

## ЭФФЕКТИВНАЯ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ АНАЛИЗА N-АЦЕТИЛЯТОРНЫХ ПРОЦЕССОВ ТОКСИКАНТОВ КЛАССА ГИДРАЗИНОВ

Н.В. Петрова\*, Н.Н. Каркищенко, Р.А. Клёсов

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»  
143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, 1

Необходимость в создании эффективной токсикогенетической модели анализа N-ацетилирования при исследовании токсического действия соединений класса гидразинов является актуальной задачей из-за широкого применения этих соединений в промышленности и фармации. Показано, что трансгенные гуманизированные мыши, несущие ген *NAT2**homo* человека, моделируют основные аспекты токсичности гидразина у человека. Именно они презентуются нами в качестве фармакогенетической экстраполяционной платформы для оценки и прогнозирования токсических эффектов соединений класса гидразинов при проведении направленного скрининга новых нетоксичных фармацевтических средств класса гидразина солянокислого. Показано, что оценку токсикогенетического действия соединений этого класса можно проводить, анализируя уровень транскрипции гена *NAT2**homo*, кодирующего у трансгенной мыши цитозольный белок NAT2 человека, а также уровни транскрипции генов ядерных белков сиртуина 1 SIRT1 и HMGB1.

**Ключевые слова:** гидразин солянокислый, биомодель, гуманизированные трансгенные линии мышей, гены *NAT1* и *NAT2*, экспрессия генов

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Петрова Н.В., Каркищенко Н.Н., Клёсов Р.А. Эффективная фармакогенетическая модель анализа N-ацетиляторных процессов токсикантов класса гидразинов. *Биомедицина*. 2026;22(1):25–37. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-25-37>

Поступила 15.01.2026

Принята после доработки 03.02.2026

Опубликована 30.04.2026

## EFFECTIVE PHARMACOGENETIC MODEL FOR ANALYZING N-ACETYLATION OF HYDRAZINE-CLASS TOXICANTS

Natalia V. Petrova\*, Nikolay N. Karkischenko, Roman A. Klesov

Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia  
143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1

The widespread use of hydrazine derivatives in industry and pharmacy necessitates the development of an effective toxicogenetic model to analyze their N-acetylation and associated toxic effects. Transgenic humanized mice carrying the human *NAT2* gene have been shown to model key aspects of hydrazine toxicity in humans. We present these mice as a pharmacogenetic extrapolation platform for assessing and predicting the toxic effects of hydrazine-class compounds during the targeted screening of new non-toxic hydrazine hydrochloride-based pharmaceuticals. The toxicogenetic effects of these compounds can be assessed by analyzing the transcriptional levels of the human *NAT2* gene, which encodes the human cytosolic protein NAT2 in a transgenic mouse, as well as those of the genes of nuclear proteins SIRT1 and HMGB1.

**Keywords:** hydrazine hydrochloride, biomodel, humanized transgenic mouse lines, *NAT1* and *NAT2* genes, gene expression

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**For citation:** Petrova N.V., Karkischenko N.N., Klesov R.A. Effective Pharmacogenetic Model for Analyzing N-Acetylation of Hydrazine-Class Toxicants. *Journal Biomed.* 2026;22(1):25–37. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-22-1-25-37>

Submitted 15.01.2026

Revised 03.02.2026

Published 30.04.2026

## Введение

Критическая стадия в механизме детоксикации ксенобиотиков химических классов гидразина (изониазида, теризидона) и ариламина включает реакцию переноса ацетильной группы от ацетил-КоА к атому азота в составе молекулы ксенобиотика при участии цитозольных N-ацетилтрансфераз 1 (*NAT1*) и 2 (*NAT2*) [19]. *NAT*-зависимое N-ацетилирование занимает важное место среди всех процессов конъюгации II фазы биотрансформации лекарств и ксенобиотиков. *NAT1* и *NAT2* имеют различную субстратную специфичность, причем *NAT1* широко распространен в тканях и ацетилюет преимущественно ариламины, тогда как *NAT2* преимущественно обнаруживается в клетках печени, желудочно-кишечного тракта и иммунной системы, где ацетилюет преимущественно вещества, относящиеся к классу гидразина.

Субстратная специфичность *NAT*-ферментов была подробно изучена ранее на биоматериалах инбредных линий мышей линий C57BL/6Y, A/Sn, C3H, а также на мышах трансгенных гуманизированных линий *NAT1* и *NAT2* (производства НЦБМТ ФМБА России), чувствительных к факторам канцерогенеза в целом и воздействию ксенобиотиков [5].

Для гена *NAT2* к настоящему времени описано 45 нуклеотидных вариаций, большинство из которых представляют собой однонуклеотидные полиморфизмы [13]. Сочетание этих вариантов влияет на структуру белка и способность *NAT2*

к ацетилированию, формируя как минимум три фенотипа: быстрый, промежуточный и медленный [14]. Генетические паттерны *NAT2* изменяют эффективность детоксикации экзогенных веществ и могут влиять на восприимчивость к побочным эффектам лекарств и веществ, поступающих с пищей, а также могут приводить к аномалиям работы нервной и иммунной систем и другим негативным последствиям, влияющим на качество жизни.

Гидразин (диамин, диамид) — токсичное неорганическое соединение, имеющее брутто-формулу  $N_2H_4$  и относящееся к 3-му классу токсикантов по классификации Hodge and Sterner (1943). Ряд органических производных из класса гидразинов известны как лекарственные средства, в т.ч. изониазид и теризидон как противотуберкулезные средства, а прокарбазин — химиотерапевтическое средство, применяемое в комплексной терапии болезни Ходжкина, меланомы и бронхогенной карциномы. Лечение изониазидом сопровождается высоким уровнем побочных эффектов, в т.ч. повышением уровней печеночных маркеров у 10–20% пациентов, риском фатального токсического гепатита у 0,05–1% пациентов и частотой периферической нейропатии у 2–6,5% пациентов [11]. Повышенный риск гепатотоксичности при приеме изониазида наблюдается у пациентов с фенотипом «*NAT2* медленный ацетилятор», по сравнению с людьми с другими типами ацетиляторов [2, 18]. В целом из-за высокой эффективности органических гидразидов их

рассматривают как потенциально важный класс лекарственных средств [20], использование которых, однако, ограничивается токсическими эффектами. Это обстоятельство вызывает необходимость разработки фармакогенетической модели на животных для анализа процессов N-ацетилирования токсикантов класса гидразинов.

В НЦБМТ ФМБА России ранее выполнена работа по созданию ДНК-конструкций, несущих гены *NAT1* и *NAT2* человека, а также получены линии трансгенных гуманизированных мышей, несущих соответствующие гены [3, 4, 6].

**Цель работы** — оценить возможность применения трансгенных гуманизированных животных биомоделей линий *NAT1* и *NAT2* в доклинических биомедицинских исследованиях острого токсического поражения производными гидразина солянокислого (ГСК).

## Материалы и методы

### Материалы

Набор РНК-экстран для извлечения РНК был приобретён в ООО «Синтол» (Россия). Набор РЕВЕРТА-Л для синтеза кДНК был получен от ООО «АмплиСенс» (Россия). Специфические праймеры и зонды для генов *NAT2*, *NAT1*, *SIRT1mus*, *HMGB1mus* были синтезированы ЗАО «Синтол» (Россия) на основе последовательностей, представленных ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

### Лабораторные животные

Исследования проводились в ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская обл.) на самцах трансгенных гуманизированных мышей линий *NAT1* и *NAT2* (собственное производство). Возраст животных 10–12 недель, начальная средняя масса  $20 \pm 2,0$  г. Животные были отобраны в эксперимент методом рандомизации. Мышей содержали в микроизоляторной системе Raig

Iso System по 6 особей в группе. Животные соответствовали категории улучшенных конвенциональных. В качестве рациона получали стандартный комбикорм гранулированный полнорационный для лабораторных животных (экструдированный) ПК-120 ГОСТ Р 51849-2001 Р.5. Водопроводная очищенная вода всем животным давалась *ad libitum* в стандартных поилках. Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды при температуре воздуха 18–22°C, относительной влажности 60–70% и искусственном освещении с циклом 12/12.

Исследования проводились в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета о защите животных, используемых в научных целях от 22.09.2010; Базельской декларацией (2011); ГОСТ 53434-2009 от 02.12.2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)»; Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 81 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств»; Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов»; Руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях [8]. Все эксперименты были одобрены биоэтической комиссией ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

### Группы животных и введение препаратов

Мыши каждой линии были рандомизированы в две группы. В первой группе мышам вводили физ. р-р (контроль), а во второй — токсикант (ГСК) внутривенно однократно в дозе 375 мг/кг, объём введения 250,0 мкл. На третий день у всех мышей были отобраны образцы лимфатических

узлов, тканей легкого, печени и почек. В этих органах исследовалась экспрессия кДНК генов *NAT2*, *NAT1*, *HMGB1mus*, *SIRT1mus* методом ПЦР в реальном времени с использованием специфических праймеров и флуоресцентных зондов.

**Нормированная амплитуда флуоресценции никотинамидадениндинуклеотида (НАДН), окисленного флавинадениндинуклеотида (ФАД) и показатель окислительного метаболизма (ПОМ)**

НАДН, ФАД и ПОМ как меру процессов окислительного метаболизма с участием митохондрий [16] определяли неинвазивно с помощью лазерного диагностического аппарата «ЛАЗМА СТ» (Россия) в соответствии с инструкциями производителя и с использованием устройства для фиксации животных [9]. Аппарат «ЛАЗМА СТ» в реальном времени определяет состояние микроциркуляции (уровень периферического кровотока, лимфотока) и обменных процессов (содержание коферментов — кофермент -НАДН — восстановленный никотинамид-адениндинуклеотид и кофермент -ФАД — окисленный флавин-адениндинуклеотид, которые являются биомаркерами состояния окислительного метаболизма в ткани), а также ПОМ — показатель окислительного метаболизма — это комплексный диагностический показатель, характеризующий состояние связанных между

собой компартментов микроциркуляторно-тканевой системы кожи: микроциркуляции крови и биомаркеров окислительного метаболизма — коферментов НАДН и ФАД.

**ПЦР в реальном времени**

Общую РНК экстрагировали из образцов с помощью набора РНК-экстран («Синтол», Россия) и переводили в комплементарную ДНК с помощью набора РЕВЕРТА-Л («АмплиСенс», Россия) в соответствии с инструкциями производителей. В качестве референсного гена был выбран ген *GAPDH*. Уровни транскрипции генов *NAT1* и *NAT2*, *HMGB1mus*, *Sirt1mus* в исследуемых пробах определяли с помощью амплификатора CFX-96 («Bio-Rad», США) с использованием специфических праймеров и флуоресцентных зондов, указанных в табл.

Результаты измерений представляли как кратное изменение уровней мРНК целевого гена.

**Статистический анализ**

Критерий Шапиро—Уилка применяли для выбора параметрических или непараметрических методов статистического анализа. Статистический анализ проводили с помощью непарного двустороннего t-теста Стьюдента и двухфакторного дисперсионного анализа (two-way ANOVA) с апостериорным тестом Сидака для множественных сравнений между группами с ис-

**Таблица.** Олигонуклеотидные праймеры и зонды  
**Table.** Oligonucleotide primers and PCR probes

Ген	Праймер / Зонд	Нуклеотидная последовательность
<i>NAT1</i>	F	5-AAGTTGTGAGAAGAAATCGG-3
	R	5-ACTGTTCCCTTCTGATTTGG-3
	Z	ROX-TGTCTCCAGGTCAATCATCTTCTGT-BHQ2
<i>NAT2</i>	F	5-GGT TTA CTG TTT GGT GGG CT-3
	R	5-CAG GTT TGG GCA CGA GAT TT-3
	Z	R6G- CT GAG GAA GAG GTT GAA GAA GTG CT -BHQ2
<i>SIRT1 mus</i>	F	5'- TCCTTGGAGACTGCGATGTT-3'
	R	5'- ATGAAGAGGTGTTGGTGGCA-3'
	Z	ROX - TGAGTTGTGTGCATAGGCTAGGTGGT-BHQ2
<i>HMGB1 mus</i>	F	5'- GGGTTGTA AATTGGCATGGA-3'
	R	5'- GTCAACAAAACAGCCGCAAT-3'
	Z	ROX-AGTTATATATGGGACAGTAGTGTG-BHQ2

пользованием программного обеспечения GraphPad Prism v.8.3.0 (“San Diego”, США). Были использованы следующие обозначения: M — среднее, m — стандартная ошибка, n — объём выборки, p — достигнутый уровень значимости. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты исследований

Для того чтобы оценить различия в метаболизме трансгенных гуманизированных животных линий NAT1 и NAT2, а также гибридов F1 CBA/Jac × C57BL/6Y, которые являются генетическим фоном для этих трансгенных линий, были получены значения тканевой флуоресценции коферментов НАДН и ФАД, а также оптического показателя окислительного метаболизма ПОМ.

Двусторонний непарный t-тест Стьюдента не выявил статистически значимых отличий у трансгенных мышей линии NAT1 в уровнях тканевой флуоресценции НАДН ( $p=0,1162$ ), ФАД ( $p=0,4136$ ) и по показателю ПОМ ( $p=0,1964$ ) по сравнению с соответствующими значениями у гибридов.

Двусторонний непарный t-тест Стьюдента выявил наличие статистически значимых отличий у трансгенных мышей

линии NAT2 в уровнях тканевой флуоресценции НАДН ( $p=0,0032$ ), ФАД ( $p=0,027$ ), а также по показателю ПОМ ( $p=0,032$ ) по сравнению с соответствующими значениями у гибридов (рис. 1).

Для того чтобы оценить эффект ГСК на транскрипцию генов *NAT1* и *NAT2*, *HMGB1mus* и *SIRT1mus*, животным соответствующих линий вводили ГСК или физ. р-р (контроль). Образцы тканей тестировали на содержание мРНК целевых генов. Результаты представлены на рис. 2, 3, 4.

Двухфакторный анализ ANOVA выявил наличие статистически значимых различий между группами в эксперименте с линией трансгенных мышей, несущих ген человека *NAT1*, по фактору «ГСК / физ. раствор» (рис. 2;  $F_{1,32}=15,55$ ;  $p=0,0004$ ), но не по фактору «ткань» ( $F_{3,32}=2,082$ ;  $p=0,1221$ ). Апостериорный тест Сидака показал, что ГСК статистически значимо в 5,3 раза увеличил экспрессию гена *NAT1* в почках ( $p=0,0033$ ) по сравнению с контролем. Хотя экспрессия гена *NAT1* в лимфоидной ткани, легких и печени также была повышена у животных, получавших ГСК, по сравнению с контролем, уровень статистической значимости ( $p < 0,05$ )

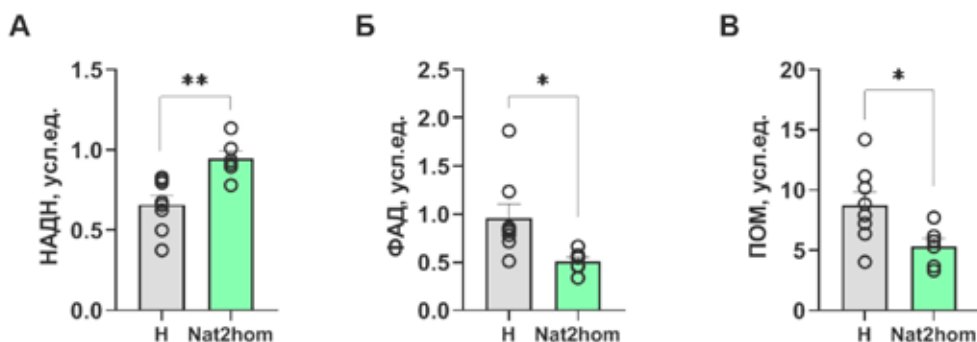
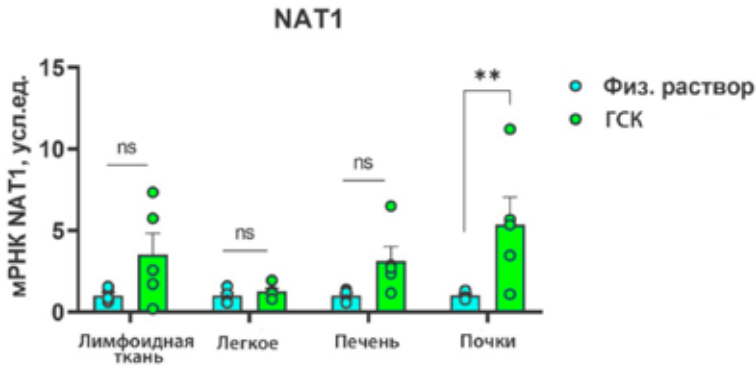


Рис. 1. Уровни тканевой флуоресценции НАДН (А), ФАД (Б) и показатель окислительного метаболизма ПОМ (В) у трансгенных гуманизированных мышей линии NAT2 и гибридов F1 CBA/Jac × C57BL/6Y (H). Результаты представлены как  $M \pm m$  ( $n=6-8$ ). \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$  по сравнению с гибридами.

Fig. 1. Tissue fluorescence levels of NADH (A), FAD (B) and the oxidative metabolism index (B) in NAT2-humanized mice and F1 CBA/Jac × C57BL/6Y hybrids (H). The results are presented as  $M \pm m$  ( $n=6-8$ ). \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$  compared to the hybrids.



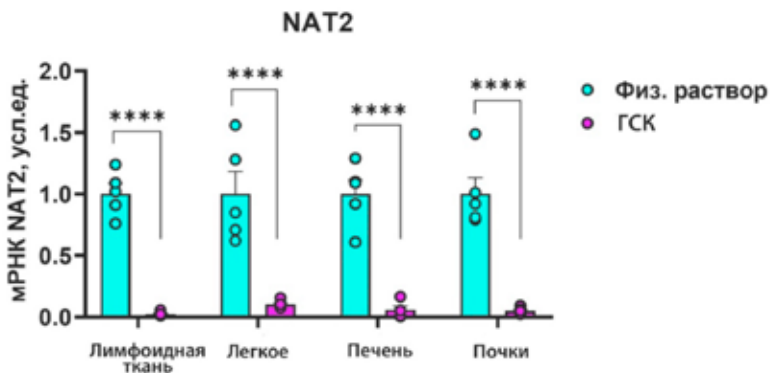
**Рис. 2.** Эффект гидразина солянокислого (ГСК) на транскрипцию трансгена *NAT1* в лимфоидной ткани, легких, печени и почках мышей трансгенной линии *NAT1*. Результаты представлены как  $M \pm m$  ( $n=6$ ). \*\* —  $p < 0,01$ ; \*\*\*\* —  $p < 0,0001$ ; ns —  $p > 0,05$ .

**Fig. 2.** Effect of hydrazine hydrochloride (ГСК) on the transcription of the *NAT1* transgene in the lymphoid tissue, lungs, liver, and kidneys of *NAT1*-humanized mice. The results are presented as  $M \pm m$  ( $n=6$ ). \*\* —  $p < 0.01$ ; \*\*\*\* —  $p < 0.0001$ ; ns —  $p > 0.05$ .

не был достигнут. Таким образом, токсикант вызывает повышение экспрессии трансгена *NAT1* гена человека в почках у трансгенных животных соответствующей линии *NAT1* мышей.

Двухфакторный анализ ANOVA выявил наличие статистически значимых различий между группами в эксперименте с линией трансгенных мышей, несущих ген человека *NAT*, по фактору «ГСК / физ. раствор» (рис. 3;  $F_{1,32}=205,9$ ;  $p < 0,0001$ ),

но не по фактору «ткань» ( $F_{3,32}=0,066$ ;  $p=0,9775$ ). Апостериорный тест Сидака показал, что токсикант статистически значительно подавил экспрессию гена *NAT2* во всех изученных тканях до уровней 2,2% в лимфоидной ткани ( $p < 0,0001$ ), 10,4% в легких ( $p < 0,0001$ ), 5,9% в печени ( $p < 0,0001$ ) и 5,0% в почках ( $p < 0,0001$ ) от соответствующих контролей. Таким образом, ГСК подавил транскрипцию гена *NAT2* человека во всех



**Рис. 3.** Эффект гидразина солянокислого (ГСК) на транскрипцию трансгена *NAT2* в лимфоидной ткани, легких, печени и почках мышей трансгенной линии *NAT2*. Результаты представлены как  $M \pm m$  ( $n=6$ ). \*\* —  $p < 0,01$ ; \*\*\*\* —  $p < 0,0001$ ; ns —  $p > 0,05$ .

**Fig. 3.** Effect of hydrazine hydrochloride (ГСК) on the transcription of the *NAT2* transgene in the lymphoid tissue, lungs, liver, and kidneys of *NAT2*-humanized mice. The results are presented as  $M \pm m$  ( $n=6$ ). \*\* —  $p < 0.01$ ; \*\*\*\* —  $p < 0.0001$ ; ns —  $p > 0.05$

исследованных тканях у трансгенных животных, несущих этот ген.

Двухфакторный анализ ANOVA выявил наличие статистически значимых различий в транскрипции гена *HMGB1mus* между группами в эксперименте с линией трансгенных мышей, несущих ген человека *NAT1*, как по фактору «ГСК / физ. раствор» (рис. 4;  $F_{1,24}=5,41$ ;  $p=0,028$ ), так и по фактору «ткань» ( $F_{2,24}=33,23$ ;  $p<0,0001$ ). Апостериорный тест Сидака показал, что токсикант статистически значимо в 3,9 раза увеличил экспрессию гена

*HMGB1mus* в почках ( $p<0,0001$ ) по сравнению с контролем. Хотя экспрессия гена *NAT1* в легких и печени была снижена у животных, получавших гидразин, по сравнению с контролем, уровень статистической значимости ( $p<0,05$ ) не был достигнут. Таким образом, ГСК вызывает повышение экспрессии гена *HMGB1mus* в почках у трансгенных животных, несущих ген человека *NAT1*.

Двухфакторный анализ ANOVA выявил наличие статистически значимых различий в транскрипции гена *HMGB1mus*

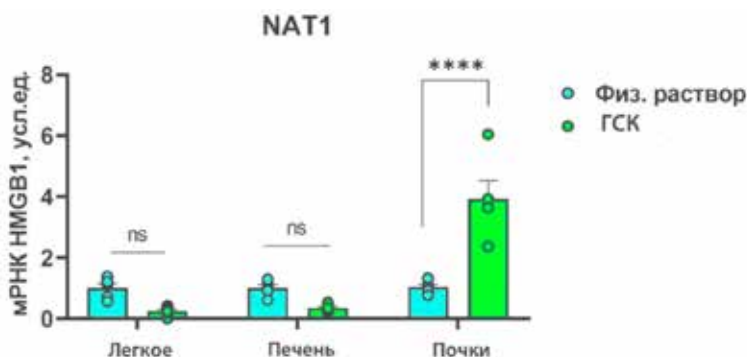


Рис. 4. Эффект гидразина солянокислого (ГСК) на транскрипцию гена мыши *Hmgbl* в легких, печени и почках мышей трансгенной линии *NAT1*. Результаты представлены как  $M\pm m$  ( $n=6$ ). \*\*\*\* —  $p<0,0001$ ; ns —  $p>0,05$ .

Fig. 4. Effect of hydrazine hydrochloride (GSK) on the transcription of the mouse *Hmgbl* gene in the lungs, liver, and kidneys of *NAT1*-humanized mice. The results are presented as  $M\pm m$  ( $n=6$ ). \*\*\*\* —  $p<0.0001$ ; ns —  $p>0.05$ .

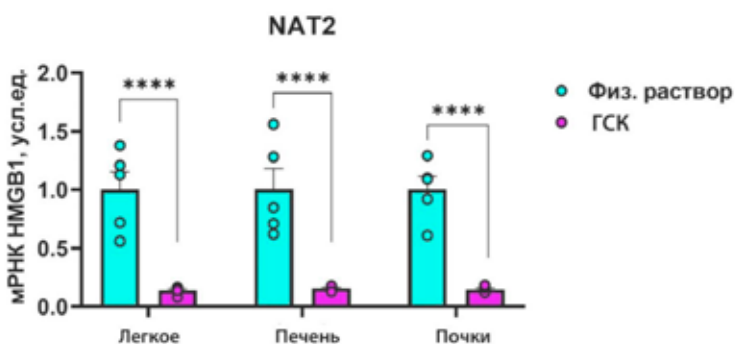
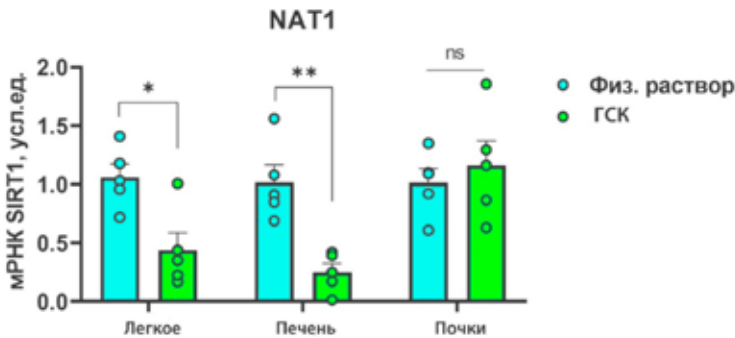


Рис. 5. Эффект гидразина солянокислого (ГСК) на транскрипцию гена мыши *Hmgbl* в легких, печени и почках мышей трансгенных линий *NAT2*. Результаты представлены как  $M\pm m$  ( $n=6$ ). \*\*\*\* —  $p<0,0001$ ; ns —  $p>0,05$ .

Fig. 5. Effect of hydrazine hydrochloride (GSK) on the transcription of the mouse *Hmgbl* gene in the lungs, liver, and kidneys of *NAT2*-humanized mice. The results are presented as  $M\pm m$  ( $n=6$ ). \*\*\*\* —  $p<0.0001$ ; ns —  $p>0.05$ .

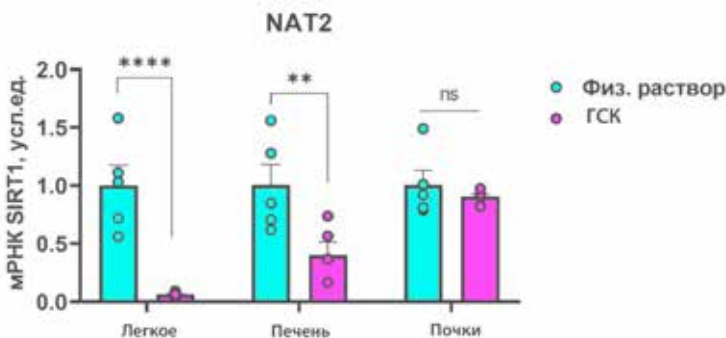
между группами в эксперименте с линией трансгенных мышей, несущих ген человека *NAT2*, по фактору «ГСК / физ. раствор» (рис. 5;  $F_{1,24}=94,51$ ;  $p<0,0001$ ), но не по фактору «ткань» ( $F_{2,24}=0,0055$ ;  $p=0,9945$ ). Апостериорный тест Сидака показал, что токсикант подавил транскрипцию гена *HMGB1mus* во всех исследованных тканях ( $p<0,0001$ ) по сравнению с контролем. Таким образом, токсикант ГСК подавил транскрипцию гена *HMGB1mus*

во всех исследованных тканях у трансгенных животных, несущих ген человека *NAT2*. Двухфакторный анализ ANOVA выявил наличие статистически значимых отличий в транскрипции гена *SIRT1mus* между группами в эксперименте с линией трансгенных мышей, несущих ген человека *NAT1*, как по фактору «ГСК / физ. раствор» (рис. 6;  $F_{1,24}=12,64$ ;  $p=0,0016$ ), так и по фактору «ткань» ( $F_{2,24}=5,487$ ;  $p=0,0109$ ). Апостериорный тест Сидака по



**Рис. 6.** Эффект гидразина солянокислого (ГСК) на транскрипцию гена мыши *SIRT1mus* в легких, печени и почках мышей трансгенных линий *NAT1*. Результаты представлены как  $M\pm m$  ( $n=6$ ). \* —  $p<0,05$ ; \*\* —  $p<0,01$ ; \*\*\*\* —  $p<0,0001$ ; ns —  $p>0,05$ .

**Fig. 6.** Effect of hydrazine hydrochloride (GSK) on the transcription of the mouse *Sirt1* gene in the lungs, liver, and kidneys of *NAT1*-humanized mice. The results are presented as  $M\pm m$  ( $n=6$ ). \* —  $p<0,05$ ; \*\* —  $p<0,01$ ; \*\*\*\* —  $p<0,0001$ ; ns —  $p>0,05$ .



**Рис. 7.** Эффект гидразина солянокислого (ГСК) на транскрипцию гена мыши *SIRT1mus* в легких, печени и почках мышей трансгенных линий *NAT2*. Результаты представлены как  $M\pm m$  ( $n=6$ ). \* —  $p<0,05$ ; \*\* —  $p<0,01$ ; \*\*\*\* —  $p<0,0001$ ; ns —  $p>0,05$ .

**Fig. 7.** Effect of hydrazine hydrochloride (GSK) on the transcription of the mouse *Sirt1* gene in the lungs, liver, and kidneys of *NAT2*-humanized mice. The results are presented as  $M\pm m$  ( $n=6$ ). \* —  $p<0,05$ ; \*\* —  $p<0,01$ ; \*\*\*\* —  $p<0,0001$ ; ns —  $p>0,05$ .

казал, что ГСК статистически значимо подавил экспрессию гена *SIRT1mus* в легких и печени ( $p < 0,0001$ ), но не в почках ( $p > 0,05$ ), по сравнению с контролем (физ. р-р). Таким образом, ГСК вызывает подавление экспрессии гена *SIRT1mus* в легких и печени, но не в почках у трансгенных животных, несущих ген человека *NAT1*.

Двухфакторный анализ ANOVA выявил наличие статистически значимых отличий в транскрипции гена *SIRT1* между группами в эксперименте с линией трансгенных мышей, несущих ген человека *NAT2*, как по фактору «ГСК / физ. раствор» (рис. 7;  $F_{1,24}=28,90$ ;  $p < 0,0001$ ), так и по фактору «ткань» ( $F_{2,24}=5,800$ ;  $p = 0,0088$ ). Апостериорный тест Сидака показал, что токсикант статистически значимо подавил экспрессию гена *SIRT1mus* в легких ( $p < 0,0001$ ) и печени ( $p < 0,01$ ), но не в почках ( $p > 0,05$ ), по сравнению с контролем. Таким образом, токсикант ГСК вызывает подавление экспрессии гена *SIRT1mus* в легких и печени, но не в почках у трансгенных животных, несущих ген человека *NAT2*.

### Обсуждение результатов

В настоящей работе впервые проведена оценка различий в метаболизме трансгенных гуманизированных животных линий *NAT1* и *NAT2* с гибридами F1 CBA/лас × C57BL/6Y, которые являются генетическим фоном для этих трансгенных линий. Для этого были получены значения тканевой флуоресценции коферментов НАДН и ФАД, а также ПОМ с использованием лазерного диагностического прибора «Лазма СТ». Не было выявлено существенных отличий в метаболизме трансгенных мышей, несущих ген человека *NAT1*, и гибридами. Однако трансгенные мыши, несущие ген человека *NAT2*, имели статистически значимо повышенный на 43% тканевый сигнал НАДН и сниженный на 47% сигнал ФАД, а также сниженный на 39% ПОМ по сравнению с контрольными мышами-

гибридами. С учетом того что все указанные показатели относятся в основном к показателям митохондриального метаболизма [16], полученные результаты указывают на то, что трансгенные гуманизированные мыши линии *NAT2* отличаются сниженным митохондриальным метаболизмом.

В настоящей работе впервые изучены эффекты ГСК как модельного токсиканта на транскрипцию ряда генов у мышей трансгенных линий *NAT1* и *NAT2*. У мышей трансгенной линии *NAT1* ГСК повышал транскрипцию генов *NAT1* и *HMGB1mus* в почках, но не в легких и печени, при этом подавлял транскрипцию гена *SIRT1mus* в легких и печени, не влияя на транскрипцию этого гена в почках. У мышей трансгенной линии *NAT2* ГСК подавлял транскрипцию генов *NAT2*, *HMGB1mus* и *SIRT1mus* во всех исследованных тканях, за исключением гена *SIRT1mus* в почках. В целом ГСК в основном подавляет транскрипцию исследованных генов у мышей обеих линий, но в значительно большей степени подавляет транскрипцию генов у мышей линии *NAT2*, чем у мышей линии *NAT1*, т.к. является субстратом фермента *NAT2* [1, 7]. Таким образом, из двух исследованных линий мыши *NAT2* более чувствительны к токсическому действию ГСК.

Анализ влияния ГСК на транскрипцию отдельных генов у мышей линии *NAT2* показывает, что его токсическое действие является сложным. Гидразин подавляет транскрипцию гена *NAT2* во всех исследованных тканях, включая лимфоидную ткань, печень, легкие и почки, до очень низких уровней. Учитывая, что N-ацетилтрансфераза, являющаяся продуктом гена *NAT2*, отвечает за элиминацию ГСК, подавление транскрипции этого гена может усиливать токсические эффекты из-за потери фермента, его выводящего. Этот эффект подавления транскрипции гена, кодирующего *NAT2*, субстратом неизвестен из научной литературы.

Кроме того, ГСК подавил транскрипцию гена *HMGB1*, отвечающего за продукцию белка HMGB1, у мышей трансгенной линии NAT2 во всех исследованных тканях. HMGB1 обладает свойствами ядерного шаперона и отвечает в ядре клетки за множество процессов, от транскрипции генов до репарации ДНК [15]. В этом контексте подавление транскрипции HMGB1 гидразином является генотоксическим эффектом.

Еще одним генотоксическим эффектом является ингибирование транскрипции гена *SIRT1* в печени и легких, т.к. этот ген кодирует продукцию сиртуина 1, ядерной гистоновой деацетилазы III класса, модулирующей активность транскрипционных факторов, в частности ядерного фактора kB (NF-kB) [23], и гистонов H3 и H4 [24]. Известно, что SIRT1 подавляет активацию NF-kB, тем самым снижая воспаление в тканях [21]. В этом контексте подавление ГСК транскрипции SIRT1 в печени хорошо согласуется с известной гепатотоксичностью гидразинов [11].

Хотя ранее считалось, что NAT2 не имеет эндогенных субстратов, в 2020 г. был выявлен целый ряд таких эндогенных субстратов, основным из которых является полиамин спермидин [12], который играет важную роль в фундаментальных клеточных процессах, таких как пролиферация, экспрессия генов, аутофагия, снижение воспаления и реакция на стресс [17]. Спермидин является важнейшим активатором окислительного фосфорилирования и усилителем иммунного ответа Т-клеток [10]. Механизм усиления иммунного ответа включает конъюгацию спермидина с митохондриальным трифункциональным белком [10], который прикреплен к внутренней мембране митохондрий и катализирует три из четырех стадий  $\beta$ -окисления жирных кислот, поставляя восстановительные эквиваленты в респираторную цепь митохондрий через физическую ассоциацию с ком-

плексом I митохондрий [22]. Эта конъюгация ведет к повышению биоэнергетики Т-клеток в терминах поглощения кислорода и синтеза АТФ и значимому усилению митохондриального метаболизма [10]. NAT2 ацетилирует спермидин, являясь отрицательным регулятором метаболических и иммунных эффектов спермидина. Снижение транскрипции гена *NAT2* в ответ на действие ГСК, выявленное в настоящей работе, указывает на еще один токсический эффект, вызванный его действием на регуляцию метаболизма и клеточного иммунного ответа.

## Выводы

Настоящая работа впервые показывает, что трансгенные гуманизированные мыши линии NAT2 пригодны для моделирования основных токсических эффектов класса гидразинов. Модель чрезвычайно чувствительна к токсичности гидразина. ГСК подавляет транскрипцию гена *NAT2* во всех исследованных тканях, включая лимфоидную ткань, печень, легкие и почки, до очень низких уровней, что усиливает токсические эффекты ГСК из-за потери фермента, его выводящего. Ингибирование ГСК транскрипции гена *HMGB1*, отвечающего за продукцию ядерного белка-шаперона, моделирует токсикогенетические эффекты гидразина, связанные с транскрипцией генов и репарацией поврежденной ДНК. Ингибирование транскрипции гена *SIRT1*, отвечающего за модуляцию активности широкого ряда транскрипционных факторов, включая NF-kB, и гистонов, моделирует токсикогенетические эффекты гидразина, связанные с воспалением, в частности, хорошо известный эффект гепатотоксичности, ограничивающий применение производных гидразина в качестве лекарственных средств.

Полученная фармакогенетическая экстраполяционная платформа позволяет прогнозировать и осуществлять направ-

ленный скрининг средств, влияющих на N-ацетилтрансферазные механизмы с помощью трансгенных линий мышей линии NAT2, а также определять различия в действии быстрых и медленных ацетиляторов в отношении субстратов NAT2.

Настоящая работа показывает, что исследование и скрининг новых перспективных производных гидразина, применяемых в фармации и промышленности, целесообразно проводить на трансгенных мышках гуманизированной линии NAT2.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Бугаев П.А., Антушевич А.Е., Рейнюк В.Л., Башарин В.А., Зацепин В.В. Гидразин и его производные: токсикологическая характеристика. Сетевое научное издание. *Современные проблемы науки и образования*. 2017;4. [Bugaev P.A., Antushevich A.E., Reinyuk V.L., Basharin V.A., Zatsepin V.V. [Gidrazin i ego proizvodniye: toksikologicheskaya harakteristika [Hydrazine and its derivatives: toxicological characteristics]. *Setevoye nauchnoye izdaniye. Sovremenniyе problemy nauki i obrazovaniya* [Network scientific publication. Modern problems of science and education]. 2017;4. (In Russian)].
2. Казаков А.В. Оптимизация гепатопротективной терапии у больных туберкулезом органов дыхания с учетом оценки генетического полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с помощью биологических чипов: дис. ... д.м.н. М.: ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), 2021:176. [Kazakov A.V. Optimizatsiya gepatoprotektivnoy terapii u bolnykh tuberkulezom organov dykhaniya s uchedom otsenki geneticheskogo polimorfizma genov fermentov biotransformatsii ksenobiotikov s pomoshchyu biologicheskikh chipov [Optimization of Hepatoprotective Therapy in Patients with Respiratory Tuberculosis, Taking into Account the Assessment of Genetic Polymorphism of Xenobiotic Biotransformation Enzyme Genes Using Biological Chips]. *Dissertation ... Dr. Sci. (Med.)*. Moscow: I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russian Federation (Sechenov University), 2021:176. (In Russian)].
3. Каркищенко В.Н., Дуля М.С., Хвостов Д.В., Петрова Н.В., Пронина Г.И., Корягина Н.Ю., Ревякин А.О. Регуляция активности систем ацетилирования в процессах канцерогенеза: от фенотипа к эпигенетике. *Биомедицина*. 2016;4:4–21. [Karkischenko V.N., Dulya M.S., Khvostov D.V., Petrova N.V., Pronina G.I., Koryagina N.Yu. [Regulyaciya aktivnosti sistem acetilirovaniya v processah kancerogeneza: ot fenotipa k epigenetike [Regulation of acetylation system activity in carcinogenesis: from phenotype to epigenetics]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2016;4:4–21. (In Russian)].
4. Каркищенко В.Н., Рябых В.П., Каркищенко Н.Н., Дуля М.С., Езерский В.А., Колоскова Е.М., Лазарев В.Н., Максименко С.В., Петрова Н.В., Столярова В.Н., Трубицина Т.П. Молекулярно-генетические аспекты технологии получения трансгенных мышей с интегрированными генами N-ацетилтрансферазы (NAT1 и NAT2) человека. *Биомедицина*. 2016;1:4–17. [Karkischenko V.N., Ryabykh V.P., Karkischenko N.N., Dulya M.S., Ezer-skiy V.A., Koloskova E.M., Lazarev V.N., Maksimenko S.V., Petrova N.V., Stolyarova V.N., Trubitsyna T.P. [Molekulyarno-geneticheskie aspekty tehnologii polucheniya transgennih mishey s integrirovannymi genami N-acetiltransferazy (NAT1 i NAT2) cheloveka [Molecular and genetic aspects of the technology for producing transgenic mice with integrated human N-acetyltransferase (NAT1 and NAT2) genes]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2016;1:4–17. (In Russian)].
5. Каркищенко Н.Н., Капанадзе Г.Д., Петрова Н.В. Новая модель оценки избирательной токсичности антибластомных средств на трансгенных мышках с генами Nat1hom человека. *Биомедицина*. 2015;3:4–19. [Karkischenko N.N., Kapanadze G.D., Petrova N.V. Novaya model ocenki izbiratelnoy toksichnosti antiblastomnyh sredstv na transgennyh myshah s genami Nat1hom cheloveka [New Model for Assessing the Selective Toxicity of Antineoplastic Agents on Transgenic Mice with Human Nat1hom Genes]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2015;3:4–19. (In Russian)].
6. Каркищенко Н.Н., Рябых В.П., Каркищенко В.Н., Колоскова Е.М. Создание гуманизированных мышей для фармакотоксикологических исследований (успехи, неудачи и перспективы). *Биомедицина*. 2014;3:4–22. [Karkischenko N.N., Ryabykh V.P., Karkischenko V.N., Koloskova E.M. Sozdanie gumanizirovannyh myshej dlya farmakotoksikologicheskikh issledovaniy (uspehi, neudachi i perspektivy) [Creation of humanized mice for pharmacotoxicological research (successes, failures, and prospects)]. *Biomedicina [Journal Biomed]*. 2014;3:4–22. (In Russian)].
7. Краснова Н.М., Николаев В.М. Изониазид-индуцированное поражение печени: фармакогенетические аспекты. *Российский журнал персонализированной медицины*. 2022;2(3):38–51. [Krasnova N.M., Nikolaev V.M. Isoniazid-inducirovannoye porazhenie

- pecheni: farmakogeneticheskie aspekty [Isoniazid-induced liver damage: pharmacogenetic aspects]. *Russian J. of Personalized Medicine*. 2022;2(3):38–51. (In Russian)].
8. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*. Под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М.: Профиль-2С, 2010:358. [*Rukovodstvo po laboratornym zhivotnym i alternativnym modelyam v biomeditsinskikh issledovaniyakh* [Guide to Laboratory Animals and Alternative Models in Biomedical Research]. Ed. by N.N. Karkischenko, S.V. Grachev. Moscow: Profil-2C Publ., 2010:358. (In Russian)].
  9. Степанова О.И., Клёсов Р.А., Семёнов Х.Х., Помыткин И.А., Каркищенко В.Н. Новый диагностический подход для оценки тканевых изменений при сахарном диабете типа 2 у мышей с помощью прибора «ЛАЗМА СТ». *Биомедицина*. 2022;18(3):37–44. [Stepanova O.I., Klesov R.A., Semenov Kh.Kh., Pomytkin I.A., Karkischenko V.N. Novij diagnosticheskij podhod dlya ocenki tkanevyh izmenenij pri saharnom diabete tipa 2 u mishey s pomoshchyu pribora «LAZMA ST» [A new diagnostic approach for assessing tissue changes in type 2 diabetes mellitus in mice using the LASMA ST device]. *Biomedicina* [Journal Biomed]. 2022;18(3):37–44. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-18-3-37-44.
  10. Al-Habshi M., Chamoto K., Matsumoto K., Nomura N., Zhang B., Sugiura Y., Sonomura K., Maharani A., Nakajima Y., Wu Y., Nomura Y., Menzies R., Tajima M., Kitaoka K., Haku Y., Delghandi S., Yurimoto K., Matsuda F., Iwata S., Ogura T., Fagarasan S., Honjo T. Spermidine activates mitochondrial trifunctional protein and improves antitumor immunity in mice. *Science*. 2022;378(6618):eabj3510. DOI: 10.1126/science.abj3510.
  11. Badrinath M., Chen R.J., John S. Isoniazid Toxicity. *StatPearls Publ.*, 2025.
  12. Conway L.P., Rendo V., Correia M.S.P., Bergdahl I.A., Sjöblom T., Globisch D. Unexpected Acetylation of Endogenous Aliphatic Amines by Arylamine N-Acetyltransferase NAT2. *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* 2020;59(34):14342–14346. DOI: 10.1002/anie.202005915.
  13. Gutiérrez-Virgen J.E., Piña-Pozas M., Hernández-Tobias E.A., Taja-Chayeb L., López-González M.L., Meraz-Ríos M.A., Gómez R. NAT2 global landscape: Genetic diversity and acetylation statuses from a systematic review. *PLoS One*. 2023;18(4):e0283726. DOI: 10.1371/journal.pone.0283726.
  14. Hein D.W., Millner L.M. Arylamine N-acetyltransferase acetylation polymorphisms: paradigm for pharmacogenomic-guided therapy- a focused review. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2021;17(1):9–21. DOI: 10.1080/17425255.2021.1840551.
  15. Kang R., Chen R., Zhang Q., Hou W., Wu S., Cao L., Huang J., Yu Y., Fan X.G., Yan Z., Sun X., Wang H., Wang Q., Tsung A., Billiar T.R., Zeh H.J. 3rd, Lotze M.T., Tang D. HMGB1 in health and disease. *Mol. Aspects Med*. 2014;40:1–116.
  16. Kolenc O.I., Quinn K.P. Evaluating Cell Metabolism Through Autofluorescence Imaging of NAD(P)H and FAD. *Antioxid Redox Signal*. 2019;30(6):875–889. DOI: 10.1089/ars.2017.7451.
  17. Madeo F., Eisenberg T., Pietrocola F., Kroemer G. Spermidine in health and disease. *Science*. 2018;359(6374):eaan2788. DOI: 10.1126/science.aan2788.
  18. Mahajan R., Tyagi A.K. Pharmacogenomic insights into tuberculosis treatment shows the NAT2 genetic variants linked to hepatotoxicity risk: a systematic review and meta-analysis. *BMC Genom Data*. 2024;25(1):103. DOI: 10.1186/s12863-024-01286-y.
  19. Sim E., Abuhammad A., Ryan A. Arylamine N-acetyltransferases: from drug metabolism and pharmacogenetics to drug discovery. *Br. J. Pharmacol*. 2014;171(11):2705–2725. DOI: 10.1111/bph.12598.
  20. Teixeira S., Castanheira E.M.S., Carvalho M.A. Hydrazides as Powerful Tools in Medicinal Chemistry: Synthesis, Reactivity, and Biological Applications. *Molecules*. 2025;30(13):2852. DOI: 10.3390/molecules30132852.
  21. Wang M., Zhao J., Chen J., Long T., Xu M., Luo T., Che Q., He Y., Xu D. The role of sirtuin1 in liver injury: molecular mechanisms and novel therapeutic target. *PeerJ*. 2024;12:e17094. DOI: 10.7717/peerj.17094.
  22. Wang Y., Mohsen A.W., Mihalik S.J., Goetzman E.S., Vockley J. Evidence for physical association of mitochondrial fatty acid oxidation and oxidative phosphorylation complexes. *J. Biol. Chem*. 2010;285(39):29834–29841. DOI: 10.1074/jbc.M110.139493.
  23. Yang Y., Liu Y., Wang Y., Chao Y., Zhang J., Jia Y., Tie J., Hu D. Regulation of SIRT1 and Its Roles in Inflammation. *Front Immunol*. 2022;13:831168. DOI: 10.3389/fimmu.2022.831168.
  24. Yang Y., Peng W., Su X., Yue B., Shu S., Wang J., Fu C., Zhong J., Wang H. Epigenomics Analysis of the Suppression Role of SIRT1 via H3K9 Deacetylation in Preadipocyte Differentiation. *Int. J. Mol. Sci*. 2023;24(14):11281. DOI: 10.3390/ijms241411281.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Петрова Наталья Владимировна\*, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;  
e-mail: [m-sklad@yandex.ru](mailto:m-sklad@yandex.ru)

Natalia V. Petrova\*, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;  
e-mail: [m-sklad@yandex.ru](mailto:m-sklad@yandex.ru)

**Каркищенко Николай Николаевич**, д.м.н., проф., академик РАН, чл.-корр. РАН, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;

**e-mail:** [niknik2808@yandex.ru](mailto:niknik2808@yandex.ru)

**Nikolay N. Karkischenko**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. of the Russian Academy of Rocket and Artillery Sciences, Corr. Member of the Russian Academy of Sciences, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

**e-mail:** [niknik2808@yandex.ru](mailto:niknik2808@yandex.ru)

**Клёсов Роман Алексеевич**, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;

**e-mail:** [klesrom@mail.ru](mailto:klesrom@mail.ru)

**Roman A. Klesov**, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;

**e-mail:** [klesrom@mail.ru](mailto:klesrom@mail.ru)

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author