

DOI 10.31718/2077-1096.23.2.2.37

УДК 616.24-001: 616.23: 616.092.9: 57.017.35: 612.29

Молочек Ю.А.<sup>1</sup>, Савосько С.І.<sup>2</sup>, Утко Н.О.<sup>3</sup>, Макаренко О.М.<sup>4</sup>**ВПЛИВ ЧАСТКОВОГО СТЕНОЗУ ТРАХЕЇ НА АНТИОКСИДАНТНУ СИСТЕМУ У МОЛОДИХ ЩУРІВ**<sup>1</sup>Національна дитяча спеціалізована лікарня «Охматдит», м. Київ<sup>2</sup>Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ<sup>3</sup>Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України, м. Київ<sup>4</sup>Міжрегіональна Академія управління персоналом, м. Київ

*Вступ. Останнім часом надзвичайно зростає увага дослідників і клініцистів до проблеми комплексної гіпоксичної травми різних органів і систем цілісного організму. Особливо це стосується клітин найбільш чутливих до дефіциту кисню, до яких слід віднести, в першу чергу, тканини мозку легень, деяких органів шлунково-кишкового тракту, системного імунітету, тощо. Ця проблема стає ще більш важливою і актуальною, коли це питання стосується впливу гіпоксії на клітини статевонезрілих ссавців і людини, а також можливостей лікування деяких гострих гіпоксичних станів. До їх числа відноситься ларингомаляція і стрідор у дітей до першого року життя, а також дослідження складних і невирішених питань в експериментальній клінічній практиці. Мета роботи. Дослідити зміни активності ферментів прооксидантно-антиоксидантної системи клітин легеневої тканини і центральної нервової системи (цереброкортексу) при моделюванні експериментальної патології дихання (накладання лігатури на верхній відділ трахеї щурів), особливостей їх відновлення та динаміка цього процесу після хірургічного видалення лігатури. Матеріали та методи. Дослідження виконані на 37 статевонезрілих щурах-самцях лінії Вістар віком 25-28 днів. Всі тварини були поділені на 4 групи: 1-ша група – контрольні (інтактні) щури, 2-га група – щури з експериментальним моделюванням стенозу трахеї, яких на 7 добу після операції виводили з експерименту; 3-тя група – щури з експериментальним моделюванням стенозу трахеї, яких на 21 добу після операції виводили з експерименту; 4-та група – щури, яким проводили видалення лігатури з трахеї на 7 добу після операції та виведення їх із досліду на 21 добу. Вивчали наступні біохімічні показники: вміст малонового діальдегіду, активність каталази, глутатіон пероксидази, глутатіон редуктази та супероксиддисмутази. Результати. Встановлено, що вміст малонового діальдегіду та активність антиоксидантних ферментів у тканині легень та головного мозку щурів зростали на 7 і 21 добу на тлі часткового стенозу трахеї у щурів. При відновленні вентиляції дихальних шляхів у цих тварин не призводило до нормалізації досліджуваних показників до рівня контрольних значень. Висновки. Отримані результати свідчать, про відсутність повного відновлення порушеного прооксидантно-антиоксидантного балансу в клітинах легень і центральної нервової системи, навіть через 2 тижні після ліквідації компресійного впливу на трахею і відновлення гіпоксичних порушень дихальної системи, яке є частковим. Ці дані свідчать про необхідність продовження лікування пацієнтів із використанням фармакологічних антиоксидантних засобів після проведення хірургічного лікування. Наразі цей аспект проблеми залишається відкритим.*

Ключові слова: частковий стеноз трахеї, прооксидантно-антиоксидантна система, легені, головний мозок, статевонезрілі щури.

**Вступ**

Стеноз трахеї є доволі частою патологією дихальних шляхів у новонароджених дітей, яка може призводити до летальних випадків у пацієнтів і наразі не може бути вирішена без виконання хірургічного втручання. Найпоширенішою причиною порушень вентиляції дихальних шляхів є травма, яка може бути наслідком тривалої ендотрахеальної інтубації, хірургічних втручань, травми шиї або вроджена патологія. Зменшення просвіту трахеї понад 40% призводить до тяжких наслідків, в тому числі гіпоксії тканин [1,2]. Через вплив цього патогенетичного чинника у новонароджених можуть виникнути проблеми з розвитком ускладнень і захворювань легень і ЦНС [3]. Тому вирішення цієї проблеми вимагає всебічного експериментально-клінічного дослідження.

Гіпоксія є важливим чинником різних патологічних процесів, що розвивається в легенях і прилеглих тканинах, і як наслідок, призводить до порушення тиску в легеневій артерії [3], пошкодження епітелію [4], набряку [5,6] та запалення

[7]. Дефіцит кисню породжує утворення реактивних форм кисню, які залучені у механізми виникнення та розвитку низки захворювань, у тому числі патологій дихальної системи [8]. Окиснювальний стрес породжує накопичення продуктів переокиснення ліпідів, які в свою чергу є самостійними токсинами для клітин легень. Так, надходження 12% кисню впродовж 48 годин призводить до збільшення ТБК-реагуючих продуктів на 75% [9]. Клітини уражених органів реагують на продукцію цитотоксичних вільних радикалів, пероксидів і підвищують експресію ферментів антиоксидантного захисту, зокрема каталази, супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази (ГП) [10]. Це розглядається як фізіологічна реакція захисту на нейтралізацію вільних радикалів та виснаження неферментативних ланок захисту, зокрема, глутатіонової системи [11]. При цьому постопераційне відновлення вентиляції легень позначається у зменшенні рівні вільних радикалів та продуктів пероксидації [12].

Ранні дослідження гіпоксії повідомляють про зниження окисного стресу легень після віднов-

лення оксигенації. Розвиток вторинного пошкодження інших тканин і органів залишається недостатньо вивченим. Тому метою цього дослідження було вивчення реакції антиоксидантної системи легень і головного мозку щурів на тлі часткового стенозу трахеї та після посткомпресійного відновлення вентиляції системи дихання у дослідних тварин.

#### Мета дослідження

Дослідити зміни активності ферментів прооксидантно-антиоксидантної системи клітин легеневої тканини і ЦНС (цереброкортексу) при моделюванні експериментальної патології дихання (накладання лігатури на верхній відділ трахеї щурів), особливостей їх відновлення та динаміка цього процесу після хірургічного видалення лігатури.

#### Матеріали та методи дослідження

Досліди *in vivo* проведено на 37 статевонезрілих щурах-самцях лінії Вістар віком 25-28 днів та масою тіла 40-55 г. Тварини одержували з віварію Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, які утримувалися в стандартних умовах з природнім режимом освітлення та перебували на повноцінному раціоні харчування. Проведені дослідження виконані із дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986 р.) та Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (2006 р.).

Тварини відповідно до умов експерименту були поділені на 4 групи: 1-ша група – контрольні (інтактні) щури (n=10); 2-га група – щури з експериментальним моделюванням стенозу трахеї, яких на 7 добу після операції виводили з експерименту (n=10); 3-тя група – щури з експериментальним моделюванням стенозу трахеї, яких на 21 добу після операції виводили з експерименту (n=9); 4-та група – щури, яким проводили видалення лігатури з трахеї на 7 добу після операції та виведення їх з досліду на 21 добу (n=8).

Експериментальне моделювання стенозу трахеї у щурів здійснювали шляхом накладання лігатури (вікриловий шов 7-0, «Ethicon», США) на рівні верхньої третини трахеї, яка понад 35% обмежувала її просвіт. Доступ до органу дихальної системи у щурів для проведення маніпуляцій, а також їх забій проводився під ефірним наркозом.

Стан вільнорадикального окиснення ліпідів у тканині легень і головного мозку визначали за вмістом малонового діальдегіду (МДА) (нмоль/мг) методом Mihara M, Uchiyama M. [13]. Ступінь активності антиоксидантної системи оцінювали за активність ферментів: каталази (мкмоль/г×хв) за методом Aebi H. [14], глутатіон редуктази (ГР) (нмоль/г×хв) і ГП (мкмоль/г×хв) за

методом Paglia D.E. [15], СОД (у.о./г×хв) за методом Mirsa H.P. [16]. Вміст загального білка у досліджуваних зразках тканини визначали за методом Lowry O.H. [17]. Вміст зазначених біохімічних показників вимірювали колориметрично.

Статистичну обробку отриманих даних проводили на ПК за допомогою програми Origin Lab (ver. 8.0). Міжгрупові відмінності оцінено за однофакторним дисперсійним аналізом (one-way ANOVA).  $P < 0,05$  вважали статистично достовірним. Дані у таблиці представлено у вигляді  $M \pm SEM$ .

#### Результати дослідження та їх обговорення

У таблиці 1 наведено результати біохімічних досліджень щодо рівня МДА та активності ферментів антиоксидантної системи у тканині легень та головного мозку після часткового стенозу трахеї та подальшого зняття лігатури з цього органу. МДА характеризує ступінь пошкодження тканин на тлі гіпоксії. Як видно з таблиці 1, на 7 добу після накладання лігатури, відмічали збільшення рівня МДА у тканині легень майже у 2,2 рази (група 2), а на 21 добу – зменшення цього показника на 36,3% (група 3). Після зняття лігатури у тварин групи 4 вміст МДА не змінився по відношенню до групи 3. В той час, як у тканині головного мозку щурів виявлено лише тенденцію до підвищення його вмісту у тварин всіх дослідних груп (табл. 2).

В результаті досліджень ферментативної ланки антиоксидантної системи було встановлено, що активність каталази як в легенях, так і головному мозку у всіх експериментальних групах тварин достовірно збільшилась (табл. 1,2). При цьому, слід зазначити, що різниці в активності ферменту у тканині легень щурів, у яких було часткове обмежене дихання впродовж 7 або 21 дня, не виявлено. Проте, відновлення дихання у тварин призвело навіть до збільшення цього показника у головному мозку (на 8,7%,  $P < 0,05$ ). При вивченні активності ГР у зазначених тканинах виявлено тенденцію її підвищення лише у легенях (табл. 1). Дещо інший характер змін виявляли при вивченні активності ГП у досліджуваних тканинах. Так, у легенях на 21 добу спостерігали збільшення цього показника у 1,6 рази ( $P < 0,05$ ), тоді як у головному мозку ці зміни не відмічали. Активність СОД достовірно підвищувалась на 21 добу (в середньому у 1,6 рази,  $P < 0,05$ ) у тканині легень, а у головному мозку – на 7 і 21 добу (майже у 1,5 рази,  $P < 0,05$ ). Після зняття лігатури (група 4) відповідь антиоксидантної системи суттєво не змінилась у тканині головного мозку, в той час як у тканині легень виявлено зменшення цього показника порівняно з групою 2 (табл. 1).

Таблиця 1.  
Вміст продуктів антиоксидантної системи організму у тканині легень при відтворенні в експерименті часткового стенозу трахеї у статевонезрілих щурів (M±SEM, n=8-10)

Номер групи	Умови експерименту	Біохімічні показники				
		Малоновий Діальдегід (нмоль/мг)	Каталаза (мкмоль/г×хв)	Глутатіон-редуктаза (нмоль/г×хв)	Глутатіон-пероксидаза (мкмоль/г×хв)	Супероксид-дисмутаза (у.о./г×хв)
1	Інтактний контроль	0,67±0,21	4,97±0,15	6,31±0,80	4,70±0,36	3,56±0,4
2	Стеноз трахеї (7 діб)	1,46±0,41*	5,69±0,45*	7,16±1,18	5,34±0,72	3,40±1,22
3	Стеноз трахеї (21 доба)	0,93±0,15#	5,69±0,51*	8,49±1,28	7,57±0,52*#	5,89±0,45*#
4	Стеноз трахеї, ліквідація лігатури (7 доба), виведення з експерименту (21 доба)	0,93±0,34	5,28±0,31	8,55±1,41	7,72±0,56*	5,57±0,57*#

Примітки: 1. \*– $p < 0,05$  – достовірно по відношенню до інтактного контролю (група 1);  
2. #– $p < 0,05$  – достовірно по відношенню до групи 2.

Таблиця 2.  
Вміст продуктів антиоксидантної системи організму у тканині головного мозку при відтворенні в експерименті часткового стенозу трахеї у статевонезрілих щурів (M±SEM, n=8-10)

Номер групи	Умови експерименту	Біохімічні показники				
		Малоновий Діальдегід (нмоль/мг)	Каталаза (мкмоль/г×хв)	Глутатіон-редуктаза (нмоль/г×хв)	Глутатіон-пероксидаза (мкмоль/г×хв)	Супероксид-дисмутаза (у.о./г×хв)
1	Інтактний контроль	0,76±0,25	2,06±0,21	5,00±0,30	2,43±0,21	3,80±0,26
2	Стеноз трахеї (7 діб)	0,89±0,43	2,83±0,08*	5,50±0,26	2,86±0,15	5,54±0,37*
3	Стеноз трахеї (21 доба)	1,00±0,26	3,08±0,12*	6,03±0,71	2,83±0,25	5,23±0,55*
4	Стеноз трахеї, ліквідація лігатури (7 доба), виведення з експерименту (21 доба)	1,03±0,32	3,35±0,24*#	5,77±0,19	2,89±0,30	4,65±0,25

Примітки: 1. \*– $p < 0,05$  – достовірно по відношенню до інтактного контролю (група 1);  
2. #– $p < 0,05$  – достовірно по відношенню до групи 2.

Таким чином, отримані результати свідчать, що при моделюванні стенозу трахеї спостерігається виражена реакція обох ланок антиоксидантної системи організму, зокрема, ферментативної і неферментативної її компартментах. Відомо, що найбільш дослідженими ферментами першої системи є СОД, каталаза, ГП та ГР [18]. Глутатіон є головним ендogenousним низькомолекулярним антиоксидантом другої системи. На тлі гіпоксії відбувається активація цих систем для утилізації продукованих пошкодженими клітинами вільних радикалів та продуктів їх наступного окиснення, зокрема МДА, дієнових кон'югатів та інших. Низькомолекулярний глутатіон реагує з вільними радикалами (O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, пероксинітрил) і тому його рівень швидко зменшується. У відповідь на це активується ферментативна ланка, яка спрямована на безпосередню утилізацію активних форм кисню та відновлення рівня глутатіону. Ці закономірності було виявлено у даному дослідженні на моделі часткового стенозу трахеї. При цьому слід підкреслити, що після моделювання порушеної вентиляції легень різко зростає рівень МДА у цій тканині. Таким чином, спостерігається розвиток перекисного окиснення ліпідів клітинних мембран легень і їх деструкція. Цей показник зменшується, але залишається вірогідно підвищеним, по відношенню до показника контрольної групи тварин. Усі основні ферментативні ланки антиоксидантної системи у різній мірі відреагували на частковий стеноз трахеї. Активність каталази була підвищеною впродовж усього терміну експерименту, тоді як функціона-

льне залучення ГП і СОД було відтермінованим.

При вивченні антиоксидантної системи головного мозку була встановлена наступна динаміка досліджених показників: спостерігається тенденція збільшення рівня МДА та активація каталази і СОД. Аналіз отриманих даних вказує на реакцію клітин у відповідь на пошкодження через протекторну дію антиоксидантної системи мозку. При цьому повного відновлення досліджуваних показників після зняття лігатури з трахеї не було виявлено. Встановлено, що на інших моделях гіпоксії мозку під час проведення реперфузії та реоксигенації мозку в його тканинах накопичуються продукти окисної модифікації молекул. Це призводить до подальшого пошкодження і прогресуючих структурних змін в ЦНС [19]. Отже, клітини можна вважати чутливими до рівня оксигенації і навіть в тканинах мозку і легень статевонезрілих тварин [20]. Дефіцит кисню запускає ланцюг реакцій окиснення молекул, який можна охарактеризувати як стадія окисного стресу. У відповідь на пошкодження компенсаторно пристосувальних реакцій тканин на гіпоксію, активуються системи антиоксидантного захисту, які слід розглядати як терапевтичні мішені у боротьбі з захворюваннями легень та вродженими вадами розвитку верхніх дихальних шляхів у новонароджених.

### Висновки

На тлі експериментального відтвореного стандартного стенозу трахеї статевонезрілих щурів підвищується рівень МДА у тканині легень і на-

віть після проведення хірургічного втручання. Це є наслідком пошкодження клітин на тлі різко зміненого прооксидантно-антиоксидантного балансу у тканинах піддослідних тварин. Активація ферментативної ланки антиоксидантної системи тканин легень і головного мозку є важливим ендогенним захисним механізмом у боротьбі з окиснювальним стресом. Реакція антиоксидантної системи головного мозку вказує на розвиток компенсаторно-приспосувальної реакції організму у відповідь на вторинне пошкодження органів як на тлі часткового стенозу трахеї, так і після зняття лігатури, при відновленні вентиляції дихальних шляхів. Виявлені порушення свідчать про незавершеність лікування експериментальної моделі стрідора і необхідності включення в комплексне реабілітаційне лікування антиоксидантних фармакологічних препаратів.

### References

1. Patnaik S, Zacharias G, Jain MK, et al. Etiology, clinical profile, evaluation, and management of stridor in children. *Indian J Pediatr.* 2021 Nov;88(11):1115-20.
2. Shen Y, Li K, Chen P, et al. Asphyxia caused by delayed subglottic stenosis after neck trauma. *Forensic Sci Med Pathol.* 2021 Sep;17(3):481-5.
3. Jain D, Jain S. Management of stridor in severe laryngomalacia: A Review Article. *Cureus.* 2022 Sep 26;14(9):e29585.
4. Bouvry D, Planès C, Malbert-Colas L, et al. Hypoxia-induced cytoskeleton disruption in alveolar epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2006 Nov;35(5):519-27.
5. Appelt P, Gabriel P, Bötter C, et al. Left ventricular depression and pulmonary edema in rats after short-term normobaric hypoxia: effects of adrenergic blockade and reduced fluid load. *Pflügers Arch.* 2021 Nov;473(11):1723-35.
6. Alam P, Agarwal G, Kumar R, et al. Susceptibility to high-altitude pulmonary edema is associated with circulating miRNA levels under hypobaric hypoxia conditions. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2020 Aug 1;319(2):L360-8.

7. Chen T, Yang C, Li M, Tan X. Alveolar hypoxia-induced pulmonary inflammation: from local initiation to secondary promotion by activated systemic inflammation. *J Vasc Res.* 2016;53(5-6):317-29.
8. Luo Z, Tian M, Yang G, et al. Hypoxia signaling in human health and diseases: implications and prospects for therapeutics. *Signal Transduct Target Ther.* 2022 Jul 7;7(1):218.
9. Reddy AK, Kimball RE, Omaye ST. Selected pulmonary biochemical and hematological changes produced by prolonged hypoxia in the rat. *Exp Mol Pathol.* 1986 Dec;45(3):336-42.
10. Sommer N, Strielkov I, Pak O, Weissmann N. Oxygen sensing and signal transduction in hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Eur Respir J.* 2016 Jan;47(1):288-303.
11. García-de-la-Asunción J, García-Del-Olmo E, Galan G, et al. Glutathione oxidation correlates with one-lung ventilation time and PO<sub>2</sub>/FIO<sub>2</sub> ratio during pulmonary lobectomy. *Redox Rep.* 2016 Sep;21(5):219-26.
12. Wada H, Hirata T, Decampos KN, et al. Effect of the combination of human thioredoxin and L-cysteine on ischemia-reperfusion injury in isolated rat lungs. *Eur Surg Res.* 1995;27(6):363-70.
13. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem.* 1978 May;86(1):271-8.
14. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 1984;105:121-6.
15. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967 Jul;70(1):158-69.
16. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem.* 1972 May 25;247(10):3170-5.
17. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951 Nov;193(1):265-75.
18. He L, He T, Farrar S, et al. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. *Cell Physiol Biochem.* 2017;44(2):532-53.
19. Yaman OM, Guner I, Guntas G, et al. Protective effect of thymosin  $\beta_4$  against abdominal aortic ischemia-reperfusion-induced acute lung injury in rats. *Medicina (Kaunas).* 2019 May 22;55(5):187.
20. Perez M, Robbins ME, Revhaug C, Saugstad OD. Oxygen radical disease in the newborn, revisited: Oxidative stress and disease in the newborn period. *Free Radic Biol Med.* 2019 Oct;142:61-72.

### Summary

IMPACT OF PARTIAL STENOSIS OF TRACHEA ON ANTIOXIDANT SYSTEM IN YOUNG RATS

Molochek Yu.A., Savosko S.I., Utko N.A., Makarenko O.M.

Key words: partial tracheal stenosis, antioxidant system, lungs, brain, sexually immature rats.

**Introduction.** Recently, there has been a significant rise in the attention of researchers and clinicians towards the issue of complex hypoxic trauma affecting various organs and body systems. This is particularly important when considering the cells that are most vulnerable to oxygen deprivation, including brain tissue, lungs, certain organs of the gastrointestinal tract, systemic immunity. The significance of this problem becomes even more relevant when examining the impact of hypoxia on the cells of sexually immature mammals and humans, as well as exploring potential treatments for acute hypoxic conditions including laryngomalacia and stridor observed in children under the age of one year. Moreover, there are a number of associated complex and unresolved issues in experimental clinical practice. The aim of the study is to investigate changes in the enzyme activity of the pro-oxidant-antioxidant system of the lung tissue cells and the central nervous system (cerebrocortex) during the experimental modelling of respiratory pathology (by ligating the upper trachea of rats), the features of their recovery and the dynamics of this process after the surgical removal of the tracheal ligature.

**Materials and methods.** The studies were performed on 37 sexually immature male Wistar rats, aged 25-28 days. The test animals were divided into four groups: the first group served as the control (intact) rats, the second group consisted of rats with experimentally induced tracheal stenosis, which were removed from the experiment in 7 days after the operation, the third group consisted of rats with experimentally induced tracheal stenosis who were removed from the experiment in 21 days after the operation, and the fourth group consisted of rats whose tracheal ligature was removed on the 7th day after the operation and then they were removed from the experiment on the 21st day. The following biochemical parameters were studied: malondialdehyde content, activity of catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, and superoxide dismutase.

**Results.** The findings obtained demonstrate an increase in malondialdehyde content and antioxidant enzyme activity in the lung and brain tissues of rats on the 7th and 21st days following partial tracheal stenosis. Restoring airway ventilation did not fully normalize these indicators to the control values.

In conclusion, the findings indicate that the impaired pro-oxidant-antioxidant balance in lung and central nervous system cells did not completely restore even two weeks after relieving the compressive effect on the trachea and resolving the hypoxic respiratory system disorders partially. This suggests the necessity to continue therapy with pharmacological antioxidant agents following surgical intervention. However, further research is required to explore this aspect of the problem in depth.

DOI 10.31718/2077-1096.23.2.2.41

UDC 616 – 092:575.1

**Sadykhzada N. N.<sup>1</sup>, Musayev Sh.T.<sup>2</sup>, Rasulov E.M.<sup>2</sup>**

## **GLA GENE MUTATION IN PATIENTS WITH FABRY DISEASE**

<sup>1</sup>Lenkoran State University, Lenkoran city, Azerbaijan Republic

<sup>2</sup>GENOM clinic laboratory, Baku city, Azerbaijan Republic

*Introduction: For the first time in the Lenkoran-Astara administrative area of Azerbaijan Republic, a genetic screening was conducted on patients with cardiomyopathies to identify Fabry metabolic disease. The screening involved the assessment of alpha-galactosidase enzyme activity and the globotriasylsphingosine level. This article aims to present the results of the screening and the subsequent molecular genetic analysis of the GLA gene in the identified patients. Materials and Methods. The genetic screening was based on applying fluorimetry and liquid chromatography methods. The Sanger sequencing technique was employed for direct sequencing of the GLA gene, enabling the detection of existing mutations. This technique was developed in CENTOGENE laboratories, Rostock, Germany. The initial tests were conducted at the Centogene laboratory in Rostock, Germany, followed by further testing at the GENOM clinical laboratory in Baku, Azerbaijan Republic. Ultrasonic and echocardiography studies were performed simultaneously with blood sampling at the central regional hospital. Results: 21 individuals out of 76 involved in the study had a deficiency in  $\alpha$ -galactosidase enzyme activity and elevated levels of globotriasylsphingosine, indicative of Fabry disease. Among them, seven women exhibited X-linked inheritance as heterozygous, and three men were identified as homozygous. Molecular genetic analysis revealed two different mutations in the GLA gene: 801+3A>G and 137 A>G. To prevent Fabry disease, it is recommended to screen family members of affected individuals for  $\alpha$ -galactosidase enzyme activity. Conclusion: This study represents the first genetic screening for Fabry disease conducted in the Azerbaijan Republic among patients with cardiomyopathies. 21 individuals out of 76 examined patients were identified as having Fabry disease and carrying two different GLA gene mutations: c.801+3A>G and c.137A>G. The obtained genetic results will aid cardiologists to make accurate diagnosis and to select appropriate management for patients with cardiomyopathy, considering the presence of Fabry disease, as well as enabling prenatal foetus diagnostics during pregnancies in families at genetic risk.*

Key words: Fabry disease, inherited disease, cardiomyopathy, mutation, GLA gene,  $\alpha$ -galactosidase, enzyme, lysosome, globotriasylsphingosine (lyso-Gb3).

### **Introduction**

Lysosomal diseases are traditionally classified according to abnormally accumulated of the materials in lysosomes. There is considerable overload in the enzymes. For example, genetic  $\beta$ -galactosidase defects can result primarily in GM1-ganglioside accumulation (sphingolipidosis), or in bony abnormalities (mucopolysaccharidosis), depending on the types of mutations [1, 2, 3].

These enzymes are involved in degradation of lipids that contain sphingosine as the basic building material. The nervous system becomes excessively filled with those lipids, therefore many disorders in this category are considered as neurological diseases.

The stepwise degradation of sphingolipids involves the sequential removal of hydrophilic chain terminal moieties: sulfate in the case of sulfatide, phosphoryl choline in the case of sphingomyelin, and sialic acid or sugar moieties in others. This degradation process ultimately results in the formation of ceramide, sphingosine, and fatty acids. Various genetic disorders affecting almost every

step of this degradative pathway have been identified in humans. The inheritance pattern for sphingolipidoses is typically Mendelian autosomal recessive, with the exception of Fabry disease, which follows an X-linked inheritance pattern [4, 5].

Fabry disease (Anderson-Fabry disease, an inherited dystonic lipoidosis etc.) being a lysosome metabolic disease, relates to a group of orphan (rare) diseases. The first description of this disease was made in 1898 by two independent physicians, W. Anderson and J. Fabry. This disease is the second most common lysosomal metabolic disease in the human population, following Gaucher's lysosomal metabolic disease. The frequency of Fabry disease in newborns ranges from 1 in 4,000 to 1 in 120,000. The frequency of Fabry disease in male population is reported as follows: Australia - 1 in 1,170,000, Netherlands - 1 in 476,000, and USA - 1 in 40,000 to 60,000. For male individuals, the frequency of Fabry disease is approximately 1 in 40,000 to 1 in 117,000, while in female individuals, it is approximately 1 in 40,000. In certain isolated regions, the frequency in males has been observed as high as 1 in 3,100 [6-12].