена тканеспецифических изоформ ЩФ: кишечной, плацентарной, зародышевой состоят из 11 экзонов и локализованы на длинном плече хромосомы 2. Ген тканеспецифической ЩФ находится на коротком плече хромосомы 1, содержит дополнительный экзон и занимает 40–50 тысяч пар оснований ДНК. Последовательность аминокислот в молекуле тканеспецифической ЩФ на 50–60% совпадает с тканеспецифическими [14].

Для определения активности экспрессии ЩФ применяют метод ОТ-ПЦР (ПЦР с обратной транскрипцией). Также определение изофермента ЩФ может основываться не только на отношении изоформ ЩФ к ингибиторам, но и определения к какому гену относится амплифицированная мРНК. В эксперименте с культурой клеток 3T3-L1 преадипоци-

тов мыши с помощью праймеров для ЩФ (прямой праймер: 5В-GCC-СТС-ТСС-ААG-АСА-ТАТ-А-3В; обратный праймер: 5В-ССА-TGA-ТСА-СГТ-СГА-ТАТ-СС-3В) была амплифицирована мРНК. Результаты последующего секвенирования показали – мРНК была на 99% гомологична гену неспецифической тканевой ЩФ мыши [1].

Таким образом, тканенеспецифическая ЩФ при сравнительной оценке с тканеспецифическими изоферментами является термолabileй, ингибируется L-гомоаргинином и L-гистидином, кодируется геном, расположенном на коротком плече хромосомы 1.

Свойства щелочной фосфатазы семенников млекопитающих

ЩФ, обнаруживаемую в семенниках, относят по свойствам к тканеспецифической [15], однако некоторые авторы считают, что ЩФ семенников близка к зародышевой [24]. Фермент исследовали в семенниках крыс, мышей, собак, морских свинок и яичках человека. У хомяков, кроликов, летучих мышей ЩФ в семенниках не обнаружена [15].

При исследовании фермента в незрелых семенниках в онтогенезе у крыс на 13-е сутки после рождения с помощью электрофореза выявлен только один вид ЩФ, которая по свойствам соответствует тканеспецифической ЩФ, присутствующей в семенниках половозрелых животных [15]. Другие исследователи [24] изучали изоферменты ЩФ у мышей в период от внутриутробного развития до половозрелого возраста постнатального периода. До 14-го дня беременности выявляли только один тип изофермента, который был отнесен к зародышевому типу, на 15- и 16-е сутки были обнаружены изоферменты ЩФ в тонком кишечнике, которые, формировали при электрофорезе 2 и 3 полосы соответственно сроку беременности. Печеночная ЩФ показала двойную полосу на 18-е сутки, в то время как ЩФ семенников и яичников не изменялась и соответствовала по свойствам ЩФ, обнаруживаемой в тканях эмбриона в период до 15-х суток – зародышевая ЩФ. Позднее у взрослых мышей из семенников выделили две изоформы ЩФ [24]. А затем было установлено, что зародышевая ЩФ определяется в семенниках млекопитающих в низких концентрациях и локализуется на клеточных мембранах незрелых половых клеток [38]. У мужчин в яичках выявлена ЩФ двух изоформ: плацентарной и тканеспецифической. В 0,3–4,6% образцов ЩФ была термостабильной и чувствительной к L-фенилаланину, L-лейцину и не чувствительна к L-гомоаргинину, что характерно для плацентарной изоформы фермента. До нагревания ЩФ яичка демонстрировала обратную чувствительность к ингибиторам, что характерно для тканеспецифической ЩФ [6].

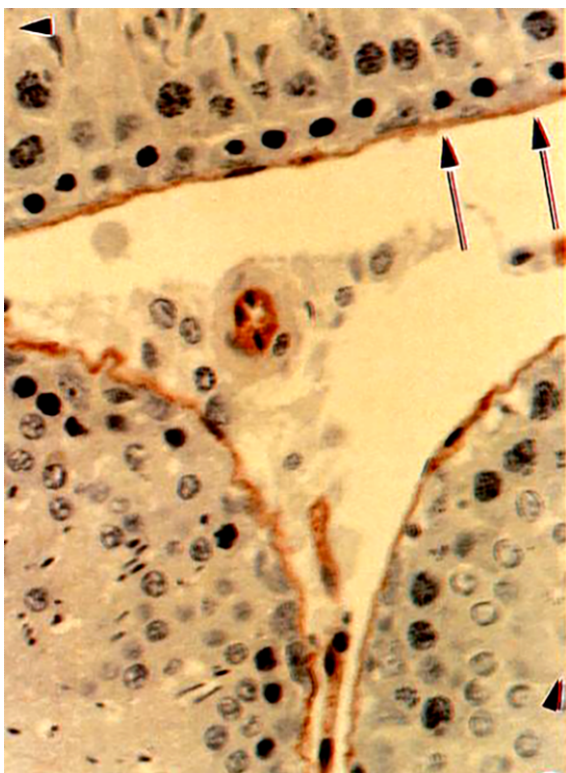


Рис. 4. Гистологический срез семенника, фиксации в жидкости Мирского. Реакция на щелочную фосфатазу. Метод с применением фосфат нафтола AS-BI, докрасивание среза гематоксилином. Продукт реакции локализован вокруг и вне канальцев (стрелки), внутри канальцев наблюдается слабое отложение красителя (стрелки), $\times 500$ [7].

Fig. 4. Histological section of the testis, fixed in Mirsky's fluid. Reaction for alkaline phosphatase. Method using naphthol AS-BI phosphate, counterstaining of the section with hematoxylin. The reaction product is localized around and outside the tubules (arrows), while weak dye deposition is observed inside the tubules (arrows), $\times 500$ [7].

Активность ЩФ яичек человека снижалась при действии L-гомоаргинина до 60,7–87,5% и в меньшей степени – L-фенилаланина 13,7–26,5%, что совпадает со свойствами ЩФ печени [6].

Таким образом, в семенниках млекопитающих установлены три изоформы ЩФ: тканенеспецифическая, плацентарного типа и зародышевая.

Локализация щелочной фосфатазы в семенниках млекопитающих

Локализация ЩФ была исследована в семенниках крыс [7]. R. Charin с соавт. проводили электронную и световую микроскопию, определяли продукт реакции в клетках после выявления ЩФ по методу Гомори (рис. 4). ЩФ была локализована преимущественно в перитубулярных клетках семенных канальцев и сперматогониях, на стадии VII. Слабая реактивность на ЩФ выявлялась в негерминативных клетках, клетках Сертоли на поздних стадиях развития сперматогенного эпителия X–XIV [7].

М.Ж. Kornblatt с соавт. также исследовали локализацию ЩФ в семенниках крыс. Авторами проведен анализ активности фермента в семенниках 13-дневных и половозрелых животных. Выявлено, что уровень активности этого фермента в сравниваемых группах не различается. На основании этих данных авторы сделали вывод о том, что ЩФ присутствует в негерминативных клетках семенников. Авторы полагают, что фермент локализован на цитоплазматической мембране клеток Сертоли, которые составляют относительно небольшую часть от всех клеток семенника, а по объему они могут занимать 24–33%. В итоге количество ЩФ в семенниках может быть значительным [15].

Вопрос о локализации ЩФ в семенниках млекопитающих, остается открытым. Проведена экспериментальная работа по культивированию сперматогонияльных стволовых клеток (SSCs-spermatogonial stem cells) или сперматогоний тип А с окрашиванием на ЩФ [35]. Сперматогонии выделяли у 6-дневных мышей, по форме они круглые, образовывали колонии на 6-й день культивирования. В сперматогониях выявлена ЩФ при использовании в качестве субстрата NBT/BCIP (bromochloroindolyl-phosphate/nitroblue tetrazolium). Выделенные клетки Сертоли составили контрольную группу по отношению к сперматогониям типа А. Они были неправильной формы и слабо окрашивались на ЩФ. К основным идентификационным признакам сперматогоний тип А относили экспрессию генов Oct4, Integrin alpha 6, Integrin beta 1, Ngn3 и гена домашнего хозяйства β -актин, клетки Сертоли экспрессировали только β -актин [35].

При окраске семенников собак с помощью NBT/BCIP активность ЩФ была выявлена вокруг клеток сперматогенного эпителия, что может указывать на локализацию ЩФ на мембранах клеток Сертоли [17].

Таким образом, локализация ЩФ в семенниках отличается у разных видов млекопитающих. В семенниках крыс ЩФ содержат перитубулярные клетки семенных канальцев, сперматогонии на стадии VII, в семенниках собаки – ЩФ определяется на мембранах клеток Сертоли. Однако, в исследованиях авторы используют разные методы фиксации материала и выявления ЩФ.

Функции тканенеспецифической щелочной фосфатазы в клетках различных тканей и семенниках млекопитающих

ЩФ обнаруживают в клетках на этапе формирования и дробления бластоцисты. Фермент локализуется на межбластомерных зонах мембран. Пространственная локализация неспецифической ЩФ указывает на возможное участие фермента в инициации

дифференцировки клеток в предимплантационном эмбрионе [26].

Зародышевые клетки у мышей начинают дифференцироваться в проксимальных клетках эпибласта на 6.5 день эмбрионального развития (E6.5). Первичные половые клетки (ППК, PGCs-primordial germ cells) появляются на сроке E7.25 и представлены небольшим скоплением клеток, положительных на ЩФ. В дальнейшем из этой популяции клеток развивается линия половых клеток, дающая начало ооцитам и сперматозоидам [16]. В настоящее время первичные половые клетки в зародыше отличают по их характерному окрашиванию на ЩФ, но ЩФ также определяется в окружающих их соматических клетках [32].

В эмбриональном периоде у мышей выявлена экспрессия 2 генов изоформ ЩФ: тканенеспецифическая и зародышевая. Тканенеспецифическая изоформа экспрессируется в мышечных PGCs клетках, изолированных из полового гребня на сроке E13 [22]. Для того чтобы оценить уровень экспрессии тканенеспецифической щелочной в PGCs, в качестве репортерного был использован ген β geo (*lacZ/neoR*). При этом некоторые кодирующие ЩФ последовательности были заменены на последовательности гена β geo (*lacZ/neoR*). Поскольку тканенеспецифическая изоформа ЩФ экспрессируется на относительно низких уровнях до гастрюляции и может быть существенно ограничена в PGC, рекомбинантные аллели тканенеспецифической ЩФ/ β geo легко и количественно точно выявляются продуктом «синего свечения» после расщепления ферментом β -галактозидазой. Выявлено, что тканенеспецифическая ЩФ обнаруживается в развивающемся скелете, эмбриональных гонадах, плаценте и кишечнике на сроках E13 и E14. При блокировании гена тканенеспецифической ЩФ развитие зародыша не нарушается, но выявляются нарушения продукции ЩФ клетками различных тканей в постнатальном периоде [22].

Тканенеспецифическая ЩФ обнаружена в печени, почках, костях, легких, жировой ткани, семенниках взрослых организмов. ЩФ, присутствующие в органах, считают биохимически уникальными для каждой ткани, и они являются изоформами тканенеспецифического изофермента [17]. Функции различных изоформ фермента продолжают исследоваться.

Высокоспецифичная локализация ЩФ в липидных каплях триглицеридов, указывает на то, что этот фермент играет роль в их накоплении клетками. При культивировании адипоцитов в среде с ингибитором ЩФ – гистицином, отмечается резкое снижение накопления жиров внутри клеток [1].

ЩФ влияет на процесс кальцификации костей и хрящевой ткани. В остеобластах и хондроцитах этот фермент интегрирован в цитоплазматическую мембрану через глико-

зил-фосфатидилинозитольный якорь, который ковалентно прикреплен к карбоксильному концу белка. В эксперименте при добавлении к среде ЩФ по сравнению со средой без нее отмечалось более упорядоченное образование минералов Ca/P в среде, содержащей Ca^{2+} , PO_4^{3-} , $MgCl_2$, $ZnCl_2$, что подтверждено данными рентгеноструктурного анализа [12]. Ген прогрессирующего анкилоза (*ank*) кодирует трансмембранный белок, регулирующий транспорт пирофосфата из цитоплазмы во внеклеточную среду. В исследованиях было показано, что повышение экспрессии гена *ank* в хондроцитах пластинки роста приводит к быстрому выходу неорганического пирофосфата во внеклеточный матрикс. При этом возрастает активность ЩФ в хондроцитах, которая участвует в гидролизе пирофосфата до фосфата с последующим включением в кристаллы фосфата кальция [13, 36]. Таким образом, повышение активности тканенеспецифической ЩФ поддерживает физиологический гомеостаз пирофосфата/фосфата, который необходим для минерализации скелета [11, 13, 36].

В эксперименте *in vivo* на клеточной культуре одонтобластоподобных клеток MDPC-23 (Mouse Dental Papilla Cell-23) было подтверждено, что тканенеспецифическая ЩФ поддерживает дифференцировку и минерализацию одонтобластов, так как уровень матричного белка *osterix* (*Osx*) – маркера дифференцировки клеток, уменьшался при снижении ЩФ [8]. Исследования нижних челюстей у мышей C57BL/6 на 1- и 7-е сутки после рождения показали, что тканенеспецифическая ЩФ выявляется на поздних сроках дифференцировки одонтобластов [8].

В семенниках роль ЩФ также не определена. Некоторые исследователи считают, что ЩФ характерна для миоидных клеток, расположенных перитубулярно, и данный факт используют для определения типов клеток в культуре семенника. Авторы не отрицают, что и сперматогонии могут демонстрировать активность ЩФ *in vitro* и *in vivo* [7].

Имеются данные о том, что ЩФ выявляется у мышей в возрасте 24 дней в клетках, морфологически соответствующих сперматозоидам в профазе I мейотического деления. ЩФ выявляли с помощью антител к эмбриональной ЩФ, экспрессируемой на стадии от двух клеток до бластоцисты предимплантационной стадии развития у мыши. Таким образом, в семенниках может присутствовать несколько изоформ ЩФ. Роль этого фермента в мейозе и созревании клеток сперматогенного эпителия пока неясна [28].

Также необходимо отметить, что при развитии опухолей яичка у человека: карциноме *in situ*, эмбриональной карциноме, сениноме – клетки опухолей определяются как позитивно положительно при окрашивании на ЩФ. Наблюдается некоторая гетероген-

ность при иммуногистохимическом окрашивании клеток. Выявлено, что клетки опухоли дают позитивную реакцию с антителами к тканенеспецифической, плацентарной и зародышевой изоформам ЩФ. Изучали экспрессию этих ферментов в тканях опухолей с помощью ОТ-ПЦР, но наличие ЩФ в нормальной паренхиме яичек делает неинформативной раннюю диагностику опухолей с помощью этих маркеров [30].

Проведены исследования активности ЩФ в эякуляте у здоровых мужчин, однако не удалось выявить корреляции между активностью фермента и концентрацией сперматозоидов, % их подвижности [19]. В группах фертильных и бесплодных мужчин обнаружено, что уровень ЩФ (плацентарного типа) в семенной жидкости коррелирует с предполагаемым статусом фертильности у мужчин [23].

Таким образом, ЩФ участвует в процессах дробления бластоцисты, в процессах миграции и дифференцировки первичных половых клеток, в накоплении триглицеридов адипоцитами, в процессах дифференцировки одонтобластов. ЩФ определяют в профазе мейоза в сперматоцитах и при созревании клеток в семенниках млекопитающих.

Заключение

Щелочные фосфатазы участвуют в процессах фосфорилирования, гидролизуют фосфоэфирную связь. Различают тканенеспецифическую и тканеспецифические щелочные фосфатазы: кишечная, зародышевая, плацентарная. Тканенеспецифическая обнаружена в печени, костях, почках, семенниках и других органах. Все четыре изоформы щелочной фосфатазы кодируются соответствующими генами. Различаются изоформы не только по структуре, но и по характеру взаимодействия с ингибиторами L-гомоаргинином и L-фенилаланином. Так тканенеспецифическая щелочная фосфатаза ингибируется L-гомоаргинином, а плацентарная и кишечная изоформы щелочной фосфатазы – L-фенилаланином.

В эмбриональном периоде щелочная фосфатаза впервые обнаружена на этапе дробления, на межбластомерных участках мембран. Затем на этапе эмбрионального развития щелочная фосфатаза выявлена в первичных половых клетках, из которых в последующем развиваются линия половых клеток. В семенниках взрослых животных щелочная фосфатаза локализуется в перитубулярных клетках семенных канальцев и сперматогониях, на стадии VII. Слабая реактивность на щелочную фосфатазу обнаружена в клетках Сертоли. В семенниках млекопитающих присутствует несколько изоформ щелочной фосфатазы: тканенеспецифическая, зародышевая, плацентарная. Функции данного фермента и его изоформ в семенниках не определены.

Несмотря на множество работ по изучению свойств щелочных фосфатаз остаются спорными вопросы о функциях фермента и его локализации. Определение метаболической роли этого фермента является важной задачей для исследователей. Возможно, с решением вопроса о субстратах, на которые влияет щелочная фосфатаза, будет более понятна роль этого фермента в клетках различных тканей.

Список источников / References

1. Ali AT, Penny CB, Paiker JE, van Niekerk C, Smit A, Ferris WF, et al Alkaline phosphatase is involved in the control of adipogenesis in the murine preadipocyte cell line, 3T3-L1. *Clin Chim Acta.* 2005 Apr;354(1-2):101-9. doi: 10.1016/j.cccn.2004.11.026.
2. Bisswanger. *Prakticheskaya ehcnzimologiya.* Germany: Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA; 2011.360. <https://doi.org/10.1002/9783527659227>.
3. Bodansky O, Schwartz MK. Comparative effects of l-histidine on the activities of nucleotidase and alkaline phosphatase. *The Journal of biological chemistry.* 1963;238:3420-3427.
4. Borgers M. The cytochemical application of new potent inhibitors of alkaline phosphatases. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society.* 1973;21(9):812-824. <https://doi.org/10.1177/21.9.812>.
5. Borosky GL. Catalytic activity of human placental alkaline phosphatase (PLAP): insights from a computational study. *The journal of physical chemistry B.* 2014;118(49):14302-14313. <https://doi.org/10.1021/jp511221c>.
6. Chang CH, Angellis D, Fishman WH. Presence of the rare D-variant heat-stable, placental-type alkaline phosphatase in normal human testis. *Cancer research.* 1980;40(5):1506-1510.
7. Chapin RE, Phelps JL, Miller BE, Gray TJ. Alkaline phosphatase histochemistry discriminates peritubular cells in primary rat testicular cell culture. *Journal of andrology.* 1987;8(3):155-61. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.1987.tb02427.x>.
8. Choi H, Kim TH, Yun CY, Kim JW, Cho ES. Testicular acid phosphatase induces odontoblast differentiation and mineralization. *Cell and tissue research.* 2016;364(1):95-103. <https://doi.org/10.1007/s00441-015-2310-9>.
9. Fernley HN, Walker PG. Inhibition of alkaline phosphatase by L-phenylalanine. *The Biochemical journal.* 1970;116(3):543-544. <https://doi.org/10.1042/bj1160543>.
10. Fishman W, Sie HG. L-homoarginine; an inhibitor of serum "bone and liver" alkaline phosphatase. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry.* 1970;29(2):339-341. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(70\)90057-4](https://doi.org/10.1016/0009-8981(70)90057-4).
11. Garimella R, Bi X, Anderson HC, Camacho NP. Nature of phosphate substrate as a major determinant of mineral type formed in matrix vesicle-mediated in vitro mineralization: An FTIR imaging study. *Bone.* 2006;38(6):811-817. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2005.11.027>.
12. Harrison G, Shapiro IM, Golub EE. The phosphatidylinositol-glycolipid anchor on alkaline phosphatase facilitates mineralization initiation in

- vitro. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 1995;10(4):568-573. <https://doi.org/10.1002/jbmr.5650100409>.
13. Ho AM, Johnson MD, Kingsley DM. Role of the mouse ank gene in control of tissue calcification and arthritis. *Science (New York, NY)*. 2000;289(5477):265-270. <https://doi.org/10.1126/science.289.5477.265>.
 14. Hoylaerts MF, Manes T, Millán JL. Molecular mechanism of uncompetitive inhibition of human placental and germ-cell alkaline phosphatase. *Biochem J*. 1992 Aug 15;286 (Pt 1)(Pt 1):23-30. doi: 10.1042/bj2860023.
 15. Kornblatt MJ, Klugerman A, Nagy F. Characterization and localization of alkaline phosphatase activity in rat testes. *Biology of reproduction*. 1983;29(1):157-164. <https://doi.org/10.1095/biolreprod29.1.157>.
 16. Kurimoto K, Yabuta Y, Ohinata Y, Shigeta M, Yamana K, Saitou M. Complex genome-wide transcription dynamics orchestrated by Blimp1 for the specification of the germ cell lineage in mice. *Genes & development*. 2008;22(12):1617-1635. <https://doi.org/10.1101/gad.1649908>.
 17. Kutzler MA, Solter PF, Hoffman WE, Volkmann DH. Characterization and localization of alkaline phosphatase in canine seminal plasma and gonadal tissues. *Theriogenology*. 2003;60(2):299-306. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(02\)01366-3](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(02)01366-3).
 18. Lepire ML, Ziomek CA. Preimplantation mouse embryos express a heat-stable alkaline phosphatase. *Biology of reproduction*. 1989;41(3):464-473. <https://doi.org/10.1095/biolreprod41.3.464>.
 19. Lewin LM, Golan R, Soffer Y, Kaufman S, Yulzary Y, Zaidman J. Alkaline phosphatase in human semen: an investigation using enzyme inhibitors and gel electrophoresis. *European journal of clinical chemistry and clinical biochemistry : journal of the Forum of European Clinical Chemistry Societies*. 1993;31(12):811-814. <https://doi.org/10.1515/cclm.1993.31.12.811>.
 20. Lin CW, Fishman WH. L-Homoarginine. An organ-specific, uncompetitive inhibitor of human liver and bone alkaline phosphohydrolases. *The Journal of biological chemistry*. 1972;247(10):3082-3087.
 21. Lin CW, Sie HG, Fishman WH. L-tryptophan. A non-allosteric organ-specific uncompetitive inhibitor of human placental alkaline phosphatase. *The Biochemical journal*. 1971;124(3):509-516. <https://doi.org/10.1042/bj1240509>.
 22. MacGregor GR, Zambrowicz BP, Soriano P. Tissue non-specific alkaline phosphatase is expressed in both embryonic and extraembryonic lineages during mouse embryogenesis but is not required for migration of primordial germ cells. *Development (Cambridge, England)*. 1995;121(5):1487-1496. <https://doi.org/10.1242/dev.121.5.1487>.
 23. McLaughlin PJ, Lewis-Jones I, Hutchinson GE, Johnson PM. Placental-type alkaline phosphatase in human seminal plasma from fertile and infertile men. *Fertility and sterility*. 1986;46(5):934-937.
 24. Merchant-Larios H, Mendlovic F, Alvarez-Buylla A. Characterization of alkaline phosphatase from primordial germ cells and ontogenesis of this enzyme in the mouse. *Differentiation; research in biological diversity*. 1985;29(2):145-151. <https://doi.org/10.1111/j.1432-0436.1985.tb00308.x>.
 25. Millán JL. Alkaline Phosphatases : Structure, substrate specificity and functional relatedness to other members of a large superfamily of enzymes. *Purinergic signalling*. 2006;2(2):335-341. <https://doi.org/10.1007/s11302-005-5435-6>.
 26. Mulnard J, Huygens R. Ultrastructural localization of non-specific alkaline phosphatase during cleavage and blastocyst formation in the mouse. *Journal of embryology and experimental morphology*. 1978;44:121-131.
 27. Narisawa S, Harmey D, Magnusson P, Millán JL. Conserved epitopes in human and mouse tissue-nonspecific alkaline phosphatase. Second report of the ISOBM TD-9 workshop. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*. 2005;26(3):113-120. <https://doi.org/10.1159/000086482>.
 28. Narisawa S, Hofmann MC, Ziomek CA, Millán JL. Embryonic alkaline phosphatase is expressed at M-phase in the spermatogenic lineage of the mouse. *Development (Cambridge, England)*. 1992;116(1):159-165. <https://doi.org/10.1242/dev.116.1.159>.
 29. O'Brien PJ, Herschlag D. Alkaline phosphatase revisited: hydrolysis of alkyl phosphates. *Biochemistry*. 2002 Mar 5;41(9):3207-25. doi: 10.1021/bi012166y.
 30. Roelofs H, Manes T, Janszen T, Millán JL, Oosterhuis JW, Looijenga LH. Heterogeneity in alkaline phosphatase isozyme expression in human testicular germ cell tumours: An enzyme-/immunohistochemical and molecular analysis. *J Pathol*. 1999 Oct;189(2):236-44. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(199910)189:2<236::AID-PATH411>3.0.CO;2-J.
 31. Saini D, Kala M, Jain V, Sinha S. Targeting the active site of the placental isozyme of alkaline phosphatase by phage-displayed scFv antibodies selected by a specific uncompetitive inhibitor. *BMC biotechnology*. 2005;5:33. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-5-33>.
 32. Saitou M, Barton SC, Surani MA. A molecular programme for the specification of germ cell fate in mice. *Nature*. 2002;418(6895):293-300. <https://doi.org/10.1038/nature00927>.
 33. Sebastián-Serrano A, de Diego-García L, Martínez-Frailes C, Ávila J, Zimmermann H, Millán JL, et al. Tissue-nonspecific Alkaline Phosphatase Regulates Purinergic Transmission in the Central Nervous System During Development and Disease. *Comput Struct Biotechnol J*. 2014 Dec 15;13:95-100. doi: 10.1016/j.csbj.2014.12.004.
 34. Soma K, Izumi M, Yamamoto Y, Miyazaki S, Watanabe K. In Vitro and In Vivo Pharmacological Profiles of DS-1211, a Novel Potent, Selective, and Orally Bioavailable Tissue-Nonspecific Alkaline Phosphatase Inhibitor. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2022;37(10):2033-43. <https://doi.org/10.1002/jbmr.4680>.
 35. Wang P, Suo LJ, Shang H, Li Y, Li GX, Li QW, et al. Differentiation of spermatogonial stem cell-like cells from murine testicular tissue into haploid male germ cells in vitro. *Cytotechnology*. 2014 May;66(3):365-72. doi: 10.1007/s10616-013-9584-0.
 36. Wang W, Xu J, Du B, Kirsch T. Role of the progressive ankylosis gene (ank) in cartilage

- mineralization. *Molecular and cellular biology*. 2005;25(1):312-323.
37. Yamashita T, Sawanobori-isobe E, Mori M. Stabilization of human serum alkaline phosphatase to histidine-induced heat inactivation by tryptic digestion. *Journal of biochemistry*. 1976;80(1):129-134. doi: 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a131244
38. Zaher DM, El-Gamal MI, Omar HA, Aljareh SN, Al-Shamma SA, Ali AJ, et al. Recent advances with alkaline phosphatase isoenzymes and their inhibitors. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2020 May;353(5):e2000011. doi: 10.1002/ardp.202000011.
39. Zhang H, Yang L, Ding W, Ma Y. The pH-dependent activation mechanism of Ser102 in *Escherichia coli* alkaline phosphatase: a theoretical study. *Journal of biological inorganic chemistry : JBIC : a publication of the Society of Biological Inorganic Chemistry*. 2018;23(2):277-284. <https://doi.org/10.1007/s00775-017-1529-1>

Информация об авторах

✉ Пономаренко Елена Алексеевна – канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории иммуноморфологии воспаления НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына; Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского; пер. Абрикосовский, 2, Москва, 119991, Россия; ponomarenkoea75@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0002-9672-7145>
SPIN 7193-7254

Мхитаров Владимир Аршакович – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммуноморфологии воспаления НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына; Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского; mkhitarov@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0002-4427-1991>
SPIN 3998-2748

Артемьева Ксения Александровна – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патологии репродукции НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына; Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского; sunset_whitch@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0002-1014-752X>
SPIN 2057-7745

Кузнецова Екатерина Владимировна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории патологии репродукции НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына; Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского; kuznetsovaekvl@gmail.com
<http://orcid.org/0000-0001-9861-1878>
SPIN 8739-6841

Гоуфман Евгений Иосифович – канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории патологии репродукции НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына; Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского; eugene_goufman@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0002-7468-7015>
SPIN 4427-4131

Лопухов Антон Владимирович – канд. хим. наук, доцент кафедры химической энзимологии; Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова; lopukhov@enzyme.chem.msu.ru
<http://orcid.org/0000-0002-3517-505X>
SPIN 7232-5120

Клячко Наталья Львовна – д-р. хим. наук, профессор, зав. кафедрой химической энзимологии; Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова; klyachko@enzyme.chem.msu.ru
<http://orcid.org/0000-0002-9357-8236>
SPIN 3680-6329

Макарова Ольга Васильевна – д-р. мед. наук, профессор, зав. лабораторией иммуноморфологии воспаления НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына; Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского; makarov.olga2013@yandex.ru
<http://orcid.org/0000-0001-8581-107X>
SPIN 9014-3298

Information about the authors

✉ Elena A. Ponomarenko – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher of Inflammatory Immunomorphology Laboratory, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of “Petrovsky National Research Centre of Surgery”; per. Abrikosovskii, 2, Moscow, 119991, Russia; ponomarenkoea75@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0002-9672-7145>
SPIN 7193-7254

Vladimir A. Mkhitarov – Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher of Inflammatory Immunomorphology Laboratory, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of “Petrovsky National Research Centre of Surgery”; mkhitarov@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0002-4427-1991>
SPIN 3998-2748

Kseniya A. Artem'eva – Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher of Reproductive Pathology Laboratory, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of “Petrovsky National Research Centre of Surgery”; sunset_whitch@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0002-1014-752X>
SPIN 2057-7745

Ekaterina V. Kuznetsova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher of Reproductive Pathology Laboratory, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of “Petrovsky National Research Centre of Surgery”; kuznetsovaekvl@gmail.com
<http://orcid.org/0000-0001-9861-1878>
SPIN 8739-6841

Evgenii I. Goufman – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher of Reproductive Pathology Laboratory, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of “Petrovsky National Research Centre of Surgery”; eugene_goufman@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0002-7468-7015>
SPIN 4427-4131

Anton V. Lopukhov – Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor of the Department of Chemical Enzymology; Lomonosov Moscow State University; lopukhov@enzyme.chem.msu.ru
<http://orcid.org/0000-0002-3517-505X>
SPIN 7232-5120

Natalya L. Klyachko – Doct. Sci. (Chem.), Professor, Head of the Department of Chemical Enzymology; Lomonosov Moscow State University; klyachko@enzyme.chem.msu.ru
<http://orcid.org/0000-0002-9357-8236>
SPIN 3680-6329

Ol'ga V. Makarova – Doct. Sci. (Med.), Professor, Head of of Inflammatory Immunomorphology Laboratory, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of “Petrovsky National Research Centre of Surgery”; makarov.olga2013@yandex.ru
<http://orcid.org/0000-0001-8581-107X>
SPIN 9014-3298

Статья поступила в редакцию 10.09.2025; одобрена после рецензирования 29.12.2025; принята к публикации 30.03.2026.
Submitted 10.09.2025; Revised 29.12.2025; Accepted 30.03.2026.