

Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ
ОБЩЕЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ - 2024**

*Материалы республиканской
научно-практической конференции*

24 мая 2024 года

Гродно
ГрГМУ
2024

УДК 577.1:005.745(06)
ББК 28.072я431
А 43

Рекомендовано Редакционно-издательским советом ГрГМУ (протокол № 8 от 11.04.2024 г.).

Редакционная коллегия:

зав. каф. биологической химии, д-р мед. наук, проф. В. В. Лелевич
(ответственный редактор);
зав. каф. клинической лабораторной диагностики и иммунологии,
д-р мед. наук, С. В. Лелевич;
доц. каф. биологической химии, канд. биол. наук, доц.
А. Г. Веницкая.

Рецензенты: зав. каф. общей гигиены и экологии, д-р мед. наук,
проф. И.А. Наумов;
зав. каф. фармакологии имени проф. М.В. Кораблева,
д-р биол. наук, доц. В.И. Козловский.

Актуальные проблемы общей и клинической биохимии – 2024 :
А 43 сб. материалов республиканской научно-практической
конференции, г. Гродно, 24 мая 2024 г. [Электронный ресурс] / отв.
ред. В. В. Лелевич. – Гродно : ГрГМУ, 2024. – Электрон. текст. дан.
(объем 5,3 Мб). – 1 эл. опт. диск (CD-ROM).
ISBN 978-985-595-890-2.

В материалах республиканской научно-практической конференции
«Актуальные проблемы общей и клинической биохимии - 2024» представлены
работы, посвященные широкому кругу актуальных проблем в области
фундаментальной и клинической биохимии, а также вопросам преподавания
этих дисциплин в медицинских вузах.

Данный сборник будет полезен научным сотрудникам, аспирантам,
преподавателям вузов медицинского и биологического профиля, работникам
практического здравоохранения, интересующимся биохимией.

УДК 577.1:005.745(06)
ББК 28.072я431

ISBN 978-985-595-890-2

© ГрГМУ, 2024

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРНЫЕ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

КАФЕДРЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ ГРГМУ 65 ЛЕТ

<i>Лелевич В.В.</i>	11
Н.К. ЛУКАШИК – К 90-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ	
<i>Лелевич В.В.</i>	19
МЕТАБОЛОМИКА ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ (ОБЗОР)	
<i>Лелевич В.В.</i>	24
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ МЕТОДИЧЕСКОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРЕПОДАВАНИЯ БИОХИМИИ В МЕДИЦИНСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ	
<i>Лелевич В.В.</i>	34
ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ ЦНС ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ	
<i>Виницкая А.Г.</i>	44
СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ ГЛИКОГЕНА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ	
<i>Виницкая А.Г., Лелевич В.В.</i>	50
ПУЛ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ТКАНЕЙ И БИОЛОГИЧЕСКИХ И ЖИДКОСТЕЙ: ИНФОРМАТИВНОСТЬ И ЭВОЛЮЦИЯ ВЭЖХ-МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	
<i>Дорошенко Е.М.</i>	57
БЕЛКИ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ МЕТАБОЛИЗМ ГЛИКОГЕНА: МАЛИН И ЛАФОРИН	
<i>Наумов А.В., Петушок Н.Э.</i>	67
НОВОЕ О ГЛИКОГЕНОЗАХ. БОЛЕЗНЬ ЛАФОРА	
<i>Наумов А.В., Петушок Н.Э.</i>	73
АМИНОКИСЛОТЫ КАК КЛЮЧЕВЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ МЕТАБОЛИЗМА И ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ СТАБИЛИЗИРУЮЩИХ ГОМЕОСТАЗ ПРЕПАРАТОВ	
<i>Шейбак В.М., Горецкая М.В.</i>	79
ТАУРИН И ИММУННАЯ СИСТЕМА	
<i>Шейбак В.М., Горецкая М.В.</i>	89
ГОМЕОСТАТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ КОНЦЕНТРАЦИЙ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ПЛАЗМЫ	
<i>Шейбак В.М., Горецкая М.В., Николаева И.В.</i>	97
ПЛАЦЕНТАРНЫЙ СЕРОТОНИН И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ В ПОСТНАТАЛЬНОЙ АДАПТАЦИИ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ	
<i>Шейбак Л.Н.</i>	105
СОСТОЯНИЕ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ ЖЕЛЕЗОМ И ЕГО ВЗАИМОСВЯЗИ С ФУНКЦИОНАЛЬНО СВЯЗАННЫМИ МИКРОЭЛЕМЕНТАМИ В КРОВООБРАЩЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ	
<i>Мотылевич Ж.В., Дешко М.С., Дешко Т.А., Титко О.В., Снежницкий В.А., Мойсеев А.Г.</i>	108

ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ КОМПОЗИЦИИ L- ГЛУТАМИНА, L-АРГИНИНА, ЦИНКА И МАГНИЯ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ КАРДИОТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Бадун Е.Г., Шуриберко А.В., Разводовский Ю.Е. 115
ХАРАКТЕРИСТИКА ИНТЕНСИВНОСТИ ТКАНЕВОГО ДЫХАНИЯ В ОТДЕЛАХ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА

Белоус Е.М., Айснер А.Д. 120
ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ ТКАНЕВОГО ДЫХАНИЯ, ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ

Белоус Е.М., Новикова Д.В. 125
ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В КЛЕТКАХ. РОЛЬ МИТОХОНДРИЙ

Белоус Е.М., Синьковская К.Д. 129

Секция 1. ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ

УЧАСТИЕ ЛАКТАТА ЭРИТРОЦИТОВ В АДАПТАЦИИ К ГИПОКСИИ НАГРУЗКИ

Акулич Н.В., Медянцева Н.Б., Зинчук В.В. 137
НОВЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Аль-Джебур Д.Ш.О., Зинчук В.В., Подопризора М.В., Глуткина Н.В... 140
МИНОРНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА ПИЩИ - МОДУЛЯТОРЫ РЕДОКС-ЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ NRF2/KEAP1/ARE

Балакина А.С. 143
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КАПСАИЦИНОИДОВ И ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ У КРЫС, ПОЛУЧАЮЩИХ ВЫСОКОКАЛОРИЙНЫЙ РАЦИОН, НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ЛИПОГЕНЕЗА DE NOVO

Балакина А.С., Трусев Н.В. 145
ОЦЕНКА ГУМОРАЛЬНОГО И КЛЕТОЧНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У МЫШЕЙ ЛИНИИ BALB/C, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ПРОТИВОКОРОНАВИРУСНОЙ ВАКЦИНОЙ

Бервинова А.В., Замятина А.В., Шипелин В.А., Мазо В.К., Никитюк Д.Б. 148

НАРУШЕНИЯ ХОЛЕСТЕРИНОВОГО И ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У КРЫС-САМЦОВ ЛИНИИ ВИСТАР, ИНДУЦИРОВАННЫЕ ЭКЗОГЕННОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ

Бирюлина Н.А., Сидорова Ю.С., Мазо В.К., Кочеткова А.А. 150
ИЗМЕНЕНИЯ ПУЛА АМИНОКИСЛОТ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА БЕСПОРОДНЫХ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Дорошенко Е.М., Смирнов В.Ю., Курочкина Е.Д. 153

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА ПЛАЗМЫ КРОВИ
ВОЛОНТЕРОВ, ПРОЖИВАЮЩИХ В РАЙОНАХ ЧЕРНОМОРСКОГО
ПОБЕРЕЖЬЯ И В УСЛОВИЯХ КРАЙНЕГО СЕВЕРА, МЕТОДОМ
ХЕМОЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА

Бородулин Я.В., Проскурнина Е.В...... 156

ДИНАМИКА ПУЛА НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ АМИНОКИСЛОТ В
СРЕДНЕМ МОЗГЕ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ АЛКОГОЛЬНОГО
АБСТИНЕНТНОГО СИНДРОМА

Виницкая А.Г., Третьяк М.Н...... 159

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВИТАМИННОГО СТАТУСА КРЫС ПОД
ВОЗДЕЙСТВИЕМ ВЫСОКОЖИРОВОГО ВЫСОКОУГЛЕВОДНОГО
РАЦИОНА

Вржесинская О.А., Бекетова Н.А., Кошелева О.В., Сидорова Ю.С...... 161

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КАПСАИЦИНОИДОВ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ
ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ У КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ
ВЫСОКОКАЛОРИЙНЫЙ ХОЛИНОДЕФИЦИТНЫЙ РАЦИОН

Гусева Г.В., Аксенов И.В...... 163

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ДИАЦЕТОФЕНОНИЛСЕЛЕНИДА В РАСТВОРАХ, МОДЕЛИРУЮЩИХ
БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЖИДКОСТИ ОРГАНИЗМА С РАЗЛИЧНЫМ
ЗНАЧЕНИЕМ pH

Гусельников П.И.¹, Бородулин Я.В.²..... 166

ИЗМЕНЕНИЯ ФОНДА СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ И БИОГЕННЫХ
МОНОАМИНОВ СТОЛЕ МОЗГА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
ИШЕМИИ МИОКАРДА И ИХ КОРРЕКЦИЯ

Дорошенко Е.М...... 169

ДОФАМИНЕРГИЧЕСКАЯ НЕЙРОМЕДИАТОРНАЯ СИСТЕМА
ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ КОМПЛЕКСНОЙ
ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ И МОРФИНОМ И ИХ ОТМЕНЕ

Дробышевская А.А., Лелевич В.В., Дорошенко Е.М...... 172

СОСТОЯНИЕ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕЙРОМЕДИАТОРНОЙ
СИСТЕМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ОДНОКРАТНОМ
ВОЗДЕЙСТВИИ ЭТАНОЛА И МОРФИНА

Дробышевская А.А., Дорошенко Е.М...... 175

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ
НЕЙРОМЕДИАЦИИ В РАЗЛИЧНЫХ СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА
ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА ФОНЕ ГИПОДИНАМИИ

Дробышевская А.А., Лелевич В.В., Дорошенко Е.М...... 178

МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСА
БЕЛКА BSA С NBD-АЗИДОАНИЛИНОМ

Карпушенкова В.С., Фалетров Я.В...... 180

КАРДИО- И ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ ФЛАВОНОИДОВ ПРИ
ТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭТАНОЛА У КРЫС

Коваленя Т.А., Белоновская Е.Б., Кузьмицкая И.А., Курко С.Н.,

Лапина Е.А., Климович И.И., Буко В.У., Заводник И.Б...... 182

ИНГИБИТОРЫ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ НА ОСНОВЕ
ПРОИЗВОДНЫХ 3-АРИЛ-2-ИЗОКАЗОЛИН-5-КАРБОНОВОЙ
КИСЛОТЫ

<i>Ковганко Н.Н., Пархач М.Е., Борисевич С.Н., Глинник С.В., Принькова Т.Ю.</i>	185
СТРАТЕГИЯ ПРИМЕНЕНИЯ ВИТАМИННО-МИНЕРАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ С РАЗНЫМИ ДОЗАМИ МИКРОНУТРИЕНТОВ	
<i>Коденцова В.М., Рисник Д.В., Мойсеёнок А.Г.</i>	188
БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕПРЕССИВНЫХ РАССТРОЙСТВ	
<i>Коцуба И.В., Леднёва И.О.</i>	191
ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ И МОРФИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА АКТИВНОСТЬ АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ В ПЕЧЕНИ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС	
<i>Леднёва И.О.</i>	194
ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ	
СОДЕРЖАНИЕ ЭТАНОЛА В КРОВИ КРЫС ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ЕГО ВВЕДЕНИЯ НА ФОНЕ ДЕЙСТВИЯ ХЛОРПРОТИКСЕНА И КАРБОНАТА ЛИТИЯ	
<i>Лелевич В.В.</i>	199
ЭФФЕКТЫ СИНДРОМА ОТМЕНЫ ЭТАНОЛА И МОРФИНА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ	
<i>Лелевич С.В.</i>	202
ТРАНСЛОКАЗЫ: 7-Й КЛАСС ФЕРМЕНТОВ	
<i>Лукашевич А.С., Леднёва И.О.</i>	205
ЛАКТОФЕРРИН И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ГРУДНОГО МОЛОКА ЖЕНЩИН Г. ОРЕНБУРГА	
<i>Мачнева И.В., Лебедева Е.Н., Карнаухова И.В.</i>	208
МИКРОЭЛЕМЕНТЫ В СЛЮНЕ КУРИЛЬЩИКОВ ЭЛЕКТРОННЫХ СИГАРЕТ	
<i>Михеев И.В., Сапрыкин В.П., Чермашенцев Г.Р., Проскурнина Е.В.</i>	211
ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ СТАБИЛИЗАЦИИ АНТИОКСИДАНТНОГО И ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ГОМЕОСТАЗА ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ, АССОЦИИРОВАННЫЙ С ДЕПОНИРОВАНИЕМ ЖЕЛЕЗА И БИОСИНТЕЗА КОФЕРМЕНТА АЦЕТИЛИРОВАНИЯ	
<i>Мойсеёнок А.Г., Титко О.В., Катковская И.Н., Гуринович В.А., Черемисин А.С., Азизбеян С.Г.</i>	214
ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ СИСТЕМЫ СОПРЯЖЕНИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ В ТКАНИ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА, ПОДВЕРГНУТОГО ОБЛУЧЕНИЮ	
<i>Мышковец Н.С., Бабенко А.С., Литвинчук А.В., Алексейко Л.Н.</i>	217
ЭФФЕКТЫ КОМПЛЕКСНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ АЦЕТАТА СВИНЦА И ЭТАНОЛА НА МИКРОБНО-ТКАНЕВОЙ КОМПЛЕКС ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА	
<i>Николаева И.В., Шейбак В.М., Смирнов В.Ю.</i>	220

ОЦЕНКА 1,3-ДИКАРБОНИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 2-ОКСИНДОЛА В
КАЧЕСТВЕ РЕАГЕНТОВ

Панада Я.В., Фролова Н.С., Фалетров Я.В. 223

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ В ЦИТОПЛАЗМЕ ПЕРВИЧНЫХ
СПЕРМАТОЦИТОВ СЕМЕННИКОВ КРЫС В РАННЕМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ
ВОЗДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО
ЛИПОПОЛИСАХАРИДА *E. COLI*

Поплавская Е.А. 226
АМИНОКИСЛОТЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ КАК БИОХИМИЧЕСКИЕ
МАРКЕРЫ АЛКОГОЛИЗМА

Разводовский Ю.Е., Дорошенко Е.М., Смирнов В.Ю. 229
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОРОГА КОНЦЕНТРАЦИИ ЭТИЛГЛЮКУРОНИДА В
ВОЛОСАХ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ

**Разводовский Ю.Е., Шуриберко А.В., Казинец Е.О., Бадун Е.Г.,
Климович И.И., Кременецкая Т.А., Давыдик Н.С., Лазаревич Д.С.,
Переверзев В.А., Смирнов В.Ю. 232**

ХАРАКТЕРИСТИКА ПУЛА СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ И
РОДСТВЕННЫХ ИМ СОЕДИНЕНИЙ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС ПОД
ВЛИЯНИЕМ 28-ДНЕВНОЙ ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ
ИНТОКСИКАЦИИ

Семенчук А.К. 234
АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ,
МОДИФИЦИРОВАННОГО ФОСФАТИДИЛХОЛИНОМ

Созарукова М.М., Проскурнина Е.В. 237
ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ЭФФЕКТ ОТДЕЛЬНОГО И СОВМЕСТНОГО
ПРИМЕНЕНИЯ ПРИРОДНЫХ ИНГИБИТОРОВ ЛИПОКСИГЕНАЗ И
БЕТУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ *IN VITRO*

**Терпинская Т.И., Янченко Т.Л., Рубинская М.А., Полукошко Е.Ф.
..... 243**
ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ ЗИДОВУДИН (AZT), AZT И МЕЛАСОН
(МЕЛАТОНИН), AZT И ГЕПТРАЛ (SAME) НА УРОВЕНЬ ГЛУТАМАТА В
НЕКОТОРЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Филина Н.И. 243
СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС ПРИ
ВВЕДЕНИИ МЕТИОНИНА И ЕГО АНТИМЕТАБОЛИТА ЭТИОНИНА

Шейбак В.М., Павлюковец А.Ю., Дорошенко Е.М., Селезень Ж.Н. 245
ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНЫЙ ВИРТУАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ
АФФМННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ИЗВОДНОГО ОЛЕИЛАМИНА С
БЕЛКАМИ МУХ *LUCILIA SERICATA/CUPRINA*

Яковец П.С., Фалетров Я.В. 248

Секция 2. КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ДЕКОМПЕНСАЦИИ У ЛИЦ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

Байда А.В., Степанова Ю.И., Алехнович Л.И., Кузнецова Н.Б.,

Михалюк Р.А. 252

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Белевич Е.И., Романчик А.М., Прохорова В.И., Таганович А.Д.,

Ковганко Н.Н. 255

ИНТЕРЛЕЙКИНЫ ИЛ-6 И ИЛ-8 В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С СИСТЕМОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ

Валинская П.С., Рябцева Т.В., Мурашко Д.И. 258

КИСЛОТНО-ОСНОВНОЕ СОСТОЯНИЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С МНОГООСКОЛЬЧАТЫМИ И СЕГМЕНТАРНЫМИ ПЕРЕЛОМАМИ ГОЛЕНИ В УСЛОВИЯХ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Ванькович П.Э., Кезля О.П., Селицкий А.В., Юрага Т.М., Хоровец А.И. 260

АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ КОРТИЗОЛА В СЛЮНЕ ВО ВЗАИМОСВЯЗИ С ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫМ СТАТУСОМ ЖЕНЩИН ПОСЛЕ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Волковец Э.Н., Грудницкая Е.Н., Степанова Ю.И., Юрага Т.М. 264

МОЧЕВАЯ ЭКСКРЕЦИЯ ГИДРОКСИПРОЛИНА У ПАЦИЕНТОК ПОСЛЕ ПРЕРЫВАНИЯ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Волковец Э.Н., Грудницкая Е.Н., Юрага Т.М. 267

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ АМИНОКИСЛОТНОГО ОБМЕНА У ЖЕНЩИН С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ

Ганчар Е.П., Гутикова Л.В., Наумов А.В., Дорошенко Е.М.,

Смирнов В.Ю. 270

ЗНАЧИМОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИННОГО СТАТУСА У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ НА ПРЕГНАВИДАРНОМ ЭТАПЕ

Ганчар Е.П., Борисевич И.С. 273

АНТИОКСИДАНТНЫЙ ПРОФИЛЬ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ ОСТРОМ КОРОНАРНОМ СИНДРОМЕ

Данилова Т.В., Дмитриева Д.С., Баранов А.П., Проскурнина Е.В. 276

ВЛИЯНИЕ КИНЕЗОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА ПСИХОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ КАРДИОХИРУРГИЧЕСКОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Девина Е.А., Ванда А.С., Малькевич Л.А. 279

ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ НА ЧАСТОТУ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ ИНГАЛЯЦИОННЫМИ АЛЛЕРГЕНАМИ ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ РИНИТЕ, БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ И ИХ СОЧЕТАНИИ

Клещенко П.В., Ляликов С.А., Котова Е.В., Маркевич Н.Б., Токерь О.А.,

Гриневич Т.Н., Гутько А.Г. 283

ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА
ПРИ ОЖИРЕНИИ

<i>Колоцей В.Н., Климович И.И., Ковалевский П.И., Юркевич С.В., Разводовский Ю.Е.</i>	284
НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАК КРИТЕРИИ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ COVID-19	
<i>Коростелева М.М., Снегирева Т.Г.</i>	287
РОЛЬ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКЕ АДАПТАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА СПОРТСМЕНОВ	
<i>Короткова Т.Н., Коростелева М.М., Кобелькова И.В.</i>	289
ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТИЛПРЕДНИЗОЛОНА В ЛЕЧЕНИИ АУТОИММУННОЙ ОФТАЛЬМОПАТИИ	
<i>Кринец Ж.М., Мартинкевич О.Н.</i>	292
УРОВЕНЬ АНТИМИТОХОНДРИАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ У ВИЧ- ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ, ПОЛУЧАЮЩИХ АНТИРЕТРОВИРУСНУЮ ТЕРАПИЮ	
<i>Курбат М.Н.</i>	294
COVID-19 И АЛКОГОЛИЗМ: КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ АСПЕКТЫ	
<i>Лелевич С.В.</i>	297
ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ СООТНОШЕНИЯ H ₂ S/ГОМОЦИСТЕИН В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ДЕТЕЙ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ	
<i>Лукша А.В.</i>	301
ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА В КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА II ТИПА	
<i>Маглыш С.С., Хомбак В.А.</i>	303
ПОКАЗАТЕЛИ ПРО-/АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОВ С НАСЛЕДСТВЕННЫМ СФЕРОЦИТОЗОМ	
<i>Макеева К.С., Новикова И.А., Зубкова Ж.В., Мицура Е.Ф.</i>	306
СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ДЛЯ ПОСТАНОВКИ ДИАГНОЗА	
<i>Махахей М.В., Шахаб С.Н.</i>	309
ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ОСТРОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА В УСЛОВИЯХ БОЛЬНИЦЫ СКОРОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ	
<i>Парфёнова Н.Н.</i>	315
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С РАННИМИ СТАДИЯМИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО НА ОСНОВЕ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ	
<i>Таганович А.Д., Ковганко Н.Н., Рутковская Ж.А., Готько О.В., Прохорова В.И.</i>	318
КРИТИЧЕСКИЕ ЗНАЧЕНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ПРАКТИКЕ КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ	
<i>Шилейко И.Д., Колядко Н.Н., Алехнович Л.И.</i>	321

ФИЛОСОФСКИЕ АСПЕКТЫ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ: ЭМПИРИЧЕСКИЕ ФЕНОМЕНЫ ТРАНСЛЯЦИОННЫМИ МЕТОДАМИ IVD В ФОРМИРОВАНИИ ПАРАДИГМЫ «МЕДИЦИНЫ 5П» <i>Яковлева А.В., Залеский М.Г., Эмануэль В.Л.</i>	324

Секция 3. СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ПРЕПОДАВАНИЯ ОБЩЕЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ В ВУЗАХ

БИОХИМИЯ ПО YOUTUBE: ОБЗОР АНГЛОЯЗЫЧНЫХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ПОРТАЛОВ

<i>Виницкая А.Г.</i>	327
АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕЙТИНГОВОЙ СИСТЕМЫ В ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ЗНАНИЙ СТУДЕНТОВ ЛЕЧЕБНОГО ФАКУЛЬТЕТА УО «ГОМГМУ» ПРИ ИЗУЧЕНИИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ <i>Громыко М.В., Мышковец Н.С., Коваль А. Н., Логвинович О.С., Литвинчук А.В.</i>	329
АЛГОРИТМ ЭФФЕКТИВНОГО ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ТЕСТОВЫХ ЗАДАНИЙ ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ В ФОРМАТ GIFT С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРОГРАММНОГО ЯЗЫКА PYTHON И ТЕКСТОВОГО РЕДАКТОРА NOTEPAD++ <i>Коваль А.Н.</i>	332
АЛГОРИТМ ОЦЕНКИ РЕЗУЛЬТАТОВ ТЕСТОВЫХ ЗАДАНИЙ ПО ДИСЦИПЛИНЕ «БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ» <i>Коневалова Н.Ю., Телепнева Е.Ю., Тихон Т.В., Марцинкевич А.Ф., Буянова С.В., Мешко А.А., Пыко К.В.</i>	335
РЕАЛИЗАЦИЯ АДАПТИВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В LMS MOODLE С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ MICROSOFT ACCESS <i>Копыцкий А.В., Хильманович В.Н., Зданович Е.С.</i>	338
ТРАДИЦИОННЫЕ И ИННОВАЦИОННЫЕ МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ <i>Леднёва И.О.</i>	341
ПРАКТИКООРИЕНТИРОВАННЫЙ ПОДХОД В ПРЕПОДАВАНИИ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ <i>Лелевич С.В., Минзар В.С.</i>	351
МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ПРЕПОДАВАНИЯ РАЗДЕЛА «БИОХИМИЯ ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ» В ДИСЦИПЛИНЕ «БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ» НА МЕДИКО-ПСИХОЛОГИЧЕСКОМ ФАКУЛЬТЕТЕ <i>Маглыш С.С., Лелевич В.В.</i>	353

ОБЗОРНЫЕ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

КАФЕДРЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ ГРГМУ 65 ЛЕТ

Лелевич В.В.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

В текущем году исполняется 65 лет кафедре биологической химии Гродненского государственного медицинского университета (ГрГМУ). Она была организована в сентябре 1959 г. во вновь открывшемся Гродненском государственном медицинском институте (ГГМИ). Возглавить кафедру было предложено кандидату медицинских наук Ю.М. Островскому, который до этого работал ассистентом кафедры биохимии Витебского медицинского института.

Юрий Михайлович Островский – значительная личность в истории белорусского высшего медицинского образования и биохимической науки [1]. За короткий, трехлетний период работы в Витебске Юрий Михайлович проявил себя как талантливый организатор и инициативный исследователь, что позволило рекомендовать его на должность заведующего кафедрой в новом институте. С позиций наших дней удивляешься, как быстро и эффективно он решал большое количество организационных, кадровых, методических, хозяйственных вопросов на создаваемой кафедре. Одним из первостепенных был вопрос кадрового обеспечения. В июле-августе 1959 г. на должности ассистентов были зачислены Н.К. Лукашик (г. Витебск), А.Г. Мажуль (г. Минск), А.И. Балаклеевский (Москва) [2].

В 1960 г. преподавательский состав кафедры пополнили А.Н. Разумович (г. Минск), Г.А. Доста (г. Гродно), Р.В. Требухина (г. Брест). В короткие сроки кафедра была оснащена необходимым учебным и научным оборудованием, приборами, реактивами и с 1 сентября 1959 г. начался полноценный учебный процесс. Начиная с 1964 г. в состав сотрудников кафедры начали принимать выпускников ГГМИ и других вузов – Ф.С. Ларина, Б.П. Комарову, Э.А. Галицкого, А.Г. Мойсеенка, В.В. Виноградова, К.А. Мандрика, Л.Н. Дворянинович [3].

С первых дней работы кафедры Юрий Михайлович создал профессионально доброжелательную, но требовательную атмосферу. Наряду с обеспечением учебного процесса на кафедре биохимии с самого начала ее функционирования стала отчетливо проявляться научная компонента. Высокая научная активность сотрудников определила интенсивную подготовку биохимиков профессионалов, а также формирование научных подразделений, истоки которых зарождались на кафедре биохимии. С 1959 г. на кафедре функционировала клиническая биохимическая лаборатория Гродненской областной больницы, которая не только отработывала методики и выполняла анализы, но и оказывала практическую подготовку врачам-лаборантам

районных и городских больниц Гродненской и Брестской областей через организацию семинаров и приглашений на рабочие места. В 1964 г. на кафедре была открыта изотопная лаборатория, в которой выполняли исследования сотрудники теоретических и клинических кафедр ГГМИ [1].

Наряду с активной научно-организационной работой Ю.М. Островский выполнил и в 1965 г. успешно защитил докторскую диссертацию «Обменные сдвиги при различной обеспеченности организма тиамином» в Киевском медицинском институте. К этому времени сформировалась научная тематика кафедры биохимии, которая затрагивала изучение различных аспектов обмена витамина В₁ (тиамина), включая его коферментные и некоферментные функции. За четырехлетний период (1963-1967 гг.) сотрудниками кафедры было защищено 6 кандидатских диссертаций в рамках этого научного направления.

Высокая научная активность, пополнение молодыми специалистами привели к организации в 1967 г. по согласованию с Министерством здравоохранения БССР на базе кафедры биохимии и ЦНИЛ ГГМИ проблемной витаминологической лаборатории. Данная лаборатория явилась первым научным структурным подразделением, трансформация и прогрессивное развитие которого привели к созданию в г. Гродно академического института. В лаборатории была подобрана и подготовлена группа биохимиков, которые в последующем сформировали штат Отдела регуляции обмена веществ АН БССР (ОРОВ), который был открыт в г. Гродно в 1970 г.

Показателем высокой научной квалификации и значимости проводимых на кафедре исследований являлся целый ряд монографий, подготовленный Ю.М. Островским и соавторами: «Тиамин – избранные главы по биохимии витамина В₁» (1971 г.); «Антивитамины в экспериментальной и лечебной практике» (1973 г.); «Механизмы межвитаминных взаимоотношений» (1973 г.); «Кокарбоксилаза и другие тиаминфосфаты» (1974 г.).

Результаты научных исследований сотрудников кафедры докладывались на республиканских, всесоюзных и международных симпозиумах, конференциях и съездах (Москва, Токио, Киото, Берлин, Иена, Фрайбург), публиковались в отечественных и зарубежных биохимических журналах. По инициативе Ю.М. Островского, начиная с 1966 г. на базе кафедры биохимии ГГМИ начали проводиться Всесоюзные симпозиумы по витаминологии. Было организовано Гродненское отделение Всесоюзного биохимического общества, которое объединяло научных сотрудников и врачей, занимающихся биохимическими исследованиями. В 1970 г. по числу членов Гродненское отделение общества было третьим по величине в СССР.

В 1975 г. Ю.М. Островский оставляет заведование кафедрой биохимии и полностью сосредотачивается на работе в ОРОВ АН БССР. Это ознаменовало начало нового этапа в истории кафедры. Во-первых, кафедру возглавил ученик Юрия Михайловича доцент Н.К. Лукашик, кроме того кафедра была переведена в главный корпус ГГМИ, получив достаточную площадь для учебной и научной работы. Данные перемены совпали со сменой поколений преподавательского состава. Перешли на работу в ОРОВ АН БССР Ф.С. Ларин, Р.В. Требухина,

Б.П. Комарова, Э.А. Галицкий. Преподавательский состав пополнили выпускники ГГМИ – В.В. Лелевич, В.В. Воробьев, В.В. Климович, А.А. Масловская. Под руководством Н.К. Лукашика они успешно выполнили и защитили кандидатские диссертации.

Николай Константинович много внимания уделял организации и совершенствованию учебного процесса на кафедре. Им внедрены новые методические элементы в учебный процесс – раздаточный материал на лекциях, составление студентами метаболических карт, формы проведения самостоятельной аудиторной работы студентов на семинарских занятиях. Он являлся инициатором и осуществил основную организационную работу по проведению на базе ГГМИ в 1976 г. межреспубликанской научно-методической конференции «Пути оптимизации учебного процесса в медицинском вузе», в которой приняли участие представители 36 медицинских институтов СССР и Польской Народной Республики.

Н.К. Лукашик активно привлекал студентов к работе в студенческом научном кружке. Под его руководством подготовлены многие десятки студенческих научных работ, представлены доклады на студенческих научных конференциях в ГГМИ и других институтах. Много сил и административного таланта Н.К. Лукашик уделял созданию и расширению материально-технической базы на кафедре. Благодаря ему появились современные рефрижераторные центрифуги, холодная комната, спектрофотометры и колориметры, счетчик радиоактивности, обширный банк реактивов, помещения для проведения научных исследований. Это позволило активно проводить на кафедре научные исследования сотрудникам других кафедр ГГМИ и учреждений здравоохранения.

Научные исследования, проводимые Н.К. Лукашиком, посвящены экспериментальной витаминологии. Им исследованы особенности метаболизма углеводов, всасывание и депонирование водорастворимых витаминов при гиповитаминозных состояниях у животных. Установлены особенности метаболического статуса при различных вариантах экспериментальной патологии – сахарный диабет, стресс – язва, экспериментальный гепатит, острый панкреатит. Под руководством Н.К. Лукашика защищены 14 кандидатских диссертации. Его учениками являются профессор В.В. Лелевич, доценты В.В. Воробьев, А.А. Масловская [2].

В 1997 г. на должность заведующего кафедрой по конкурсу был избран профессор В.В. Лелевич – выпускник ГГМИ 1979 года. С этого времени можно вести отсчет третьего периода в истории развития кафедры. Он совпал с третьей волной смены преподавательского состава, когда в состав коллектива включались выпускники ГГМИ и других вузов: В.М. Шейбак, М.Н. Курбат, И.О. Леднева, Н.Э. Петушок, С.С. Маглыш, А.Г. Виницкая, Е.М. Дорошенко, О.В. Артемова, А.В. Наумов, А.И. Иоскевич, Е.В. Севко, А.Е. Копать, Ж.В. Мотылевич, К.В. Архутич, А.А. Дробышевская. На кафедре сформировался высокопрофессиональный коллектив, который успешно обеспечивает преподавание биохимии с учетом современных требований к высшему медицинскому образованию. Расширение спектра преподавательской

деятельности было связано с открытием в ВУЗе новых факультетов – сестринского (1991 г.), медико-психологического (1993 г.), медико-диагностического (2008 г.), а также начала обучения иностранных студентов (1992 г.).

В январе 2000 г. ВУЗ прошел аккредитацию на статус университета, что повысило требования к обеспечению качества медицинского образования. С конца 90-х годов прошлого века в Республике Беларусь стали создаваться свои типовые учебные программы по специальностям высшего образования, которые пришли на смену ранее существующим, создаваемых в г. Москве. В данный процесс активно включился и коллектив нашей кафедры. Первыми в этом ряду были программы по биологической химии для студентов факультета «Сестринское дело» (1999 г.), медико-психологического факультета (1999 г.), педиатрического факультета (2000 г.). Всего сотрудниками кафедры было создано и утверждено более 20 типовых учебных программ по предмету для студентов различных факультетов и специальностей. Содержание данных программ подразумевало профилизацию преподавания предмета на различных факультетах, что было достигнуто путем создания учебно-методических комплексов для соответствующих факультетов.

Были подготовлены и изданы целый ряд учебных пособий с грифом Министерства образования РБ и УМО по высшему медицинскому, фармацевтическому образованию РБ – «Биохимические особенности детского организма» (2001 г.); «Нейрохимия» (2008 г. и 2021 г.); «Основы биохимии» (2010 г.); «Биологическая химия» (2015 г.); «Биохимия патологических процессов» (2016 г.); «Обмен веществ в детском организме» (2019 г.); «Биологическая химия. Сборник задач и заданий» (2019 г.); «Биохимические аспекты патологических процессов» (2021 г.); «Биохимия» (2022 г.).

Совместно с коллегами из Белорусского государственного медицинского университета в 2013 г. был издан учебник «Биологическая химия» для студентов учреждений высшего образования по медицинским специальностям, который в 2016 г. прошел второе издание. С учетом внедрения в учебный процесс преподавания предмета на английском языке на факультете иностранных учащихся были подготовлены учебные пособия «Biochemistry» (2014 г.) и «Basics of Biochemistry» (2021 г.).

Для эффективного сопровождения учебного процесса издавались методические материалы различного характера студентам соответствующих факультетов – «Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии», «Руководство для выполнения лабораторных работ по биологической химии», «Тетрадь для выполнения лабораторных работ по биологической химии», «Биологическая химия. Практикум для студентов», «Методические рекомендации по биологической химии для студентов». С начала 2000-х годов в учебный процесс стали широко внедряться современные компьютерные технологии, что нашло отражение в подготовке тестовых заданий по всем разделам предмета и издании сборников тестовых заданий для компьютерного контроля знаний студентов.

С 2010 г. на кафедре биохимии начато обучение для получения второй ступени высшего образования – магистратуры. За 14 лет через эту форму обучения прошли более 15 человек, часть которых влилась в преподавательский состав кафедры, другие продолжили свою работу в научно-исследовательских коллективах.

Показателем высокой профессиональной квалификации сотрудников кафедры является их участие в научно-методической работе по анализу и разработке новых образовательных технологий. В течение трех лет на кафедре выполнялся научный проект «Совершенствование методических аспектов преподавания биологической химии для студентов учреждения образования Гродненский государственный медицинский университет» (2019-2021 гг.). По результатам этой работы в 2022 г. была издана монография «Современные тенденции преподавания биологической химии в медицинском университете».

Наряду с разносторонней преподавательской деятельностью сотрудники кафедры активно занимаются научной работой. Это является продолжением традиций, заложенных еще при зарождении кафедры ее основателем Ю.М. Островским. Начиная с 1979 г. кроме витаминологической тематики на кафедре начало разрабатываться новое научное направление по изучению биохимических основ алкоголизма. Это тесным образом связано с тем, что начиная с середины 70-х годов прошлого столетия в ОРОВ АН БССР под руководством Ю.М. Островского проводилось изучение метаболических особенностей у крыс с различным предпочтением к этанолу.

В.В. Лелевич начал изучать углеводный обмен у крыс с различной алкогольной мотивацией. Было установлено, что крысы, предпочитающие этанол, отличаются от особей, предпочитающих воду, более низкой активностью глюкокиназы, пониженным содержанием гексозомонофосфатов в печени и инсулина в сыворотке крови. Эти животные реагируют различным образом на различные функциональные состояния – голодание, нагрузку глюкозой, алкогольную интоксикацию. На основе полученных результатов В.В. Лелевичем была защищена кандидатская диссертация (1984 г.). Эти результаты в совокупности с данными других исследователей позволили Ю.М. Островскому обосновать метаболическую концепцию генеза алкоголизма (1980 г.). Впоследствии они вошли в коллективную монографию «Метаболические предпосылки и последствия потребления алкоголя», изданную в 1988 году [4].

В 1984 году В.В. Лелевич начал изучение углеводно-энергетического обмена в отдельных структурах головного мозга при различных проявлениях экспериментального алкоголизма – алкогольной мотивации, острой и хронической алкогольной интоксикации, алкогольном абстинентном синдроме, назначении противоалкогольных препаратов. Значительно был расширен спектр экспериментальных моделей и количество определяемых биохимических показателей. Общая оценка полученных результатов в результате этой многогранной работы позволяет заключить, что состояние углеводно-энергетического обмена в ткани головного мозга является важным патогенетическим звеном в механизмах формирования основных проявлений

алкоголизма. Локальное изменение интенсивности энергопроизводящих процессов отражает неодинаковую функциональную активность отдельных структур ЦНС и их дифференцированное участие в реализации эффектов этанола на различных стадиях алкоголизма. Эти данные легли в основу докторской диссертации, защищенной В.В. Лелевичем в Национальном центре наркологии РФ (Москва, 1992 г.).

На основе многолетнего изучения различных модельных состояний действия этанола В.В. Лелевичем была предложена гипотеза возникновения и развития алкоголизма (1993 г.), которая является более локальной в сравнении с концепцией Ю.М. Островского. В ней обосновывается доминантная роль гипотензивного состояния в возникновении и формировании алкоголизма. Было доказано соответствие изначально более низкой скорости углеводно-энергетического обмена в различных органах (ЦНС, печень, миокард) повышенному уровню алкогольной мотивации. Этанол выступает в роли фактора, избирательно стимулирующего энергопроизводящие процессы у этой части особей из общей популяции, что обуславливает высокий «алкогольный аппетит» для достижения комфортного состояния.

После организации в Гродненском медицинском институте лаборатории медико-биологических проблем наркологии (1992 г.) было продолжено изучение метаболических аспектов алкоголизма совместно с кафедрой биохимии. Началось исследование эффективности различных биологически активных соединений для метаболической коррекции алкогольной интоксикации. Были изучены эффекты полиглюкина, нескольких вариантов аминокислот, этаноламина, фосфоэтанолламина, полиамина, солянки холмовой, триптофана, салсоколлина, пантенола и некоторых других соединений. Интегральный анализ этих результатов позволил сформировать научное обоснование одного из перспективных подходов в лечении и реабилитации пациентов с синдромом зависимости от алкоголя – использование с лечебной целью биологически активных соединений – естественных метаболитов организма человека. Их назначение позволяет, с одной стороны, ликвидировать эндогенный дефицит незаменимых факторов питания, а с другой – получить фармакотерапевтический эффект после поступления подобных соединений (композиций) в организм.

Подтверждением научной новизны и практической значимости проводимых исследований явилась успешная защита докторских диссертаций Селевича М.И. «Нарушения липидного обмена в печени и головном мозге при алкогольной интоксикации» (Санкт-Петербург, 1997 г.) и Шейбака В.М. «Особенности формирования аминокислотного дисбаланса, нарушения метаболизма кофермента А и их коррекция при экспериментальном алкоголизме» (Москва, 1998 г.). Полученные результаты широко публиковались в многочисленных отечественных журналах и изданиях Российской Федерации. Были изданы ряд монографий: В.М. Шейбак «Обмен свободных аминокислот и Ко-А при алкогольной интоксикации» (1998 г.); С.В.

Лелевич и соавторы «Метаболическая коррекция алкогольной интоксикации» (2013 г.).

Длительное экспериментальное изучение алкоголизма привело к четкому пониманию важности выбора правильного методологического подхода к изучению данной проблемы. Не отрицая общеизвестного положения, согласно которому результаты, полученные в модельных условиях, не отражают всех аспектов нарушений в целом организме, следует особо подчеркнуть, что именно моделирование сложных процессов в эксперименте является единственно возможным путем, позволяющим оценить значение отдельных биохимических структур в развитии патологий. Нами была разработана и внедрена в экспериментальную практику новая модель прерывистой алкогольной интоксикации, на что был получен патент (2011 г.). Всестороннее изучение этой новой формы алкогольной интоксикации позволило разработать и запатентовать средство для коррекции нарушений функций печени при данном состоянии (2013 г.).

В 1995 году на кафедре биохимии совместно с лабораторией медико-биологических проблем наркологии начало разрабатываться новое направление экспериментальной наркологии – изучение метаболических эффектов морфина гидрохлорида. Были отработаны экспериментальные модели острой и хронической морфиновой интоксикации, морфинового абстинентного синдрома, начался поиск средств для метаболической коррекции этих состояний. Вскоре полученные результаты данного направления воплотились в защищенные кандидатские диссертации – С.В. Лелевич (2005 г.), М.Н. Курбат (2006 г.), Хусам Абазид (2008 г.) и изданные монографии – С.В. Лелевич (2007 г.); В.В. Лелевич, М.Н. Курбат (2007 г.); В.В. Лелевич, А.Г. Виницкая (2008 г.). В этот период научные исследования выполнялись в рамках нескольких научных проектов, финансируемых ГПНИ, Белорусским фондом фундаментальных исследований, Министерством здравоохранения Республики Беларусь.

Многолетнее изучение алкоголизма и наркоманий позволило обратить внимание на значительное сходство основных симптомов данных патологических состояний. Это позволило нам предположить возможность существования общих патогенетических механизмов алкоголизма и наркоманий. Было предпринято масштабное исследование этого предположения на сопоставимых моделях алкогольной и морфиновой интоксикации, выполненное С.В. Лелевичем. Им было установлено, что общим центральным патогенетическим механизмом в развитии алкогольной и морфиновой интоксикации является однотипное изменение компонентов дофаминергической нейромедиаторной системы в таламической области и стволе головного мозга. Хроническая алкогольная и морфиновая интоксикация приводят к схожему ингибированию гликолиза и пентозофосфатного пути в печени и скелетной мускулатуре. В 2016 году С.В. Лелевичем была защищена докторская диссертация. Большой объем экспериментального материала нашел отражение в издании очередной серии монографий – С.В. Лелевич «Центральные и периферические механизмы

алкогольной и морфиновой интоксикации» (2015 г.), С.В. Лелевич, В.В. Лелевич «Алкоголь и углеводный обмен» (2018 г.), В.В. Лелевич, С.В. Лелевич «Алкоголь и мозг. Метаболические аспекты» (2019 г.).

В настоящее время исследования в области экспериментальной наркологии успешно продолжают в нескольких направлениях. На моделях прерывистой алкогольной интоксикации исследуются нейромедиаторные системы головного мозга и обмен серосодержащих аминокислот (В.К. Гуца, А.К. Семенчук).

Подавляющее большинство результатов по экспериментальному изучению алкоголизма были получены при проведении однофакторных или классических экспериментов, где единственным варьирующим фактором является алкоголь. Преимуществом данного подхода является возможность детально изучить патохимические, морфологические, функциональные последствия алкогольной интоксикации различной степени выраженности и длительности. Но вышеприведенный анализ патогенеза алкоголизма с одной стороны, а также многочисленный поток самых разных социальных, профессиональных, экологических, психологических факторов, наслаивающихся на алкоголизацию, с другой – указывают на более корректное использование в данном случае многофакторных экспериментов [5].

Переноса алкоголизацию на реалии человеческой популяции, следует отметить, что она часто наслаивается на такие сопутствующие факторы как стресс, гиподинамия, никотин, отклонение пищевого поведения, экологически неблагоприятные факторы, воздействие разнообразных ксенобиотиков и лекарственных средств, сопутствующая соматическая патология. Все эти сложные сочетания не принимаются во внимание при проведении классических однофакторных экспериментов. С нашей точки зрения актуальным является моделирование сочетанного воздействия хотя бы двух наиболее часто встречающихся факторов: алкоголь + гиподинамия, алкоголь + стресс, алкоголь + голодание или пищевая нагрузка. Учитывая их распространенность в современном обществе и возможность экспериментального воспроизведения, моделирование алкоголизма приобретает новое более реалистичное звучание. Такой экспериментальный подход позволит выявить ранее неизвестные сведения о сложных взаимодействиях этих факторов при их сочетанном действии на организм. Они могут выражаться в потенцировании действия, синергизме, антагонизме или других, более сложных взаимоотношениях.

В этой связи на кафедре начали изучаться нейромедиаторные нарушения в отдельных структурах головного мозга крыс при совместном воздействии на организм алкоголя и других факторов – морфина (И.М. Величко), гиподинамии (А.Е. Мамедова), голодания (К.В. Архутин). Эти результаты находят отражение в многочисленных публикациях, как в отечественных, так и в зарубежных периодических изданиях.

С 2019 года на кафедре была возрождена уже забытая традиция проведения регулярных научных форумов. Она нашла выражение в проведении республиканских научно-практических конференций с международным

участием «Актуальные проблемы общей и клинической биохимии» (2019, 2021, 2023 гг.) с изданием электронных сборников материалов.

Таким образом, кафедра биологической химии в настоящее время – квалифицированный, высокопрофессиональный коллектив, способный эффективно проводить учебно-воспитательный процесс и научные исследования. Сотрудники кафедры достойно поддерживают и развивают традиции своих учителей, активно участвуют в подготовке современных врачей и научно-педагогических кадров высшей квалификации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич В.В. Ю.М. Островский – яркий ученый, мудрый педагог, талантливый организатор / В.В. Лелевич // Биохимия и молекулярная биология: сборник науч. статей. – Минск: ИВЦ «Минфина», 2020. – С. 8-13.
2. Лелевич В.В. Кафедре биологической химии ГрГМУ 60 лет – прошлое и настоящее / В.В. Лелевич // журнал ГрГМУ. – 2019. – Т. 17, № 2. – С. 234-239.
3. Лелевич В.В. История создания и развития кафедры биохимии ГрГМУ / В.В. Лелевич // Актуальные проблемы биохимии: сборник мат. науч.-практ. конф. – Гродно: ГрГМУ, 2019. – С. 14-17.
4. Лелевич В.В. Развитие научного направления «Экспериментальная наркология» на кафедре биохимии ГрГМУ / В.В. Лелевич // Актуальные проблемы биохимии: сборник мат. науч.-практ. конф. – Гродно: ГрГМУ, 2019. – С. 51-54.
5. Лелевич В.В. Экспериментальное изучение алкоголизма с позиций сложных комбинированных воздействий с другими экстремальными факторами / В.В. Лелевич // Актуальные проблемы медицины: сборник мат. итоговой науч.-практ. конф. – Гродно: ГрГМУ, 2021. – С. 499-502.

Н.К. ЛУКАШИК – К 90-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ

Лелевич В.В.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

В этом году исполняется 90 лет Николаю Константиновичу Лукашику, вся трудовая жизнь которого тесно связана с кафедрой биохимии Гродненского государственного медицинского института (ГГМИ). На этой кафедре он прошел все ступени профессионального роста от ассистента до профессора, сформировался как педагог и ученый, организатор и методист учебного процесса. Ранее в ряде публикаций к различным юбилейным датам в жизни Н.К. Лукашика уже освещалась информация о его профессиональных достижениях [1, 2]. Однако в год 65-летия на кафедре биохимии хотелось бы внести дополнительные сведения в имеющуюся официальную информацию, оценить его роль в становлении кафедры и ГГМИ в целом.

Родился Николай Константинович 7 июня 1934 г. в деревне Кучевы Ивановского района Брестской области в семье потомственных малоземельных крестьян. В детстве познал все невзгоды военного времени, в школу пошел после освобождения Белоруссии в 1944 г. После окончания неполной средней школы поступил в Пинскую фельдшерско-акушерскую школу, которую закончил с отличием в 1953 г. В этом же году успешно поступил в Витебский медицинский институт. Учеба в институте не представляла трудностей, что позволяло получить глубокие теоретические знания, необходимые практические навыки и умения. Начиная с 3-го курса, студент Лукашик активно работал в студенческих научных кружках при хирургических кафедрах. Им было выполнено и доложено на студенческих научных конференциях несколько научных работ. По результатам изучения совместно с профессором И.Б. Олешкевичем отдаленных последствий закрытых травм черепа был сделан доклад на пленарном заседании 1-го съезда Российских хирургов в г. Ленинграде (1958 г.).

Материальные трудности заставляли студента Н. Лукашика сочетать учебу с работой на станции скорой медицинской помощи в летних пионерских лагерях. Кроме того на 3 – 6 курсах он работал на 0,5 ставки лаборантом на кафедре биологической химии, где его непосредственным шефом был ассистент Ю.М. Островский. Работа на кафедре биохимии позволила изучать методики биохимических исследований по журнальным статьям и монографиям. За этот период освоил технику работы в биохимической лаборатории, работу на специальных приборах и аппаратах. Изучил и выполнил при проведении научных исследований ряд биохимических методик – анализ дыхания тканей на аппарате Варбурга, выделение митохондрий из органов животных, определение активности ферментов и содержания субстратов в биологических жидкостях и гомогенатных тканей. Оценивая эту работу Н. Лукашика, ему было предложено поступать в аспирантуру по биохимии. Однако его манила хирургия, и на распределении он был направлен хирургом в г. Докшицы. Но по ходатайству доцента Ю.М. Островского, заведующего кафедрой биохимии ГГМИ, министр здравоохранения БССР И.И. Инсаров своим приказом направил Николая Константиновича в распоряжение ректора ГГМИ.

С 1959 г. начался 46-летний период работы Н.К. Лукашика в Гродненском медицинском институте-университете на кафедре биохимии и в администрации ВУЗа. Он вошел в первый состав преподавателей кафедры, на плечи которых легла большая нагрузка по оснащению практикумов и лабораторий, подготовке лабораторных работ на практических занятиях и запуску учебного процесса. Уже в тот период проявились такие черты Николая Константиновича как высокая организованность и трудолюбие, энергия и инициативность, эрудиция и профессиональная компетентность. Несмотря на большую педагогическую нагрузку, он активно включился в научную работу. Темой научных разработок Н. Лукашика явились нарушения углеводного обмена в тканях при различной обеспеченности тиамином. В 1960 г. вышла первая его публикация по данной теме – «Влияние тиамин

некоторые ферменты углеводного обмена» в сборнике докладов научной сессии ГГМИ. За четыре года интенсивной работы были получены новые данные о влиянии тиамина на ключевые параметры обмена глюкозы, что позволило оформить их в виде диссертации «Отношение тиамина к начальным реакциям углеводного обмена», которая была успешно защищена в 1965 г. в Каунасском медицинском институте.

В 1966 г. был избран по конкурсу на должность доцента кафедры биологической химии. Новая должность придала дополнительный импульс в педагогической и научной деятельности. Н. Лукашик стал читать лекции по отдельным разделам биохимии; шире привлекать студентов к научной работе. Профессиональный рост и высокая научная активность была замечена в администрации института. В 1968 г. Н.К. Лукашик приказом министра здравоохранения БССР был переведен на должность проректора по учебной работе ГГМИ, на которой проработал до 1987 г. В этой должности он организовывал и координировал работу по совершенствованию учебной работы на кафедрах института. Кроме решения текущих вопросов в деятельности проректора Н.К. Лукашика проявлялся и научно-методический подход к учебному процессу. Так в 1976 г. он являлся одним из организаторов Республиканской научной конференции «Пути оптимизации учебного процесса в медицинском институте», прошедшей на базе ГГМИ. В материалах конференции были опубликованы три работы Н.К. Лукашика – «Основные направления оптимизации и интенсификации учебного процесса в Гродненском мединституте», «Пути совершенствования преподавания биологической химии», «К изучению бюджета времени студентов в первом семестре».

В 1975 г. профессор Ю.М. Островский перешел на работу в созданный им Отдел Регуляции обмена веществ Академии наук БССР, оставив заведование кафедрой биохимии. С этого периода кафедру возглавил Н.К. Лукашик, что совпало с важным этапом ее развития. Кафедра переехала в новый корпус ГГМИ, получив весьма обширные площади для учебных практикумов и научных лабораторий. Благодаря стараниям и организационному таланту нового заведующего практикумы были оснащены современными приборами и лабораторным оборудованием, что позволило поднять на более высокий уровень проведения практических занятий со студентами. Много внимания Николай Константинович уделял методическому совершенствованию учебного процесса как на лекциях, так и на лабораторных занятиях. Заботясь о формировании преподавательского состава кафедры, он активно привлекал студентов к работе в студенческом научном кружке.

Под научным руководством Н.К. Лукашика было подготовлено и опубликовано большое количество научных работ, которые докладывались на институтских и всесоюзных студенческих научных конференциях. Благодаря такой селекционной работе число преподавателей на кафедре биохимии пополнил целый ряд выпускников ГГМИ – А.Г. Кирилук, В.В. Сукристик, В.В. Лелевич, В.В. Воробьев, А.А. Масловская.

Несмотря на большую педагогическую нагрузку Николай Константинович активно занимался научными исследованиями. Область его научных интересов составляли экспериментальная витаминология и изучение метаболических нарушений при различных патологических состояниях, таких как сахарный диабет, острый панкреатит, стресс-язва. Он сам принимал активное участие в подготовке экспериментальных моделей, определении целого ряда биохимических показателей в биологических объектах. Под научным руководством Н.К. Лукашика были выполнены и успешно защищены целый ряд кандидатских диссертаций: Я.Я. Гордеев «Обмен тиамина у больных рассеянным склерозом (1971 г.); А.А. Оганесян «Показатели обмена никотиновой кислоты при сириномии (1973 г.); Н.И. Федюкевич «Активность ПФП в эритроцитах различного возраста у больных сахарным диабетом» (1982 г.); В.В. Лелевич «Особенности начальных реакций гликолиза в печени крыс с различной алкогольной мотивацией» (1984 г.); В.В. Воробьев «Особенности пентозофосфатного пути в слизистой оболочке желудка и тонкого кишечника крыс при некоторых патологических состояниях» (1986 г.); Ю.В. Киселевский «Характеристика пируватдегидрогеназного комплекса из сердца человека» (1990 г.); А.А. Масловская «Состояние глюконеогенеза в печени и почках при различной обеспеченности крыс тиамином» (1990 г.). Кроме того, ряд кандидатских диссертаций были выполнены при научной консультации Н.К. Лукашика – А.С. Скренда «Влияние биотина, пиридоксина, пангамата кальция на обеспеченность никотиновой кислотой у больных ишемической и гипертонической болезнью» (1975 г.); Е.Н. Кежун «Изменение электролитного обмена у больных гипертонической болезнью и ишемической болезнью в зависимости от характера течения заболевания и их динамика под влиянием пиридоксина, биотина, верошперона» (1978 г.); П.Д. Гуляй «Показатели состояния соединительной ткани (оксипролин, гексуроновые и сиаловые кислоты, гексозамины, церулобластин, белково-связанные гексоны) и применение лидазы для их коррекции при псориазе» (1982 г.); П.В. Гарелик «Клиническо-экспериментальная оценка эффективности ингибирования липаз в лечении острого панкреатита» (1983 г.); О.В. Парамей «О патогенетических звеньях возрастных катаракт» (1986 г.).

По совокупности показателей преподавательской и научной работы в 1991 г. Н.К. Лукашику было присвоено звание профессора без защиты докторской диссертации. В 1997 г. Николай Константинович перешел на должность профессора кафедры, где продолжал плодотворно трудиться до 2005 года. Его богатый педагогический опыт был востребован в период работы начальником учебно-методического отдела Гродненского медицинского института (университета) в период 1998 – 2005 годов. В это время проходила аттестация института в университет, что требовало большой подготовительной работы по различным разделам учебной и методической деятельности. Кроме того в университете расширялся спектр специальностей, по которым ведется подготовка специалистов с высшим медицинским образованием. На данном этапе развития ВУЗа была востребована высокая профессиональная компетенция Н.К. Лукашика как педагога и методиста. Им был опубликован

целый ряд научно-методических работ, затрагивающих различные аспекты совершенствования учебного процесса – «Учебный процесс – пути совершенствования» (1998 г.); «Перспективы подготовки медсестер с высшим образованием и врачей-психологов в Гродненском медицинском институте» (2000 г.); «Контроль учебного процесса и его эффективность» (2000 г.); «Направления и перспектива подготовки специалистов в ГрГМУ» (2002 г.); «Совершенствование обучения на факультете медицинских сестер» (2002 г.); «Повышение качества образования – приоритетная задача университета» (2003 г.); «Формирование университетского медицинского образования» (2003 г.); «Научно-методическая работа в медицинском вузе» (2003 г.); «Информационно-методическое обеспечение учебного процесса» (2004 г.); «Руководство для выполнения лабораторных работ по биологической химии для студентов лечебного и педиатрического факультетов» (2004 г.); «Сборник тестовых заданий по биохимии для студентов факультета медицинских сестер с высшим образованием» (2005 г.).

За свой длительный период работы в Гродненском медицинском институте-университете Н.К. Лукашик оставил добрый след как опытный наставник-педагог, крупный организатор методической работы и учебного процесса, ученый, воспитавший целый ряд своих учеников. Его трудовая деятельность пришлась на разные периоды развития государства и общества, но это не влияло на его большую целеустремленность и трудоспособность, желание качественно выполнять поставленные задачи в учебном или научном процессе. Благодаря Н.К. Лукашику был создан качественный кадровый потенциал кафедры биохимии, сформировалась ее прекрасная материально-техническая база, заложились фундаментальные основы методического обеспечения учебного процесса. Все это позволило нам, теперешним сотрудникам кафедры, успешно развивать эти добрые традиции, динамически профессионально развиваться в соответствии с современными требованиями высшего медицинского образования. В год юбилея Николая Константиновича, который совпал с 65-летием кафедры биологической химии, хочется пожелать ему крепкого здоровья, бодрости духа и оптимизма, комфортного долголетия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич В.В. Профессор Лукашик Николай Константинович: эпоха в развитии кафедры биохимии. Взгляд современников-учеников / В.В. Лелевич, В.В. Воробьев, А.А. Масловская // Актуальные проблемы биохимии: материалы науч.-практ. конф. – Гродно: ГрГМУ, 2019. – С. 18-21.
2. Волкова Е.С. Лукашик Николай Константинович: библиографический указатель / Е.С. Волкова, Е.А. Гирза, Л.Н. Янушко // Гродно: ГрГМУ, 2019. – 108 с.

МЕТАБОЛОМИКА ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ (ОБЗОР)

Лелевич В.В.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Алкогольная зависимость является одной из актуальных проблем современного общества. Это определяется широкой распространенностью данной патологии, ее многочисленными отрицательными последствиями. В настоящее время алкоголизм рассматривается, как явление медико-социальное, имеющее определенные биологические предпосылки. Недостаточный объем точных научных сведений, касающихся патогенеза алкоголизма, методов ранней диагностики и профилактики, трудности терапевтического воздействия порождают необходимость дальнейшего целенаправленного и детального его изучения. Многочисленность существующих направлений изучения алкоголизма определяет значительную важность выбора правильного методологического подхода к изучению данной проблемы. Не отрицая общеизвестного положения, согласно которому результаты, полученные в модельных условиях, не отражают всех аспектов нарушений в целом организме, следует особо подчеркнуть, что именно моделирование сложных процессов в эксперименте является единственно возможным путем, позволяющим оценить значение отдельных биохимических структур в развитии патологии. Обобщая проводимые экспериментальные и клинические исследования в области наркологии, можно заключить, что цельность и системный характер научной разработки проблемы могут быть обеспечены при наличии методологии, базирующейся на эмпирически и теоретически адекватной концепции природы изучаемого феномена, его исходной модели или моделях. Спектр экспериментальных исследований, связанных с проблемой алкоголизма, чрезвычайно широк. Это, в известной степени, связано с изучением различных аспектов данного сложного и стадийно развивающегося патологического процесса.

Исследования патогенеза алкоголизма с использованием разнообразных методических подходов делает возможным выявление существенных биологических факторов заболевания на уровне метаболических систем, эндокринных расстройств, изменений в сфере модуляции и медиации нервных импульсов в ЦНС и некоторых других факторов. Подобный комплексный подход позволяет более дифференцированно оценить вклад тех или иных систем организма в развитие патологического процесса. В последние несколько десятилетий предложен и активно разрабатывается целый ряд экспериментальных моделей различных форм алкоголизации или ее осложнений [1].

В экспериментальной практике многие годы используются многочисленные варианты острой и хронической алкогольной интоксикации,

алкогольного постинтоксикационного синдрома. Данные модели отличаются различными дозами вводимого алкоголя, способами его введения, длительностью воздействия и рядом других переменных [2]. Это позволило накопить большое количество результатов, отражающих изменения метаболических, морфологических, функциональных параметров при алкогольной интоксикации. Однако это не привело к формированию единой для экспериментаторов и клиницистов патогенетической схемы возникновения и формирования алкогольной болезни. Такая данность указывает на необходимость дальнейшего движения в плане накопления новых данных и их интегральное осмысление.

Одной из реально встречающихся ситуаций среди множества форм алкоголизаций человеческой популяции является прерывистый прием алкоголя по целому ряду причин. Моделирование подобных ситуаций проводилось ранее, но в последнее время экспериментальные модели прерывистой алкоголизации получили особенно широкое распространение. Классическим примером моделей прерывистой алкоголизации является формирование алкогольного абстинентного синдрома по Майхровичу [2]. Данная модель предполагает интрагастральное введение раствора этанола в дозе 5 г/кг два раза в сутки в течение 5 дней. Забой животных проводили через 1 час, через 1, 3, 7 суток после последнего введения этанола. Многочисленные модификации этой модели, предусматривающие многократное повторение эпизодов отмены этанола и алкоголизации подтверждают факт возрастания чувствительности организма к эффектам абстиненции при повторных периодах отмены этанола.

В связи с вышеизложенным нами была разработана и экспериментально апробирована модель прерывистой алкогольной интоксикации (ПАИ), где периоды алкоголизации составляли 4 суток, а отмены – 3 суток. Этанол в виде 25% раствора вводился внутривентрально с интервалом в 12 часов в дозе 3,5 г/кг массы тела. Циклы алкоголизация/отмена повторялись 4 раза. Декапитацию животных производили на 4, 7, 14, 21 и 28 сутки эксперимента, что позволило в динамике изучить развитие данной формы алкогольной интоксикации [3].

Предлагаемая модель более адекватно соответствует прерывистому режиму алкоголизации, который является самой распространенной из реально встречающихся ситуаций среди множества форм употребления алкоголя в обществе. Такую «прерывистую алкогольную интоксикацию» можно рассматривать как чередование более или менее длительных периодов алкогольной интоксикации и абстиненции. С учетом выраженных клинических и патохимических симптомов алкогольной абстиненции, прерывистую алкоголизацию следует рассматривать как новое клиническое состояние алкогольной болезни.

Очевидно, что моделирование ситуации прерывистой алкоголизации является довольно близким отображением реальных условий прерывистого употребления алкоголя и может быть использовано в изучении данной разновидности алкогольной болезни.

В данном обзоре будут проанализированы результаты метаболических отклонений при моделировании ПАИ по вышеописанной схеме, полученные в лабораториях Института Биохимии НАН Беларуси и на кафедре биохимии Гродненского медицинского университета. В одной из первых работ данной серии было изучено состояние углеводного обмена в печени при ПАИ [4]. Через одни сутки после 4-х суточной алкоголизации в печени крыс повышается активность ферментов гликолиза – гексокиназы (ГК), пируваткиназы (ПК), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), тогда как активность дегидрогеназ пентозофосфатного пути (ПФП) изменяется разнонаправленно. При этом повышается содержание пирувата в печеночной ткани. Через 3-е суток после 4-х дневной алкогольной интоксикации характер метаболических отклонений несколько изменяется – остается повышенной активность ПК, ЛДГ и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), но проявляется снижение уровня глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф) на фоне увеличения содержания лактата.

Увеличение сроков ПАИ до 14 суток не изменяет направленность изменений определяемых показателей, а через 28 суток ПАИ отмечается их нормализация, кроме пониженного уровня Г-6-Ф. Другими авторами [5] на аналогичной модели ПАИ изучались показатели энергетического обмена в печени. Через одни сутки после 4-суточной алкоголизации отмечается статистически значимое снижение активности НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы (ИДГ) на фоне повышения скорости сукцинатдегидрогеназы (СДГ). Такие же отклонения сохраняются и через 3-е суток после прекращения введения этанола. После двукратного повторения циклов ПАИ (14 суток) отмечается снижение активности ИДГ, тогда как скорость СДГ нормализуется. Удлинение сроков ПАИ до 28 суток существенно меняет профиль изучаемых показателей. Через одни сутки после прекращения алкоголизации в печени повышается активность всех изучаемых ферментов – ИДГ, СДГ, дегидрогеназы 2-оксоглутарата (2-ОГДГ), малатдегидрогеназы (МДГ). Спустя 3-е суток после 28-дневной ПАИ активности 2-ОГДГ, СДГ и МДГ нормализуются, а ИДГ остается повышенной. Для выяснения роли 2-оксоглутарата в регуляции активности ИДГ был проведен корреляционный анализ между уровнем 2-оксоглутарата и активностью фермента. У контрольных животных существует положительная корреляционная связь между этими показателями ($r = +0,62$), которая исчезает после одного цикла ПАИ и становится достоверно отрицательной при удлинении сроков ПАИ до 14 суток. Это позволило авторам сделать заключение, что в печени на фоне ПАИ скорость окисления изоцитрата контролируется уровнем продукта реакции – 2-оксоглутарата (2-ОГ).

Поскольку янтарная кислота является активатором дегидрогеназы, возрастание активности СДГ в эти же сроки исследования свидетельствует, по-видимому, о подключении альтернативных путей снабжения субстратом СДГ, т.к. окислению в ЦТК подвергается не только сукцинат, образующийся в результате окислительного декарбоксилирования 2-ОГ, но и сукцинат, являющийся продуктом окисления жирных кислот и преобразования глутамата. Таким образом, проявляется компенсаторная роль СДГ как фермента,

обеспечивающего поддержание энергетического баланса печени при нарушении функционирования NAD-зависимых дегидрогеназ.

У животных с многократно повторяющейся прерывистой алкоголизацией происходит достоверная активация окислительного превращения изоцитрата, 2-оксоглутарата, сукцината и малата, что является результатом адаптивных сдвигов, приводящих к ускорению оборачиваемости ЦТК.

Этими же авторами были определены параметры цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) в печени крыс на фоне ПАИ [6]. Через одни сутки после 4-дневной алкоголизации снижается активность ИДГ, но повышается скорость СДГ. При этом отмечаются разнонаправленные сдвиги в содержании субстратов ЦТК – уровень изоцитрата снижается, а α -кетоглутарата повышается. Такие же метаболические отклонения сохраняются и через 3 дня после прекращения алкоголизации. После 14-суточной ПАИ в печени снижена активность ИДГ на фоне повышенного содержания α -кетоглутарата. Наиболее выраженные изменения активности дегидрогеназ ЦТК наблюдается при увеличении сроков ПАИ до 28 суток. Через 24 часа после прекращения четырехнедельной ПАИ регистрируется повышенная активность всех определяемых ферментов ЦТК-ИДГ, СДГ, МДГ, α -кетоглутаратдегидрогеназы на фоне нормального содержания субстратов данного цикла. Спустя трое суток после 28-суточной ПАИ активность большинства ферментов нормализуется за исключением ИДГ. Полученные результаты позволяют заключить, что функциональное состояние ЦТК зависит от длительности ПАИ. При коротких сроках (7 – 14 дней) происходит ингибирование начальных реакций ЦТК и компенсаторная активация сукциноксидазной ветви дыхательной цепи. Увеличение длительности ПАИ (28 суток) сопровождается повышением скорости потока метаболитов ЦТК в результате адаптационных сдвигов.

Ряд работ был посвящен характеристике свободнорадикального гомеостаза и развитию адаптационных процессов в печени на фоне ПАИ. Хорошо известно, что нормальное функционирование организма связано с поддержанием определенной интенсивности свободнорадикальных процессов, который подразумевает баланс между продукцией активных форм кислорода (АФК) и их утилизацией антиоксидантной системой (АОС). АОС организма обеспечивает небольшой внутриклеточный уровень АФК, наличие которого важно для регуляции тонуса сосудов, процессов внутриклеточной сигнализации, уничтожения микроорганизмов. В случае активации процессов продукции АФК или ингибирования АОС, а чаще всего и того, и другого одновременно, формируется состояние «окислительного стресса» - неконтролируемого увеличения уровня свободных радикалов. Доказано, что такого рода состояния сопутствуют, а иногда и предшествуют целому ряду различных заболеваний и функциональных расстройств организма.

Все пути метаболизма этанола в организме связаны с продукцией свободных радикалов. При длительной алкогольной интоксикации основные алкоголь-метаболизирующие органы (печень) оказываются в состоянии хронического окислительного стресса [7]. Окислительный стресс при алкогольной зависимости вносит существенный вклад в формирование

различных патологических состояний – соматических и неврологических расстройств, нарушению иммунного статуса, индукции апоптоза, повреждению клеточных мембран, то есть является одним из важных звеньев патогенеза заболевания.

Было показано, что через одни сутки после семидневной алкогольной интоксикации у животных отмечаются признаки выраженного окислительного стресса – в сыворотке крови резко снижено содержание витаминов А и Е, окиси азота, а в печени активизированы процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) [8]. Через семь дней после прекращения алкоголизации проявляются признаки адаптации к окислительному стрессу, что выражается в активизации глутатионпероксидазы. В тоже время содержание продуктов ПОЛ повышено почти в два раза, а уровни витаминов А, Е, и нитритов резко снижены. Спустя сутки после двукратного повторения циклов 7 суток алкоголизация – 7 суток отмены в печени повышены активность глутатионпероксидазы и уровень ТБК-реагирующих продуктов, тогда как в плазме крови снижается содержание витаминов А и Е, нитритов, активность трансаминаз. Аналогичные метаболические отклонения сохраняются и через неделю после прекращения двух циклов ПАИ. Исходя из полученных результатов, авторы делают несколько выводов. Во-первых, ПАИ на первых этапах вызывает активацию цитоплазматических свободнорадикальных процессов, и как следствие, формирование состояния окислительного стресса. Во-вторых, чередование нескольких периодов потребления этанола с периодами его отмены вызывает развитие толерантности к повреждающему действию алкоголя на мембранном уровне, чего не наблюдается при непрерывной алкоголизации. Развитие мембранной толерантности после двукратного повторения цикла в ПАИ не снимает явлений окислительного стресса, вызываемых алкоголизацией. Истощение пула ферментативных антиоксидантов (витамины А и Е), обусловленных активацией свободнорадикальных реакций при этом, может быть потенциально опасным для нормального функционирования организма

Изучено состояние ферментативного звена антиоксидантной системы и интенсивность процессов ПОЛ в печени, уровень оксида азота в плазме крови в динамике ПАИ в режиме 4 суток алкоголизация – 3 суток отмены [9]. Авторами установлено, что повторение циклов ПАИ приводит к дисбалансу между продукцией и утилизацией различных АФК. Нарушение равновесия происходит, главным образом, в системе супероксиддисмутаза-каталаза, активность системы глутатиона при этом остается неизменной. Нарушение баланса в активности основных ферментов-антиоксидантов может предполагать интенсификацию свободнорадикальных процессов, связанных с повышением уровня АФК и активацией ПОЛ. Однако практически во всех экспериментальных группах отмечено снижение уровня ТБК-реагирующих продуктов, что может быть обусловлено антиоксидантным действием оксида азота. Несмотря на снижение интенсивности реакций ПОЛ, ПАИ вызывает нарушение функциональных свойств мембран клеток печени. Это проявляется выраженным повышением активности трансаминаз в плазме крови к концу 14 суток ПАИ. Однако уже на третьи сутки абстиненции после двух циклов

алкоголизация/отмена проявляются первые признаки адаптации (нормализация активности аланинтрансаминазы), которые нарастают с увеличением длительности ПАИ. Это позволяет предположить, что состояние антиоксидантной системы в условиях ПАИ обусловлено действием периферических регуляторных механизмов, связанных с колебаниями уровня АФК, а также продуктов метаболизма этанола.

Состояние антиоксидантной системы печени изучали еще на одной модели ПАИ, когда в течение 42 суток семидневный цикл алкоголизации чередовали с семью сутками отмены [10]. При хронической 42-суточной алкоголизации наблюдалась значительная активация процессов ПОЛ – увеличение уровня ТБК-реагирующих продуктов, активация каталазы и глутамилтранспептидазы (ГГТП). ПАИ с таким сроком эксперимента сопровождается резким повышением активности супероксидсмутазы и снижением содержания нитритов. Назначение L-аргинина во время периодов абстиненции при ПАИ устраняет появление признаков окислительного стресса, наблюдаемых при ПАИ и особенно при хронической непрерывной интоксикации, что может быть обусловлено комплексным антиоксидантным, гепатопротекторным и эндокринным его действием. Введение L-аргинина на фоне ПАИ полностью устраняет дисбаланс в активности супероксидсмутазы и каталазы. Возможно, это связано со способностью данной аминокислоты уменьшать уровень супероксид-радикала при прямом взаимодействии с супероксид-анионом либо опосредованно путем образования пероксинитрита. Изменение антиоксидантного статуса клетки при введении аргинина нормализует перекисные процессы и обеспечивает репарацию клеточных мембран. Об этом свидетельствует почти полное отсутствие явлений цитолиза у экспериментальных животных.

На схожих моделях ПАИ изучали состояние пула свободных аминокислот в тканях экспериментальных животных. При характеристике пула свободных аминокислот на фоне ПАИ необходимо отметить, что по мере увеличения длительности алкоголизации наблюдается постепенное снижение общего содержания аминокислот в плазме крови [11]. Обеднение аминокислотного пула происходит преимущественно за счет уменьшения содержания незаменимых кислот, о чем свидетельствует повышение индекса заменимые/незаменимые аминокислоты. Наиболее выражено снижались концентрации треонина, метионина, изолейцина, фенилаланина, лизина и гистидина. Длительная ПАИ (28 суток) сопровождается снижением в плазме крови содержания как заменимых, так и незаменимых аминокислот, что приводит к возвращению индекса их соотношения к контрольным значениям. Кроме описанных выше эффектов в плазме крови при ПАИ выявлено уменьшение концентраций аминокислот с разветвленной цепью (АРУЦ), что выражается в снижении соотношения АРУЦ/ароматические аминокислоты (ААК) – индекс Фишера. Этот сдвиг косвенно свидетельствует о нарушениях функции печени в исследуемых условиях. ПАИ также сопровождается изменением соотношения гликогенные/кетогенные аминокислоты в крови. В начальных сроках ПАИ (7 суток) данный индекс резко увеличивается (до

209%), на 14 сутки он несколько снижается (до 142%), а на 28 сутки становится ниже значений контрольной группы (80%). Анализируя динамику изменений пула свободных аминокислот плазмы крови следует отметить, что по мере увеличения длительности ПАИ на фоне тенденции к нормализации основных аминокислотных индексов (АРУЦ/ААК, заменимые/незаменимые, гликогенные/кетогенные) наблюдается прогрессирующее снижение общего уровня аминокислот. Этот факт позволил авторам сделать предположение, что чередование состояний алкоголизация/отмена повышает чувствительность аминокислотного пула к воздействию этанола, ограничивая способность организма к формированию метаболической толерантности.

Трансформация пула свободных аминокислот в печени при ПАИ несколько отличается от таковой в плазме крови. Через одни сутки после 4-дневной алкоголизации отмечается достоверное возрастание суммарного содержания свободных аминокислот, обусловленное накоплением заменимых (ЗА) и снижением уровня незаменимых (НЗ) [12]. Спустя 3 суток после отмены этанола значение суммарного фонда аминокислот в печени нормализуется, однако проявляются нарушения уровней отдельных метаболических групп аминокислот. На третьи сутки после 2-кратного повторения цикла алкоголизация-отмена суммарный уровень свободных аминокислот также находится в пределах нормы. Четырехкратное повторение цикла алкоголизация-отмена сопровождается обогащением пула свободных аминокислот печени, которое сохраняется в течение трех суток абстиненции. Накопление аминокислот в тканях при воздействии этанола может быть связано с обеднением пула свободных аминокислот плазмы. Последующая абстиненция приводит к усилению стресс-реакции, тем самым вторично индуцируя поглощение аминокислот тканями, в частности – печенью.

Наибольший дисбаланс в содержании отдельных аминокислот выявлен на третьи сутки после 4-дневной алкоголизации и после 2-кратного повторения цикла алкоголизация-отмена. Наблюдается снижение уровня гликогенных аминокислот, что свидетельствует об активном их использовании в энергетических целях. Кроме того, снижено содержание АРУЦ. Можно предположить, что по мере увеличения длительности абстиненции после однократного периода алкоголизации происходит нарастание аминокислотного дисбаланса в печени. В те же сроки отмены этанола после второго периода алкоголизации в аминокислотном фонде печени были выявлены схожие нарушения. После 4-кратного повторения цикла алкоголизация-отмена отмечалась нормализация уровня гликогенных аминокислот как через 1 сутки отмены этанола, так и 3 суток, что свидетельствует о сокращении их использования в качестве энергетического субстрата. Отношение ЗА/НА, превышавшее контрольные значения на всех сроках эксперимента, нормализуется через 3 суток абстиненции после четырех периодов алкоголизации. Кроме того, произошла нормализация суммарного уровня АРУЦ в оба срока отмены после четырех циклов алкоголизация-отмена.

Исходя из вышеизложенных результатов, можно предположить, что многократное повторение циклов алкоголизация-отмена в данном эксперименте

вызывает определенные адаптивные изменения, направленные на устранение аминокислотного дисбаланса, и в то же время приводит к накоплению в ткани печени свободных аминокислот, источником которых является плазма крови.

Через одни сутки после 42-дневной ПАИ (7 суток алкоголизация – 7 суток отмена) в плазме крови повышается суммарный уровень аминокислот [13]. Тем не менее это не вызывает изменений индексов пула свободных аминокислот – АРУЦ/ААК, гликогенные/кетогенные (ГА/КА), как это наблюдается при непрерывной хронической алкоголизации. Состояние АРУЦ/ААК в данных условиях нормализуется за счет увеличения концентрации валина и лейцина. Введение L-аргинина в период отмены этанола при ПАИ приводит к нормализации значительного числа определяемых показателей, а также устраняет гипераммониемию.

После 42-дневной ПАИ не выявлено столь выраженного дисбаланса аминокислотного пула в печени, как это наблюдалось при хронической алкоголизации [14]. Не отмечалось отклонений суммарного содержания аминокислот и индексов ЗА/НА, АРУЦ/ААК, ГА/КА. Оценивая динамику изменений пула свободных аминокислот при 42-дневной ПАИ можно сделать несколько обобщений. Однократное проведение цикла «7 суток алкоголизация /7 суток отмена» вызывает нарастание дисбаланса аминокислотного фонда плазмы и печени в сравнении с однодневной отменой этанола после 28- и 7-суточной алкоголизации [15]. Двукратное повторение цикла «алкоголизация/отмена» вызывает наибольшие сдвиги концентрации отдельных аминокислот в печени и плазме. При этом наблюдается накопление аминокислот в печени в первые сутки отмены этанола, а в отдаленные сроки абстиненции происходит некоторое нивелирование аминокислотного дисбаланса в печени и плазме. Отмена этанола в течение 7 суток после многократного повторения циклов «алкоголизация/отмена» приводит к нормализации показателей суммарного уровня аминокислот в печени и плазме, однако вызывает нарастание дисбаланса индексов АРУЦ/ААК, ГА/КА и ЗА/НА.

Для коррекции метаболических сдвигов, вызванных ПАИ, был исследован ряд композиций аминокислот – Тавамин (валин, изолейцин, лейцин, таурин), Нейрамин (триптофан, аргинина аспартат, глицин), Тритарг (таурин, триптофан, аргинин, цинка аспартат) [16].

Интегральный анализ изученных метаболических показателей в различных тканях при коррекции ПАИ с использованием различных аминокислотных препаратов позволил выявить следующие закономерности.

Прерывистая алкогольная интоксикация в режиме «4 дня этанол – 3 дня отмена в течение 28 дней» сопровождается умеренно выраженным гепатотоксическим эффектом, активацией процессов ПОЛ в крови и печени, истощением мощности антиоксидантной системы. Изменения пула свободных аминокислот при ПАИ выражаются в уменьшении уровней Асп, Тре, ГАМК, Тир, ЭА, Вал, Три, Фен, Ори и Про в печени, а также Гли, Арг, ЭЭА, Вал, Фен и Лиз – в миокарде. В скелетной мускулатуре при этом повышается содержание глутатиона, Три, Орн и Про.

Назначение Тавамина на фоне ПАИ выявило его следующие корректирующие эффекты. В печени данный препарат нормализовал активность щелочной фосфатазы, СДГ, ЯПА-ДГ, содержание диеновых конъюгатов. Произошло повышение, в сравнении с группой ПАИ, сниженного содержания витамина Е. Выявлен выраженный корректирующий эффект Тавамина на пул аминокислот в печени, который проявляется в нормализации отклонений в содержании Асп, Тре, ГАМК, Тир, ЭА, Вал, Три, Фен, Орн, Про и глутатиона. Тавамин также нормализует измененные при ПАИ уровни глутатиона, Три и Ори в мышечной ткани, хотя ряд показателей аминокислотного пула здесь остаются измененными. В отношении обмена свободных аминокислот в миокарде Тавамин не оказывает позитивного эффекта. Кроме того, он снижает в сравнении с контролем содержание целого ряда аминокислот. Из анализа представленных результатов следует, что Тавамин проявляет гепатопротекторное свойство при ПАИ. Его антиоксидантный эффект при этом выражен незначительно.

Нейрамин также нормализует ряд показателей, характеризующих функцию печени. Это касается значений мочевины, креатинина, креатинкиназы плазмы крови, щелочной фосфатазы, СДГ, ЯПА-ДГ и ГАМК-Т печени. Одновременно не выявляется антиоксидантное действие данного препарата на показатели крови и печени. Нейрамин, как и Тавамин, оказывает выраженный корректирующий эффект на пул аминокислот в печени, нормализуя содержание Асп, Тре, Тау, Тир, ЭА, Вал, Три, Фен, Орн, Про и глутатиона, соотношение АРУЦ/ААК. В скелетной мускулатуре Нейрамин нормализует те же показатели, что и Тавамин, а в миокарде его эффекты на пул свободных аминокислот более позитивны в сравнении с Тавамином.

Тритарг, в сравнении с Тавамином и Нейрамином, обладает более выраженным корректирующим эффектом на активацию ПОЛ в крови и печени. Этот препарат нормализует ряд показателей, характеризующих функциональное состояние печени: мочевина, креатинин, глюкоза, креатинкиназа плазмы крови, щелочная фосфатаза и ЯПА-ДГ печени. Назначение Тритарга, в отличие от Тавамина и Нейрамина, приводит к повышению в плазме крови уровня десяти аминокислот, ЭА и глутатиона. Тритарг проявляет хорошо выраженный гепатотропный эффект, нормализуя уровни девяти аминокислот и глутатиона. Кроме того, данный препарат оказывает корректирующий эффект на четыре показателя этого обмена в скелетной мускулатуре. Тритарг обладает более выраженным позитивным действием, в отличие от Тавамина и Нейрамина, на пул свободных аминокислот в миокарде, нормализуя здесь уровни шести аминокислот, сниженные при ПАИ.

ПАИ сопровождается нарушением функционирования отдельных нейромедиаторных систем в структуры фонда нейроактивных аминокислот в ЦНС. Выраженность этих эффектов имеет региональную специфику в различных отделах головного мозга. ПАИ в большей степени изменяет активность дофаминергической системы, не затрагивая функционирование серотонинергической и ГАМК-ергической систем. На фоне ПАИ выявлено угнетение функциональной активности дофаминергической системы в коре

больших полушарий, стволе мозга и стриатуме. В таламической области и стриатуме при этом изменяются уровни нейроактивных аминокислот. Тавамин, Нейрамин и Тритарг способны препятствовать развитию этих нарушений в ЦНС, причем эффект в отношении тормозных и возбуждающих аминокислот более выражен у Нейрамина и Тритарга.

Таким образом, на основании полученных данных можно говорить о более выраженном позитивном влиянии Тритарга в качестве метаболической коррекции при ПАИ в сравнении с Тавамином и Нейрамином. Тритарг обладает более выраженными корригирующими эффектами на периферии – плазма крови, печень, сердце, скелетная мускулатура, а также, наряду с Нейрамином, в ЦНС.

Таким образом, ПАИ является относительно новой моделью экспериментальной алкоголизации, которая воспроизводит одну из форм потребления алкоголя в человеческой популяции. За последние 30 лет достаточно подробно были изучены нарушения метаболизма при различных вариантах ПАИ, а также предприняты попытки их целенаправленной коррекции широким набором средств. Полученные результаты дополняют представления о патогенетических механизмах формирования алкогольной зависимости и имеют несомненную практическую значимость.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич С.В., Лелевич В.В. Новые подходы в моделировании экспериментального алкоголизма / С.В. Лелевич, В.В. Лелевич // Актуальные проблемы медицины: материалы итог. науч. конф. – Гродно: ГрГМУ, 2011. – С. 352-354.
2. Лелевич С.В., Лелевич В.В. Методология экспериментального изучения токсического действия алкоголя и морфина / С.В. Лелевич, В.В. Лелевич // Вопросы наркологии. – 2018. – № 3. – С. 188-206.
3. Новые подходы в моделировании алкогольной интоксикации / В.В. Лелевич [и др.] // Современные аспекты изучения алкогольной и наркотической зависимости: мат. межд. симпозиума. – Гродно, 2004. – С. 86-90.
4. Обмен углеводов в печени крыс при прерывистой алкогольной интоксикации / А.Н. Бородинский [и др.] // Современные аспекты изучения алкогольной и наркотической зависимости: мат. межд. симпозиума. – Гродно, 2004. – С. 15-18.
5. Влияние прерывистой алкоголизации на некоторые показатели энергетического обмена печени крыс / Ю.В. Дравица [и др.] // Современные аспекты изучения алкогольной и наркотической зависимости: мат. межд. симпозиума. – Гродно, 2004. – С. 43-48.
6. Характеристика цикла трикарбоновых кислот в печени крыс на фоне прерывистой алкогольной интоксикации / Ю.В. Дравица [и др.] // Современные аспекты изучения алкогольной и наркотической зависимости: мат. межд. симпозиума. – Гродно, 2004. – С. 43-48.
7. Прокопьева В.Д., Мандель А.И., Ярычина Е.Г. Персонализированная антиоксидантная терапия при алкогольной зависимости / А.Д. Прокопьева, А.И. Мандель, Е.Г. Ярычина // Наркология. – 2017. – № 6. – С. 31-35.

8. Свободнорадикальный гомеостаз и развитие адаптационных процессов в печени крыс на фоне прерывистого и хронического потребления этанола / Д.А. Мискевич [и др.] // Весці НАН Беларусі. Серыя мед. навук. – 2006. – № 1. – С. 31-35.

9. Прерывистая алкогольная интоксикация и печень: Свободнорадикальный гомеостаз, оксид азота, адаптационные механизмы / Д.А. Мискевич [и др.] // Биомедицинская химия. – 2006. – № 5. – С. 489-495.

10. Влияние различных форм алкогольной интоксикации на состояние антиоксидантной системы печени / Д.А. Мискевич [и др.] // Весці НАН Беларусі. Серыя мед. навук. – 2007. – № 1. – С. 36-40.

11. Лелевич В.В., Артемова О.В. Динамика изменений пула свободных аминокислот плазмы крови крыс в условиях прерывистой алкоголизации / В.В. Лелевич, О.В. Артемова // Весці НАН Беларусі. Серыя біял. навук. – 2007. – № 4. – С. 93-96.

12. Артемова О.В., Лелевич В.В. Свободные аминокислоты печени крыс в условиях прерывистой алкогольной интоксикации / О.В. Артемова, В.В. Лелевич // Журнал ГрГМУ. – 2007. – № 3. – С. 25-28.

13. Артемова О.В., Лелевич В.В. Пул свободных аминокислот плазмы крови крыс в условиях различных режимов алкоголизации и коррекции с помощью L-аргинина и L-NAME / О.В. Артемова, В.В. Лелевич // Эксперим. и клиническая фармакология. – 2009. – № 3. – С. 33-36.

14. Артемова О.В., Лелевич В.В. Формирование пула свободных аминокислот печени крыс в условиях различных форм алкогольной интоксикации при коррекции L-аргинином и L-NAME / О.В. Артемова, В.В. Лелевич // Журнал ГрГМУ. – 2008. – № 2. – С. 47-50.

15. Метаболическая коррекция алкогольной интоксикации / С.В. Лелевич [и др.] // Гродно: ГрГМУ, 2013. – 176 с.

16. Лелевич В.В., Лелевич С.В. Коррекция метаболических нарушений композициями аминокислот при прерывистой алкогольной интоксикации / В.В. Лелевич, С.В. Лелевич // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 3. – С. 22-28.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ МЕТОДИЧЕСКОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРЕПОДАВАНИЯ БИОХИМИИ В МЕДИЦИНСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ

Лелевич В.В.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Биохимия – это наука о молекулярных основах жизни, то есть о качественном составе, количественном содержании и преобразованиях в биологических процессах соединений, образующих живую материю.

В виде самостоятельной научной дисциплины биохимия сформировалась во второй половине 19 века, когда в ряде университетов были созданы кафедры биохимии, подготовлены учебники, начали создаваться научные журналы и другие периодические издания. Это привело к тому, что курс биохимии стал обязательной составной частью учебных планов по подготовке медиков и биологов. Логическим обоснованием выделения биохимии в отдельную науку явились значительные успехи органической химии в изучении многочисленных природных соединений и физиологии в области исследования биологических процессов, протекающих в животных и растительных организмах. Наряду с этим, развитие биохимии самым тесным образом связано с практическими запросами таких отраслей человеческой жизнедеятельности как медицина, сельское хозяйство, промышленность [1].

Особенно динамический процесс развития биохимии характерен для последних нескольких десятилетий. Этому способствовало в первую очередь прогрессирующее применение в биохимических исследованиях целого ряда новых физико-химических методов, таких как – высокоэффективная жидкостная, гелевая и капиллярная хроматография; инфракрасная и ультрафиолетовая спектрофотометрия; гель-фильтрация, масс-спектрометрия, ядерно-магнитный резонанс, блот-анализ, полимеразная цепная реакция, методы секвенирования нуклеиновых кислот, генетическая дактилоскопия и целый ряд других. Введение новых исследовательских технологий каждый раз поднимало биохимическую науку на новую ступень познания закономерностей жизнедеятельности биологических систем, открывало новые уровни и возможности исследования живой материи. Отличительной чертой последнего периода в развитии биохимии является широкое применение скоростных методов анализа в сочетании с автоматизированным контролем. Это в значительной мере облегчает и ускоряет выполнение намеченных научных задач. В настоящее время практически полностью автоматизированы такие процессы как – количественное определение аминокислот, моно- и дисахаридов в биологических жидкостях; установление первичной структуры пептидов, белков и нуклеиновых кислот; серийное определение энзиматической активности; синтез пептидов, белков и олигонуклеотидов; хроматографическое фракционирование природных соединений. Современная биохимия охватывает большую область человеческих знаний. В связи с огромным объемом фактического материала и разнообразием теоретических обобщений биохимия структурируется на целый ряд направлений, каждый из которых имеет самостоятельное значение. Высокий динамизм накопления биохимических фактов логично должен быть сопряжен с определенной трансформацией преподавания предмета в медицинском вузе [2].

В последние годы в системе высшего и среднего специального образования Республики Беларусь все сильнее проявляется тенденция к увеличению его практико-ориентированного характера. Перед педагогическими коллективами учебных заведений ставится задача подготовить для страны не только теоретически грамотных специалистов, но и способных к эффективной профессиональной деятельности. Изучение

биохимии в медицинском вузе должно не только формировать у студентов базовый уровень биохимических знаний, но и служить основой для развития у них творческого профессионального мышления, способности связывать изучаемую теорию с будущей профессией. Именно этой цели должно отвечать инновационное, практико-ориентированное обучение с использованием современных методических подходов [3]. Это подразумевает формирование адекватной методической базы, включающей типовые учебные программы, учебники, пособия, практикумы, тесты контроля знаний и другие элементы, позволяющей решить поставленные задачи. С учетом различного спектра факультетов в медицинских университетах РБ на кафедры биохимии этих вузов возложена обязанность подготовки типовых учебных программ для соответствующих специальностей. В данном обзоре будет представлена информация, которая касается методического обеспечения учебного процесса при изучении биохимии на различных факультетах в Гродненском медицинском университете (ГрГМУ). На изучение биохимии на лечебном факультете отводится 147 аудиторных часов, включающих 105 часов лабораторных занятий и 42 часа лекций. В качестве основной литературы студентам рекомендуются учебники, подготовленные как белорусскими авторами («Биологическая химия» - В.К. Кухта и др., 2008 г; «Биологическая химия» - А.Д. Таганович и др. 2013 и 2016 г.), так и изданные в Российской Федерации («Биологическая химия» - Т.Т. Березов и др., 1998 г.). Однако обновление учебников, как правило, отстает от темпов обновления содержания учебных программ, поэтому коллективом преподавателей кафедры биохимии ГрГМУ были подготовлены и изданы несколько учебных пособий с грифом министерства образования РБ. К ним относятся – В.В. Лелевич и др. «Основы биохимии» (2010 г.); В.В. Лелевич и др. «Биологическая химия» (2015 г.); В.В. Лелевич и др. «Биохимия» (2022 г.). Для оптимизации подготовки студентов к лабораторным занятиям подготовлены методические рекомендации, которые содержат сведения о теме и цели занятия, перечень вопросов теоретического раздела, контрольные вопросы к лабораторной работе. В рекомендациях к каждому занятию приводится список рекомендуемой учебной литературы с указанием страниц, где можно найти необходимую для подготовки информацию, а также руководства для подготовки к лабораторной работе. Методические рекомендации обновляются по мере изменения учебных программ. Еще одним видом учебно-методической литературы, активно используемых в учебном процессе, является «Сборник тестовых заданий для компьютерного контроля знаний студентов». В настоящее время для студентов лечебного факультета он содержит 721 тест по статической, динамической и функциональной биохимии, а также по важнейшим разделам лабораторного практикума. Тестирование по соответствующим разделам проводится дважды в семестр перед каждым контрольным занятием, а также в конце изучения дисциплины. Предлагаемые в сборнике тесты способствуют более детальной и эффективной подготовке к контрольным заданиям и экзамену.

Обязательным видом учебной документации для студентов является рабочая тетрадь, в которой описывается обоснование выполнения

лабораторных работы, принцип применяемого в ней метода, ход работы, порядок расчета результатов и их возможная интерпретация. Следование такому четкому алгоритму оформления облегчает студентам понимание цели и задач лабораторного практикума. Если рассматривать ретроспективно, то сначала готовых рабочих тетрадей у студентов не было. При подготовке к занятиям они переписывали необходимый материал из соответствующих изданий. В 2004 г. было издано «Руководство для выполнения лабораторных работ по биологической химии для студентов лечебного и педиатрического факультетов», в котором уже содержались готовые макеты лабораторной части протокола и информация о клинко-диагностическом значении определяемых показателей, что позволило студентам существенно уменьшить затраты времени на внеаудиторную подготовку к занятиям. Со временем руководство модифицировали, в него добавили ряд заданий и упражнений для самостоятельной аудиторной работы, перечень вопросов к экзамену, словарь терминов, сведения о референтных значениях лабораторных показателей. Такое изменение содержания привело к изданию «Практикума по биологической химии» для студентов соответствующих факультетов. Данное издание позволяет студентам более эффективно готовиться к занятиям, самостоятельно выполнять биохимические методики, показывает важное значение определения биохимических показателей в диагностике заболеваний человека, что способствует формированию необходимости профессиональных компетенций.

Изучение биологической химии в медицинском вузе должно не только формировать у студентов базовый уровень биохимических знаний, но и служить развитию у них творческого профессионального мышления, способности связывать изучаемую теорию с будущей профессией. Именно этой цели отвечает метод инновационного практико-ориентированного проблемного обучения с использованием ситуационных задач и заданий, решение которых требует от студентов осознанного применения полученных знаний в ситуациях, имеющих отношение к будущей профессиональной деятельности. Использование ситуационных задач и заданий является важным методологическим приемом образовательного процесса [4].

Ситуационные задачи и задания – это методические материалы, позволяющие студенту в процессе работы с информацией последовательно осваивать интеллектуальные операции в следующей очередности: ознакомление – понимание – применение – анализ – синтез – оценка. Специфика ситуационной задачи заключается в том, что она носит ярко выраженный практико-ориентированный характер, но для ее решения необходимы конкретные теоретические знания по предмету. Для методического обеспечения этого направления сотрудниками кафедры биохимии ГрГМУ было подготовлено учебное пособие «Биологическая химия. Сборник задач и заданий», которое получило гриф Министерства образования РБ [5].

На кафедре биологической химии ГрГМУ в ходе учебного процесса осуществляется многоступенчатый контроль успеваемости студентов, включающий текущий контроль на лабораторных и семинарских занятиях,

промежуточный контроль на контрольных занятиях, а также итоговый контроль на курсовых экзаменах [6].

Текущий контроль может включать различные формы – устный опрос, письменные работы, написание рефератов, контроль подготовки и выполнения лабораторных работ. Результаты текущего контроля могут использоваться для аттестации студентов на зачетах, что повышает в глазах студентов роль учебной работы во время занятий. Отметка текущего контроля вносится в электронный журнал успеваемости на сайте университета.

Устный опрос как контроль знаний студентов осуществляется в виде фронтальной и индивидуальной проверки. При фронтальном опросе за короткое время проверяется состояние знаний студентов всей группы. Эта форма проверки используется для выяснения готовности группы к изучению нового материала, определения сформированности понятий, поэтапной или окончательной проверки изученного учебного материала при подготовке к выполнению лабораторных работ. Индивидуальный устный опрос позволяет выявить правильность ответа по содержанию, его последовательность, степень развития логического мышления, культуру речи студентов.

Эффективным элементом учебно-методического обеспечения образовательного процесса и управления подготовкой специалистов является электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК). Учебно-методический комплекс дисциплины – это совокупность нормативных документов, учебных изданий и учебно-методических материалов, способствующих эффективному освоению студентами учебного материала, входящего в программу дисциплины по специальности. ЭУМК включает комплекс разнообразных образовательных ресурсов (учебные, учебно-методические и вспомогательные информационно-справочные, контролирующие материалы, представленные в разных формах), необходимых для проведения всех видов занятий по данной дисциплине. Особенности структуры учебно-методических комплексов определяются образовательными стандартами и учебными планами по специальностям. УМК должен способствовать удовлетворению индивидуальных образовательных потребностей обучающихся и повышению эффективности образовательного процесса в целом [3].

На кафедре биологической химии ЭУМК были внедрены в учебный процесс в 2014 г. Первоначально УМК существовали в виде традиционного набора печатных документов. В дальнейшем были созданы ЭУМК в формате SunRav, затем – в программной оболочке Moodle и размещены на сайте университета, причем с возможностью авторизованного доступа. ЭУМК для специальности 1-79 01 01 «Лечебное дело» зарегистрирован в Государственном регистре информационных ресурсов. Он включает следующие элементы: образовательный стандарт, учебную программу с учебно-методической картой, лекционные материалы, руководства по проведению лабораторных занятий, методические рекомендации по проведению всех видов учебной деятельности по дисциплине, включая самостоятельную работу, тесты и другие материалы для текущего и промежуточного контроля знаний студентов.

Электронные учебно-методические комплексы имеют несомненные преимущества по сравнению с традиционными печатными. Это – возможность своевременного обновления учебно-методических материалов; способность составителей ЭУМК реагировать на запросы студентов, создавая возможность для интерактива с обучающей системой; возможность включения в состав ЭУМК ссылок на другие электронные источники информации. В отличие от печатного аналога, ЭУМК позволяет реализовать возможности освоения учебной информации в удобном для каждого учащегося темпе, в соответствии с его индивидуальными особенностями восприятия учебного материала. ЭУМК предоставляет доступ к контролирующим заданиям разного уровня сложности, актуальной учебной информации и возможности организации обратной связи.

ЭУМК – открытая система. По мере необходимости из него исключаются одни элементы, включаются другие, а третьи подвергаются изменениям как по содержанию, так и по форме предъявления материала. В ЭУМК на образовательной платформе Moodle размещены ссылки на рекомендуемые Internet-ресурсы, отражающие новые научные сведения по дисциплине «Биологическая химия». Содержание ЭУМК динамично обновляется по мере изменения и появления новых подходов к изучению и интерпретации тех или иных научных фактов. Создание и совершенствование ЭУМК – неотъемлемая часть методической работы каждого преподавателя учреждения высшего образования, способствующая повышению качества образования в учебном заведении. Этот вид работы способствует развитию и реализации творческого потенциала самого преподавателя, который может апробировать новые формы и методы педагогической деятельности.

Подготовка по специальности 1-79 01 02 «Педиатрия» ведется приблизительно в таком же объеме часов, как и «Лечебное дело» – 149 аудиторных часов. Схожими являются и организация учебного процесса, его методическое обеспечение. Для профилизации преподавания на педиатрическом факультете наряду с базовыми учебниками по предмету используются подготовленные сотрудниками кафедры учебные пособия с грифом министерства образования. В них систематизированы и представлены основные особенности метаболизма в растущем организме. В зависимости от возврата рассмотрены потребности ребенка в пищевых веществах, особенности обмена витаминов, возрастное становление эндокринной системы и гормональной регуляции, специфика протекания метаболических процессов в отдельных органах и тканях у детей. Вместе с тем в этих изданиях не повторяются данные о метаболизме при врожденных заболеваниях, имеющиеся в базовых учебниках. В настоящее время для студентов педиатрического факультета рекомендуется учебное пособие «Обмен веществ в детском организме», изданное в 2019 г. [7]. С учетом действующей типовой учебной программы для специальности «Педиатрия» подготовлены и используются в учебном процессе основные компоненты ЭУМК – «Методические рекомендации для студентов»; «Руководство для выполнения лабораторных работ»; «Сборник тестовых заданий по биохимии для компьютерного контроля знаний студентов».

Медико-психологический факультет (МПФ) функционирует только в ГрГМУ, в отличие от других медицинских университетов Республики Беларусь. Поэтому вся работа по организации и методическому обеспечению учебного процесса для специальности 1-79 01 05 «Медико-психологическое дело» возложена на кафедру нашего ВУЗа. Типовая учебная программа для данной специальности предусматривает 122 аудиторных часа и главным ее отличием является выделение отдельного раздела «Биохимия нервной системы». Ключевым моментом в организации учебного процесса на МПФ явилась подготовка и издание профильного учебного пособия «Нейрохимия». В 2007 г. данное учебное пособие было издано на электронном диске, а в 2008 г. получило гриф министерства образования Республики Беларусь в качестве учебного пособия для студентов специальности «Медико-психологическое дело». Острая необходимость подготовки данного учебного пособия обусловлена тем, что биохимия нервной системы – один из важнейших разделов современной биохимии, и в последнее время развивается достаточно интенсивно. Этому способствует прежде всего современный уровень развития биохимических исследований как в экспериментальном, так и в методическом отношении, успех молекулярной биологии, цитохимии, нейрофизиологии, психофармакологии и других научных направлений [3].

На динамическое развитие нейрохимии большое влияние оказывают такие факторы, как широкое применение разнообразных нейротропных, психотропных, наркотических и других препаратов, повышение частоты неврологических заболеваний и психических расстройств. Кроме того, в связи со значительным увеличением потока информации и повышением интеллектуальной деятельности современного человека, в настоящее время актуально изучение биохимических основ памяти, обучения, метаболического обеспечения эффективного функционирования головного мозга. В связи с этим понимание биохимических аспектов функционирования нервной ткани в норме и при патологических состояниях приобретает особую значимость и актуальность.

Как и на других факультетах, на МПФ активно применяется компьютерный контроль знаний студентов. В связи с этим подготовлены тестовые вопросы, которые были изданы и затем несколько раз обновлялись в связи с утверждением новых типовых программ по специальности «Медико-психологическое дело». Так, в 2009 г. утверждена типовая учебная программа по данной специальности в соответствии с новым образовательным стандартом и типовым учебным планом по специальности 1-79 01 05 «Медико-психологическое дело». Согласно данной программе, было сокращено количество аудиторных часов на изучение дисциплины «Биологическая химия» до 144, включающих 36 часов лекций и 108 часов лабораторных занятий. Значительное сокращение лекционного цикла потребовало определенной перестройки в проведении практических занятий, что касалось обсуждения теоретического раздела и ответов на неясные вопросы.

Типовая учебная программа 2014 г., подготовленная также сотрудниками кафедры биохимии ГрГМУ, предусматривала изменение количества

аудиторных часов на изучение биохимии. Общее количество часов отводилось в объеме 148, но существенно изменилось соответствие лекционной и лабораторной частей. Рекомендуемое количество лекционных часов возросло до 56, а практических занятий уменьшилось до 92. В этой связи продолжительность практических занятий на МПФ была сокращена с 3 до 2,5 академических часов.

В 2015 г. подготовлен и утвержден электронный учебно-методический комплекс для специальности «Медико-психологическое дело», который, как показала практика, активно используется студентами при изучении предмета. В этом же году обновлены методические рекомендации для студентов МПФ.

Процесс обновления касается всех элементов ЭУМК для каждой специальности. На МПФ это выразилось в подготовке второго издания учебного пособия «Нейрохимия» в 2021 г. [8].

Со времени выхода в свет первого издания данного учебного пособия прошло более 10 лет. За этот период нейрохимия обогатилась целым рядом новых сведений о химическом составе нервной ткани, в первую очередь головного мозга, более глубоком понимании некоторых функциональных процессов в нейронах, нейроспецифических особенностях метаболизма. Этим была обусловлена подготовка второго издания, объем которого был увеличен до 14 глав с введением ряда новых блоков информации. Появились новые главы: «История нейробиологии и нейрохимии», «Нуклеиновые кислоты нервной ткани», «Синапсы. Механизм синаптической передачи». Учебное пособие «Нейрохимия» в 2021 г. получило гриф Министерства образования Республики Беларусь по специальности «Медико-психологическое дело».

Подготовка кадров по специальности «Медико-диагностическое дело» в ГрГМУ началась в 2008 г., когда был организован медико-диагностический факультет.

В типовой учебной программе 2015 г. на изучение биологической химии было отведено 180 часов (72 часа – лекции, 108 часов – лабораторные занятия). То есть за счет уменьшения часов лабораторных занятий было снижено количество аудиторных часов и увеличено количество лекционных часов. Однако, несмотря на такие изменения, наша кафедра с учетом специализации обучения медико-диагностическому делу сохранила в учебной программе материал по биохимии патологических процессов. Он был диффузно распределен по имеющимся в программе традиционным разделам. В качестве нового в программе появился раздел «Биохимические основы канцерогенеза и воспаления».

В имеющейся на тот момент учебной литературе информации по данному разделу было недостаточно. Соответственно, для обеспечения качества учебного процесса было подготовлено пособие В. В. Лелевича, В. М. Шейбака и Н. Э. Петушок «Биохимия патологических процессов» (2016 г.). В данном пособии систематизированы основные сведения о патофизиологических механизмах возникновения и развития ряда заболеваний, связанных с нарушениями метаболизма белков, углеводов, липидов, аминокислот,

патологией сердечно-сосудистой и эндокринной системы, крови, а также о биохимических аспектах воспаления и злокачественного роста.

В 2021 г. с грифом учебно-методического объединения по высшему медицинскому, фармацевтическому образованию Республики Беларусь вышло новое пособие «Биохимические аспекты патологических процессов» (авторы – Лелевич В. В., Шейбак В. М., Петушок Н. Э.) [9].

Издание рекомендовано для студентов учреждений высшего образования, обучающихся по специальностям «Медико-диагностическое дело», «Лечебное дело», «Педиатрия» и «Медико-психологическое дело». В нем, помимо вышеперечисленных, появились главы, посвященные метаболическому синдрому, отдельным вопросам патонейрохимии, современным методам молекулярной биологии. Для реализации компетентного подхода это пособие ориентировано на углубленное описание нарушений метаболических процессов с акцентом на молекулярные механизмы, а также на метаболиты и ферменты, используемые как диагностические маркеры тех или иных патологий.

После уменьшения количества учебных часов (типовая учебная программа 2015 г., 180 аудиторных часов) часы лабораторных занятий в форму УСРС не переводились, вопросы биохимии патологических процессов изучались в рамках соответствующих тем.

Для студентов, обучающихся по данной специальности, также имеются профилированные сборник тестов, практикум, составлен ЭУМК.

Подготовка медицинских сестер (специальность 1-79 01 06 «Сестринское дело») в Гродненском государственном медицинском институте начата в 1991 г. Первоначально факультет медицинских сестер с высшим образованием функционировал как отделение лечебного факультета. Самостоятельность он приобрел в 2000 г. С 2008 г. подготовку кадров по специальности «Сестринское дело» осуществляет медико-диагностический факультет.

При подготовке программы для данной специальности кафедра использовала многолетний опыт преподавания дисциплины на лечебном и педиатрическом факультетах, а также то обстоятельство, что в процессе получения сестринского образования в медицинских училищах обучающиеся не изучают биологическую химию. Главная цель преподавания биохимии для данной специальности была определена как формирование знаний об основах молекулярной организации живой клетки, принципов метаболизма основных классов органических соединений, молекулярных механизмов развития патологических процессов, биохимических методов диагностики заболеваний.

Появление новой специальности, а также заочной формы обучения потребовало изменений и в работе преподавателей. Для оказания методической помощи при организации учебного процесса сотрудниками кафедры были подготовлены «Методические рекомендации для преподавателей», в которых к каждому занятию приводились технологический план работы, его содержание, методические советы преподавателям, формы контроля знаний и самостоятельной работы студентов.

Для специальности «Сестринское дело» подготовлены методические рекомендации, сборник тестов, руководство для лабораторных работ, ЭУМК.

В последние годы обучение по данной специальности проводится в заочной форме. Основная форма учебы студента-заочника – самостоятельная работа с учебной литературой, дидактическими материалами. Соответственно, возрастает роль ЭУМК как источника учебных материалов для самостоятельной работы студентов.

Таким образом, в настоящее время преподавание биологической химии в медицинских университетах Республики Беларусь ведется на достаточно высоком методическом уровне в соответствии с существующими требованиями к организации учебного процесса в высших учебных заведениях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Филиппович Ю.Б. Основы биохимии / Ю.Б. Филиппович – М.: Агар, 1999. – 512 с.
2. Лелевич В.В. Эволюция организации учебного процесса на кафедре биологической химии ГрГМУ (ГГМИ) / В.В. Лелевич // Актуальные проблемы биохимии: сборник мат. науч.-практ. конф. – Гродно: ГрГМУ, 2021. – С. 13-16.
3. Лелевич В.В., Леднева И.О., Маглыш С.С. и др. Современные тенденции преподавания биологической химии в медицинском университете / В.В. Лелевич, И.О. Леднева, С.С. Маглыш, Н.Э. Петушок, А.Г. Виницкая – Гродно: ГрГМУ, 2022. – 192 с.
4. Маглыш С.С., Леднева И.О., Лелевич В.В. Ситуационные задачи как активный метод изучения биологической химии в медицинском университете / С.С. Маглыш, И.О. Леднева, В.В. Лелевич // Вышэйшая школа. – 2022. – № 5. – С. 21-25.
5. Маглыш С.С., Лелевич В.В. Биологическая химия. Сборник задач и заданий / С.С. Маглыш, В.В. Лелевич. – Минск: Вышэйшая школа, 2019. – 204 с.
6. Леднева И.О., Лелевич В.В., Виницкая А.Г. Организация контроля знаний студентов при изучении биохимии в медицинском университете / И.О. Леднева, В.В. Лелевич, А.Г. Виницкая // Вышэйшая школа. – 2021. – № 5. – С. 14-17.
7. Лелевич В.В., Шейбак В.М., Масловская А.А. Обмен веществ в детском организме / В.В. Лелевич, В.М. Шейбак, А.А. Масловская. – Гродно: ГрГМУ, 2019. – 212 с.
8. Лелевич В.В. Нейрохимия / В.В. Лелевич. – Гродно: ГрГМУ, 2021. – 260 с.
9. Лелевич В.В., Шейбак В.М., Петушок Н.Э. Биохимические аспекты патологических процессов / В.В. Лелевич, В.М. Шейбак, Н.Э. Петушок. – Гродно: ГрГМУ, 2021. – 212 с.

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ ЦНС ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Виницкая А.Г.

УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь

Аддиктивное влечение к наркотикам (алкоголю) развивается вследствие формирования физиологической реакции положительного подкрепления, в появлении которой задействованы специфические структуры ЦНС [1, 7, 8]. Длительный прием алкоголя вызывает необратимые нейробиологические изменения, лежащие в основе феноменов мотивации, толерантности к повторному потреблению, компульсивного поведения, симптомов алкогольного абстинентного синдрома [5, 9, 12, 17]. Накоплено достаточно фактов, доказывающих, что в основе формирования алкогольной зависимости лежат процессы адаптации мозговых структур к постоянному присутствию алкоголя [7, 8, 14, 17, 19]. К патогенетическим факторам алкоголизма также относят ряд нейрохимических эффектов этанола, обусловленных нарушениями в мозге углеводного и энергетического обменов [6], реакций катаболизма гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), как дополнительного пути продукции субстратов ЦТК [4, 5]. При прекращении поступления алкоголя возникает дефицит энергетических субстратов в нервных клетках за счет снижения поточной скорости ЦТК [5]. Полагают, что снижение в мозге содержания НАДН и НАДФН при длительной алкогольной интоксикации создает условия для развития оксидативного клеточного стресса, играющего определенную роль в формировании алкогольной абстиненции [5].

Помимо перечисленных метаболических эффектов, алкоголь значительно меняет функции нескольких нейромедиаторных систем, включая дофаминергическую (ДА), норадренергическую, ГАМК-, глутаматергическую, серотонинергическую и другие системы ЦНС [2, 3, 8, 9, 10, 14, 16].

В настоящее время определен перечень отделов головного мозга, ответственных за проявления поведенческих симптомов острой и хронической алкогольной интоксикации. По современным данным все они являются частью так называемой «системы награды», которая объединяет структуры гипоталамуса, расширенной миндалины (*extended amygdala*), центральное ядро миндалины, стриатум, гиппокамп, а также структуры мезолимбической дофаминовой системы. К последней системе морфологически относятся вентральная область покрышки (*ventral tegmental area; VTA*), прилежащее ядро (*nucleus accumbens*) и префронтальная кора [1, 2, 8, 9, 20].

В обзорных работах, посвященных этой теме [1, 2, 7, 8], подкрепляющие эффекты этанола, фенамина и других наркотиков регулируются ГАМК-ергическими нейронами латерального гипоталамуса в мезолимбической дофаминовой системе. Система расширенной миндалины структурно содержит

большое количество кортиколиберина и является основой экстрагипоталамической системы кортикотропин-рилизинг гормона, влияющей на стресс-зависимое и эмоционально мотивированное поведение [8].

В 1980-1990-тых годах главное внимание исследователей было приковано к мезолимбической дофаминергической системе, как основе формирования эмоциональных положительных состояний при употреблении психоактивных веществ [1, 2, 18]. Начиная с 2000-х годов, акцент изучения механизмов, запускающих формирование синдрома зависимости от алкоголя, сместился к *ядру лозжа конечной полоски и центральному ядру миндалины*. Уточненный механизм передачи сигналов включает путь формирования нейронных связей через *базолатеральное ядро миндалины на прилежащее ядро и бледный шар* [8].

Согласно известной «*дофаминовой гипотезе*» центральным звеном формирования алкогольной зависимости являются изменения ДА-ергической нейромедиации в структурах *системы награды* [1, 2, 4, 15]. Если однократный прием алкоголя приводит к кратковременной активации ДА-ергической нейрональной активности в этих структурах, то продолжительное потребление сопровождается функциональным истощением этой нейромедиаторной системы и дефицитом дофамина. Развивающийся дефицит дофамина компенсируется усиленным синтезом нейромедиатора на фоне его ускоренного катаболизма. На этом фоне прекращение потребления алкоголя приводит к излишнему накоплению дофамина в ключевых структурах «системы награды» на фоне снижения тормозного контроля со стороны системы ГАМК. Именно эти процессы ответственны за развивающиеся клинические симптомы ААС: возбуждение, тревожность, появление вегетативных расстройств в виде ускорения пульса, подъема артериального давления и другие симптомы [1].

В настоящее время эта точка зрения дополнена многочисленными свидетельствами о сочетанной роли нескольких нейромедиаторных систем в проявлении эффектов хронической алкогольной интоксикации и ААС. Так, по последним представлениям длительное поступление алкоголя в организм сопровождается адаптивными перестройками в работе не одной, а нескольких нейромедиаторных систем ЦНС (моноаминергических, ГАМК-ергической, глутаматергической), целью которых является компенсация вызванной алкоголем дестабилизации и восстановление нейрохимического равновесия [2, 3, 11, 12, 14]. Этот адаптивный феномен проявляется в виде снижения физиологических реакций на уровне ЦНС в ответ на повторный прием алкоголя, и включает угнетение реакций катаболизма дофамина и уменьшение его выброса в синаптическую щель. Параллельно развиваются противоположные по направленности изменения тормозных (ГАМК-ергической) и возбуждающих (ДА-ергической, глутаматергической) нейромедиаторных систем [2, 3, 8, 10, 13, 14, 18, 19]. Обсуждаются также модуляторные эффекты со стороны опиоидных рецепторов и некоторых других нейромедиаторных систем [11, 14].

Прилежащее ядро (*nucleus accumbens*), точнее ее медиальная часть (*shell*), традиционно рассматривалась как одна из ключевых структур в механизмах

подкрепления, в том числе и активируемых различными наркотиками [7]. Оно также является одним из ключевых ядер базальных ганглиев, входит в состав вентрального стриатума и является частью «системы награды» [20].

Согласно гипотезе, изложенной в работе Clapp P., et al (2008), в основе формирования влечения к алкоголю лежит механизм с участием дофаминергических нейронов, ядра которых находятся в вентральной области покрышки (VTA), а аксоны в прилежащем ядре. Активность ДА-ергических нейронов VTA регулируется ГАМК-ергическими нейронами прилежащего ядра и глутаматергическими путями, идущих от префронтальной коры. Дополнительным фактором выступают опиоидные пептиды, модулирующие активность метаботропных μ -опиоидных рецепторов [14] (рисунок 1).

Однократный прием алкоголя приводит к активации ДА-ергических нейронов в VTA, аксоны которых проецируют этот сигнал в прилежащее ядро. Этому эффекту предшествует снижение активности ГАМК-ергических нейронов посредством двух механизмов. Первый механизм связан с активацией этанолом синтеза β -эндорфина, который взаимодействует с μ -опиоидными рецепторами на поверхности ГАМК-ергических нейронов и снижает их активность. Вторым фактором, снижающим тормозной контроль в VTA, является выброс нейромедиатора возбуждения – глутамата на ГАМК-ергические нейроны. Снижение интенсивности ГАМК-ергического торможения в VTA активирует синтез дофамина и стимулирует активность ДА-ергических нейронов (рисунок). Полагают, выброс дофамина из вентральной области покрышки в прилежащее ядро ответственен за позитивные подкрепляющие эффекты малых доз этанола [20].

Хроническая алкогольная интоксикация вызывает адаптивные изменения в нейрональной активности во многих отделах ЦНС, включая структуры «системы награды» [14]. Согласно механизму, изображенному на рисунке, прекращение приема алкоголя зависимыми пациентами сопровождается усиленным выбросом глутамата из нейронов префронтальной коры на ГАМК-ергические нейроны прилежащего ядра. Это приводит к усилению ГАМК-ергического торможения на фоне снижения выброса дофамина из VTA в прилежащее ядро. Этот механизм объясняет снижение налтрексоном (антагонист опиоидных рецепторов) интенсивности симптомов алкогольного абстинентного синдрома, за счет опиоидной регуляции активности ГАМК-ергических нейронов в прилежащем ядре [14].

Модель, предложенная Clapp P., et al (2008) объясняет сохранение влечения к алкоголю при рецидивах его потребления на фоне сформированной физической зависимости.

При повторном потреблении алкоголя происходит снижение тормозного ГАМК-ергического контроля в VTA за счет активации синтеза опиоидных пептидов, которые действуют в этом случае двояким образом: снижают выброс глутамата из нейронов префронтальной коры на ГАМК-ергические нейроны в VTA, или напрямую моделируют активность ГАМК-ергических нейронов прилежащего ядра через пресинаптические опиоидные рецепторы. Уменьшение

тормозного контроля со стороны ГАМК стимулирует выброс дофамина из этой структуры в прилежащее ядро (рисунок 1) [14].

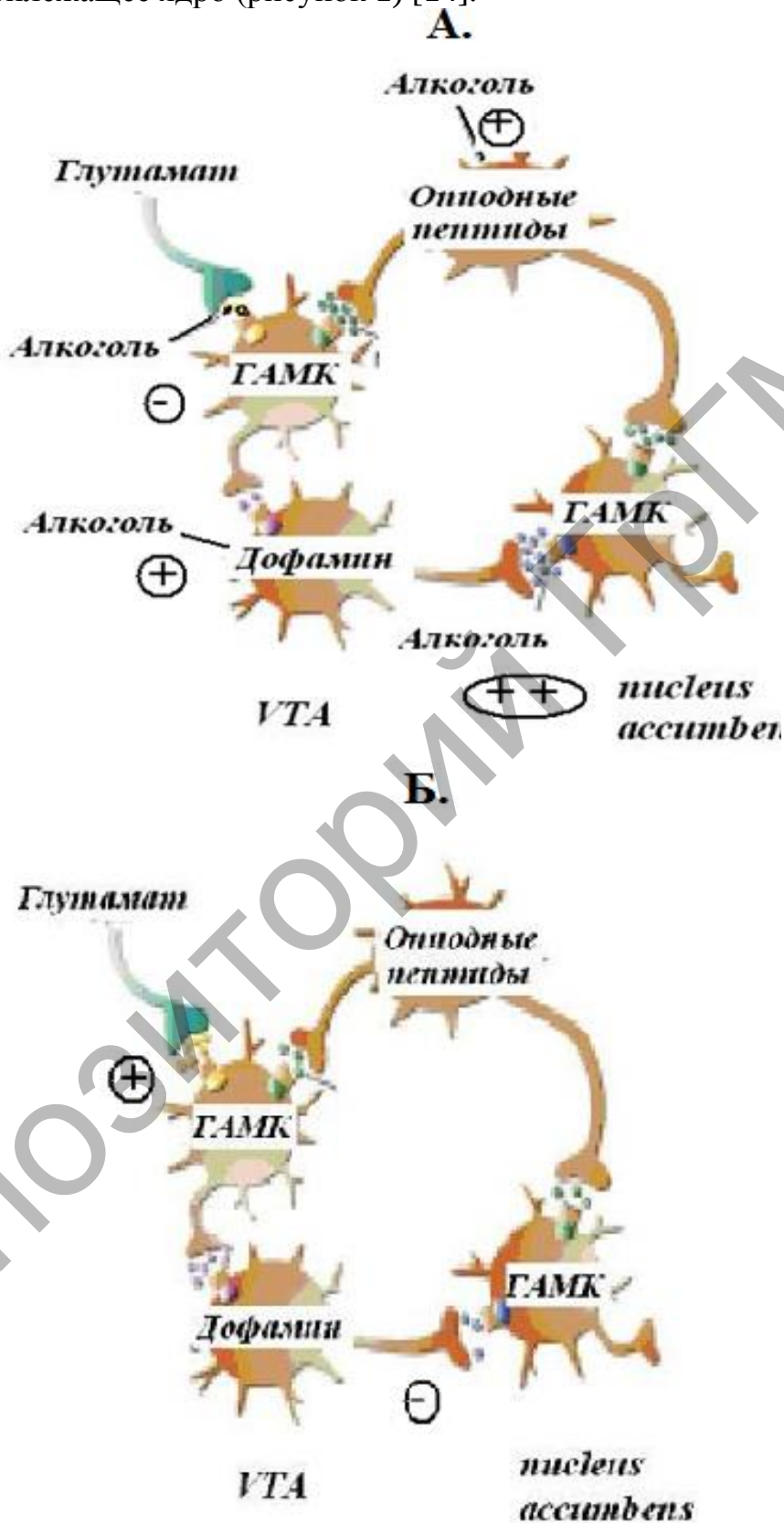


Рисунок – Состояние нейромедиаторных системы в вентральной области покрышки (VTA) и прилежащем ядре (nucleus accumbens) при острой (А.) и хронической (Б.) алкогольной интоксикации (из Clapp P., et al, (2008), [14])

Таким образом, предшествующий неконтролируемый прием алкоголя способствует развитию гиперчувствительности ДА-ергических нейронов VTA к действию алкоголя, что выражается в сохранении возбуждения в структуре более продолжительное время. Существует мнение, что сохранение высокой активности ДА-ергического проведения в VTA отвечает за риск возникновения симптомов ААС в случае повторных эпизодов отмены и способствуют рецидивам потребления алкоголя [12].

В пользу предлагаемой гипотезы свидетельствуют данные о взаимодействии этанола с различными глутаматергическими рецепторами. Так, в опыте *in vitro* этанол угнетал активность NMDA-рецепторов на изолированных нейронах гиппокампа и мозжечка [16]. В дальнейшем это исследование было повторено на других системах, включая нейроны коры больших полушарий, прилежащего ядра, структуры миндалины и VTA. Эти исследования продемонстрировали, что этанол ингибирует активность NMDA-рецепторов, не конкурируя при этом с глутаматом за место связывания с нейромедиатором. Этанол также ингибировал активность ионотропных AMPA рецепторов по неконкурентному механизму [19].

Согласно Kalivas P.W., O'Brien C. (2008), адаптивные изменения в активности глутаматергических проекций из различных отделов ЦНС (корковые структуры, миндалина, гиппокамп) в стриатум ответственны за компульсивное поведение пациентов, зависимых от алкоголя [19]. В случае с хронической алкогольной интоксикацией постоянное присутствие алкоголя в мозге приводит к длительному ингибированию глутаматных рецепторов. В этих условиях происходит адаптация нейромедиаторных систем к присутствию алкоголя и вырабатывает несколько механизмов поддержания функции рецепторов [19]. Согласно одному из них хроническая алкогольная интоксикация приводит к увеличению числа NMDA-рецепторов в гиппокампе, миндалине, коре больших полушарий грызунов за счет усиления синтеза субъединиц рецепторов. NMDA-рецепторы, полученные из патологоанатомических образцов коры больших полушарий умерших пациентов, обладали большим сродством к лигандам рецепторов [13]. Другие данные были получены Tanchuck M. A., et al (2011) на животной модели binge drinking, соответствующей длительному потреблению алкоголя в человеческой популяции [5, 11]. Хроническая алкогольная интоксикация у крыс в этой модели, вызывала уменьшение числа ГАМК_A-ергических рецепторов в VTA и прилежащем ядре, снижение их сродства к ГАМК на фоне увеличения количества и активности NMDA-рецепторов [11].

Таким образом, эффекты острой и хронической алкогольной интоксикации на нейроны структур «системы награды» оказались прямо противоположны по направленности. Ключевую роль здесь играет изменение баланса между активностью тормозной ГАМК-ергической системой и функционированием возбуждающих ДА-ергических и глутаматергических систем [14]. Помимо вышеперечисленных нейромедиаторных систем, регуляцию ДА-ергической активности в VTA осуществляют опиоидные нейропептиды и другие нейромедиаторы, включая *серотонин, норадреналин,*

эндогенные каннабиноиды [3]. Кроме этого, действие алкоголя осуществляется на уровне метаболизма нейромедиатором в нейронах и окружающих их глиальных клетках посредством модуляции активности пресинаптических метаботропных рецепторов [4, 14].

ЛИТЕРАТУРА

1. Анохина, И. П. Удовольствие и патогенез болезней зависимости / И. П. Анохина // Вопросы наркологии. – 2018. – №. 2. – С. 22-34.
2. Востриков, В. В. Биохимические маркеры алкогольной и опиатной зависимости. / В. В. Востриков, В. П. Павленко, П. Д. Шабанов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2004. – Т. 3, № 3. – С. 18-55.
3. Королева, С. В. Взаимодействие дофамина, серотонина и других факторов внутреннего подкрепления / С. В. Королева, А. А. Николаева, И. П. Ашмарин // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2006. – №. 4. – С. 457-469.
4. Лелевич, В. В. Алкоголь и мозг (метаболические аспекты) : монография / В. В. Лелевич, С. В. Лелевич, А. Г. Веницкая. – Гродно : ГрГМУ, 2019. – 244 с.
5. Лелевич, В. В. Метаболические механизмы алкогольной абстиненции (экспериментальные аспекты) / В. В. Лелевич, А. Г. Веницкая, С. В. Лелевич // Наркология – 2017. – № 11. – С. 92-106
6. Лелевич В. В. Роль нарушений углеводно-энергетического обмена головного мозга в патогенезе экспериментального алкоголизма: Автореф. дисс. на соискание ученой степени д.м.н. М., 1992. 39с.
7. Нейробиологические механизмы систем награды и наказания в головном мозге при активации прилежащего ядра / М. В. Шевелева, [и соавт.] // Обзоры по клинич. фармакол. и лек. терапии. 2013. – №3. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/neurobiologicheskie-mehanizmy-sistem-nagrady-i-nakazaniya-v-golovnom-mozge-pri-aktivatsii-prilezhaschego-yadra> (дата обращения: 01.02.2024).
8. Шабанов, П. Д. Участие ГАМК- и дофаминергических механизмов ядра ложа конечной полоски в подкрепляющих эффектах психотропных средств, реализуемых через латеральный гипоталамус / П. Д. Шабанов, А. А. Лебедев // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2011. – Т. 97. – №. 8. – С. 804-813.
9. Acute withdrawal, protracted abstinence and negative affect in alcoholism: Are they linked? / M. Heilig, [et al] // Addict Biol. – 2010. – Vol. 15, N 2. – P. 169-184. doi: 10.1111/j.1369-1600.2009.00194.x.
10. Alele, P. E. Differential adaptations in GABAergic and glutamatergic systems during ethanol withdrawal in male and female rats / P. E. Alele, L. L. Devaud // Alcohol. Clin. Exp. Res. – 2005. – Vol. 29, N 6. – P. 1027-1034.
11. Assessment of GABA-B, metabotropic glutamate, and opioid receptor involvement in an animal model of binge drinking / M. A. Tanchuck, [et al] // Alcohol. – 2011. – Vol. 45, N 1. – P. 33-44. doi: 10.1016/j.alcohol.2010.07.009.

12. Becker, H. C. Chapter 3 – Neurochemical mechanisms of alcohol withdrawal / H. C. Becker, P. J. Mulholland. – Handbook of Clinical Neurology, Vol. 125 (3rd series). Alcohol and the Nervous System/ E. V. Sullivan and A. Pfefferbaum, Editors. – Elsevier B.V., 2014. – P. 133-156.
13. Carpenter-Hyland, E. P. Chronic ethanol induces synaptic but not extrasynaptic targeting of NMDA receptors / E. P. Carpenter-Hyland, J. J. Woodward, L. J. Chandler // Journal of Neuroscience. – 2004. – Vol. 24. – P. 7859-7868. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1902-04.2004
14. Clapp, P. How adaptation of the brain to alcohol leads to dependence: a pharmacological perspective / P. Clapp, S. V. Bhave, P. L. Hoffman // Alcohol Res Health. – 2008. – Vol. 31, N 4. – P.310-39.
15. Different dopamine tone in ethanol high- and low-consuming Wistar rats / M. Ericson, [et al] // Addiction Biology. – 2020. – Vol. 25, N 3. – e12761. doi: 10.1111/adb.12761. Epub 2019 May 16. PMID: 31099157.
16. Hoffman, P.L. NMDA receptors in alcoholism / P.L. Hoffman // International Review of Neurobiology. – 2003. – Vol. 56. – P. 35–82. doi: 10.1016/s0074-7742(03)56002-0.
17. Identification and management of alcohol withdrawal syndrome / A. Mirijello, [et al] // Drugs. – 2015. – Vol. 75, N 4. – P. 353-365. doi: 10.1007/s40265-015-0358-1.
18. Iversen, S.D. Dopamine: 50 years in perspective / S.D. Iversen, L.L. Iversen // Trends in Neurosciences. – 2007. – Vol. 30. – P. 188–193. 2007 May;30(5):188-93. doi: 10.1016/j.tins.2007.03.002.
19. Kalivas, P.W. Drug addiction as a pathology of staged neuroplasticity / P.W. Kalivas, C. O'Brien // Neuropsychopharmacology. – 2008. – Vol. 33. – P. 166–180. doi: 10.1038/sj.npp.1301564.
20. Nucleus accumbens core and pathogenesis of compulsive checking / J.B. González, [et al] // Behav Pharmacol. – 2015. –Vol. 26, N 1. – P. 200-216. doi: 10.1097/FBP.0000000000000112

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ ГЛИКОГЕНА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ

Виницкая А.Г., Лелевич В.В.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Гликоген – сложный полимер глюкозы, обнаруженный во многих тканях животных. Основные его запасы аккумулированы в печени и скелетной мускулатуре – 100-500 мкмоль и 300-350 мкмоль на грамм ткани, соответственно [2, 8, 11]. Головной мозг человека содержит гликоген в относительно небольших количествах – примерно 1 грамм, или всего 0,1% от массы тела, что в процентном соотношении в 10 раз меньше, чем в мышечной ткани, и в 100 раз меньше, чем в печеночной ткани. Тем не менее,

концентрация гликогена в мозге почти в 7 раз превышает содержание глюкозы в этом органе [13].

Депозиты гликогена обнаружены практически во всех отделах ЦНС, с наибольшей концентрацией в регионах с высокой синаптической плотностью, что может быть связано с участием гликогена в энергетическом обеспечении синаптической нейротрансмиссии [2, 8, 10]. При электронном микроскопировании серого вещества, больше всего гликогена обнаружено в мозжечке, гиппокампе, гипоталамусе, кортикальных структурах и стриатуме. Тем не менее, имеются данные о нахождении гранул гликогена в белом веществе, т.е. структурах, свободных от синапсов [13, 15].

В эмбриональном головном мозге метаболизм гликогена происходит как в нейронах, так и в глиальных клетках. Во взрослом головном мозге астроциты являются основным местом синтеза и накопления гликогена [4-8, 11]. Небольшие количества гликогена и ферменты его синтеза обнаружены в нейронах, но в очень малых количествах по сравнению с астроцитами [13]. Полагают, что нейроны специально поддерживают низкий уровень гликогена, поскольку его избыток может приводить к апоптозу [18]. С возрастом в нейронах усиливается синтез гликогена, и они все больше демонстрируют независимость от лактата и гликогена в астроцитах [3].

Согласно данным Brunet J.F. et al., (2010), содержание гликогена в астроцитах возрастает по мере дифференциации этих клеток и достигает максимума в наиболее дифференцированных глиальных клетках [14]. У молодых животных, помимо астроцитов, накопление гликогена происходит в эпидермальных клетках и хороидном сплетении, а также в эмбриональной нейрональной и глиальной ткани [14].

Синтез гликогена в нервной ткани требует образования **УДФ-глюкозы** из **глюкозо-1-фосфата** и **УТФ** при участии фермента **УДФ-глюкозопирофосфорилазы**. На последующем этапе формируется новая $\alpha 1 \rightarrow 4$ -гликозидной связи в полимерной линейной цепи, состоящей из молекул глюкозы. Эта реакция катализируется **гликоген синтазой**. Образование $\alpha 1 \rightarrow 6$ -гликозидных связей происходит при участии **гликоген-ветвящего фермента** [15]. Ключевой фермент синтеза - **гликоген синтаза** существует в виде трех изоформ, специфичных для печени, мышечной и нервной ткани. В головном мозге гликоген синтаза кодируется геном GYS1, который был обнаружен также в мышечной ткани, но не в печени [7].

Распад гликогена сопровождается образованием **глюкозо-1-фосфата** при сочетанном действии двух ферментов: **гликоген фосфорилазы** и **деветвящего фермента**. Активность лимитирующего фермента гликогенолиза – **гликоген фосфорилазы**, определяется активностью дополнительных ферментов – **киназы фосфорилазы** и **протеинкиназы А**. Активатором последнего фермента которого выступает цАМФ [2, 8, 10]. В тканях млекопитающих обнаружены три изоферментные формы **гликоген фосфорилазы**: мышечная (MGP), печеночная (LGP) и мозговая (BGP). Помимо мозгового изофермента BGP, в головном мозге происходит экспрессия изоформы MGP [11, 14]. Образующийся в фосфорилазной реакции глюкозо-1-фосфат затем преобразуется в глюкозо-

6-фосфат, который метаболизируется в реакциях гликолиза. Суммарно все реакции метаболизма гликоген через фосфорилированные производные глюкозы получили название «гликогеновый шунт» [2, 19].

Существует несколько механизмов, контролирующих процесс синтеза гликогена: фосфорилирование, аллостерическая активация глюкозо-6-фосфатом и внутриклеточная локализация процесса. Ключевую роль в активации гликоген синтазы играет субъединица протеин фосфатазы – PTG (*protein targeting to glycogen*), экспрессия которой обнаружена в головном мозге [7, 10]. Мышечная изоформа гликоген фосфорилазы MGP регулируется гормонами через фосфорилирование протеинкиназой. В отличие MGP, мозговая изоформа **гликоген фосфорилазы** в наивысшей степени чувствительна к изменениям концентрации АМФ в клетке, и приспособлена к процессу производства энергии для нужд клетки [16].

Роль гликогена в головном мозге.

В большинстве животных тканях гликоген используется, как дополнительный источник энергии [13]. Однако небольших запасов гликогена в головном мозге недостаточно для поддержания всех его функций. При обычной функциональной активности мозг полностью зависим от поступления глюкозы из системы кровообращения [2, 5, 8, 11]. Тем не менее, большинство авторов поддерживают гипотезу о важной роли гликогена в энергетическом обеспечении нейронов.

Гликоген, аккумулируемый в астроцитах, утилизируется с высвобождением энергии в следующих ситуациях:

1. При прекращении или недостаточном поступлении кислорода и глюкозы в головной мозг [4, 8, 9].
2. Во время периодов повышенной активности нейронов, когда приносимой кровью глюкозы недостаточной для поддержания активности нейронов [5].
3. Для поддержания специфической и местной активности нейронов при сенсорной стимуляции [8], формировании долговременной памяти [4, 6, 16], регуляции циркадных ритмов сна-бодрствования [17].

Повышение активности синаптических структур в нормальных физиологических условиях также сопровождается утилизацией гликогена. Было показано, что основным продуктом метаболизма гликогена в этих условиях является пируват, а не лактат [19]. Применение меченных субстратов показало, что большая часть пирувата, образуемого из гликогена, метаболизируется по окислительному пути, тогда как остальная часть – в лактат [20]. Как было показано в опытах *in vitro* и *in vivo*, ряд регионов головного мозга зависят от метаболизма гликогена для поддержания нейротрансмиссии во время нормальной физиологической активности.

Несмотря на относительно низкие запасы гликогена в астроцитах он активно используется в поддержании уровня гликемии **в условиях гипоксии или ишемии** [4, 8]. Но поскольку его концентрации в ЦНС намного ниже, чем в печени, считается, что запасов гликогена в мозге хватает только на несколько минут в условиях полного прекращения поступления глюкозы в головной мозг

[8]. При ишемии недостаток поступления кислорода в ЦНС способствует быстрому расходованию запасов глюкозы и гликогена и снижению продукции молекул АТФ, необходимой для функционирования нервных клеток. По оценкам разных авторов этих запасов также хватает на поддержания активности нейронов только на несколько минут состояния ишемии [19].

Примерный механизм метаболизма гликогена в условиях умеренной гипогликемии был представлен в работе Gruetter R., et al (2003) [15]. Согласно этой модели снижение уровня глюкозы в крови сопровождается уменьшением поступления глюкозы, как в нейроны, так и астроциты, что неизбежно приводит к нарушению энергообеспечения синаптических структур. При этом в астроцитах активируется распад гликогена до молочной кислоты, поступающей в пре- и постсинаптические нейроны, где она используется в качестве источника энергии (рисунок).

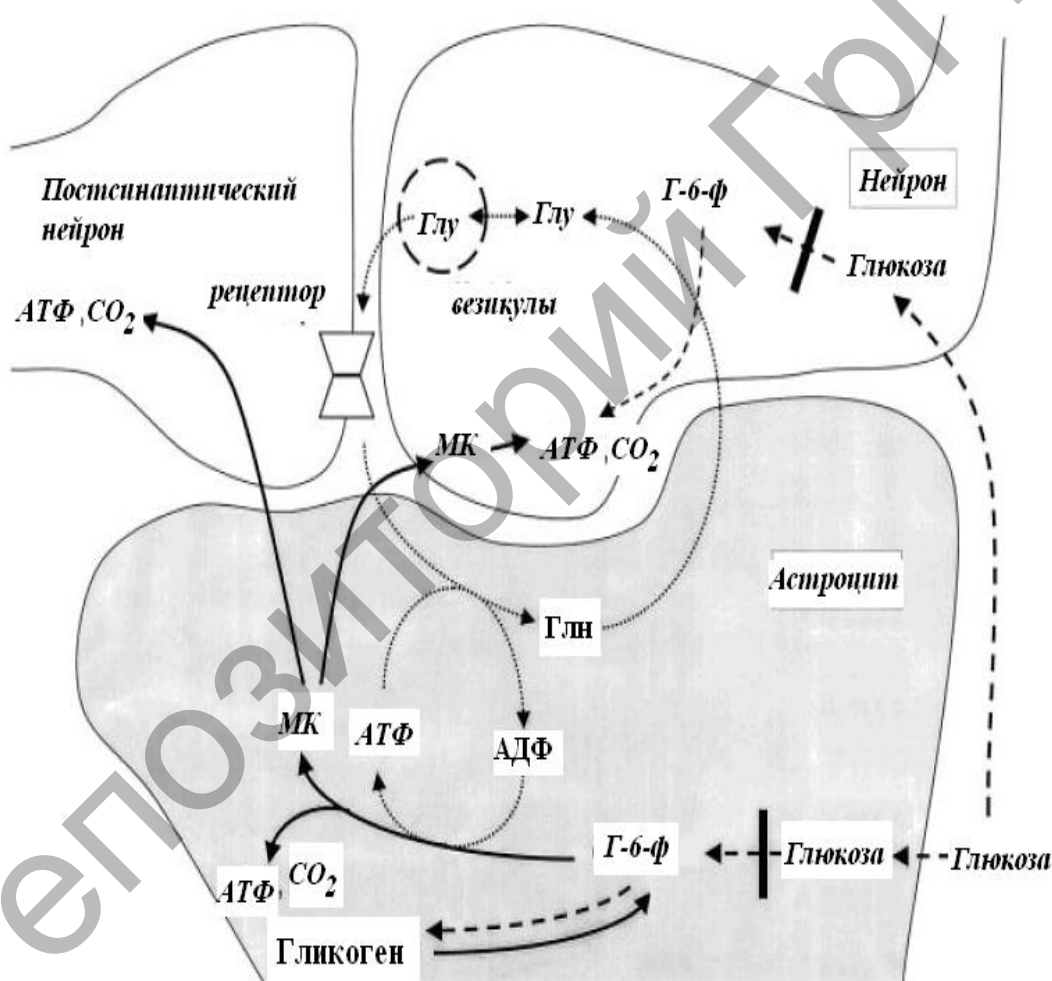


Рисунок – Особенности обмена гликогена и глюкозы в астроцитах и нейронах в условиях гипогликемии (адаптировано из Gruetter R., et al., 2003):

Примечание: Г-6-Ф – глюкозо-6-фосфат; МК – молочная кислота;

ГЛУ – глутамат; ГЛН – глутамин

Авторы показали, что в условиях умеренной гипогликемии запасы гликогена в астроцитах способны поддерживать энергетический обмен в сером

веществе, по крайней мере, в течение 1,5 часа, тогда как в белом веществе лактат расходуется примерно за 20 минут [15]. Активация нейрональной проводимости до пределов, когда потребность энергии превышает поступление глюкозы, сопровождается метаболизмом гликогена до молочной кислоты, что обеспечивает нейроны энергией, достаточной для поддержания нейрональной активности. В то же время, при достаточном поступлении в мозг глюкозы и нормальном уровне инсулина часть глюкозы аккумулируется в астроцитах в виде гликогена [1, 15].

Помимо функции энергетического субстрата, дискутируется роль гликогена, как **прекурсора нейромедиаторов и регулятора активности глутаматергических нейронов** [20]. Согласно модели Gruetter R., et al., (2003), распад гликогена в астроцитах в условиях гипогликемии обеспечивает эти клетки АТФ, необходимой для синтеза глутамина из глутаминовой кислоты. Глутаминсинтазная реакция происходит исключительно в астроцитах [12, 15], а производимый в ней глутамин используется нейронами для синтеза нейромедиаторов глутамата [15], или гамма-аминомасляной кислоты [20].

Эксперименты с применением ингибитора гликоген фосфорилазы также продемонстрировали зависимость между обменом астроцитарного гликогена и поддержанием низкой внеклеточной концентрации глутамата [20]. Известно, что клиренс внеклеточного глутамата поддерживается специфическими Na^+ -зависимыми транспортными белками в мембранах астроцитов, активность которых регулируется Na^+/K^+ -АТФ-азой, чувствительной к изменению уровня АТФ. Этот механизм объясняет излишнее накопление глутамата и повышение глутаматергической активности в ЦНС при нейродегенеративных болезнях. Полагают, что дегенерация нейронов при этом виде патологий возникает вследствие нарушения энергетического обмена в астроцитах и нарастания концентрации глутамата во внеклеточном пространстве [10, 14, 20].

В отличие от других тканей, обмен глюкозы в головном мозге не зависит от инсулина. В тоже время, **обмен гликогена в ЦНС напрямую регулируется инсулином, проникающим в мозг через гематоэнцефалический барьер** [1, 11]. Дополнительным доказательством этого предположения являются инсулиновые рецепторы, открытые на поверхности астроцитов и эндотелиальных клеток [10].

Введение инсулина крысам приводило к падению уровня глюкозы в крови и сопровождалось приростом запасов гликогена в ЦНС выше базального уровня, или явлением суперкомпенсации [9]. Суперкомпенсация синтеза гликогена в головном мозге была продемонстрирована при других индуцированных патологических состояниях: в моделях лишения сна [10], гипоксической ишемии [15]. Аккумуляция гликогена при некоторых состояниях могла оказывать нейропротекторное действие, поскольку эти запасы использовались для обеспечения нейронов энергией и поддержания их активности.

Помимо инсулина, регулятором превращения глюкозы в гликоген выступает **норадреналин**, действие которого на ферменты заключается в увеличении внутриклеточных уровней цАМФ и ионов Ca^{2+} . Так, введение

норадреналина в среду культивируемым астроцитам вызывает у них активацию метаболизма глюкозы [7]. Другие авторы исследовали эффекты сочетанного назначения норадреналина и ингибитора гликоген фосфорилазы культивируемым астроцитам. В этих экспериментальных условиях норадреналин способствовал превращению в гликоген примерно 40% всей внутриклеточной глюкозы. В дополнение к этим эффектам норадреналин усиливал захват глюкозы клетками, а также активность ферментов пируватдегидрогеназного и α -кетоглутаратдегидрогеназного комплексов, что приводило к активации реакций ЦТК [14].

Таким образом, функции гликогена в нервной ткани сходны с функциями этого полисахарида в тканях с наибольшим его содержанием (печень, скелетная мускулатура), а его обмен напрямую коррелирует с рядом состояний организма и патологий. Уменьшение до минимума запасов гликогена в астроцитах непосредственно приводит к нейрологическим нарушениям при депрессии [17], хроническом стрессе [15], болезни Альцгеймера, сахарном диабете и других заболеваниях [5]. В то же время, кратковременное накопление гликогена в нервной ткани рассматривается, как адаптивный механизм сохранения энергии для синаптической передачи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондарева, В.М. Инсулин и инсулинрецепторная сигнальная система мозга / В.М. Бондарева, О.В. Чистякова // Нейрохимия. – 2007. – Т. 24. – №. 1. – С. 8-20.
2. Лелевич, В. В. Алкоголь и мозг (метаболические аспекты) : монография / В. В. Лелевич, С. В. Лелевич, А. Г. Виницкая. – Гродно : ГрГМУ, 2019. – 244 с.
3. Aging-associated changes in hippocampal glycogen metabolism in mice. Evidence for and against astrocyte-to-neuron lactate shuttle./ D. Drulis-Fajdasz, [et al] // Glia. - 2018. – Vol. 66. – P. 1481–1495. doi: 10.1002/glia.23319
4. Astrocyte glycogen and lactate: New insights into learning and memory mechanisms / C.M. Alberini, [et al] // Glia. - 2018. – Vol. 66, N 6. – P. 1244–1262. doi:10.1002/glia.23250
5. Astrocytic glycogen metabolism in the healthy and diseased brain / Bak L. K., [et al] // Journal of Biological Chemistry. – 2018. - Vol. 293, Issue 19. – P. 7108-7116, <https://doi.org/10.1074/jbc.R117.803239>.
6. Astrocyte-neuron lactate transport is required for long-term memory formation / A. Suzuki, [et al.] // Cell. - 2011. – Vol. 144. – P. 810–823. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.018
7. Brain glycogen-new perspectives on its metabolic function and regulation at the subcellular level / L.F. Obel, , [et al] // Frontiers in neuroenergetics. – 2012. – Vol. 4. Article 3. doi:10.3389/fnene.2012.00003
8. Brown, A.M. Astrocyte glycogen and brain energy metabolism / A.M. Brown, B.R. Ransom // Glia. – 2007. – Vol. 55, N 12. – P. 1263-1271.
9. Choi, I.Y. Effect of hypoglycemia on brain glycogen metabolism in vivo / I.Y. Choi, E.R. Seaquist, R. Gruetter // J Neurosci Res. - 2003. - Vol. 72. – P. 25-32.

10. Emerging Roles for Glycogen in the CNS / A.E. Waite, [et al] // *Front Mol Neurosci.* – 2017. Mar 16;10:73. doi: 10.3389/fnmol.2017.00073. PMID: 28360839; PMCID: PMC5352909.
11. Energy Metabolism of the Brain, Including the Cooperation between Astrocytes and Neurons, Especially in the Context of Glycogen Metabolism / A. Falkowska, [et al] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2015. – Vol. 16. – P. 25959-25981; doi:10.3390/ijms161125939
12. Energy substrates to support glutamatergic and GABAergic synaptic function: role of glycogen, glucose and lactate / A. Schousboe, [et al] // *Neurotox Res.* – 2007. – Vol. 12, N 4. – P. 263-268.
13. Glycogen in Astrocytes and Neurons: Physiological and Pathological Aspects / J. Duran, [et al.]. - *Brain Glycogen Metabolism. Advances in Neurobiology*, DiNuzzo, M., Schousboe, A. (eds). – 2019. - Vol 23. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-27480-1_10
14. Glycogen metabolism as a marker of astrocyte differentiation / J.F. Brunet, [et al] // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* - 2010. – Vol. 30. – P. 51-55 10.1038/jcbfm.2009.207
15. Gruetter, R. Glycogen: the forgotten cerebral energy store / R. Gruetter // *J Neurosci Res.* – 2003. – Vol. 74, N 2. – P. 179-183. doi: 10.1002/jnr.10785. PMID: 14515346.
16. Impairment in long-term memory formation and learning-dependent synaptic plasticity in mice lacking glycogen synthase in the brain / J. Duran, [et al] // *J. Cereb. Blood Flow Metab* – 2013. – Vol. 33. – P. 550-556. doi: 10.1038/jcbfm.2012.200
17. Inadequate brain glycogen or sleep increases spreading depression susceptibility / K. Kilic, [et al.] // *Ann. Neurol.* - 2018. – Vol. 83. – P. 61-73. doi: 10.1002/ana.25122
18. Mechanism suppressing glycogen synthesis in neurons and its demise in progressive myoclonus epilepsy / D. Vilchez, [et al.] // *Nat. Neurosci.* – 2007. – Vol. 10, N 11. – P. 1407-1413. doi: 10.1038/nn1998. Epub 2007 Oct 21.
19. Shulman, R.G. Cerebral energetics and the glycogen shunt: neurochemical basis of functional imaging / R.G. Shulman, F. Hyder, D.L. Rothman // *Proc Nat Acad Sci USA.* – 2001. – Vol. 98. – P. 6417-6422. doi: 10.1073/pnas.101129298.
20. The glutamine-glutamate/ GABA cycle: regional differences in glutamate and GABA production and effects of interference with GABA metabolism / A. B Walls, [et al] // *Neurochem. Res.* – 2015. – Vol. 40, № 2. – P. 402-409. doi: 10.1007/s11064-014-1473-1. Epub 2014 Nov 8.

ПУЛ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ТКАНЕЙ И БИОЛОГИЧЕСКИХ И ЖИДКОСТЕЙ: ИНФОРМАТИВНОСТЬ И ЭВОЛЮЦИЯ ВЭЖХ-МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дорошенко Е.М.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

1. Аналитические задачи, требующие анализа свободных аминокислот

Актуальность разработки и совершенствования методов определения свободных (физиологических) аминокислот (АК) в биохимических исследованиях связана с тем, что одновременное определение в биологических средах как можно более широкого спектра ключевых метаболитов, к которым относятся аминокислоты и их производные, позволяет получать интегральную информацию о метаболическом статусе организма в норме и при патологии, вычленять и контролировать звенья метаболического контроля, характеризующие патологический процесс и эффективность терапии [1,2]. Несмотря на то, что основные компоненты аминокислотного пула тканей и биологических жидкостей млекопитающих были идентифицированы в 60-х гг. XX века [1], проблема создания удовлетворительного с точки зрения селективности и воспроизводимости метода определения пула свободных аминокислот и родственных соединений остается актуальной. Это связано с тем, что пул свободных аминокислот и родственных соединений включает в себя значительное количество соединений, способных при определении интерферировать с протеиногенными аминокислотами. Поэтому для определения пула даже только протеиногенных аминокислот требуется существенно более высокая разрешающая способность метода, чем для исследования белковых или аминокислотных препаратов, поэтому методы, оптимизированные для этой задачи, для анализа аминокислотного пула тканей и биологических жидкостей непригодны. Это является существенным ограничением для применения аминокислотного анализа в лабораторной диагностике.

Метаболические расстройства, связанные с фондом (пулом) аминокислот, играют значимую роль при заболеваниях [2], печени [3], сердца и сосудов [4,5], стрессе [6]. Ранее нами были получены результаты, свидетельствующие о перспективности применения аминокислотного анализа для характеристики состояния метаболического гомеостаза при заболеваниях внутренних органов [3,7], злокачественном росте [8]. Имеются работы, обосновывающие центральную роль нарушений обмена свободных аминокислот при алкогольной интоксикации и зависимости [9], действии психоактивных веществ [10], иммунодефицитах [11].

Анализ аминокислот представляет собой одну из наиболее сложных задач аналитической биохимии, что связано с отсутствием в структуре аминокислот

надежного отличительного признака (функциональной группировки), который бы давал возможность надежно и селективно выделять аминокислоты из матрицы пробы биологического материала [1]. Последняя практически всегда содержит большое количество других соединений, имеющих amino- или карбоксильные группы, за исключением препаратов чистого (гомогенного) белка. Аминокислоты не являются удобным объектом для газовой хроматографии, так как требуют перевода в летучие производные, в связи с чем газохроматографические методы их анализа не являются общепринятыми в качестве аналитического стандарта. Методы жидкостной хроматографии или электрофореза позволяют разделять аминокислоты непосредственно и работать с матрицей пробы на водной основе, но разделение их полного спектра в одной пробе чрезвычайно затруднено из-за больших различий между аминокислотами по параметрам, являющимся ключевыми для обычно используемых принципов разделения: полярности, величине pK , кинетике сорбции. Представляет сложности и детектирование аминокислот, так как более универсальные методы (определение оптических свойств элюата) либо неспецифичны для этого класса соединений, либо позволяют определять не весь спектр АК.

До уровня промышленного стандарта в настоящее время доведен только анализ белковых аминокислот (анализ гидролизатов), при котором разрешающая способность метода ограничивается соединениями, образующимися при гидролизе белков. Все имеющиеся в настоящий момент и коммерчески доступные наборы для определения полного спектра аминокислот предназначены для решения именно таких задач. Однако такие методы непригодны для анализа свободных аминокислот из-за непредсказуемых интерференций. Определение свободных (физиологических) аминокислот клеток, тканей или биологических жидкостей как аналитическая задача отличается тем, что круг определяемых соединений шире и включает в себя непротеиногенные аминокислоты, их производные, родственные им соединения, большинство из которых присутствует в образце в незначительных количествах и может мешать определению известных компонентов аминокислотного пула в зависимости от их концентрации в данном виде биологического материала. Именно эта группа задач представляет собой основной вызов и имеет на сегодняшний день только частные решения (для определенного вида биологического материала и только определенного круга веществ [12]). При этом необходимо хроматографическое разрешение как белковых аминокислот, в том числе продуктов посттрансляционных превращений, так и аминокислот, не содержащихся в белках и производных аминокислот (фосфоэтаноламин, цистеиновая кислота, таурин и его предшественники, фосфосерин и др.). Методы, предназначенные для анализа свободных аминокислот (полного спектра) в полной мере пригодны и для анализа аминокислотных препаратов и белковых гидролизатов.

Существует также достаточно большое количество специализированных методов «неполного» аминокислотного анализа, которые применяются для определения содержания в биологическом образце только определенного вещества или нескольких веществ. В этом случае задача упрощается выбором

условий, обеспечивающих полное разрешение только нужных соединений от других (известных и неизвестных) компонентов пула свободных низкомолекулярных соединений пробы. Примерами таких задач являются: определение свободной ГАМК в спинномозговой жидкости [2,13], гомоцистеина и других тиолов в крови [14,15], метиларгининов (*N*-метиларгинина (NMMA), N^G, N^G -диметиларгинина (асимметричного диметиларгинина, ADMA) и N^G, N^{G1} -диметиларгинина (симметричного диметиларгинина, SDMA), гомоаргинина [16], триметиллизина в плазме крови [17] и др. Такими методами пользуются также в случаях, когда аналит, содержащийся в низких концентрациях, предстоит определять в присутствии высоких концентраций других аминокислот, особенно структурно сходных с определяемыми [1,12].

Таким образом, адаптация и совершенствование анализа свободных аминокислот продолжают быть актуальными, особенно методов для определения отдельных компонентов спектра свободных аминокислот в биологических средах. Целью наших разработок было создание и адаптация модификаций методов, основанных на жидкостной хроматографии, которые в наибольшей степени удовлетворяли бы требованиям анализа свободных аминокислот в биохимии животных и человека (ткани, плазма крови и другие биологические жидкости).

2. Определение свободных аминокислот с помощью ионообменной хроматографии

Ранее основным стандартным методом аминокислотного анализа было катионообменное разделение с постколоночной реакцией с нингидрином и детектированием по поглощению [12] (использовались также дериватизация с флуорогенными реагентами: флуорескамином, *o*-фталевым альдегидом и β -меркаптоэтанолом и др.). Следует считать наиболее рациональными одноколоночные методы, так как многоколоночные требуют переключения потоков элюентов перед и после колонки, что снижает выигрыш от более высокой селективности и ухудшает стабильность параметров системы (воспроизводимость времен удерживания и формы пиков), необходимо иметь свой внутренний стандарт для каждой колонки.

Применявшийся нами на протяжении ряда лет метод определения свободных аминокислот и их дериватов с помощью катионообменной хроматографии основан на одноколоночном разделении с детектированием по поглощению и представляет собой модификацию метода Venson J.V., Paterson J.A. [12].

Принцип метода заключается в элюировании аминокислот и родственных им соединений с катионообменника ступенчатым градиентом Li-цитратных буферных растворов. После введения кислотного безбелкового экстракта физиологических жидкостей или тканей на аналитическую колонку, заполненную сферическим катионообменником, разделение исследуемых соединений последовательно осуществлялось Li-цитратными буферами с возрастающей ионной силой и pH, ступенчатым градиентом температуры. Детектирование по поглощению при 520 нм после постколоночной реакции элютата с раствором нингидрина при 95°C [12].

Данный метод чрезвычайно чувствителен к изменениям pH, особенно для стартового буферного раствора.

Определение цистеина данным методом невозможно из-за его аутоокисления при хранении проб и пробоподготовке и в ходе анализа. Фактически данным методом определяется цистин.

Критическими для надежности определения на этапе пробоподготовки являются:

- обеспечение точного соотношения объём / объём (для биологических жидкостей) или масса / объём (для тканей) образца и среды для депротеинизации/гомогенизации;

- исключение нахождения проб при комнатной температуре до осаждения белков, а также экстрактов при положительной температуре более 3-4 сут. При нарушении этого требования в первую очередь снижается содержание в пробах глутамина и возрастает – глутамата.

Опыт использования данного метода выявил его существенные недостатки:

- трудоемкость (требуется приготовление большого количества растворов сложного состава),

- наличие постколоночного реактора, т.е. дополнительного объёма после колонки, который неизбежно ухудшает эффективность разделения;

- недостаточная чувствительность для определения в ряде биологических объектов: пробах тканей менее 100 мг, СМЖ, диализатов при прижизненном микродиализе структур головного мозга;

- узкий динамический диапазон (ограничен уровнем шума и дрейфа базовой линии, с одной стороны, и нелинейностью, связанной в том числе с характеристиками взаимодействия аминокислот с нингидрином);

- невозможность определения триптофана, относительно худшие параметры определения пролина и оксипролина по сравнению с другими аминокислотами; определение аргинина требует удлинения анализа;

- трудность разделения наиболее кислых компонентов аминокислотного спектра (цистеиновой кислоты, фосфосерина, аспартата, в наибольшей степени – таурина и фосфоэтаноламина);

- высокая стоимость некоторых реактивов, расходуемых в значительных количествах: нингидрина, монометилового эфира этиленгликоля, использование потенциально опасных веществ (тиодигликоль), что делает методы, основанные на ионнообменной хроматографии и постколоночном разделении, весьма затратными.

В случае замены нингидринового детектирования на постколоночную дериватизацию с флуорескаминном или ОРА с детектированием по флуоресценции метод становится существенно более чувствительным, но затратность его резко возрастает из-за высокого расхода дорогостоящих флуорогенных реагентов.

Последняя реализация метода была применена в [18].

Развитие технологий ВЭЖХ дало возможность непрерывного изменения состава подвижной фазы и, тем самым, возможность сокращения количества

буферных растворов до двух, что повышало аналитические характеристики метода, делало анализ значительно менее трудоемким и требовательным, возросла скорость анализа. Несмотря на это, переход на ВЭЖХ практически сразу привел к распространению принципиально иных принципов определения – обращенно-фазной хроматографии производных аминокислот.

3. Обращенно-фазная ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией

Преимуществом таких технологий является отказ от постколоночной реакции с нингидрином или другим реагентом и от соответствующей части прибора (смесителя, реактора, его термостата, дополнительного насоса подачи реагента), вызывающей снижение эффективности разделения из-за постколоночного размывания полос. Это упрощает конфигурацию хроматографа, его обслуживание, делает выполнение анализов значительно дешевле за счет резкого снижения расхода дериватирующего реагента. Поэтому начиная с 80-х гг. методы, основанные на предколоночной дериватизации, стали доминирующими среди публикуемых методов анализа аминокислот и родственных соединений.

Среди таких методов можно выделить те, при которых используются реагенты, образующие с аминокислотами нефлуоресцирующие производные (фенилизотиоцианат (PITC), дансил). Детектирование проводят по поглощению этих производных, что может ограничивать возможности метода при анализе сложных проб, содержащих большие количества интерферирующих компонентов. Так, при использовании PITC максимум поглощения производных лежит вблизи 260 нм, что делает детектирование достаточно неспецифическим. Это затрудняет использование таких методов для анализа полного спектра свободных аминокислот в тканях и биологических жидкостях, хотя для анализа белковых гидролизатов они весьма надежны [19], чему способствует стабильность дериватов, относительная легкость обеспечения количественного протекания реакции, удобство рутинного использования спектрофотометрического детектора.

Альтернативой является применение для предколоночной дериватизации флуорогенных реагентов. Для образования флуоресцирующих производных используют реагенты с *о*-фталевым альдегидом (OPA/тиол), растворы флуорескамина, флуоренилметилкарбонилхлорида (FMOC). В этом случае детектирование по флуоресценции существенно улучшает специфичность анализа, уменьшая количество интерференций от матрицы пробы и компонентов подвижной фазы. Поэтому методы с детектированием по флуоресценции являются основными, если требуется высокая чувствительность или ограничено количество доступного биологического материала.

Методы, в которых аминокислоты дериватируются с OPA/тиолами, позволяют осуществлять и электрохимическое детектирование производных, так как дериваты содержат SH-группу тиола и легко окисляются при 0,7-0,8 В. Таким способом может быть достигнут порог обнаружения на фемтомолярном уровне, однако, за счет существенного ограничения: как амперометрическое, так и кулонометрическое детектирование несовместимо с градиентным элюированием. Поэтому OPA-производные аминокислот можно детектировать

электрохимически только при специализированной методике разделения, оптимизированной только для определенных аминокислот, для которых требуется наивысшая чувствительность. Примером такой задачи является определение свободной ГАМК в спинномозговой жидкости человека [13]. В настоящее время такие методы практически не разрабатываются из-за того, что сверхвысокочувствительные методы анализа в ВЭЖХ стали областью применения масс-селективного детектирования.

Таким образом, в настоящее время основной аналитической технологией анализа свободных аминокислот и родственных соединений является обращенно-фазная ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией и детектированием по флуоресценции, как обеспечивающая наибольшую специфичность и чувствительность при приемлемой производительности и стоимости анализа.

Пробоподготовка при анализе свободных аминокислот обычно связана с осаждением белков сильными кислотами с немедленным отделением экстракта. Обычно используемые технологии пробоподготовки – твердофазная экстракция (ТФА), в том числе ионообменная – способны ухудшить точность и воспроизводимость, так как диапазон кислотно-основных свойств аминокислот достаточно широк, и цель ТФА – очистка аналитов от интерферирующих соединений достигается только ценой ухудшения условий выделения крайних по свойствам (кислых или основных) аминокислот. Поэтому технологии ТФА применяются только в случаях специализированного аминокислотного анализа, когда аналиты отличаются от основного количества АК кислотно-основными свойствами или гидрофобностью (в случае обращенно-фазной ТФА) и требуется их предварительное выделение (концентрирование):

- определение метиларгининов (SDMA, ADMA, NMMA);
- определение гистамина, 1- и 3-метилгистаминов;
- определение «минорных» аминокислот (сульфоаланин, селеноцистеин)
- определение примесей в препаратах чистых аминокислот.

При анализе аминокислот с использованием обращенно-фазной ВЭЖХ существует ряд методических трудностей, требующих особого внимания. Их можно подразделить на:

- связанные с дериватизацией (селективность, воспроизводимость выхода, различия спектральных свойств дериватов, возможность более одного продукта),
- связанные с разделением,
- связанные с детектированием

Кроме этого, источником ошибок часто является автоматическая идентификация пиков и обработка хроматограмм:

- недостаточная воспроизводимость времен удерживания;
- недостаточная воспроизводимость селективности (разная зависимость времен удерживания у АК и интерферирующих соединений от факторов, влияющих на удерживание: pH, температуры, химической деградации неподвижной фазы и др.)

– при анализе реальных биологических проб – недостаточное разрешение пиков АК и интерферирующих соединений.

Нами предпринята попытка максимально оптимизировать селективность метода определения свободных аминокислот, с целью получить метод, не уступающий традиционной катионообменной хроматографии свободных аминокислот (до настоящего времени являющейся эталоном по разрешающей способности), но превосходящий ее по чувствительности.

В работе нами использовалась хроматографическая система Agilent 1200 с 4-компонентной градиентной системой подачи растворителя с вакуумным дегазатором, включающая в себя также термостатируемый автосамплер, термостат колонок и детектор флуоресценции.

Отработка метода производилась на колонке Zorbax Eclipse Plus C₁₈, 3,5 мкм, 2,1x150 мм с предколоной 2,1x12,5 мм, заполненной тем же сорбентом. Реагент для дериватизации, оптимизированный с целью получения максимально воспроизводимых данных: 0,4% раствор *o*-фталевого альдегида и 0,3% 3-меркаптопропионовой кислоты в 0,4М Na-боратном буфере, pH 9,4 [20].

Для дериватизации непосредственно перед вводом проб реагент и проба смешивались в соотношении 1:10 (оно должно оставаться постоянным в течение всей серии определений и должно обеспечивать щелочную среду).

С описанным реагентом дериватизируются только аминокислоты, содержащие первичную аминогруппу. Поэтому при необходимости определения «вторичных» аминокислот (пролина и оксипролина) должен быть введен второй этап дериватизации. Для этой цели нами использован FMOC, реагирующий как с первичными, так и вторичными аминогруппами. Однако первичные аминогруппы после первого этапа дериватизации в пробе отсутствуют, поэтому образуются производные только вторичных аминов. Для второго этапа дериватизации смесь образца и ОРА-реагента смешивали с раствором FMOC–HCl (7 мг/мл в ацетонитриле), добавляемым в объеме 1,5 от исходного объема образца.

Наш опыт показывает, что введение пробы с высокими значениями pH в колонку приводит к её ускоренной деградации, и, что не менее существенно, влияет на удерживание рано элюирующихся соединений – предшественников таурина, аспартата и глутамата, приводит к уширению их пиков. Это связано с тем, что молярность подвижной фазы ниже, чем пробы, а повышение pH уменьшает удерживание кислот, которыми по своей природе являются ОРА-дериваты АК. В связи с этим, мы считаем необходимым после дериватизации нейтрализовать пробы до слабокислой среды добавлением 2% раствора уксусной кислоты, после чего пробы должны немедленно вводиться в хроматограф.

Основной источник ошибок при дериватизации – старение и окисление ОРА-реагента. Реагент является светочувствительным, должен находиться при температуре 4°C, должен быть изолирован от доступа воздуха. Нарушение дериватизации происходит при снижении содержания в нем 3-МРА. Стабильность реагента существенно возрастает при добавлении в него 0,2% трис-карбоксиэтилфосфина.

При дериватизации с ОРА аминокислоты, содержащие SH-группы, образуют нефлуоресцирующие производные. Для того, чтобы и их определение таким способом стало возможным, перед дериватизацией может применяться также алкилирование аминокислот по SH-группе, например, иодуксусной кислотой. Это делает возможным, например, определение общего гомоцистеина, а также цистеина, возможным в рамках аминокислотного анализа, а не при использовании специальных методов селективной дериватизации, например, с аммоний-7-фторбензол-2-оксо-1,3-диазола-4-сульфонатом (SBD-F) [2].

Разделение ОРА-производных АК осуществляли с помощью 4-канального градиентного элюирования. Использовали Na-ацетатную буферную систему, включающая: 0,1 М Na-ацетатный буфер, pH 4,85, содержащий 20 мг/л ЭДТА (А); ацетонитрил/вода 7/3 (об/об) (В), метанол/вода 7/3 (об/об) (С), 0,1 М раствор ацетата натрия, содержащий 20 мг/л ЭДТА (D). Растворы А и D содержали по 40 мг/л азида натрия в качестве консерванта.

Оптимизированные условия разделения включали градиентное элюирование сложным профилем от 3,5 до 100% В, с изменением соотношения В/С и А/D в ходе анализа, за 69,5 мин (полный цикл до начала дериватизации следующей пробы – 81,5 мин); температура колонки 35°C.

Критичным является изменение температуры разделения на 1°C, однако изменение температуры на 0,5°C уже может повлиять на результаты автоматического интегрирования пиков вплоть до неправильного распознавания пиков калибровочной таблицы.

Влияние изменения температуры на удерживание не совпадает с влиянием изменения концентрации органического модификатора для ряда соединений, в частности фосфоэтанолamina, цистатионина. Влияние pH на разделение наиболее выражено для АК, имеющих выраженные кислые или основные свойства.

Выбор норвалина в качестве внутреннего стандарта обусловлен тем, что разделение лейцина и норлейцина было неудовлетворительным. Саркозин, предлагаемый в качестве внутреннего стандарта для вторичных АК (дериватов с FMOC) при анализе свободных аминокислот для этой цели не может быть использован из-за того, что присутствует в значимых количествах и легко определяется в пробах.

Детектирование по флуоресценции (338/445 нм). Для детектирования FMOC-дериватов вторичных аминов оптимальными длинами волн были 265/313 нм.

Определение вторичных АК (пролин, оксипролин, саркозин) рациональнее выполнять в отдельном коротком анализе, используя те же компоненты подвижной фазы и реагенты для дериватизации (дополнительно применяя этап с дериватизацией FMOC).

Заключение

Наш опыт разработки разделений аминокислот для анализа их пула в биологических средах позволяет считать, что основные источники ошибок и критичные параметры методов аминокислотного анализа, использующих

принцип обращенно-фазной ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией и детектированием по флуоресценции, следующие:

- pH реакционной смеси при дериватизации и после нейтрализации;
- pH подвижной фазы (критично для разделения аргинина, гистидина и метилгистидинов, фосфорилированных производных аминокислот и этаноламина, омега-аминокислот, цистатионина);
- температура колонки;
- время (объем) задержки градиента.

Удовлетворительное разрешение для определения свободных аминокислот возможно получить только с использованием «медленного» градиента, т.е. когда объем элюирующихся пиков существенно превосходит объем ввода. Эффективным выбором является использование 4-канального градиента с изменением pH в ходе анализа и двух органических модификаторов в переменном соотношении.

Линейная скорость потока подвижной фазы не должна быть более 1 мм/с (падение эффективности заметно даже при размере частиц сорбента 3,5 мкм), вопреки рекомендациям производителей сорбентов и колонок.

Автоматическое интегрирование и распознавание пиков не гарантирует правильного распознавания всех пиков хроматограммы без тщательной проверки и ручной коррекции базовой линии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Deyl, Z. Profiling of amino acids in body fluids and tissues by means of liquid chromatography // J. Chromatogr. – 1986. – V. 379. – P. 177–250.
2. Поздеев, В.К. ВЭЖХ-определение в плазме крови и цереброспинальной жидкости нейроактивных аминокислот (глутамата, аспартата, таурина, гамк) и аминотиолов (глутатиона, гомоцистеина, цистеина) – способ интегральной диагностики метаболических нарушений / В.К. Поздеев, Н.В. Поздеев // Клинико-лабораторный консилиум. – 2011. – Т. 38, № 2. – с. 27-34.
3. Аминокислоты и их производные в патогенезе и лечении поражений печени / Л.И. Нефёдов [и др.] // Весці АН Беларусі. Сер. хім. навук, 1997, № 2. – С. 39-48.
4. L-tryptophan-kynurenine pathway metabolites regulate type I IFNs of acute viral myocarditis in mice / M. Hoshi [et al] // J. Immunol. 2012. – V. 188, N. 8. – P. 3980-3987.
5. Metabolite profiling identifies pathways associated with metabolic risk in humans / S. Cheng [et al.] // Circulation. – 2012. – V. 125, N. 18. – P. 2222-2231.
6. Influence of supplemental magnesium, tryptophan, vitamin C, and vitamin E on stress responses of pigs to vibration / E. Peeters [et al] // J. Anim. Sci. 2005. – V. 83, N. 7. – P. 1568-1580.
7. Состояние аминокислотного фонда у больных острым калькулезным холециститом в динамике после лапароскопической холецистэктомии / И.И. Климович, Е.М. Дорошенко, В.П. Страпко, В.Ю. Смирнов // Журнал ГГМУ, 2007. – № 1. – С. 210-212.

8. Формирование аминокислотного пула плазмы крови больных на этапах оперативного лечения рака желудка / В.В. Кеда, К.Н. Угляница, Л.И. Нефёдов, В.Ю. Смирнов, А.В. Каравай, А.В. Муринов, Ю.Т. Щукевич, Г.Г. Божко, Н.М. Янчевский // Материалы международной конференции, посвящённой 40-летию ГГМИ, Часть 1, Гродно, 1998, – с.31.
9. Востриков В.В., Павленко В.П., Шабанов П.Д. Биохимические маркеры алкогольной и опиатной зависимости // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2004. – Т. 3. – С. 18-55.
10. Лелевич В.В., Курбат М.Н. Обмен свободных аминокислот головного мозга при морфиновой интоксикации: монография. Гродно: ГрГМУ, 2007. – 152 с.
11. Шейбак В.М., Горецкая М.В. Аминокислоты и иммунная система. – М.: Пальмир. – 2010. – 356 с.
12. Бенсон Дж. В., Патерсон Дж.А. Хроматографический анализ аминокислот и пептидов на сферических смолах и его применение в биологии и медицине. // Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков / Под ред. Ю.А. Овчинникова. – М., 1974. – С. 9-84.
13. Ye.M.Doroshenko, S.D.Kulesh. Levels of free gamma-aminobutyric acid and other neuroactive amino acids in cerebrospinal fluid of patients with neurological disorders // Украинский биохимический журнал, 1996.–Т.68, №5.–С.89-94.
14. Stipanuk, M. H. Metabolism of sulfur-containing amino acids: how the body copes with excess methionine, cysteine, and sulfide / M. H. Stipanuk // The Journal of Nutrition. – 2020. – Vol. 150. – P. 2494S-2505S.
15. Simultaneous determination of total homocysteine, cysteine, glutathione, and N-acetylcysteine in brain homogenates by HPLC / A. Kamińska, P. Olejarz, K. Borowczyk, R. Głowacki, G. Chwatko // J. Sep. Sci., 2018. – Vol. 41, No 16. – P. 3241-3249.
16. The L-arginine/NO pathway and homoarginine are altered in Duchenne muscular dystrophy and improved by glucocorticoids / I. Hörster [et al] // Amino Acids. – 2015. – V. 47, N. 9. – P. 1853-1863.
17. Improved high-performance liquid chromatographic method for the determination of 6-N, N, N-trimethyllysine in plasma and urine: biomedical application of chromatographic figures of merit and amine mobile phase modifiers / P.E. Minkler [et al] // J. Chromatogr. – 1986. – V. 380, N. 2. – P. 285-299.
18. И.И. Климович, Е.М. Дорошенко, В.П. Страпко, В.Ю. Смирнов. Состояние аминокислотного фонда у больных острым калькулезным холециститом в динамике после лапароскопической холецистэктомии // Журнал ГГМУ, 2007. – № 1. – С. 210-212.
19. Pre-column Derivatization RP-HPLC Determination of Amino Acids in Asparagi Radix before and after Heating Process / Zhihong Shi [et al] // IERI Procedia. – 2013. – V. 5. – P. 351-356.
20. Дорошенко, Е.М. Структура пула свободных аминокислот и их производных плазмы крови у пациентов с ишемической болезнью сердца и проявлениями хронической сердечной недостаточности / Е.М. Дорошенко, В.А. Снежицкий, В.В. Лелевич // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2017. – Т. 15, № 5. – С. 551-556.

БЕЛКИ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ МЕТАБОЛИЗМ ГЛИКОГЕНА: МАЛИН И ЛАФОРИН

Наумов А.В., Петушок Н.Э.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Каталитическая активность ферментов метаболизма гликогена, особенно гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы, контролируется комбинацией процессов посттрансляционной модификации и действием аллостерических активаторов. Белки малин и лафорин участвуют в модификации ключевых ферментов метаболизма гликогена, а также регулируют целый ряд других процессов в клетках.

Белок малин кодируется геном EPM2B/NHLRC1 (Epilepsy, Progressive Myoclonus 2B) в хромосоме 6q22 генома человека. Он состоит из 395 аминокислотных остатков, имеет массу 42 кДа, присутствует в ткани мозга, сердца, скелетных мышц, печени и поджелудочной железы.

Малин образует комплекс с лафорином и в таком виде принимает участие в регуляции метаболизма гликогена. В этом комплексе малин представлен в виде двух доменов (RING и NHLs) и связан с одним из E2-конъюгирующих ферментов [6].

В составе этого комплекса малин убиквитинилирует белки, непосредственно участвующие в метаболизме гликогена [7, 10]. Причём, в случае полиубиквитинилирования существует определённая топология (имеется в виду к какому из семи лизинов убиквитина – K⁶, K¹¹, K²⁷, K²⁹, K³³, K⁴⁸ или K⁶³ присоединяется следующий убиквитин), что определяет дальнейшую судьбу самого убиквитинилированного белка. Это может быть: распад в протеасомах, транслокация в органеллы клетки, запуск инициация митоза, аутофагии или эндоцитоза [4]. Субстратами малина являются [4, 7, 20]: гликогенсинтаза, регуляторные субъединицы протеинфосфатазы 1, АМФ-активируемая протеинкиназа, рецептор аутофагии p62, изоферменты M1 и M2 пируваткиназы, белок, содержащий крахмал-связывающий домен (STBD1), белок дисшевелд 2 (dishevelled 2, компонент сигнального пути Wnt), лафорин, гликогенветвящий фермент.

Лафорин у человека кодируется геном EPM2A (Epilepsy, Progressive Myoclonus 2A) в хромосоме 6q24, содержит 331 аминокислотный остаток, имеет массу 37 кДа, и распространён во всех тканях организма, особенно в тканях мозга, скелетных мышц, сердца и печени. Некоторые мутации гена EPM2A являются причиной прогрессирующей миоклональной эпилепсии или болезни Лафора, фатальной аутосомной, рецессивной, нейродегенеративной формы эпилепсии и гликогеноза. Альтернативный сплайсинг EPM2A даёт пять изоферментов, два из которых наиболее изучены.

Лафорин-331 – наиболее распространённый представитель, имеет фосфатазную активность и локализуется в цитоплазме и эндоплазматической сети. У минорной изоформы – лафорин-317 – отсутствует фосфатазная

активность и располагается он в ядре и цитозоле. Более того изоформы образуют гетеродимеры лишённые фосфатазной активности.

Лафорин имеет два важных домена: участок связывающий углеводы (carbohydrate binding module, CBM) на аминоконце полипептидной цепи (остатки аминокислот 1-124), относится к семейству CBM 20 и фосфатазный домен двойного назначения (dual specificity phosphatase domain, DSP) (остатки 157-326).

CBM домен лафорина способен связывать гликоген и амилопектины [10], [9], а домен DSP их дефосфорилирует (отсюда название лафорина – глюканфосфатаза). Лафорин относится к суперсемейству тирозинфосфатаз крупных белков (PTP) или цистеин-зависимых фосфатаз. Ввиду такой специфичности следует отметить, что фермент инактивируется в окислительных условиях.

Лафорин – это единственная фосфатаза человека, у которой домен связывания углеводов находится на одной полипептидной цепи с каталитическим фосфатазным доменом. Присутствие этих двух доменов определяет связывание и дефосфорилирование углеводных субстратов, а как следствие – мутации в CBM домене нарушают фосфатазную активность лафорина аналогично мутациям DSP домена [10].

Являясь фосфатазой, лафорин удаляет моноэфиры фосфата гликогена. При нарушении или отсутствии этой ферментативной активности в гликогене накапливаются остатки фосфата и удлиняются участки цепи без ветвления (фосфаты подавляют процесс ветвления). Гликоген в таком виде становится менее водорастворимым, напоминает крахмал – происходит формирование нерастворимых «телец Лафора» [16].

До недавнего времени считалось, что избыточное фосфорилирование гликогена, особенно появление C_6 -фосфомоноэфиров гликогена – причина эпилепсии (болезни Лафора) [10]. Дефосфорилирование гликогена связано с активностью комплекса белков лафорина и малина. Однако, результаты экспериментов Nitschke F. и соавторов показали, что гиперфосфорилирование гликогена не является прямой причиной образования нерастворимых полиглюкозанных телец. Более того они образуются даже при нормальном уровне фосфатов в гликогене [2]. Длина линейных цепей гликогена – основная характеристика, определяющая растворимость гликогена. Длинные цепи способствуют образованию участков с двойными спиралями, которые напоминают полукристаллическую структуру крахмала. У нокаут-мышей, лишённых гена лафорина или малина, действительно наблюдали наличие удлинённых неразветвлённых участков гликогена по сравнению с контрольной группой. Подобная картина имеет место при болезни Лафора и при болезни полиглюкозанных телец взрослых. Однако, даже при этих заболеваниях при отсутствии малина, лафорина или ветвящего фермента отмечалось наличие водорастворимого (нормального) гликогена [19].

Фосфорилирование гликогена – это скорее анахронизм, доставшийся клеткам животных от метаболических процессов, в которых участвует крахмал у растений. Поэтому, вероятно, так трудно найти определённую биологическую

функцию данного процесса. Одни авторы утверждают, что уровень фосфорилирования гликогена определяет возраст гранулы гликогена и является метаболическим маркером для лизосомальной деградации гликогена – гликофагии. Другие, что фосфорилирование определяет растворимость гликогена, но оказалось, что даже гиперфосфорилирование не оказывает влияния на этот процесс [19]. Возможно, фосфат может быть маркером, определяющим пути распада гликогена или фосфорилирование – просто незначительная побочная реакция, уровень которой контролирует глюкан фосфатаза – лафорин [10, 16].

Существует предположение, что возможно лафорин и гликогенфосфат играют определённую роль в восстановлении гранул гликогена после истощающих физических нагрузок. Показано, что содержание гликогенфосфатов у мышей контрольной группы после вызванного физической нагрузкой истощения гликогена оставалось низким, причём даже после восстановления уровня гликогена. Однако восстановление первоначального уровня ветвлений гликогена было нарушено у мышей с отсутствием гена лафорина [13].

У животных, лишённых лафорина и малина, показано одинаковое пропорциональное увеличение фосфатов C_6 и $C_2 + C_3$ в гликогене. А эксперименты *in vitro* продемонстрировали, что лафорин дефосфорилирует глюкозу в гликогене в положении C_3 и C_6 [10]. Интересно, что в мышцах мышей и кроликов уровень фосфорилированного C_6 составлял ~20%. Удаление генов лафорина и малина у мышей повышало уровень фосфорилирования гликогена в 8 и 4 раза, соответственно, по сравнению с контрольными животными, однако доля фосфатов в положении C_6 оставалась неизменной [7]. Хотя в экспериментах *in vitro* было показано, что лафорин преимущественно дефосфорилирует гликоген в C_3 положении [12].

При истощении фосфатов мышечного гликогена после нагрузки, уровень фосфатов оставался сниженными даже после того, как уровень гликогена возвращался к норме [13]. У лафорин-дефицитных животных после физической нагрузки уменьшение гликогена было идентично с контрольной группой, но уровень фосфата оставался высоким. Это указывает на участие лафорина в дефосфорилировании гликогена при активной работе мышц.

Кроме дефосфорилирования гликогена лафорин в комплексе с малином и некоторыми другими факторами принимает активное участие в убиквитинилировании белков связанных с обменом гликогена [16].

При невозможности формирования комплекса малин/лафорин, синтез гликогена усиливается, и происходит накопление нерастворимой формы полисахарида с аномальной структурой, отличающейся редкими участками ветвления. [15].

Описан предполагаемый механизм действия малина на метаболизм гликогена. При нормальном метаболизме гликогена белок, направленно взаимодействующий с гликогеном (PTG), и гликогенсинтаза связывают частицы полисахарида. В процессе синтеза гликогенсинтаза присоединяет к гликогену один фосфат примерно на 10 000 мономеров глюкозы. Лафорин

воздействует на частицу гликогена и отсоединяет от него фосфат. Взаимодействие малина и лафорины усиливается фосфорилированием лафорины (Ser²⁵) через АМФ-активируемую протеинкиназу. После связывания с лафорином малин убиквитинирует лафорин, РТГ и гликогенсинтазу. Это убиквитинирование вызывает отделение всех трех ферментов от частицы гликогена, нацеливает их на протеасомозависимую деградацию, что и поддерживает нормальный метаболизм гликогена. [17].

Установлено, что убиквитинилирование малином гликогенсинтазы и гликогенветвящего фермента не ведёт к их разрушению в протеасомах [7] и биологическая значимость этого явления пока остается не понятной. Сложность проблемы заключается в том, что комплекс малин/лафорин участвует также в регуляции многих других физиологических процессов в клетках различных тканей: протеостазе, окислительном стрессе, нейровоспалениях, в ответе клетки на накопление несформированных белков, функционировании протеасом и в формировании аутофагосом. [15].

Инициация процесса аутофагии происходит в ответ на недостаток питания и/или на низкий энергетический статус клетки вследствие активации некоторых сигнальных путей с участием mTOR (мишень рапамицина млекопитающих, тесно связана с сигнальным путём инсулина) и АМФ-активируемой протеинкиназы [11].

АМФ-активируемая протеинкиназа (АМПК) является своеобразным первичным сенсором доступности энергии в клетке. При высокой обеспеченности энергией или высоком содержании глюкозы уменьшается фосфорилирование субъединицы АМПК α по Thr¹⁷², что ведет к снижению её активности. Происходит стимуляция катаболических и подавление многих анаболических путей, так как её функции тесно связаны с активностью комплексов mTOR и Akt/PKB у млекопитающих [5].

Сигнальные пути mTOR ингибируют, а АМПК активирует соответственно комплекс киназы ULK1/2 (*Unc-51 like autophagy activating kinase*) путём фосфорилирования остатков серина (Ser⁷⁵⁷ в случае mTOR (ингибирование активности) и Ser⁵⁵⁵ – киназой АМПК (рост активности). В свою очередь, активация комплекса ULK1/2 оказывает стимулирующее действие на другой сигнальный каскад, в котором участвует каталитическая субъединица 3 типа фосфатидилинозитол-3-киназы, функция которого заключается в синтезе вторичного посредника фосфатидилинозитол-3-фосфата, инициатора начальных этапов аутофагии в клетке [8, 11].

В структуру ядра комплекса фосфатидилинозитол-3-киназы входят два белка – киназа Vps34 и Beclin 1, которые также находятся под контролем соответствующих киназ. Например, киназа ULK1/2 фосфорилирует Ser¹⁵, а АМПК – Ser⁹³ и Thr³⁸⁸ в Beclin1 [11]. Кроме того, активность самого комплекса фосфатидилинозитол-3-киназы регулируется убиквитинилированием и, либо приводит к его распаду в протеасомах в случае присоединения убиквитина к Lys⁴⁸, либо наоборот – к стабилизации комплекса и повышению его активности (Lys⁶³) [8]. Интересно, что в процессах убиквитинилирования Vps34 и Beclin1 также участвует комплекс белков малин/лафорин [15].

Помимо того, что комплекс малин/лафорин взаимодействует и определяет активность ключевых ферментов синтеза гликогена: гликогенсинтазы, регуляторных субъединиц протеинфосфатазы 1, гликогендеветвящего фермента и проч., одна из субъединиц протеинфосфатазы 1 – R5/PTG, связывающая его с гликогеном, способствует активации гликогенсинтазы и инактивации гликогенфосфорилазы, в ответ на действие АМФ-активируемой протеинкиназы. Вполне возможно, что этот процесс – связующее звено в гликофагии, так как АМФ-активируемая протеинкиназа выполняет регуляторную роль начальных шагов биогенеза аутофагосом [15].

Оказывается, *малин* играет важную роль в поддержании нормального уровня обмена гликогена в ядре клеток, а убиквитинилирование определяет появление в ядре ферментов гликогенолиза [14]. Например, потеря активности или отсутствие малина в цитоплазме клеток мелкоклеточного рака лёгких приводит к чрезмерному накоплению гликогена ввиду подавления процессов гликогенолиза [1], это сопровождается активацией пролиферации опухоли, тогда как реэкспрессия малина активирует гликогенолиз и подавляет рост раковых клеток [14].

Более того, изучение функции комплекса белков малин/лафорин позволило установить биохимическое значение локализации гликогена в ядре клеток. Оказалось, что малин осуществляет контроль за ацетилированием гистонов т.е. за эпигенетическими изменениями в клетке. при этом донором ацетата выступает исключительно гликогенолиз, протекающий здесь же в ядре. И, как было установлено, оба вышеприведенных процесса – ацетилирование и гликогенолиз – находятся под контролем малина, который путём убиквитинилирования определяет транслокацию фермента распада гликогена – *гликогенфосфорилазы* в ядро клеток. Интересно, что при искусственной реэкспрессии малина происходит более чем двукратное подавление или активация экспрессии в общей сложности более чем 3000 генов [14].

Локализация гликогена в ядре способствует компартментализации продукта гликолиза пирувата, который является субстратом-предшественником ацетата. В ядрах клеток млекопитающих присутствуют ферменты, утилизирующие пируват и ацетат для обеспечения ацетилирования гистонов: пируватдегидрогеназный комплекс, АТФ-цитратлиаза, ацетил-КоА синтаза, которые, как недавно было установлено, транслоцируются в ядро из митохондрий [3, 14].

В процессе транслокации пируватдегидрогеназного комплекса из митохондрий в ядро он остаётся в активном состоянии. Этому способствует белок 70 теплового шока (Hsp70), который является конкурентом связывания с комплексом белка-регулятора киназы пируватдегидрогеназы и таким образом сохраняет активность последней. Уровень Hsp70, в свою очередь, контролируется эпидермальным фактором роста, способствует процессам ацетилирования в ядре, контролируя транслокацию в ядро помимо пируватдегидрогеназного комплекса ещё и мышечного изофермента пируваткиназы.

Суммируя вышеизложенное, можно сказать, что открыта новая важная функция гликогена. Он является источником субстрата для ацетилирования гистонов в ядре клеток.

Значение малина и лафорина в ацетилировании белков важно ещё и потому, что при развитии сердечной недостаточности увеличивается уровень гиперацетилирования белков в митохондриях кардиомиоцитов. Это нарушает энергетический баланс, функцию митохондрий и играет негативную роль в формировании сердечной недостаточности. Следовательно, все процессы, связанные с ацетилированием и деацетилированием белков кардиомиоцитов, следует рассматривать как важных потенциальных участников механизма развития сердечной недостаточности [18]. Пациенты, имеющие мутации лафорина или малина дают одинаковую неврологическую и гистологическую симптоматику, это позволило предположить, а потом и подтвердить, что эти два белка физически взаимосвязаны и образуют функциональный комплекс, который выполняет ещё одну функцию – участвует в убиквитинилировании белков, связанных с метаболизмом гликогена [10]. Поэтому представляют опасность не только мутации, нарушающие непосредственно функции того или иного белка, но и влияющие на их взаимодействие при образовании комплекса [6].

ЛИТЕРАТУРА

1. A Liver-Specific Thyromimetic, VK2809, Decreases Hepatosteatosi in Glycogen Storage Disease Type Ia / J. Zhou [et al.] // *Thyroid*. – 2019. – Vol. 29, № 8. – P. 1158-1167. [Zhou J, 2019].
2. Abnormal glycogen chain length pattern, not hyperphosphorylation, is critical in Lafora disease / F. Nitschke [et al.] // *EMBO Mol. Med*. – 2017. – Vol. 9, № 7. – P. 906-917.
3. Mews P, Acetyl-CoA synthetase regulates histone acetylation and hippocampal memory / P. Mews [et al.] // *Nature*. – 2017. – Vol. 546, № 7658. – P. 381-386.
4. Akutsu, M. Ubiquitin chain diversity at a glance / M. Akutsu, I. Dikic, A. Bremm // *J Cell Sci*. – 2016. – Vol. 129, № 5. – P. 875-80.
5. Casagrande, B. P. AMPK in the gut-liver-brain axis and its influence on OP rats in an HSHF intake and WTD rat model / B. P. Casagrande, L. P. Pisani, D. Estadella // *Pflugers Arch*. – 2021. – Vol. 473, № 8. – P. 1199-1211
6. Garcia-Gimeno, M. A. Lafora Disease: A Ubiquitination-Related Pathology / M. A. Garcia-Gimeno, E. Knecht, P. Sanz // *Cells*. – 2018. – Vol. 7, № 8. – P. 87
7. Glycogen phosphomonoester distribution in mouse models of the progressive myoclonic epilepsy, Lafora disease / A. A. DePaoli-Roach [et al.] // *J Biol Chem*. – 2015. – Vol. 290, № 2. – P. 841-50.
8. Hill, S. M. Post-translational modifications of Beclin 1 provide multiple strategies for autophagy regulation / S. M. Hill, L. Wrobel, D. C. Rubinsztein // *Cell Death Diff*. – 2019. – Vol. 26, № 4. – P. 617-629.

9. Kuchtova, A. The unique evolution of the carbohydrate-binding module CBM20 in laforin / A. Kuchtova, M. S. Gentry, Š. Janeček // FEBS Lett. – 2018. – Vol. 592, № 4. – P. 586-598.
10. Lafora disease offers a unique window into neuronal glycogen metabolism / M. S. Gentry [et al.] // J Biol Chem. – 2018. – Vol. 293, № 19. – P. 7117-7125.
11. Dikic, I. Mechanism and medical implications of mammalian autophagy / I. Dikic, Z. Elazar // Nat Rev Mol Cell Biol. – 2018. – Vol. 19, № 6. – P. 349-364
12. Mechanistic Insights into Glucan Phosphatase Activity against Polyglucan Substrates / D. A. Meekins [et al.] // J Biol Chem. – 2015. – Vol. 290, № 38. – P. 23361-70.
13. Muscle glycogen remodeling and glycogen phosphate metabolism following exhaustive exercise of wild type and laforin knockout mice / J. M. Irimia [et al.] // J Biol Chem. – 2015. – Vol. 290, № 37. – P. 22686-22698
14. Nuclear Glycogenolysis Modulates Histone Acetylation in Human Non-Small Cell Lung Cancers / R. C. Sun [et al.] // Cell Metab. – 2019. – Vol. 30, № 5. – P. 903-916.e7
15. Regulation of the autophagic PI3KC3 complex by laforin/malin E3-ubiquitin ligase, two proteins involved in Lafora disease / P. Sanchez-Martin [et al.] // Biochim Biophys Acta Mol Cell Res. – 2020. – Vol. 1867, № 2. – P. 118613.
16. Roach, P. J. Are there errors in glycogen biosynthesis and is laforin a repair enzyme? / P. J. Roach // FEBS Lett. – 2011. – Vol. 585, № 20. – P. 3216-8.
17. Roma-Mateo, C. Deciphering the role of malin in the lafora progressive myoclonus epilepsy / C. Roma-Mateo, P. Sanz, M. S. Gentry // IUBMB Life. – 2012. – Vol. 64, № 10. – P. 801-8.
18. Romanick, S. S. The nonepigenetic role for small molecule histone deacetylase inhibitors in the regulation of cardiac function / S. S. Romanick, B. S. Ferguson // Future Med Chem. – 2019. – Vol. 11, № 11. – P. 1345-1356
19. Skeletal Muscle Glycogen Chain Length Correlates with Insolubility in Mouse Models of Polyglucosan-Associated Neurodegenerative Diseases. / M. A. Sullivan [et al.] // Cell Rep. – 2019. – Vol. 27, № 5. – P. 1334-1344.
20. Viana, R. The laforin/malin E3-ubiquitin ligase complex ubiquitinates pyruvate kinase M1/M2 / R. Viana, P. Lujan, P. Sanz // BMC Biochem. – 2015. – Vol. 16. – P. 24.

НОВОЕ О ГЛИКОГЕНОЗАХ. БОЛЕЗНЬ ЛАФОРА

Наумов А.В., Петушок Н.Э.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Болезнь Лафора (прогрессирующая миоклональная эпилепсия Лафора, progressive myoclonic epilepsy of Lafora, Lafora disease, OMIM 254780).

Это нейродегенеративное заболевание подростков, вызванное отложением полиглюкозана в нейронах (тельца Лафора, Lafora bodies). Характеризуется триадой основных симптомов: миоклонией, деменцией и атаксией.

Развитие болезни связано с нарастанием процессов активации гибели клеток ввиду нарушения деградации белков в протеасомах и нарушения процесса аутофагии [7,10], а также накоплением полиглюкозана [5].

В нейронах полиглюкозан откладывается в перикариальной области. Помимо нейронов отложения полиглюкозана можно найти в сердце, печени и мышечной ткани, но это протекает бессимптомно [5, 13].

Со временем симптоматика прогрессирует, развивается афазия, апраксия, потеря зрения. Болезнь некурабельна и заканчивается смертью пациента в возрасте ~ 10 лет [14]. Некоторые учёные относят это заболевание к мукополисахаридозам, другие – к гликогенозам. Это связано с тем, что в тельцах Лафора помимо полиглюкозана присутствуют гликопротеины и гликозаминогликаны [6].

Интересно, что при этом заболевании не повреждён ни один фермент метаболизма гликогена. Патология связана с мутациями в генах, кодирующих лафорин и малин.

Оба белка взаимодействуют друг с другом с образованием функционального комплекса – агресомы (aggresome-centrosomal aggregates) [6]. С агресомами тесно связаны многие белки: α - и γ -тубулин, шапероны эндоплазматического ретикулума (Bip/GRP78), субъединицы протеасом, убиквитин и убиквитин-конъюгирующие ферменты.

Агресомы необходимы для полноценного функционирования клеточной микротубулярной сети. Образование комплекса малин/лафорин необходимо для активации убиквитирирования и распада в протеасомах различных белков. Вокруг агресомы располагаются митохондрии, что говорит о необходимости значительных количеств АТФ в работе убиквитин-протеасомной системы. В свою очередь, дисфункция митохондрий способствует накоплению агресом [3]. Так как убиквитин-протеасомная система является основным нелизосомальным путём деградации белков: нарушение или отсутствие одного из ключевых протеинов (малин/лафорин) ведёт к накоплению в везикулах эндоплазматической сети незрелых, недеградирующих белков, т.е. возможно в основе патологии лежит нарушение процесса аутофагии [5, 6].

Лафорин – белок, состоящий из 331 аминокислотного остатка, относится к семейству белковых фосфатаз с двойной специфичностью. Обладает функцией гликогенфосфатазы – способен высвобождать небольшие количества остатков фосфорной кислоты, ковалентно связанных при обычных условиях с гликогеном (у мышей – одна фосфатная группа на 1500 остатков глюкозы, C_2 или C_3 фосфоэфиры, образование которых происходит с помощью фермента гликогенсинтазы) [15, 18].

В своём составе лафорин имеет функциональный углевод-связывающий домен, одной из функций которого является связывание с гликогеном. Помимо того, у лафорина есть несколько доменов с которыми взаимодействуют несколько белков [12, 16].

Это EPM2AIP1-EPM2A (лафорин) взаимодействующий белок 1 (EPM2A (laforin) interacting protein 1), с неизвестной пока функцией; HIRIP5 – цитозольный вспомогательный белок, участвующий в поддержании гомеостаза внутриклеточного железа [19]; GSK3b (киназа 3b гликогенсинтазы) – важный элемент двух внутриклеточных сигнальных систем (Akt/PKB киназы и Wnt сигнального каскада); PTG (protein targeting to glycogen, белок направленно взаимодействующий с гликогеном) – одна из четырёх регуляторных субъединиц протеинфосфатазы первого типа (PP1, type 1 proteinphosphatase), которая при взаимодействии с каталитической субъединицей PP1 способствует её связыванию с субстратами: ферментами гликогенсинтазой, гликоген фосфорилазой и киназой гликогенфосфорилазы [11].

Образование белкового комплекса при физиологических условиях приводит к росту накопления гликогена. Дело в том, что существует определённая группа киназ, которые ингибируют синтез гликогена благодаря фосфорилированию шести специфических регуляторных остатков серина в молекуле гликогенсинтазы [9] – к этим киназам относятся:

- GSK3 (киназа 3 гликогенсинтазы),
- AMPK (АМФ-активируемая протеинкиназа),
- кальмодулин-зависимая киназа,
- PKA (протеинкиназа А – цАМФ-зависимая киназа),
- PKC (протеинкиназа С),
- SKI (белок-ингибитор циклин-зависимой киназы) и некоторые другие.

Например, PKA фосфорилирует и активирует киназу гликогенфосфорилазы, которая в свою очередь фосфорилирует Ser¹⁴ гликогенфосфорилазы, активирует фермент и гликогенолиз соответственно [12].

Способность гликогена к агрегации связана с уровнем его фосфорилирования. Предполагается, что отсутствие лафорина приводит к агрегированию гиперфосфорилированного гликогена с образованием телец Лафора [7].

Предполагаемая роль лафорина и малина в образовании полиглюкозана заключается в том, что лафорин выполняет роль гликогенфосфатазы и её нарушение ведёт к структурным изменениям гликогена и формированию телец Лафора. Малин действует вместе с лафорином в процессе удаления остатков фосфатов в структуре гликогена. Малин также подавляет образование полиглюкозана независимо от процесса фосфорилирования гликогена путём контроля ферментов метаболизма гликогена [15].

Стоит отметить, что инсулин стимулирует активность гликогенсинтазы, активируя процессы дефосфорилирования фермента путём: а) деактивации киназ – PKA и GSK3, и б) активации серин/треониновых фосфатаз, особенно PP1. Показано, что PP1 осуществляет инсулин-зависимое дефосфорилирование (активацию) гликогенсинтазы и дефосфорилирование и инактивацию гликогенфосфорилазы и киназы гликогенфосфорилазы, что в совокупности ведёт к накоплению гликогена [12].

В моделях на животных показано, что уровень лафорина напрямую коррелирует с внутриклеточным уровнем гликогена [11, 16].

В экспериментах с *Epm2a*^{-/-} нокаут животными было показано, что отсутствие у них лафорина постепенно приводило к изменению структуры и свойств гликогена с формированием телец Лафора. У мышей, например, до 3-месячного возраста метаболизм гликогена оставался в норме за исключением значительного роста уровня его фосфорилирования (более чем в 4 раза). К 9 месяцам происходило его накопление. Причём, он был более фосфорилирован, имел значительно менее разветвлённую структуру и гораздо меньшую растворимость. Такие фосфорилированные молекулы гликогена образовывали агрегаты.

Следовательно, основная функция лафорина (по отношению к гликогену) – подавлять избыточное ошибочное фосфорилирование гликогена и/или дефосфорилировать подобные фосфаты гликогена и тем самым контролировать структуру полисахарида в клетке [15, 18]. Тогда как малин подавляет образование полиглюкозана путём: а) ингибирования фосфорилирования гликогена, б) контроля активности ферментов метаболизма гликогена, а также совместно с лафорином, препятствуя фосфорилированию гликогена [15].

Эта гипотеза весьма интересна так как ранее фосфорилированные формы гликогена в механизмах этиопатологии гликогенозов не рассматривались, тем более что возможными кандидатами образования C₂ или C₃ фосфомоноэфиров остатков глюкозы выступают гликогенсинтаза и гликогенин [15].

В физиологических условиях взаимодействие малина с лафорином оказывает регуляторное действие на важнейшие ферменты метаболизма гликогена. Достаточно сказать о тесном взаимодействии лафорина и киназы 3 гликогенсинтазы [6].

При образовании комплекса малин-лафорин-PTG происходит подавление активности последнего, в результате чего гликогенфосфорилаза и киназа фосфорилазы остаются в фосфорилированной (активной) форме и таким образом происходит подавление синтеза гликогена. Предполагают, что отсутствие комплекса малин-лафорин при болезни Лафора приводит к дисрегуляции гликогенсинтазы и накоплению гликогена в нейронах [16].

Ввиду отсутствия информации о точных биохимических механизмах роли лафорина и малина существует несколько теорий их участия в обмене гликогена. Согласно одной из них, лафорин «отслеживает» случайный дисбаланс между активностью гликогенсинтазы и фермента ветвления. В случае, если первый опережает второй, то генерируются слишком длинные цепи, которые заставляют пораженные молекулы гликогена осаждаться. Лафорин, связывает такие области и рекрутирует малин, который либо ограничивает гликогенсинтазу, либо активирует гликогенфосфорилазу, укорачивающую цепь. Предполагается, что комплекс лафорин-малин играет защитную роль в предотвращении образования полиглюкозана [8].

Согласно второй теории, лафорин может связывать уже осаждённые полиглюкозаны и привлекать малин для удаления полиглюкозанов до того, как они агрегируют. Этот механизм включает аутофагию, которая активируется малином посредством убиквитинирования белков пути аутофагии [7, 17] или

даже, возможно, посредством прямого убиквитинирования самих полиглюкозанов. В пользу последнего говорят следующие наблюдения:

- лафорин – это фосфатаза, которая действует непосредственно на гликоген (дефосфорилирует);

- часть глюкозы в гликогене аминирована. Особенно в гликогене мозга (до 20% глюкозы гликогена мозга на самом деле представляет собой глюкозамин). Особенно много глюкозамина в полиглюкозанах [2]. Эти амины могут служить субстратом в реакции убиквитинирования гликогена. Тем более показано, что другая убиквитинлигаза E3 (RBCK1) убиквитинирует гликоген и, длинноцепочечные глюканы в моделях *in vitro* [4].

Интересно, что потеря функции RBCK1 приводит к амилопектинозу с накоплением полиглюкозана в мышечных тканях и возникновению легкой полиглюкозановой миопатии – миопатии полиглюкозановых телец 1, (OMIM 615895). Это очень редкий генетический системный амилопектиноз, характеризующийся фатальной скелетной и сердечной миопатией. Показано также, что гликоген при дефиците RBCK1 находится в гиперфосфорилированном состоянии [1, 8].

Накопление полиглюкозана в нейронах считается пусковым механизмом развития прогрессирующей миоклональной эпилепсии. Если допустить, что оба механизма образования и накопления полиглюкозана принимают участие в их образовании, то ингибирование или выключение белка PTG может оказаться действенным подходом в курации болезни. Такой подход был использован в экспериментах на животных. В результате было показано, что у *PTG*^{-/-} нокаут мышей с моделированной болезнью Лафора практически отсутствуют тельца Лафора, а также гибель нейронов и проявления прогрессирующей миоклональной эпилепсии [13]. Этот экспериментальный подход может быть полезен не только при лечении пациентов с болезнью Лафора, но и некоторых других гликогенозов.

Кстати, введение лафорина, лишённого фосфатазной активности, животным с нокаутом гена лафорина (*Epm2a*^{-/-}) не нормализует чрезмерного фосфорилирования гликогена, но корректирует длину его линейных цепей и предотвращает образование полиглюкозана и телец Лафора [20].

В совокупности эти результаты позволяют предположить, что лафорин и малин работают вместе, регулируя структуру гликогена посредством неизвестного пока механизма, в котором активность убиквитинлигазы малина имеет решающее значение. Единственно, что достоверно установлено к настоящему времени – это то, что малин, благодаря лафорину, действительно локализуется в гранулах гликогена [8].

ЛИТЕРАТУРА

1. A novel variant of RBCK1 gene causes mild polyglucosan myopathy / T. AlAnzi [et al.] // *Neurosciences (Riyadh)*. – 2022. – Vol. 27, № 1. – P. 45-49.
2. Brain glycogen serves as a critical glucosamine cache required for protein glycosylation / R. C. Sun [et al.] // *Cell Metab.* – 2021. – Vol. 33, № 7. – P. 1404-1417.e9.

3. Formation and removal of alpha-synuclein aggregates in cells exposed to mitochondrial inhibitors / H. J. Lee [et al.] // *J Biol Chem.* – 2002. – Vol. 277, № 7. – P. 5411-7.
4. HOIL-1 ubiquitin ligase activity targets unbranched glucosaccharides and is required to prevent polyglucosan accumulation / I. R. Kelsall [et al.] // *EMBO J.* – 2022. – Vol. 41, № 8. – P.e109700.
5. Lafora bodies and neurological defects in malindeficient mice correlate with impaired autophagy / O. Criado [et al.] // *Hum Mol Genet.* – 2012. – Vol. 21, № 7. – P. 1521-1533.
6. Lafora disease proteins malin and laforin are recruited to aggresomes in response to proteasomal impairment / S. Mittal [et al.] // *Hum Mol Genet.* – 2007. – Vol. 16, № 7. – P. 753-62.
7. Puri, R. Laforin in autophagy: a possible link between carbohydrate and protein in Lafora disease? / R. Puri, S. Ganesh // *Autophagy.* – 2010. – Vol. 6, № 8. – P. 1229-31.
8. Laforin targets malin to glycogen in Lafora progressive myoclonus epilepsy / S. Mitra [et al.] // *Dis Model Mech.* – 2023. – Vol.16, № 1. – P. dmm049802.
9. Lawrence, J. C. New insights into the role and mechanism of glycogen synthase activation by insulin / J. C. Lawrence, P. J. Roach // *Diabetes.* – 1997. – Vol. 46, № 4. – P. 541-7.
10. Malin knockout mice support a primary role of autophagy in the pathogenesis of Lafora disease / E. Knecht [et al.] // *Autophagy.* – 2012. – Vol. 8, № 4. – P. 701-3.
11. Muscle-specific deletion of the Glut4 glucose transporter alters multiple regulatory steps in glycogen metabolism / Y. B. Kim [et al.] // *Mol Cell Biol.* – 2005. – Vol. 25, № 21. – P. 9713-23.
12. Organizing glucose disposal: emerging roles of the glycogen targeting subunits of protein phosphatase-1 / C. B. Newgard [et al.] // *Diabetes.* – 2000. – Vol. 49, № 12. – P. 1967-77.
13. PTG depletion removes Lafora bodies and rescues the fatal epilepsy of Lafora disease / J. Turnbull [et al.] // *PLoS Genet.* – 2011. – Vol. 7, № 4. – P. e1002037.
14. Parihar, R. Lafora disease from genotype to phenotype / R. Parihar, A. Rai, S. Ganesh // *J Genet.* – 2018. – Vol. 97, № 3. – P. 611-624.
15. Phosphate incorporation during glycogen synthesis and Lafora disease / V. S. Tagliabracci [et al.] // *Cell Metab.* – 2011. – Vol. 13. – P. 274-282.
16. Regulation of glycogen synthesis by the laforin-malin complex is modulated by the AMP-activated protein kinase pathway / M. C. Solaz-Fuster [et al.] // *Hum Mol Genet.* – 2008. – Vol. 17, № 5. – P. 667-78.
17. Regulation of the autophagic PI3KC3 complex by laforin/malin E3-ubiquitin ligase, two proteins involved in Lafora disease / P. Sanchez-Martin [et al.] // *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res.* – 2020. – Vol. 1867, № 2. – P. 118613.
18. Roach, P. J. Are there errors in glycogen biosynthesis and is laforin a repair enzyme? / P. J. Roach // *FEBS Lett.* – 2011. – Vol. 585, № 20. – P. 3216-8.

19. The Lafora disease gene product laforin interacts with HIRIP5, a phylogenetically conserved protein containing a NifU-like domain / S. Ganesh [et al.] // Hum Mol Genet. – 2003. – Vol. 12, № 18. – P. 2359-68.

20. The phosphatase activity of laforin is dispensable to rescue Epm2a^{-/-} mice from Lafora disease / J. Gayarre [et al.] // Brain. – 2014. – Vol. 137 (Pt 3). – P. 806-818.

АМИНОКИСЛОТЫ КАК КЛЮЧЕВЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ МЕТАБОЛИЗМА И ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ СТАБИЛИЗИРУЮЩИХ ГОМЕОСТАЗ ПРЕПАРАТОВ

Шейбак В.М., Горецкая М.В.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Аминокислоты относятся к соединениям, на основе которых могут быть разработаны эффективные лекарственные препараты направленного метаболического действия. Фармацевтические отрасли промышленности большинства высокоразвитых стран уже активно «эксплуатируют» высокоочищенные аминокислоты не только в качестве нутриентных добавок, но и в качестве субстанций для производства широкого спектра лекарственных препаратов. Свободные аминокислоты и их производные являются наиболее универсальными природными регуляторами и эндогенными модификаторами биологических реакций. Для этого объективно существует целый комплекс причин [1, 3]:

- *in vivo* они представлены широким спектром родственных по химической структуре соединений;
- транспорт, промежуточный обмен, синтез и утилизация аминокислот унифицированы по основным метаболическим потокам в клетке;
- их уровни в клетках являются важнейшими регулирующими факторами в процессах биосинтеза белка и образования высокоактивных биологических соединений (медиаторы, гормоны), а также определяют скорость основных метаболических потоков, в частности, цикла трикарбоновых кислот и цикла мочевинообразования.

Аминокислоты являются:

- 1) субстратами для синтеза полимеров (белки, включая гормоны и цитокины),
- 2) субстратами для синтеза биологически активных пептидов (включая медиаторы иммунной системы и нейропептиды),
- 3) субстратами для синтеза биогенных аминов и соединений обладающих собственной физиологической и метаболической активностью (азотсодержащие метаболиты аминокислот и кетокислоты),
- 4) регуляторами синтеза белка (лейцин),

5) стимуляторами пролиферации и источником энергии для клеток иммунной системы (аргинин, глутамат),

6) нейротрансмиттерами или прямыми предшественниками нейротрансмиттеров (аспартат, глутамат, глицин, ГАМК, NO, таурин),

7) неспецифическими компонентами и активаторами антиоксидантной системы в организме (глицин, глутамат, метионин, серин, таурин, цистеин),

8) стимуляторами синтеза специфических протеинов (лизин, пролин, треонин),

9) стимуляторами синтеза фосфолипидов (серин),

10) стабилизаторами хроматина (лизин, аргинин),

11) осморегуляторами (таурин),

12) модуляторами липидного обмена (влияние на образование солей желчных кислот – глицин, таурин).

Разрабатываются новые (фармакологические) показания для применения аминокислот и необходимо достаточно четко определить ограничения по их переносимости. Одним из наиболее сложных вопросов является определение терапевтической дозы и конкретной цели, стоящей перед врачом.

Использование аминокислот в качестве лекарственных препаратов подразумевает эксплуатацию их специфических свойств, путем:

1) максимального приближения вводимой аминокислоты к предполагаемому месту ее действия (глицин, таурин – ЦНС – под язык, или в виде глазных капель; треонин – в кишечник для стимуляции синтеза мукозы и т.д.).

2) эксплуатацию полезных свойств путем создания локально высоких концентраций (например, в кишечнике, при введении в количестве 100-500 мг);

3) для ликвидации метаболического дисбаланса при хронических заболеваниях (использование т.н. минизолей);

4) антикатаболическое действие (торможение протеолиза и стимуляция синтеза белка в тканях, повышение энергообеспеченности клеток организма) путем назначения максимально сбалансированных по составу аминокислот [5, 9].

Большинство препаратов, содержащих отдельные аминокислоты или аминокислотно-витаминно-минеральные комплексы предназначены для перорального применения, т.е. до того, как попадут в циркуляцию их компоненты (аминокислоты и микроэлементы) будут контактировать с клетками, выстилающими желудочно-кишечный тракт (ЖКТ). В этой связи важно понимать, что до 70% клеток иммунной системы также локализовано в ЖКТ [4]. Органы ЖКТ имеют развитую вегетативную симпатическую и парасимпатическую иннервацию. Очевидно, что локальные, достаточно высокие, концентрации аминокислот будут воздействовать не только на энтероциты, но и на иные типы клеток, обеспечивая регуляцию систем кишечник-печень и кишечник-мозг [8].

Рассматривая полезные (физиологические свойства) аминокислот важно иметь ввиду целостность регуляторных процессов в формировании гомеостаза организма. Несмотря на существующую иерархию регуляции в организме

известно, что иммунные и нейроэндокринные механизмы могут влиять друг на друга, что может быть классифицировано следующим образом [7]:

1. иммунные, эндокринные и нервные клетки могут экспрессировать рецепторы для цитокинов, гормонов, аминокислот-нейротрансмиттеров и нейропептидов;

2. синтезируемые в иммунной, нервной и эндокринной системах соединения совместно обнаруживаются в лимфоидной, эндокринной и нервной тканях;

3. гормоны, нейропептиды и нейромедиаторы могут влиять на иммунную систему;

4. синтезированные иммунными клетками цитокины и медиаторы могут влиять на эндокринные и нервные структуры.

Рецепторы для гормонов, нейротрансмиттеров и нейропептидов обнаруживаются на иммунных клетках. Клетки иммунной системы (Т- и В-лимфоциты, дендритные клетки) могут связывать различные гормоны, нейротрансмиттеры, нейропептиды. Например, на лимфоидных и вспомогательных клетках обнаружены рецепторы к глюкокортикоидам, инсулину, пролактину, гормону роста, эстрадиолу, тестостерону, β -адренергическим соединениям, ацетилхолину, эндорфинам, энкефалинам, субстанции Р, соматостатину, вазоинтестинальному пептиду [1].

Важно заметить, что сигналы, передаваемые гормонами, нейротрансмиттерами или нейропептидами имеют преимущественные клеточные мишени и, следовательно, влияют на различные типы иммунного ответа. Число или активность рецепторов может изменяться при активации клетки. Например, резидентные (покоящиеся) лимфоциты не имеют рецепторов к инсулину, но они появляются после стимуляции митогенами или аллогенными антигенами. После стимуляции цитотоксических Т-лимфоцитов ИЛ-2, повышается активность β -адренергических рецепторов. Число мускариновых рецепторов на лейкоцитах человека и Т-лимфоцитах крысы также повышается, когда они активируются митогенами и аллогенными антигенами. Следовательно, следует ожидать, что сигналы, передаваемые гормонами или нейротрансмиттерами должны преимущественно восприниматься клетками, которые активированы для их восприятия [9].

Рецепторы для цитокинов обнаружены в эндокринных железах. Очень много рецепторов к ИЛ-1. Рецепторы для ИЛ-1 α и ИЛ-1 β или соответствующих мРНК, идентифицированы в гипофизе мыши и крысы, и локализованы в основном в аденогипофизе. Рецепторы или связывающие сайты для ИЛ-6 и ИЛ-2 также обнаружены в гипофизе. Рецепторы к ИЛ-1 обнаружены в мозговом слое надпочечников. Рецепторы к ИЛ-1 обнаружены в щитовидной железе, в эндокринной части поджелудочной железы, в некоторых регионах или специфических клетках яичников и семенников.

Рецепторы для цитокинов локализованы и в нервной системе. После введения цитокинов активируются эндокринные механизмы, находящиеся под прямым контролем нервной системы. В мозге присутствуют рецепторы к ИЛ-1 α и ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО α , γ -интерферону, колониести-

мулирующему фактору макрофагов (M-CSF) и фактору стволовых клеток (SCF). Рецепторы для ИЛ-1 в основном сконцентрированы в зубчатой извилине гиппокампа. Считается, что это конститутивные рецепторы, тогда как другие обнаруживаются только после введения эндотоксинов.

Очевидно, что, проявляя реципрокные иммуно-нейроэндокринные эффекты, гормоны, нейротрансмиттеры и нейропептиды достигают иммунных клеток, и напротив, нейроэндокринные структуры реагируют на продукты, секретируемые иммунными клетками [14].

На иммунные клетки могут воздействовать гормоны и нейропептиды, продуцируемые самими иммунными клетками. Иммунные клетки могут продуцировать АКТГ и β -эндорфины. Гормон роста и пролактин также синтезируются в иммунных клетках. Тот факт, что эти гормоны секретируются отдельными субпопуляциями клеток, указывает, что они могут выполнять иммунорегуляторную роль, осуществляя паракринное и аутокринное действие. Подобное заключение можно сделать и относительно нейропептидов, которые продуцируются эозинофилами и тучными клетками.

Соединения, образуемые клетками иммунной системы, могут влиять на эндокринные структуры как гуморальные сигнальные молекулы. Однако, некоторые цитокины, образуемые или конститутивно или в результате индукции, присутствуют постоянно в эндокринных железах.

Медиаторы иммунной системы (цитокины) обнаруживаются в мозге. ИЛ-1, его природный рецепторный антагонист ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12 и ИНФ γ конститутивно присутствуют в ЦНС.

В качестве одного из примеров можно указать на гормон и нейропептид холецистокинин, который вырабатывается отдельными эндокринными клетками в проксимальном отделе тонкого кишечника и высвобождается в ответ на прием пищи. Холецистокинин является основным гормоном, ответственным за сокращение желчного пузыря и оказывающим сильный эффект на панкреатическую секрецию. Среди аминокислот, которые стимулируют секрецию холецистокинина ароматические аминокислоты, фенилаланин и триптофан, являются наиболее эффективными [6].

Предложены два механизма стимуляции секреции холецистокинина фенилаланином: 1) взаимодействие с мембранным ко-транспортером или 2) связывание с низкоаффинным мембранным рецептором. Внеклеточный Ca^{2+} -чувствительный рецептор (CaSR) узнает и реагирует (т.е. «чувствует») Ca^{2+} , как свой основной физиологический лиганд. Недавно было показано, что CaSR активируются не только Ca^{2+} , но и ароматическими аминокислотами, т.е. способные быть чувствительными на некоторые нутриенты. CaSR обнаружены и в гастрин-продуцирующих G клетках и париетальных клетках желудка. Поскольку CaSR играют роль в регуляции секреции гастрина и в желудочной секреции, эти аминокислоты могут быть регуляторами гормональной секреции клетками ЖКТ [6].

Таким образом, воздействуя на определенные субпопуляции клеток в пределах желудка, двенадцатиперстной кишки и тонкого кишечника, аминокислоты модулируют их метаболизм, а значит и функциональную

активность, запуская весь каскад регуляторных гомеостатических механизмов, приводящих, в конечном итоге, к комплексному ответу организма и оптимизируя его реакцию на внешнее воздействие. В зависимости от повреждающих факторов, реальных или предполагаемых, и должна выстраиваться тактика использования определенных аминокислотных добавок [10].

Кишечник является важным органом, ответственным за переваривание, всасывание и метаболизм пищевых нутриентов. На его долю приходится синтез 9-12% белка в организме, и он является наиболее важным путем поступления чужеродных антигенов, включая белки пищи, природные токсины, коменсальную флору кишечника, чужеродные патогены. Интактный ЖКТ представлен монослоем интестинальных эпителиальных клеток, основной функцией которых является создание физического барьера, взаимодействующего с внешними факторами. Кишечный тракт является также одним из наибольших лимфоидных органов, и состоит из иммунных клеток, организованных в ассоциированную лимфоидную ткань. Аминокислоты являются не только субстратами для синтеза протеинов и других азотсодержащих соединений, но и ключевыми регуляторами потоков через основные метаболические пути [11].

В частности, **глутамин** участвует во многих ключевых метаболических процессах, таких как синтез белка, глюконеогенез, межорганый перенос азота, биосинтез нуклеиновых кислот, иммунные реакции и регуляция редокс-состояния клеток. Пищевые добавки глутамина снижают чувствительность энтероцитов и клеток иммунной системы к апоптозу, вследствие повышения антиоксидантного статуса и пролиферативной активности клеток тонкого кишечника. У животных получавших глутаминазу внутривенно развивалась диарея, умеренно выраженная атрофия ворсинок, изъязвление мукозного слоя, некроз кишечника. Подобным образом, длительное использование полного парентерального питания может приводить к нарушению функции кишечника и иммунитета. Назначение растворов, содержащих глутамин сохраняет высоту ворсинок, толщину мукозного слоя и толщину кишечной стенки у крыс с эндотоксемией. Добавки глутамина предупреждают атрофию тощей кишки и улучшают состояние животных в постнатальный период. Обогащенный глутамином рацион ускоряет транспорт аминокислот через щеточную каемку тощей кишки.

Глутамат при всасывании почти полностью метаболизируется кишечником в неонатальный период. Более того, пищевой глутамат является специфическим предшественником для интестинального синтеза глутатиона, аргинина и пролина. Следовательно, поступающий энтерально глутамат важен для метаболизма энтероцитов и протекающих в кишечнике физиологических процессов. Глутамат особенно важен для энергетического метаболизма в энтероцитах, где активность глутаминазы низкая. У крыс с эндотоксемией добавки глутамата препятствовали истощению запасов глутамина, но трофический эффект глутамата ограничивался тощей кишкой.

Аргинин является незаменимым субстратом для синтеза важных соединений, включая оксид азота, полиамины, креатин. Кроме того, аргинин активирует сигнальный путь mTOR (основной регулятор синтеза белка) в тонком кишечнике. Аргинин стимулирует секрецию жидкости в просвет кишечника через NO-зависимый механизм. Ингибирование NO-синтазы приводит к снижению кишечной секреции, вызывает ишемию кишечника. Индуцибельная форма NO-синтазы продуцирует достаточно большие количества оксида азота, тогда как конститутивная – которая включает в себя эндотелиальную и нейрональную NO-синтазы – генерирует относительно небольшие количества оксида азота в тонком кишечнике. Оксид азота важен для сохранения мукозного барьера. Хотя роль iNOS в медиации кишечного воспаления является довольно противоречивой, результаты многих экспериментов колита у iNOS-дефицитных мышей показывают, что фермент играет роль в воспалении мукозного слоя. Например, сверхэкспрессия iNOS в лейкоцитах снижает инфильтрацию мукозы гранулоцитами на ранних фазах поражения. В то же время показано, что недостаточность фермента ведет к большему макроскопическому поражению мукозы.

Аргинин максимально стимулирует миграцию интестинальных клеток, зависящую от продукции оксида азота. Избыток продукции оксида азота разрушителен для клеток кишечника. Добавки аргинина эффективны для улучшения функции кишечного барьера и развития сосудистой сети. Так, аргинин снижает повреждение мукозы, вызванное эндотоксемией, на что указывало улучшение морфологии и повышение клеточной пролиферации. Предварительное введение аргинина повышало жизнеспособность и интестинальную барьерную функцию после мезентериальной кишечной ишемии. На модели трансплантации кишечника введение аргинина препятствовало разрушению базальной мембраны и улучшало морфологию слизистой кишечника. Более того, богатый аргинином рацион защищает кишечник от радиационного энтерита и предупреждает бактериальную транслокацию и потерю массы. Эффект аргинина дозозависимый, но использование больших доз может приводить к возникновению побочных эффектов, усиливая стрессогенность и вызывая дисфункцию кишечника. Это подтверждает предположение о необходимости соблюдения баланса между аргинином и другими аминокислотами для достижения максимально эффективного воздействия аминокислоты на гомеостаз в организме.

Серосодержащие аминокислоты и их метаболиты являются необходимыми для развития и роста. Метионин является незаменимой аминокислотой. Однако, цистеин классифицируется как полунезаменимая аминокислота для новорожденных, поскольку они обладают слабой способностью превращать метионин в цистеин. Основными конечными продуктами метаболизма метионина и цистеина являются глутатион, гомоцистеин, таурин, которые играют важную роль в иммунном ответе клеток кишечника. Так, 2-гидроксипропан-4-метилтиобутират (метаболит метионина) регулирует экспрессию eNOS, поток крови и абсорбцию аминокислот в тонком кишечнике.

Утилизация метионина в кишечнике довольно внушительная и составляет 52% от его потребления с пищей. Поскольку его деградация незначительна, это указывает что большую часть метионина использует кишечная микрофлора. Подобное относится и к цистеину, поскольку его появление в portalном кровотоке очень ограничено (менее 20% от пищевого потребления). Однако, какие клетки ответственны за катаболизм цистеина в тонком кишечнике остается неизвестным.

Глутатион, трипептид, который содержит **глицин, глутамат и цистеин**, является основным низкомолекулярным тиолом, который играет важную роль в антиоксидантной защите, метаболизме нутриентов и цитопротективных эффектах. Глутатион в кишке и энтероцитах является критичным для сохранения нормальной интестинальной функции, в частности, защиты эпителиальных клеток от повреждения электрофильными соединениями и гидроперекисями жирных кислот. Внутриклеточная концентрация глутатиона выше в активно пролиферирующих клетках и при их старении постепенно снижается. Повышенное окисление глутатиона наблюдали в культурах клеток при их дифференциации. Глутатион относится к регуляторам клеточного роста. Дефицит глутатиона (ингибирование его синтеза) приводит к серьезному повреждению мукозного слоя, повреждению эпителиальных клеток, митохондриальной дегенерации и атрофии ворсинок у мышей. Важно отметить, что оральный прием глутатиона или его моноэфира может предупреждать подобные нарушения. Более того, глутатионовый редокс-цикл считается ключевым механизмом, способствующим удалению образующихся в кишечнике гидроперекисей и уменьшению транспорта пероксида по лимфатическим сосудам. Следовательно, назначение специфических пищевых субстратов и предшественников биосинтеза глутатиона является эффективной стратегией предупреждения повреждения и улучшения функционирования мукозы.

Таурин – конечный продукт метаболизма серосодержащих аминокислот, принимает участие во многих процессах, включая осморегуляцию, антиоксидантные реакции, детоксификацию, стабилизацию мембран, ретинальную и сердечную функции. Таурин составляет около 50% от всех аминокислот в лимфоцитах, что может указывать на его важность в иммунных и провоспалительных реакциях. Таурин присутствует в дуоденальной мукозе в 90-100 раз большей концентрации, чем в плазме, указывая на накопление эпителием кишечника таурина. Таурин препятствует повреждению эпителиальных клеток свободными радикалами.

Постулировано, что **глицин и лизин** оказывают протективный эффект на кишечник. Утилизация глицина мукозой тонкого кишечника для синтеза глутатиона является важным физиологическим путем. Но роль глицина как сильного цитопротектора этим не ограничивается. Он является осмопротектором, внеклеточной сигнальной молекулой, скэвенджером свободных радикалов, модификатором биологически активных молекул. Локальная перфузия глицином уменьшает ишемически-реперфузионные повреждения мукозы тонкого кишечника, он повышает содержание в мукозе белка, сохраняет активность глутаминазы. Это важно, поскольку нарушения

барьерной функции кишечника часто имеют место у пациентов с ишемически-реперфузионными повреждениями. Исследования на животных показали, что поступающие энтерально глицин и лизин непосредственно утилизируются кишечником для синтеза белка и других метаболических процессов. Интестинальное окисление лизина в кишечнике оценивается в 30% от общего окисления этой аминокислоты в организме. Считают, что метаболизм этой аминокислоты необходим для сохранения интегративности и функционирования клеток кишечника, для синтеза муцинов и иммуноглобулинов. Сейчас известно, что энтероциты не способны катаболизировать лизин, но кишечные бактерии активно метаболизируют лизин пищи. Мало известно о роли лизина в энтероцитах. Но показано, что добавки лизина повышают содержание гликогена и высоту ворсинок в дистальных отделах тонкой и тощей кишки у свиней.

Среди незаменимых аминокислот треонин наиболее важен для синтеза муцина и сохранения интегрированности кишечного барьера. Задержка пищевого треонина кишечником (до 60%) является высокой. В кишечной мукозе основной судьбой треонина является включение в муцины, которые являются основными гликопротеинами, защищающими эпителий от повреждения. Ограничение поступления треонина с пищей резко и специфически нарушает синтез муцинов во всех сегментах кишечника, достигая 40% в двенадцатиперстной кишке. Как избыток, так и дефицит треонина нарушают синтез муцинов. Показано, что утилизация кишечником треонина повышается при сепсисе (почти в 2 раза). Следовательно, при воспалительных состояниях доступность треонина становится лимитирующей для синтеза интестинальных муцинов, что ведет к нарушению функции кишечного барьера. Очевидно, что увеличение поступления треонина с пищей и других аминокислот может способствовать синтезу муцинов и благоприятно влиять на микрофлору обеспечивая защиту кишечника и восстановление мукозного слоя [13].

Таким образом, кишечник играет ключевую роль в защите организма в дополнение к его функциям в переваривании и метаболизме нутриентов. Следовательно, важно развивать новые трофические методы для сохранения и улучшения интегративности кишечника и его функционирования в условиях стресса. Одну из ключевых функций при этом выполняют аминокислоты. В настоящее время мало известно о роли **лейцина, изолейцина и валина** для сохранения интестинального барьера. Основываясь на современных знаниях, можно ожидать, что глутамин, глутамат, аргинин, глицин, лизин, треонин и серосодержащие аминокислоты могут найти широкое применение при заболеваниях кишечника как у человека, так и животных [12, 13, 15].

С другой стороны, для эксплуатации специфических или неспецифических свойств отдельных аминокислот, в ряде случаев необходимо существенно увеличить их циркулирующие концентрации с целью воздействия не только на висцеральные органы, но и на периферические, в том числе головной мозг, мышцы, сердечно-сосудистую систему и т.п. В этом случае важно предусмотреть и возможность негативного эффекта от используемых

добавок – развитие аминокислотного дисбаланса (усиливающего отрицательный азотистый баланс), токсическое воздействие гипераммониемии, специфические токсические проявления передозировки отдельных аминокислот. В экспериментах доказано, что избыточное потребление метионина и триптофана создает наибольшие проблемы для организма, тогда как избыточное потребление треонина, глутамата и аминокислот с разветвленной углеродной цепью (АРУЦ) достаточно хорошо переносится.

Фармакологические показания для применения отдельных аминокислот еще только разрабатываются (например, цистеин, аргинин, лейцин, глутамин) и нет четких критериев по их переносимости. Среди незаменимых аминокислот чрезмерное введение в рацион метионина и триптофана больше всего подавляет рост. Избыток лизина, треонина и лейцина переносятся лучше. Относительно своего базового уровня в плазме, лейцин аккумулируется в наибольшей степени при его избытке в пище. Треонин активно метаболизируется энтероцитами и используется для синтеза богатых треонином белков мукозы. Избыток в рационе лизина вызывает умеренное повышение уровня этой аминокислоты в плазме, а также накопление его метаболита - α -аминоадипиновой кислоты. Так, при потреблении 34,5 г/кг лизина, эта аминокислота, α -аминоадипинат и все основные аминокислоты выделяются в мочу в значительных количествах. При этой дозе фактическая экскреция лизина составляет 26% от потребленной дозы. Это очевидное свидетельство последствий развивающегося аминокислотного дисбаланса. Тем не менее, исследователи не выявили изменений в печени, почках или активности мукозных кишечных ферментов.

Источники белка, считающиеся почти идеальными (лактальбумин, яичный альбумин) имеют избыток необходимых организму аминокислот. Яичный альбумин, например, содержит изолейцин на уровне почти вдвое превышающей оптимальный для растущих крыс.

Хотя эффективность от применения отдельных аминокислот часто трудноуловима, фармакологические исследования аминокислот являются плодородной областью исследований, поскольку аминокислоты имеют множество функций, помимо их роли в синтезе белка.

Гораздо более изученным и понятным является профилактическое и терапевтическое применение в медицине (особенно спортивной) белково-аминокислотных композиций. Причинами употребления белковых и аминокислотных добавок является необходимость стимуляции и сохранения мышечного прироста и силы, повышенное использование энергии (например, добавления аминокислот к добавкам глюкозы) и стимуляция высвобождения гормона роста [2]. Оценить преимущества тех или иных белковых или аминокислотных добавок, значит ответить на много вопросов. Исследователи нашли, что белковые добавки часто не эффективны. При этом существуют ограниченные сведения о целесообразности использования добавок и мало информации о их безопасности. Аминокислотные добавки часто используются по фармакологическим показаниям. Исследователи также отмечают потенциальные побочные эффекты белковых и аминокислотных добавок. Отдельно следует рассматривать и отдельные группы потребителей

(пациентов) у которых риск возникновения побочных эффектов достаточно велик. Потенциально увеличение потребления белка и аминокислот может привести к дегидратации из-за высокой экспрессии мочевины, повреждению кишечника, печени и почек, потере кальция, рвоте и диарее.

В отсутствие поступления пищи, аминокислоты, необходимые для продукции мышечного белка, повышенной при физической нагрузке, в основном образуются при распаде белка. Таким образом, хотя синтез белка после физической нагрузки повышен, азотистый баланс может быть отрицательным. Фактически, азотистый баланс всегда отрицательный, если аминокислоты, образовавшиеся в результате распада белка, используются в синтезе в качестве предшественников, поскольку часть из них должна окисляться и таким образом становится недоступной для включения в новые белки. Для положительного белкового баланса в мышцах требуется поступление пищи.

Потребление пищи может стимулировать мышечный синтез белка вторично к повышению высвобождения инсулина, так как инсулин может непосредственно стимулировать синтез белка в мышцах и, в некоторой степени, снижать его распад (протеолиз). Важными ингибиторами протеолиза являются инсулин и лейцин. Состояние кишечника определяет и внутриклеточную доступность аминокислот, что может быть фактором, определяющим скорость синтеза белка и, следовательно, свидетельствовать о благоприятном действии аминокислотных и белковых добавок. Отдельной проблемой являются вопросы, касающиеся механизмов транспорта аминокислот в энтероциты, их конкуренции за общие транспортные механизмы, метаболизм аминокислот в самих энтероцитах (особенно это относится к глутамину, пролину, аргинину и треонину), состояние печени метаболизирующей аминокислоты, поступающие из кишечника. Таким образом, биохимия и фармакология аминокислот является активно развивающимся направлением научных исследований, в ходе которого будут предложены новые механизмы взаимодействия отдельных аминокислот и новые комбинации отдельных аминокислот (вероятно, совместно с другими нутриентами).

ЛИТЕРАТУРА

1. Горецкая, М.В. Иммуногепатология: роль печени в иммунной системе / М.В. Горецкая, В.М. Шейбак – М., Пальмир, 2010. – 256 с.
2. Иммунные дисфункции у высококвалифицированных спортсменов и нутритивная реабилитация / Э.Н. Трушина [и др.] // Вопр. питания – 2012. - № 2. – С.73-80.
3. Лысиков, Ю.А. Аминокислоты в питании человека / Ю.А. Лысиков // Эксп. клин. гастроэнтерология – 2012. – № 2. – С. 88-105.
4. Шейбак, В.М. Аминокислоты и иммунная система / В.М. Шейбак, М.В. Горецкая – М., Пальмир, 2010. – 356 с.
5. Amino acid supplementation increases lean body mass, basal muscle protein synthesis, and insulin-like growth factor-I expression in older women / E.L. Dillon, [et al.] // J Clin Endocrinol Metab. – 2009 – V. 94. – P.1630-1637.

6. Amino acids stimulate cholecystokinin release through the Ca²⁺-sensing receptor / Y. Wang [et al.] // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol – 2011. – V. 300, № 4. – P. G528-37.
7. Besedovsky, H.O. Immuno-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses / H.O. Besedovsky, A.D. Rey // Endocrine Rev. – 1996. – V.17, N. 1. – P. 64-102.
8. Georgieff, M.K. Nutrition and the developing brain: nutrient priorities and measurement / Georgieff M.K. // Am. J.Clin. Nutr. – 2007 – V. 85, № 2. – P.614S-620S.
9. Inverse regulation of protein turnover and amino acid transport in skeletal muscle of hypercatabolic patients / G. Biolo [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2002. – V. 87, № 7 – P. 3378-3384.
10. Klasing, K.C. Minimizing amino acid catabolism decreases amino acid requirements / K.C. Klasing // J. Nutr. – 2009. – V. 139, № 1. – P. 11-12.
11. Luc, J.C. Leucine as a pharmaconutrient in health and disease / J.C. Luc // Curr. Opin Clin.Nutr. Metab. Care – 2012. – V. 15. – P. 71-77.
12. Pencharz, P.B. An approach to defining the upper safe limits of amino acid intake / P.B. Pencharz, R. Elango, R.O. Ball // J. Nutr. – 2008 – V. 138. – P. 1996S-2002S.
13. Small bowel review / A.B. Thomson, [et al.] // Dig. Dis. Sci. – 2001. – V. 46. – P. 2567-2607.
14. Structure of the blood–brain barrier and its role in the transport of amino acids / R.A. Hawkins [et al.] // J. Nutr. – 2006 – V. 136. – P. 218S-226S.
15. Wang, W.W. Amino acids and gut function / W.W. Wang, S.Y. Qiao // Amino acids – 2009. – V. 37. – P. 105-110.

ТАУРИН И ИММУННАЯ СИСТЕМА

Шейбак В.М., Горецкая М.В.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Таурин (2-аминоэтансульфоновая кислота) – природная аминокислота, широко встречающаяся во всех тканях млекопитающих. Таурин обладает противовоспалительным, антиоксидантным и гипогликемическим действием. Высокие концентрации уровня таурина в клетках иммунной системы, таких как лейкоциты, в большей степени в лимфоцитах и нейтрофилах, обусловлены важной ролью данной аминокислоты в функционировании этих клеток [1, 2, 3].

Цель – представить информацию о влиянии таурина на иммунитет.

Врожденная иммунная система представляет собой эволюционно сохранившиеся защитные механизмы против проникающих в организм патогенов и некротических или деструктивных собственных компонентов [3, 9, 10].

Одним из наиболее опасных для клетки органелл являются митохондрии. Теории о том, что митохондрии эволюционировали из независимого прокариотического организма в симбионт, обитающий в цитозоле эукариотической клетки, предполагают, что это объединение было взаимовыгодным: митохондрия генерировала энергию для клетки, а клетка обеспечивала реагенты и безопасность митохондрии. Эта теория бактериального происхождения митохондрий хорошо согласуется с данными о том, что уникальные компоненты митохондрий при разрушении раскрывают свою прокариотическую историю и распознаются врожденными иммунными рецепторами как чужеродные, вызывая воспалительную реакцию. Значение митохондрий для врожденного иммунного ответа оказывает глубокое влияние на многие отдельные аспекты врожденного иммунного ответа. Для генерации АТФ митохондриями необходим отрицательно заряженный матрикс, который обеспечивает прохождение электронов по цепи переноса электронов, расположенной на внутренней мембране митохондрий. Нарушение отрицательного заряда матрикса происходит в ответ на ряд стрессоров, включая антиоксиданты, субстраты и разобщители. Эта потеря отрицательного потенциала приводит к образованию и высвобождению активных форм кислорода (АФК). У дисфункциональных митохондрий может нарушаться целостность мембраны и митохондриальные компоненты попадают в цитозоль или выходят из поврежденных клеток.

Врожденный иммунный ответ играет решающую роль в обнаружении и коррекции как инфекционных, так и стерильных повреждений. Реакция начинается с распознавания рецепторами распознавания образов (*PRR*). Эти рецепторы связываются с консервативными структурами микроорганизмов, которые идентифицируют их как чужеродные, или с эндогенными молекулами со специфическими модификациями или в местах, в которых их быть не должно. Это распознавание повреждения, при котором *PRR* связывается своим специфическим активирующим лигандом, запускает иммунный ответ. Существует два основных механизма, с помощью которых это происходит: во-первых, путем непосредственной активации иммунного ответа и, во-вторых, путем модуляции ответа. Прямая активация обычно отражает повреждение или патологию собственных структур, тогда как модуляция может возникать как побочный продукт нормальных функций и процессов [9, 10].

Молекулярные паттерны, связанные с патогеном, или *PAMP* (*Pathogen Associated Molecular Patterns*), представляют собой консервативные особенности вторгшихся организмов, которые служат для идентификации этих организмов как чужеродных, тогда как молекулярные паттерны, связанные с повреждением, или *DAMP* (*Damage Associated Molecular Patterns*), представляют собой эндогенные молекулы, высвобождаемые или модифицированные в результате стерильного воздействия. И *DAMP*, и *PAMP* специфически распознаются дискретными рецепторами врожденной иммунной системы как алармины и запускают соответствующий иммунный ответ [9, 17, 19].

В зависимости от своей структуры, локализации и функциональных особенностей *PRR* разделены на отдельные семейства, которые включают мембраносвязанные *Toll*-подобные рецепторы (*TLR*), лектиновые рецепторы *C*-типа (*CLR*), цитозольные *NOD* (нуклеотидсвязывающий домен олигомеризации)-подобные рецепторы (*NLR*) и *RIG* (ген, индуцируемый ретиноевой кислотой)-1-подобные рецепторы (*RLR*). При активации эти рецепторы запускают высвобождение цитокинов и хемокинов, которые привлекают и активируют другие иммунные клетки, а также регулируют реакцию всего организма на специфическое повреждение [9].

TLR имеют основополагающее значение для врожденного иммунитета, поскольку они распознают молекулярные паттерны, связанные с патогенами (высококонсервативные, отдельные мотивы, присутствующие на патогенах) и реагируют, индуцируя воспалительные механизмы в попытке нейтрализовать и устранить патогенную инвазию. *TLR* способны реагировать на эндогенные алармины, высвобождаемые поврежденными, погибающими или некротическими клетками, независимо от патогенной инфекции. Они демонстрируют разнообразие и специализацию, поскольку каждый *TLR* активируется уникальными и специфическими лигандами. Нарушение активации *TLR* показано при множестве неинфекционных патологий и аутоиммунных заболеваний, включая сердечно-сосудистые заболевания, атеросклероз и диабет 2 типа. Отсутствие реакции или неправильное функционирование *TLR* ослабляет воспаление, влияет на восприимчивость к заболеваниям и восстановление гомеостатического баланса.

Во время иммунного ответа увеличивается общее использование серосодержащих аминокислот метионина и цистеина, по-меньшей мере, в 1,5 раза. Это увеличение происходит, в основном, за счет наработки таурина, тогда как общее производство сульфатов снижается [3, 10].

Недавние молекулярные исследования функции таурина доказали, что таурин является составной частью биологических макромолекул. В частности, два новых тауринсодержащих модифицированных уридина были обнаружены в митохондриях. Таурин необходим в митохондриях для синтеза специфических тРНК, переносящих одну из незаменимых аминокислот – лейцин. Накопление свободных тРНК, в случае дефицита таурина, нарушает генерацию белков в цепи тканевого дыхания, что ведет к дефициту АТФ, деструкции митохондрий и апоптозу [3, 4, 8, 12, 15].

Специфическая активация *T*-клеток немедленно включает механизмы регуляции объема клеток, включающие приток или отток осмолитов, среди которых основным является таурин. После активации большинство *T*-лимфоцитов подвергаются апоптозу, опосредованному проапоптотическими молекулами, такими как *Fas* и *Bim*, чтобы избежать вредных и аутоагрессивных иммунных нарушений. С другой стороны, выживание активированных *T*-лимфоцитов является предпосылкой для генерации *T*-клеток памяти, способной обеспечить эффективные последующие реакции. Точные механизмы, лежащие в основе этого избирательного процесса приобретения

устойчивости к апоптозу, последовательного выживания и генерации *T*-клеток памяти, во-многом остаются неясными [3].

Выживание клеток критически зависит от поддержания клеточного объема. Поскольку клеточные мембраны обычно обладают высокой проницаемостью для воды, постоянство объема клетки требует осмотического равновесия между внутриклеточной и внеклеточной жидкостью. Клеточные механизмы, используемые для регуляции внутриклеточной осмолярности, включают клеточное накопление органических осмолитов. Увеличение количества осмолитов в клетках может быть достигнуто за счет метаболической генерации или за счет Na^+ -связанного транспорта, как в случае таурина. Помимо влияния на клеточную осмолярность и, следовательно, на объем клеток, осмолиты, такие как таурин, стабилизируют белки и защищают клетки от повреждений окислительного стресса [3].

Активация *T*-клеток вызывает многочисленные клеточные изменения, в том числе изменения в морфологии клеток, подвижности и размере. Как правило, специфические *T*-клеточные реакции проходят этап экспансии и генерации эффекторных клеток с последующей элиминацией наиболее специфических *T*-клеток и образованием *T*-клеток памяти. Морфологическим признаком активированных *T*-клеток является их увеличенный размер, который можно наблюдать после стимуляции антигенпрезентирующими клетками и/или цитокинами. Увеличение клеточной концентрации осмолитов поэтому вызывает приток воды, что приводит к увеличению размеров клеток. Концентрации Na^+ , K^+ , Cl^- по многим причинам не подходят для регуляции осмолярности и размера клеток. Живые организмы обычно используют небольшие органические молекулы, которые могут быть получены клеткой или активно транспортируются в клетки. Таурин является примером такого органического осмолита. Он транспортируется в клетки с помощью *Taut*-транспортера Na^+ -зависимым способом. *T*-клетки экспрессируют *Taut*, и таурин эффективно транспортируется через *T*-клеточную мембрану [3].

Добавление таурина *in vitro* увеличивает *T*-клеточную пролиферацию и безтауриновый рацион может привести к лимфопении у кошек. Ответ $CD4^+$ и $CD8^+$ *T*-клеток уменьшается при отсутствии *TauT*. Специфическая активация *T*-клеток немедленно включает механизмы регуляции объема клеток, позволяющие *T*-клеткам стать *T*-клеточными бластами. Добавление таурина увеличивало пролиферацию *T*-клеток после стимуляции митогенами. Помимо влияния на клеточную осмолярность и, следовательно, на объем клеток, таурин, стабилизирует белки и защищают клетки от чрезмерного окислительного стресса [3].

Таурин накапливается в *T*-лимфоцитах, где на его долю приходится до 44% общего пула свободных аминокислот. Отсутствие *Taut* значительно усиливает апоптоз во время активации *T*-клеток *in vitro* и *in vivo*. *Taut*^{-/-} мыши имеют серьезные дефекты в формировании *T*-клеточной памяти и реакции гиперчувствительности замедленного типа, такие как отторжение опухоли и реакции контактной гиперчувствительности. После воздействия антигена относительная устойчивость к апоптозу позволяет активированным *T*-клеткам

подвергаться пролиферации, что приводит к увеличению количества антиген-специфических *T*-клеток до 10 000 раз. Соответственно, восприимчивость к апоптозу снижает количество активированных $CD4^{+}$ и $CD8^{+}$ *T*-клеток примерно на 90%, и только активированные *T*-клетки, выдерживающие достаточные антиапоптотические сигналы, могут выжить и стать *T*-клетками памяти. *Taut* придает устойчивость активированным *T*-клеткам к апоптозу. Отсутствие транспортера осмолитов *Taut* нарушает регуляцию объема клеток и приводит к их сжатию и апоптозу. Было показано, что *CD95*-индуцированная фрагментация ДНК и высвобождение фосфатидилсерина из *T*-клеток предшествуют высвобождению таурина. Дефицит клеточного поглощения таурина *T*-лимфоцитами значительно уменьшает в лимфатических узлах количество резидентных *T*-клеток памяти. Регуляция объема клеток с помощью *Taut* имеет решающее значение для выживания *T*-клеток и иммунных реакций, опосредованных *T*-клетками, и указывает на новый подход в регуляции иммунных ответов [3].

Высокие концентрации таурина и присутствие транспортера (*TauT*) в клетках врожденной иммунной системы, включая лейкоциты (лимфоциты, нейтрофилы) обусловлены важнейшими функциями. Таурин действует как: антиоксидант во время воспаления; цитопротектор; стабилизатор гомеостаза во время острого и хронического инфекционного процесса [3, 6].

Таурин, который в большом количестве находится в цитозоле лейкоцитов (20–50 нМ), оказывает антиоксидантное действие за счет удаления АФК. Гипобромистая кислота (*HOBr*) представляет собой АФК, генерируемые активированными нейтрофилами и эозинофилами в очагах воспаления посредством ферментативной активности нейтрофильной миелопероксидазы (МПО) и эозинофильной пероксидазы. Таурин легко реагирует с *HOBr* с образованием менее токсичного конъюгата таурин-бромамина (*TauBr*). *TauBr* защищает клетки от повреждения *HOBr* и демонстрирует антимикробное, антибактериальное, противовоспалительное и антиоксидантное действие. *TauBr* оказывает свое противовоспалительное действие путем подавления *TNF α* -индуцированного воспаления. Добавление *TauBr in vitro* к иммунным клеткам и фибробластам способно снизить выработку *TNF- α* , *IL-6*, *IL-10*. Таурин реагирует с *HOCl*, вырабатываемым по пути МПО, с образованием более стабильного, но менее токсичного таурина хлорамина (*TauCl*). *TauCl* также является мощным регулятором иммунной системы. В частности, было показано, что *TauCl* подавляет выработку провоспалительных медиаторов в лейкоцитах как грызунов, так и человека. В исследованиях механизма действия *TauCl* обнаружено торможение активации экспрессии *NF- κ B*, мощного преобразователя сигналов воспалительных цитокинов [8, 11, 14].

Таурин стимулирует экспрессию мРНК *TLR4*, что указывает на иммуномодулирующую связь *TLR* и таурина. Одновременно при инфицировании животных *Streptococcus uberis* таурин значительно снижает экспрессию мРНК *TLR2*, *NF- κ B*) и активность связывания ДНК *NF- κ B*, концентрацию *iNOS* и *TNF α* [16–18, 20].

У грызунов, получавших таурин до и после острого повреждения легких, вызванного блеомицином, наблюдалось отсутствие легочного фиброза и снижение маркеров воспаления, включая *iNOS*, молекулы внутриклеточной адгезии, *TNF α* , *NF-K β* и *IL-2*. Аналогичные противовоспалительные эффекты таурина были воспроизведены на моделях острого повреждения легких вызванных эндотоксином. После травматического поражения спинного мозга введение таурина уменьшало воспаление, накопление нейтрофилов и вторичные дегенеративные нарушения в сером веществе и способствовать регенерации аксонов. Сопоставимые защитные противовоспалительные эффекты отмечали при черепно-мозговых травмах: значительно снижался уровень провоспалительных цитокинов (включая *IL-1 α* , *-1 β* , *-4*, *-5*, *-6*, *-10*, *TNF α* , гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, интерферон- γ , моноцитарный хемотаксический белок-1 и фактор роста эндотелия сосудов) и уменьшалась тяжесть повреждения [4, 7, 19].

Делеция *TauT* оказывала негативный эффект на течение инфекции. Это предполагает, что таурин может играть роль в запуске защитных воспалительных реакций врожденной иммунной системы против инфекции. Длительный дефицит таурина приводит к дисфункции и нарушениям иммунной системы. У кошек, получавших диету без таурина, развивалась лейкопения, сдвиг процентного содержания полиморфно- и мононуклеарных лейкоцитов, увеличение общего количества мононуклеарных лейкоцитов, повышенная концентрация сывороточного γ -глобулина и подавление фагоцитоза *Staphylococcus epidermidis*. Кроме того, гистологическое исследование лимфатических узлов и селезенки выявило регрессию фолликулярных центров с истощением фибробластов (ретикулярных клеток), зрелых и незрелых В-лимфоцитов и наличие внесосудистого гемолиза. При этом экспрессия *TauT* может усиливаться во время воспаления. Таким образом, противовоспалительные свойства таурина могут быть опосредованы регуляцией *TauT* в лейкоцитах. Отток таурина может обеспечивать защиту от окислительного стресса и ингибирование повреждения, опосредованного провоспалительными цитокинами, обеспечивая увеличение количества его метаболитов, *TauBr* и *TauCl*. Было показано, что *TauCl* и *TauBr* модулируют передачу сигнала *TLR/MyD88/NF-k β* в макрофагах человека и мыши [7, 8, 10, 11].

TauCl ингибирует медиаторы воспаления, высвобождение которых инициируют *TLR2*, 4 и 9. *TauCl* способен подавлять активацию мРНК *TNF α* и *iNOS*. Воздействие *TauCl* на активацию *TLR* достигается за счет транскрипции провоспалительных продуктов. В частности, таурин и его метаболиты (*TauBr* и *TauCl*) могут опосредованно уменьшать воспаление, вызванное активацией *TLR*, путем нарушения передачи сигнала и транскрипции провоспалительных молекул [5, 8, 11, 14, 17].

Желудочно-кишечный тракт является крупнейшим иммунным органом в организме и служит важным местом метаболизма серосодержащих аминокислот. Концентрации таурина поддерживаются в основном за счет

поступления из крови, деконъюгации микробиотой желчных кислот и реабсорбции таурина. Наблюдалось повышенное накопление ^{35}S -таурина в толстой кишке при индукции острого иммунного ответа *in vivo*, что обусловлено его повышенным поступлением из крови, поскольку в толстом кишечнике не происходит ни выработка, ни реабсорбция таурина [13]. Биологическое значение накопления ^{35}S -таурина в толстом кишечнике неясно.

Хотя метаболизм хозяина и микроорганизмов могут происходить в тандеме, хозяин зависит от своего микробиома в плане расширения набора пищеварительных и метаболических ферментов. Микробиота кишечника производит чрезвычайно разнообразный репертуар метаболитов в результате анаэробной ферментации экзогенных непереваренных пищевых компонентов, которые достигают толстой кишки, а также эндогенных соединений, которые генерируются микроорганизмами и хозяином. Одиночный слой эпителиальных клеток, образующий границу слизистой оболочки между хозяином и микроорганизмами, позволяет микробным продуктам метаболизма получать доступ к клеткам-хозяевам и взаимодействовать с ними и, таким образом, влиять на иммунные реакции и риск заболеваний.

Микробиота кишечника считается чрезвычайно важной для развития и поддержания иммунной системы кишечника, представленной, главным образом, лимфоидными скоплениями (пейеровы бляшки). При применении антибиотиков снижается передача сигналов микроорганизмов и их метаболитов со слизистой оболочки кишечника к периферическим органам, а также уровень иммуноглобулинов, количество иммунных клеток, а также экспрессия и продукция иммунных факторов, таких как *TNF- α* , *IFN* [7]. У мышей, получавших антибиотики, изменяется качественный и количественный состав микробиома, проницаемость кишечника и функциональные возможности эпителиоцитов. Лечение антибиотиками нарушает активацию воспалительно-зависимых цитокинов, снижению уровней кишечных цитокинов и нарушению иммунитета. Эти эффекты можно обратить вспять добавлением таурина. Таурин оказывал защитное действие на иммунную систему в экспериментах с антибиотиками, поддерживая содержание различных цитокинов на уровне, сравнимом с таковым в контрольной группе. Таурин, образующийся в результате деконъюгации желчных кислот в толстом кишечнике, может помочь мышам, получавшим антибиотики, поддерживать гомеостаз кишечника, балансируя кишечную флору, увеличивая количество полезных бактерий и улучшая иммунологические функции. Недавно было обнаружено, что таурин активирует инфламасому *NLRP6*, восстанавливая ось воспаление-антимикробный пептид и облегчая течение колита модулируя состав кишечных микробов.

Таким образом, высокие концентрации таурина и присутствие *TauT* в клетках врожденной и адаптивной иммунной системы, обусловлены важнейшими функциями. Таурин оказывает антиоксидантное действие за счет удаления активных форм кислорода во время воспаления: реагируя с гипобромистой кислотой и образуя менее токсичный конъюгат таурин-бромамин (*TauBr*), который защищает клетки от повреждения, демонстрируя

ещё и антибактериальное, и противовоспалительное действие. *TauBr* оказывает свое противовоспалительное действие путем подавления *TNF α* -индуцированного воспаления, а также снижает выработку *IL-6* и *IL-10*. Добавление таурина *in vitro* увеличивает *T*-клеточную пролиферацию. Отсутствие транспортера (*TauT*) значительно усиливает апоптоз во время активации *T*-клеток, одновременно снижается ответ *CD4⁺* и *CD8⁺* *T*-лимфоцитов. Таурин реагирует с *HOCl*, с образованием менее токсичного таурина хлорамина (*TauCl*). *TauCl* является мощным регулятором иммунной системы, подавляя выработку провоспалительных медиаторов в лейкоцитах человека. В исследованиях механизма действия *TauCl* обнаружено торможение активации экспрессии *NF-kB*, мощного преобразователя сигналов воспалительных цитокинов. Таурин является эффективным антиоксидантом во время воспаления, цитопротектором и стабилизатором гомеостаза во время острого и хронического инфекционного процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горецкая, М.В. Гепатопротекторные свойства таурина при интоксикации парацетамолом / М.В. Горецкая, В.М. Шейбак // Здравоохранение Белоруссии. – 2013. – № 3. – С. 97-103.
2. Сочетанное влияние таурина и цинка (тауцинка) на содержание свободных аминокислот и их некоторых производных в сыворотке крови и лимфоцитах крыс / В. М. Шейбак, М. В. Горецкая, А. Ю. Капитурко, Е. М. Дорошенко // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2011. – № 1. – С. 45-51.
3. Шейбак, В.М. Аминокислоты и иммунная система / В.М. Шейбак, М.В. Горецкая – Москва: Пальмир, 2010. – 356 с.
4. Bhavsar, T.M. Protective action of taurine, given as a pretreatment or as a posttreatment, against endotoxin-induced acute lung inflammation in hamsters. / T.M. Bhavsar, S.N. Patel, C.A. Lau-Cam// J. Biomed. Sci. – 2010. – V. 17. – P. 1-13.
5. Blocking TLR2 activity diminishes and stabilizes advanced atherosclerotic lesions in apolipoprotein E-deficient mice. / X.X. Wang [et al.] //Acta Pharmacol. Sin. – 2013. – V. 34. – P. 1025–1035.
6. Haretskaya, M.V. Hepatoprotective properties of taurine during carbon tetrachloride intoxication/ M.V. Haretskaya, V.M. Sheibak //Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry. – 2014. – T. 8, № 4. – С. 286-292.
7. Inflammatory mediators are inhibited by a taurine metabolite in CpG oligodeoxynucleotide and IFN- γ activated macrophage cell line. / Kim B.S. [et al.] //J. Drugs Dermatol. – 2013. – V. 12. – P. 551-557.
8. Kim, C. Taurine chloramine produced from taurine under inflammation provides anti-inflammatory and cytoprotective effects. / C. Kim, Y.N. Cha // Amino Acids. – 2014. – V. 46. – P. 89-100.
9. Kumar, H. Pathogen recognition by the innate immune system. / H. Kumar, T. Kawai, S. Akira // Int Rev Immunol. – 2011. – V.30, №1. – P. 16-34.

10. Marcinkiewicz, J. Taurine and inflammatory diseases. /J. Marcinkiewicz, E. Kontny //Amino Acids. – 2014. – V. 46. – P. 7-20.
11. Marcinkiewicz, J. Taurine bromamine (TauBr)--its role in immunity and new perspectives for clinical use. /J. Marcinkiewicz //J. Biomed. Sci. – 2010. – V. 17, № 1. – P. S3.
12. Schaffer, S.W. Physiological roles of taurine in heart and muscle. / S.W. Schaffer, C. Ju Jong, J. Azuma // J. Biomed. Sci. – 2010. – V.17. – P. S2.
13. Stipanuk, M.H. Dealing with methionine/homocysteine sulfur: cysteine metabolism to taurine and inorganic sulfur / M.H. Stipanuk, I. Ueki // J. Inherit. Metab. Dis. – 2011. – V. 34. – P. 17–32.
14. Taurine chloramine inhibits NO and TNF- α production in zymosan plus interferon- γ activated RAW 264.7 cells. / B.S. Kim [et al.] //J. Drugs Dermatol. – 2011. – V. 10. – P. 659.
15. Taurine metabolism in humans. /M. Maria [et al.]//J. Clin. Tri. Cas Rep. – 2018. – V. 2. – P. 104.
16. The effect of taurine on the toll-like receptors/nuclear factor kappa B (TLRs/NF- κ B) signaling pathway in Streptococcus uberis-induced mastitis in rats. / J. Miao [et al.] //Int. Immunopharmacol. – 2011. – V. 11. – P. 1740-1746.
17. TLR1/2 Specific Small-Molecule Agonist Suppresses Leukemia Cancer Cell Growth by Stimulating Cytotoxic T Lymphocytes. / X. Cen [et al.] //Adv. Sci. – 2019. – № 6, V. 10. – P. 1802042.
18. TLR4-mediated inflammation promotes foam cell formation of vascular smooth muscle cell by upregulating ACAT1 expression. / Y. Yin [et al.] //Cell Death Dis. – 2014. – № 5. – P. 1574.
19. Toll-like receptors drive specific patterns of tolerance and training on restimulation of macrophages. /Butcher S.K., O'Carroll C.E., Wells C.A., Carmody R.J. //Front. Immunol. – 2018. – № 9. – P. 933.
20. Qu, D. Focal TLR4 activation mediates disturbed flow-induced endothelial inflammation / D. Qu [et al.] // Cardiovasc. Res. – 2020. – V. 116. – P. 226-236.

ГОМЕОСТАТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ КОНЦЕНТРАЦИЙ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ПЛАЗМЫ

Шейбак В.М., Горецкая М.В., Николаева И.В.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Системный гомеостаз аминокислот, определяемый как контроль уровней аминокислот в плазме, следует основным биологическим принципам, но функции разделены между органами: (i) поступление (кишечник) и реабсорбция (почки) через переносчики пептидов и аминокислот; (ii) биосинтез и деградация аминокислот (все органы, цикл мочевины в печени); (iii) биосинтез и деградация белков (в основном в мышцах) и (iv)

регуляция потребления и метаболизма медиаторами ЦНС и метаболическими гормонами. Эти механизмы жестко регулируются, в результате чего уровни аминокислот в плазме остаются неизменными даже в условиях кратковременного ограничения потребления белка. Уровни аминокислот в печени также остаются практически постоянными, за исключением аланина, который используется в глюконеогенезе. Только на диете с высоким содержанием белка (1,5 г/кг массы тела) наблюдается постпрандиальное увеличение концентраций аминокислот в плазме. Кратковременное голодание не снижает уровень аминокислот в плазме, а более продолжительное голодание вызывает умеренные изменения. Однако длительное недоедание (квашиоркор) вызывает значительное снижение уровня аминокислот в плазме [2].

Взрослому человеку необходимо восполнять неизбежные потери в 20-25 г белка/день. При этом общий оборот белка значительно выше (~240 г в сутки). Важно отметить, что энергетическая ценность белков такая же, как и у углеводов (16-17 кДж/г), а это означает, что при превышении восполнения неизбежных потерь аминокислоты пищи почти полностью метаболизируются до CO_2 и H_2O [1, 2].

Еще в 1960-х годах были отмечены потенциальные последствия аминокислотного дисбаланса. Неблагоприятные эффекты наблюдались у экспериментальных животных, потребляющих диеты, содержащие непропорциональные количества аминокислот. Подобные эффекты могут также проявляться у людей, когда гомеостатические механизмы, регулирующие концентрации аминокислот в жидкостях организма, недостаточны или повреждены печень или почки, недостаточное питание или генетический дефект ферментов. Чрезмерное парентеральное или энтеральное введение аминокислот/белков, также может привести к аминокислотному дисбалансу. Эти наблюдения указывают на важную регуляторную роль аминокислот и привлекают внимание к потенциально негативным последствиям длительного аминокислотного дисбаланса плазмы, например, при заболеваниях почек и печени, а также хроническом воспалении или саркопении. Подобные нарушения должны поощрять исследования специальных аминокислот для противодействия этому дисбалансу и восстановлению сбалансированного состава аминокислот в плазме [5].

Изменения концентрации свободных аминокислот в плазме не обязательно отражают эквивалентные изменения внутриклеточных концентраций. Поскольку ряд переносчиков на клеточной мембране конкурируют за транспорт аминокислот, высокие концентрации отдельных аминокислот могут ухудшать усвоение других аминокислот, и этот тип антагонизма может существенно влиять на внутриклеточный аминокислотный спектр [1, 19].

Аминокислоты являются важными регуляторными эффекторами, которые могут влиять на ряд конечных точек, отличных от констант метаболизма азота. На данный момент идентифицированы три различных механизма, участвующих в усилении экспрессии генов при дефиците аминокислот: (i) стабилизация

мРНК; (ii) усиление скорости трансляции одного конкретного транскрипта; (iii) транскрипционный контроль [2, 5].

Низкое потребление аминокислот, например, при недостаточном питании, влияет на экспрессию генов. В этом плане переносчики аминокислот потенциально являются прямыми сенсорами их доступности на обеих сторонах клеточной поверхности и могут действовать как трансцепторы, локализованные перед mTOR. Эти трансцепторы аминокислот можно рассматривать как стабилизаторы обмена нутриентов и регуляторы сигналов, связывающих транспорт и систему регуляции mTOR/AMP-активируемой киназы (AMPK) [6, 19]. Чувствительность к питательным веществам через mTOR частично регулируется AMPK (клеточное голодание), а также за счет поступления аминокислот. Активация AMPK подавляет такие пути биосинтеза, как биосинтез жирных кислот и холестерина, но при этом включает катаболические пути, которые генерируют АТФ, такие как окисление жирных кислот и гликолиз [6].

Аминокислоты регулируют синтез различных факторов транскрипции, а также специфических регуляторных последовательностей. Так, незаменимые аминокислоты могут изменять экспрессию микроРНК в скелетных мышцах, а также генов, связанных с ростом, что означает, что аминокислоты через микроРНК включают или выключают ряд генов [12].

Аминокислоты могут оказывать огромное влияние на регуляторные элементы клеток. Показано, что добавки пролина и глутамин увеличивают экспрессию генов фактора роста гепатоцитов после гепатэктомии [4]. В клетках карциномы печени человека (HepG2) глутамин, лейцин и пролин ослабляют выработку IL-8, вероятно, за счет ингибирования NF-κB и увеличения фосфорилирования серин/треонинпротеинкиназы [18]. Введение глицина уменьшает повреждение печени после частичной гепатэктомии у крыс и снижает фактор-1, индуцируемый гипоксией (HIF-1) [15]. Прием АРУЦ улучшает метаболизм глюкозы у пациентов с циррозом печени. АРУЦ стимулировали экспрессию GLUT2 и L-GK в клетках HepG2, а также уровни экспрессии L-глюкокиназы и подавляли уровни экспрессии глюкозо-6-фосфатазы в печени крыс. Эти результаты показывают, что аминокислоты играют важную роль в изменении передачи сигналов в клетках, и можно предположить, что дисбаланс аминокислот частично действует через описанные выше регулирующие системы [2, 8].

Традиционно аминокислоты классифицируют как незаменимые или заменимые. Незаменимыми аминокислотами являются те, которые должны поступать с пищей, потому что организм не может синтезировать их *de novo* или не может синтезировать их достаточное количество для удовлетворения своих метаболических потребностей. Тем не менее, в последнее время исследования показали, что существуют ситуации, когда млекопитающие нуждаются в так называемых «заменимых аминокислотах» для реализации своего генетического потенциала с целью максимального роста и размножения, а также для их оптимального здоровья и благополучия. Давний термин «незаменимые аминокислоты» в настоящее время считается относительным в нутрициологии.

Помимо того, что аминокислоты служат строительными блоками для синтеза белка, они выполняют различные биохимические функции, и это необходимо учитывать при анализе их потребностей [1, 2, 8, 17].

Основная роль свободных аминокислот

Все клетки в организме животного участвуют в белковом обмене. Чтобы этот процесс продолжался, необходимо получать и удалять свободные аминокислоты в соответствии с метаболическим статусом клеток. Свободные АК в плазме в различных концентрациях (т. е. аминокислотный профиль) играют ключевую роль в процессе обмена белка [3]. Это связано с тем, что свободные аминокислоты являются предшественниками для синтеза других азот-содержащих метаболитов и источником энергии. Они функционируют как определенный тип циркулирующей «валюты» для этих метаболических процессов. Кровь переносит все метаболические продукты переваривания и всасывания белков, включая пептиды и свободные аминокислоты, в другие ткани организма. Сравнение текущих концентраций аминокислот в плазме (после приема пищи) с базовыми концентрациями аминокислот в плазме (при голодании) может дать важную информацию об их биодоступности из рациона. Этот тип сравнительного анализа использовался для определения лимитирующих АК в рационах, а также для определения потребностей в АК [13]. Профили катаболизируемых или биодоступных аминокислот, особенно тех, которые не синтезируются *de novo* в клетках животных, являются единственным наиболее важным фактором, определяющим питательную ценность пищевого белка или эффективность белков пищи для метаболического использования [11].

В мышечной ткани основным компонентом является белок, составляющий примерно 74% от общего сухого вещества скелетных мышц. Белки и пептиды представляют собой полимеры, состоящие из аминокислот (АК), линейно соединенных пептидными связями. Хотя в природе существует более 500 АК, только около 20 из них обычно встречаются в растительных и животных белках, и эти 20 АК, называются протеиногенными АК. В их число входят аланин, аргинин, аспарагин, аспарагиновая кислота, цистеин, глутаминовая кислота, глутамин, глицин, гистидин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, фенилаланин, пролин, серин, треонин, триптофан, тирозин и валин. Недавно селеноцистеин и гидроксипролин были идентифицированы как АК, естественно присутствующая в некоторых белках.

Факторы, влияющие на профиль свободных аминокислот плазмы

В целом на профиль свободных АК в плазме крови в любой момент времени влияет скорость появления (R_a) различных АК в крови и скорость их исчезновения (R_d) из крови в определенный момент времени.

Факторы, контролирующие R_d , включают:

- (i) скорость поступления АК из плазмы в клетки для синтеза белков, пептидов и азот-содержащих соединений,
- (ii) скорость деградации АК плазмы,
- (iii) скорость потери АК вследствие физиологических потерь.

Основными факторами, контролирующими R_a , являются эндогенные и экзогенные источники АК. К эндогенным источникам АК относятся получаемые при внутриклеточном протеолизе, апоптозе и синтезируемые *de novo*, тогда как к экзогенным источникам АК относятся белки и АК, поступающие с пищей. После секреции в просвет кишечника некоторые эндогенные белки расщепляются до свободных АК, и поэтому большая часть АК, связанных с этими белками, используется микрофлорой или теряется с фекалиями [7]. Однако возможно и превращение этих эндогенных аминокислот в другие важные для организма метаболиты.

Белки являются основным источником экзогенных аминокислот. Конечными продуктами переваривания пищевых белков и пептидов являются небольшие олигопептиды (ди- и трипептиды), а также свободные аминокислоты, которые могут активно всасываться в кровоток через многочисленные транспортеры, заякоренные в апикальной и базолатеральной мембранах эпителиальных клеток желудочно-кишечного тракта. Кроме того, любые эндогенные белки и пептиды, секретируемые в просвет кишечника также подвергается аналогичным процессам переваривания и всасывания, что и экзогенные пищевые белки и пептиды. Любые факторы, влияющие на активность пищеварительных ферментов и транспортных систем, будут изменять скорость и количество свободных АК, поступающих в кровоток.

Взаимосвязь между концентрациями свободных аминокислот плазмы и пищей

Концентрации АК в плазме часто измеряют, чтобы получить представление об общем состоянии метаболизма в организме, а также об обмене АК в ответ на прием АК, в том числе из-за ключевой метаболической роли свободных АК. Полученные к настоящему времени результаты в основном описывают искусственно созданный дисбаланс, вызванный экзогенным введением избытка одной аминокислоты. Большинство поставляемых аминокислот не вызвали каких-либо токсических эффектов у людей, даже если их вводили в аномальных количествах. Одним из объяснений такой низкой токсичности аминокислот является то, что существует метаболическая адаптация, компенсирующая избыточное введение, для полного проявления которого требуется время. Напротив, эксперименты на животных выявили замедление темпов роста, когда низкое потребление белка сочеталось с избытком одной аминокислоты. Возникает вопрос, повышение уровня аминокислот в плазме, вызванное избыточным поступлением одной аминокислоты, аналогично дисбалансу аминокислот, вызванному патологическими процессами или дисфункцией органов.

Взаимосвязь между профилем АК в плазме и различными аспектами потребления АК может дать всестороннее представление о:

- (i) доступности отдельных АК,
- (ii) дефиците, ограничении или избытке АК в различных источниках пищевого белка,
- (iii) характере всасывания АК из тонкого кишечника в кровь,
- (iv) явлениях баланса или дисбаланса АК.

Если поступление АК с пищей адекватно и сопровождается физиологическим обеспечением энергией, витаминами и минералами, можно использовать профиль АК в плазме или сыворотке в качестве индикатора состояния белкового питания всего организма [9]. Для оценки скорости биосинтеза мышечного белка знание профиля свободных АК в плазме крови имеет более прямое значение, поскольку свободные АК в плазме являются непосредственным источником АК для утилизации. На профиль АК в плазме влияет не только экзогенный источник, но и эндогенный источник АК. Хотя влияние пищевых АК на профиль АК в плазме понять непросто, были проведены многочисленные исследования для определения взаимосвязи между концентрациями АК в плазме и наличием АК в рационе [9, 10, 16]. Поскольку на профиль АК в плазме в основном влияет поступление АК с пищей, существует некоторая закономерность или взаимосвязь между концентрациями АК в плазме и пище, хотя концентрации АК в плазме не всегда отвечают параллельно концентрациям АК и белка в рационе. Следует иметь в виду, что время забора крови по отношению к последнему приему пищи животным сильно влияет на результаты [10].

За некоторыми исключениями, для тех АК, которые не синтезируются клетками животных, их профиль в плазме обычно отражает их поступление с пищей, а это означает, что концентрация АК в плазме увеличивается после белкового питания и снижается после того, как животное лишается пищевого белка, при этом характер изменения содержания отдельных аминокислот связан с таковым в пищевом белке АК, не являющиеся лимитирующими в рационе, имеют тенденцию к увеличению в плазме при увеличении уровня пищевого белка. Но когда увеличение уровня пищевого белка связано со значительным увеличением скорости прибавки массы тела, увеличение уровня АК в плазме будет менее значительным или нулевым [8].

Повышение концентрации в плазме некоторых аминокислот (например, лейцина и глицина) может быть индикатором недостаточного потребления белков, возникающего в результате усиленной деградации внутриклеточных белков, а не избыточного потребления белка, в котором много этих аминокислот [9, 14]. С другой стороны, потребление избыточного количества белка на самом деле может вызвать снижение концентрации в плазме некоторых аминокислот (например, треонина). Это явление получило название «парадокс пищевого белка».

У людей общая концентрация свободных аминокислот в плазме крови значительно увеличивается после приема пищи, богатой белком. С другой стороны, безбелковая пища не смогла повысить концентрацию всех свободных аминокислот. Одновременно наблюдали взаимосвязь между величиной повышения уровня АК в плазме и количеством АК в пищевых белках. Следует отметить, что сложно установить точную взаимосвязь из-за сложности транспорта и метаболизма АК в тонком кишечнике и других тканях. Однако ясно, что аминокислоты, которые были в наибольшем и наименьшем количестве в пищевом белке, демонстрировали наибольшее и наименьшее увеличение в плазме, соответственно. При потреблении казеина концентрация

незаменимых АК в сыворотке крыс увеличивалась, тогда как концентрации заменимых АК уменьшались с увеличением концентрации казеина в рационе. Однако отношения между концентрациями отдельных АК в сыворотке крови и уровнями казеина в рационе были весьма разнообразными. Концентрация лейцина в крови растущих животных была значительно выше при использовании рациона с высоким содержанием белка, чем при использовании рациона с низким содержанием белка, а добавление лизина снижало концентрацию лейцина в крови при использовании обоих рационов [5, 8].

Как правило, после потребления богатой белком пищи изменения концентрации АК в плазме животных следуют простому правилу: концентрации АК в плазме увеличиваются после приема пищи, и величина увеличения пропорциональна уровням соответствующих аминокислот в рационе. Например, в случае некоторых АК, таких как лейцин, изолейцин или валин, обычно существует линейная зависимость между содержанием в пище и концентрацией в плазме. Пониженные концентрации аргинина и пролина в плазме новорожденных могут использоваться как индикаторы их низкого поступления из рациона [2, 3].

Эти простые корреляции, однако, не всегда верны, и концентрации большинства АК в плазме не связаны линейно с их потреблением с пищей и не параллельны им. На взаимосвязь между концентрациями АК в плазме и пище могут влиять взаимодействия или антагонизм между структурно родственными АК, конкурирующими за абсорбцию в кишечнике, поскольку они используют одни и те же переносчики. Сложные взаимодействия между АК могут изменить не только ожидаемое высвобождение АК из рациона в кровь, но также возможно, что избыток одной АК может действовать как конкурентный антагонист, уменьшая использование других АК [16].

Одним из классических примеров взаимодействия АК является антагонизм аргинина и лизина, фенилаланина и больших нейтральных аминокислот. При избытке аргинин препятствует усвоению лизина. Избыток лизина сам по себе повышал концентрацию лизина и гистидина в плазме, не изменяя концентрации других аминокислот. Когда пищевой лизин и аргинин добавлялись вместе, концентрации лизина и гистидина в плазме снижались по сравнению с ситуацией, когда лизин добавлялся отдельно, что связано с взаимодействием аргинин-лизин. Концентрация лизина в плазме снижалась из-за избытка аргинина у свиней, получавших высокий уровень (1,26%) лизина в рационе, но не у свиней, получавших более низкий уровень (1,03%) лизина в рационе. В то время как концентрации в плазме других незаменимых АК не были затронуты, концентрации треонина и метионина в плазме были снижены из-за избытка аргинина в обоих экспериментах. Тем не менее, добавление 0,8 % аргинина к основному рациону, содержащему 12 % сырого протеина (включая 0,7 % аргинина и 0,57 % лизина), не приводило к антагонизму между основными АК. У птиц избыток лизина в рационе отрицательно влияет на использование аргинина и увеличивает потребность цыплят в аргинине. Концентрация аргинина в сыворотке снижалась при более высоком уровне включения в пищу лизина. Добавление лизина к основному рациону приводило к существенному

повышению уровня лизина в плазме и его метаболита, α -аминоадипиновой кислоты. Уровни аргинина, орнитина и гистидина в плазме практически не изменились у свиней, которых кормили избытком лизина [16].

Когда в рационе недостаточно одной АК, добавление в пищу этой АК не всегда увеличивает концентрацию данной АК в плазме. Считается, что концентрация этой АК в плазме остается довольно низкой и постоянной до тех пор, пока не будет достигнута ее пищевая потребность. Показано, что быстрое и приблизительно линейное увеличение концентрации одной АК в плазме крови может быть достигнуто только при приеме более высокого или сверхоптимального уровня этой АК. Это может быть связано с тем, что ряд поступающих с пищей АК активно метаболизируется кишечной микрофлорой. Теоретически, когда в рационе не хватает одной АК, метаболическая потребность в этой АК не может быть удовлетворена. При постепенном увеличении уровня этой АК наступит стадия, когда концентрация в плазме этой АК начнет увеличиваться, а концентрации других АК снижаться (из-за увеличения скорости синтеза белка). Это следует рассматривать как оптимальный уровень использования этой АК. В принципе, каждая аминокислота должна иметь оптимальный уровень поступления с пищей. За пределами этого оптимального уровня плазменные концентрации многих, но не всех АК будут повышаться в плазме до определенного момента времени, когда весь избыток АК будет катаболизирован. Сравнение концентраций АК в плазме может помочь выяснить метаболические механизмы, касающиеся регуляции гомеостаза АК в плазме, использования нутриентов для сохранения гомеостаза, а также специфического процесса обмена белков и сопряженных азот-содержащих метаболитов. Информация о профиле АК в плазме, который регулируется поступлением одной или нескольких АК вместе, может быть полезной для прогнозирования общего состояния метаболизма в организме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шейбак, В.М. Аминокислоты и иммунная система / В.М. Шейбак, М.В. Горецкая – Москва: Пальмир, 2010. – 356 с.
2. Шейбак, В.М. Лейцин, изолейцин, валин: биохимические основы разработки новых лекарственных средств: монография / В. М. Шейбак. – Гродно : Гродненский государственный медицинский университет, 2014. – 242 с.
3. Abumrad, N.N. The physiologic and nutritional significance of plasma-free amino acid levels. / N.N. Abumrad, B. Miller // J Parenter Enteral Nutr. – 1983. № 7. – P. 163-170.
4. Amino acids change liver growth factors gene expression in malnourished rats. / Passos de Jesus R. [et al.] // Nutr Hosp. – 2010. – V. 25. – P. 382-387.
5. Amino acid nutrition in animals: protein synthesis and beyond. / G. Wu [et al.] // Annu Rev Anim Biosci. – 2014. – № 2. – P. 387-417.
6. Amino acid sensing and mTOR regulation: inside or out? / Goberdhan D.I., [et al.] // Biochem Soc Trans – 2009. V 37. – P. 248-252.

7. Bergen, W.G. Intestinal nitrogen recycling and utilization in health and disease. /W.G. Bergen, G. Wu //J Nutr. – 2009. – V. 139. – P. 821-825.
8. Brosnan, J.T. Interorgan amino acid transport and its regulation. / J.T. Brosnan // J. Nutr. – 2003. – V. 133. – P. 2068S-2072S.
9. Dietary L-leucine supplementation enhances intestinal development in suckling piglets. / Y.L. Sun [et al.] //Amino Acids. – 2015. – V. 47. – P. 1517-1525.
10. Effects of dietary lysine levels on plasma free amino acid profile in late-stage finishing pigs / N.T. Regmi [et al.] // SpringerPlus. – 2016. – № 5. – P. 888.
11. Endogenous synthesis of amino acids limits growth, lactation and reproduction of animals. / Y.Q. Hou [et al.] //Adv. Nutr. – 2016. – № 7. – P. 331-342.
12. Essential amino acids increase microRNA-499, -208b, and -23a and downregulate myostatin and myocyte enhancer factor 2C mRNA expression in human skeletal muscle. / Drummond M.J. [et al.] //J Nutr. – 2009. – V. 139. – P. 2279-2285.
13. Free amino acid concentrations in plasma, muscle, and liver as indirect measures of protein adequacy in growing chickens./Fernandez-Figares, I. [et al.] //Ani Sci. – 1997. – V. 64. – P. 529-539.
14. Glycine is a nutritionally essential amino acid for maximal growth of milk-fed young pigs. /W.W. Wang [et al.] //Amino Acids. – 2014. – V. 46. – P. 2037-2045.
15. Glycine pretreatment ameliorates liver injury after partial hepatectomy in the rat. /Benko T. [et al.] //J Invest Surg. – 2010. – V. 23. – P. 12-20.
16. Growth, carcass traits, and plasma amino acid concentrations of gilts fed low-protein diets supplemented with amino acids including histidine, isoleucine, and valine. / J.L. Figueroa [et al.] //J Anim Sci. – 2003. – V. 81. – P. 1529-1537.
17. Hou, Y. Nutritionally nonessential amino acids: a misnomer in nutritional sciences. / Y. Hou, G. Wu //Adv Nutr. – 2017. – № 8. – P. 137-139.
18. Van Meijl, L.E.C. Amino acids stimulate Akt phosphorylation, and reduce IL-8 production and NF-KB activity in HepG2 liver cells./ L.E.C. Van Meijl, H.E. Popeijus, R.P. Mensink // Mol Nutr Food Res. – 2010. –V. 54. – P. 1-6.
19. Yoder, P.S. Effects of varying extracellular amino acid profile on intracellular free amino acid concentrations and cell signaling in primary mammary epithelial cells./ P.S. Yoder, T. Ruiz-Cortes, M.D. Hanigan//J Dairy Sci. – 2019. – V. 102, № 10. – P. 8977-8985.

ПЛАЦЕНТАРНЫЙ СЕРОТОНИН И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ В ПОСТНАТАЛЬНОЙ АДАПТАЦИИ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

Шейбак Л.Н.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Достижения неонатальной медицины, стремительно развивающейся в нашей стране, привели к значительному повышению выживаемости недоношенных детей. При этом, у преждевременно родившихся младенцев

наблюдается повышенный риск развития общесоматических расстройств, как в неонатальном периоде, так и отдаленном катамнезе.

В экспериментальных работах показано, что обмен серотонина во внутриутробном и раннем постнатальном периоде влияет на формирование и дальнейшее развитие структур центральной нервной системы [2,4,5]. В эмбриональный период онтогенеза серотонинергические нейроны контролируют процессы развития нервной ткани.

Целый ряд клинических и экспериментальных данных доказывает важную роль серотонина в патогенезе цереброваскулярных заболеваний. Значительная роль в этом принадлежит его способности вызывать вазоконстрикцию и, соответственно, нарушение мозгового кровообращения. В эксперименте на крысах получено повышение кровяного давления при интравентрикулярной инъекции даже небольших доз серотонина [3].

Активность триптофан-гидроксилазы, фермента, контролирующего синтез серотонина, постепенно увеличивается в гипоталамусе человека с 5 недели внутриутробной жизни. В тоже время, снижение содержания серотонина может быть связано с истощением его запасов из-за участия в различных патологических реакциях. Имеет значение повышенная инактивация, уменьшение синтеза в условиях нарушения метаболических процессов, а также снижение функции регуляторных структур головного мозга [1, 2, 5].

Преждевременно родившиеся дети гораздо чаще испытывают гипоксию при рождении, по сравнению с новорожденными, родившимися в срок. Серотонин через гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось может непосредственно влиять на сосуды мозга, вызывая их спазм. В этом случае, нарушая кровообращение в микроциркуляторном русле, серотонин усугубляет гипоксию и ишемию головного мозга [3, 4].

Доказано влияние серотонина на рефлекторную деятельность центральной нервной системы. Так, установлено, что при дополнительном его введении наблюдается первоначально усиление, а затем торможение спинальных рефлексов. При этом, конечный эффект воздействия серотонина может зависеть от его количества и места приложения [1, 4]. Установлено, что небольшие дозы серотонина усиливают двигательную активность, возбуждение, повышают чувствительность к внешним раздражителям. В тоже время дальнейшее увеличение содержания серотонина в клетках мозга вызывает вялость, торможение, нарушение выработки условных рефлексов [2, 4].

Серотонин имеет ключевое значение в регуляции деятельности желудочно-кишечного тракта. Он повышает чувствительность нейрорецепторов висцерального отдела нервной системы и аналогичных рецепторов центральной нервной системы, при этом действуя на гладкую мускулатуру пищеварительной трубки значительно сильнее многих других биогенных аминов. Дофамин и серотонин играют значительную роль в возникновении акта рвоты. На этом основано патогенетическое лечение

данного синдрома, включающее применение блокаторов серотониновых и дофаминовых рецепторов[2,4].

Максимальное содержание серотонина в сыворотке крови у здоровых доношенных новорожденных детей наблюдается к концу первого месяца жизни, что отражает наиболее интенсивные процессы нейроонтогенеза в этот возрастной период. Аналогичная возрастная динамика выявлена у доношенных и недоношенных детей с гипоксически-ишемическим поражением центральной нервной системы. Выявлено, что в раннем неонатальном периоде содержание серотонина в сыворотке крови доношенных новорожденных детей с синдромом повышенной нейрорефлекторной активности выше, чем с синдромом угнетения. У недоношенных детей выявлена аналогичная тенденция, что отражает участие серотонина в процессах созревания и стабилизации нервной системы.

Проведенное нами исследование содержания серотонина (5-НТ), а также его предшественника (5-НТР) и метаболита (5-НІАА), в сыворотке пуповинной крови 65 недоношенных новорожденных детей выявило достоверно более низкие показатели, по сравнению со значениями, полученными у 24 доношенных младенцев (18,4 нмоль/л против 122,9 нмоль/л, $p=0,000001$). При этом, также достоверно меньше содержалось 5-НТР у недоношенных детей и составило 7,13 нмоль/л (у доношенных новорожденных – 25,75 нмоль/л, $p=0,000001$). Соответственно, наблюдалась тенденция к снижению в содержании конечного метаболита серотонина - 5-НІАА у них 74,65 нмоль/л (у доношенных – 109,5 нмоль/л, $p=0,27$). Определение серотонина, его предшественников и метаболита, проводилось методом ВЭЖХ с детектированием по флуоресценции.

При этом, нами не обнаружено достоверных различий в содержании триптофана, по сравнению с доношенными новорожденными ($p=0,07$). Интенсивность образования и катаболизма серотонина у недоношенных новорожденных детей снижена, на что указывают соотношения 5-НТР/5-НТ (0,28 у недоношенных и 0,19 у доношенных, $p=0,013$) и 5-НТ/5-НІАА (0,39 у недоношенных и 1,36 у доношенных, $p=0,00024$).

Таким образом, у детей, родившихся преждевременно, имеет место снижение стартовых значений и скорости метаболизма серотонина (на основе анализа содержания серотонина в сыворотке пуповинной крови). Выявленное снижение показателей серотонинового обмена у недоношенных детей может быть защитной реакцией на преждевременное рождение. Однако адаптация к рождению и в первые дни жизни может быть у них нарушена, вплоть до значительных общесоматических расстройств, которые могут оказать негативное влияние на дальнейшее развитие детей.

Учитывая то, что проблема выхаживания недоношенных детей на современном этапе не является решенной и часто сопровождается тяжелыми осложнениями в постнеонатальный период, необходимо разрабатывать способы коррекции нарушений метаболизма данного биологически активного вещества.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шейбак Л.Н., Каткова Е.В. Серотонин и его производные в сыворотке пуповинной крови недоношенных новорожденных детей. // Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 2010. - №4. - С.27-30.
2. Brummelte S., Glanaghy E. M., Bonnin A., Oberlander T. F. Development alchanges in serotonin signaling:implications for early brain function, behavior and adaptation // Neuroscience – 2017. – V. 7, N 342. – P.212-231.
3. De Wardener H. E. The hypothalamus and hypertension // Physiol Rev. – 2001. V. 81, N 4. – P. 1599-658.
4. Spencer H.G., Pleasants A.B., Gluckman P.D., Wake G.C. A model of optimal timing for a predictive adaptive response // J. Dev. Orig. Heath Dis. – 2022. – V.13. – P. 101-107.
5. Staal L., Plösch T., Kallak T.K. et al. Specific transcriptomic changes in the villous tissue of placentas of pregnant women using a selective serotonin reuptake inhibitor // ACS ChemNeurosci. – 2024.– V. 15, № 6. – P. 1074-1083.

СОСТОЯНИЕ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ ЖЕЛЕЗОМ И ЕГО ВЗАИМОСВЯЗИ С ФУНКЦИОНАЛЬНО СВЯЗАННЫМИ МИКРОЭЛЕМЕНТАМИ В КРОВООБРАЩЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ.

**Мотылевич Ж.В.¹, Дешко М.С.², Дешко Т.А.², Титко О.В.¹,
Снежицкий В.А.², Мойсеенок А.Г.¹**

¹Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие
«Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси»

²УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь

Актуальность работы. Современные представления о метаболических механизмах развития хронической сердечной недостаточности (ХСН) концентрируются на снижении митохондриального окислительного фосфорилирования, доступности энергоемких субстратов и увеличении окислительного повреждения в кардиомиоцитах.

Предупреждение этих патохимических сдвигов, обеспечение адекватной продукции АТФ при окислении жирных кислот, глюкозы, кетонов возможно при оптимальном поступлении и интегрировании в протеом миокарда незаменимых (эссенциальных) факторов питания, таких как тиамин (витамин В1), рибофлавин (витамин В2), никотиновая кислота (витамин В3), пантотеновая кислота (Витамин В5), биотин (витамин Н или витамин В7), пиридоксин (витамин (В6), кобаламин (витамин В12), убихинон (кофермент Q) и ряда микроэлементов, прежде всего Fe,Cu,Zn,Se.

Если в отношении витаминных факторов при ХСН существует обширный банк данных, в том числе результаты крупных эпидемиологических наблюдений, свидетельствующих о снижении качества жизни и увеличении

числа неблагоприятных исходов у пациентов, то микроэлементарный статус и его патофизиологическое значение в развитии сердечной недостаточности целенаправленно изучаются только в самое последнее время [1,2,3].

Новые представления о роли микроэлементов в энергопродуцирующей функции митохондрий связаны с открытием и детальным изучением железосерных кластеров (Fe/S), обеспечивающих функционирование электронно-транспортной цепи митохондрий (комплексы I-IV) и биосинтез гема (комплексы II-IV).

Это объясняет ранее известные факты о снижении активности митохондриальных комплексов I и III у пациентов с ХСН и оставляет открытым вопрос о стабильности гемсодержащих комплексов.

Выявление ассоциации показателей, характеризующих статус железа, и функционально связанных с ним микроэлементов (Cu, Zn, Mn, Mo, Se) в кровообращении пациентов с хронической сердечной недостаточностью позволило бы внести значительный вклад в современные представления о метаболических механизмах развития хронической сердечной недостаточности.

Общепринято, что митохондрии играют ключевую роль в метаболизме железа, которое за счет окислительно-восстановительных превращений ($\text{Fe}^{2+} \leftrightarrow \text{Fe}^{3+}$) непосредственно или в форме железосодержащих белков является кофактором важнейшего физиологического процесса-транспорта и депонирования кислорода, репликации и восстановления ДНК, метаболизма липидсодержащих структур и хроматина. Дефицит железа (ЖД) отрицательно сказывается на митохондриальной функции и структуре кардиомиоцитов, на его фоне возрастает свободно-радикальное окисление.

У большинства пациентов с ХСН существует скрытый или манифестирующий дефицит железа, но только у части пациентов совпадающий с железodefицитной анемией [10]. Пациенты с ХСН и ЖД имеют отягощенную симптоматику, сниженное качество жизни и прогноз, включая смертность, вне зависимости от величины фракции выброса левого желудочка. ЖД часто встречается у пациентов с ХСН с фракцией выброса левого желудочка $> 40\%$, в особенности у пациентов с выраженной диастолической дисфункцией, что ассоциировалось с низкой толерантностью к физической нагрузке и ухудшением качества жизни.

Стратегия предупреждения и коррекции ДФ наталкивается на серьезные препятствия, такие как ограничение всасывания микроэлемента в желудочно-кишечном тракте, его потенциальную токсичность при превышении адекватного поступления и сложный иерархический механизм синтеза железосодержащих белков и контролирования генов, кодирующих гомеостаз Fe в организме. Ключевым регулятором выступает гормон пептидной природы гепсидин, контролирующий уровень железа в кровообращении, его метаболизм в энтероцитах и макрофагах. Синтез гепсидина осуществляется в печени, а действие реализуется через рецептор ферропортин (FPN), что приводит к блокированию выведения Fe или индуцированию процесса деградации белка-экспортера. Повышение экспрессии FPN в клетках-экспортерах железа

(энтероциты, макрофаги), сопровождаемое низким уровнем гепсидина вследствие дефицита микроэлемента, что приводит к усилению абсорбции и увеличению высвобождения из макрофагов в плазму крови. Процесс транскрипции гепсидина подвержен воздействию сигнального пути морфогенного белка костей (BMP)-SMAD. Фактически уровень гепсидина определяет доступность микроэлемента к железосодержащим белкам миокарда [5].

Исследование уровня гепсидина в сыворотке крови пациентов чрезвычайно важно при дифференциальной диагностике редких форм генетических нарушений в метаболизме железа, разграничения абсолютного и функционального дефицита железа (например, при системном воспалении), а также для определения схем дозировки назначения препаратов железа для коррекции ЖД. Исследования роли оси «гепсидин – ферропортин» у кардиологических пациентов находятся в ранней стадии, при этом остается в стороне малоизученное направление оценки взаимодействия митохондриального статуса железа и возможности развития его дефицита и (или) анемического синдрома в зависимости от биогенеза белков, содержащих другие микроэлементы, например, Zn и Cu. Cu-содержащие белки (т.н. «купроферменты») выполняют множественные функции, являясь регуляторами транскрипции, шаперонами и оксидоредуктазами, антиоксидантами и модуляторами иммунной функции [5, 13], что отражается накоплении меди в организме до 120 мг. Cu-содержащие белки способны дестабилизировать кластеры Fe/S [11], что может иметь важнейшее значение при нарушении энергопродукции миокарда. Необходимо отметить, что значительное количество людей (6-15%) потребляют медь в количествах, ниже рекомендуемых, но дефицит достаточно редок. Биохимические исследования указывают на связь дефицита Cu с NO-опосредованным стрессом и риском окислительного повреждения кардиомиоцитов. Общепринято, что у пациентов с ХСН наблюдается повышение уровня меди в кровообращении, что находится в прямой связи с частотой госпитализации и смертностью, прежде всего со степенью сердечной недостаточности [1,3,2,10]. Cu-содержащий белок сыворотки крови – церулоплазмин, как правило, увеличен, что влечет за собой нарушение гомеостаза самой меди, гомеостаза железа, гемостаза, ангиогенеза и системы антиоксидантной защиты [14].

Церулоплазмин катализирует окисление Fe^{2+} в Fe^{3+} , т.е. является феррооксидазой, что обеспечивает включение окисленного железа в трансферрин и фактически является антиоксидантным фактором в Fe-опосредованном свободно-радикальном окислении. Одним из предположений последствий гиперкупронемии при ХСН является возможный отток микроэлементов из миокарда. Другое предположение связывает этот эффект с наличием (суб) клинического воспаления и стрессорного состояния с высокой частотой сопровождающих ХСН.

Реальных наблюдений эффективности применения препаратов Cu у кардиологических пациентов в доступной литературе не обнаружено, что представляется не понятным, т.к. в структуру цитохромоксидазы (комплекс

IV электрон-транспортной цепи митохондрий) входят железосодержащий гем и атомизированная медь. Индуцирование субъединицы комплекса IV происходит при гипоксии и зависит от соотношения АТФ/АДФ. Субъединицы цитохром-с-оксидазы детально изучены и демонстрируют функциональную взаимосвязь микроэлементов на белках COX 1, а именно первой и второй субъединиц гема а, а₃.

Биогенез комплекса IV осуществляется с участием более 20 закодированных в ядре факторов белковой и небелковой природы, содержащих гемы а, а₃ и атом Cu. На мутантных и трансгенных моделях выявлен дефицит транспорта меди, приводящий к нарушению функции комплекса IV и развитию кардиомиопатии.

Исследования самого последнего времени связывают высокий уровень Cu в крови пациентов с сердечной недостаточностью с возникновением перегрузки митохондрий миокарда медью, блокадой процесса липоилирования ферментов ЦТК и возникновением купроптоза, аналогичного процессам апоптоза или ферроптоза кардиомиоцитов. Феномен купроптоза связывают с воздействием Cu⁺ на Fe/S-содержащие белки ферредоксины (FOX1)–подвижные белки митохондрий, преимущественно 2Fe-2S и 4Fe-4S [4,6,8].

На основании молекулярно-физиологических и клинических данных сложилось представление о существовании определенной иерархии взаимосвязи цинка и железа, вытекающей из множественного симбиоза металлосодержащих белков [10,12].

Физиологическая роль Zn связывается с ростом, размножением, функционированием антиоксидантной и иммунной системы, реализуемыми более чем 300 ферментными белками. Металлопептидаза – ангиотензин превращающий фермент (АПФ) содержит в каталитическом домене Zn. Другие Zn-зависимые протеазы ограничивают и модулируют функцию ангиотензина, что определяет исключительную роль гомеостаза данного микроэлемента. Клинические наблюдения указывают, что ингибиторы АПФ, блокаторы рецептора ангиотензина II и тиазидные диуретики снижают концентрацию Zn в сыворотке крови [12].

Митохондриальная функция, стабилизируемая пероксиредоксином и металлоферментами, например Cu/Zn – супероксиддисмутазой (СОД), особенно подвержена воздействию АФК. Стабилизирующая роль Zn может быть дополнена участием в митохондриальных протеазах (например, митопроteaseй YME1L1), ответственных за биогенез белков, реакции на стресс, динамику митохондрий, митофагию и апоптоз [7]. Патохимические последствия внутримитохондриального дисбаланса Zn не установлены, но известно, что на фоне системного воспаления дефицит Zn потенцирует апоптоз и некроз кардиомиоцитов. Подтверждено участие Zn в регуляции нескольких сигнальных путей (mTOR, ERK, GSK-3β), что практически воплощается в цинк-индуцируемое ингибирование митохондриальной поры проницаемости (mPTP), предотвращающей реперфузионное повреждение [6].

Доклинические исследования прямо указывают на протекцию цинком потери систолической функции и улучшение диастолической при ишемически-

реперфузионном повреждении [6, 14]. Описан эффект Zn, как антиоксиданта, за счет повышения активности Zn-содержащего белка металлотионеина, что моделирует метаболизм микроэлемента в миокарде. Различные варианты моделирования кардиомиопатии демонстрируют защитную роль цинка [1,14].

Предполагается, что дефицит Zn у пациентов с ХСН обусловлен снижением его абсорбции и/или повышенной экскрецией вследствие нейрогормональной активации. Распространенность дефицита Zn (ЦД) и его особенности при различных формах и течении ХСН исследованы недостаточно. Проспективное обсервационное исследование на более чем 1000 пациентов с декомпенсацией СН указывает на падение уровня цинка в сыворотке крови менее 75 мкг/дл (при референтной величине в диапазоне 75-140 мкг/дл) у 66 % обследованных. Эти пациенты ассоциировались с более высокой сердечно-сосудистой смертностью и смертностью от всех причин [7,9]. Отдельные наблюдения указывают на глубину ЦД при усугублении класса болезни (NYHA), в пожилом возрасте и при применении ингибиторов АПФ/БРА, а так же при гипонатриемии, ЖД, системном воспалении, снижении толерантности к физической нагрузке.

Применение комплекса Zn и Se внутривенно у пациентов с кардиомиопатией повышало содержание Zn в сыворотке крови и миокарде на фоне клинического улучшения. Нутрициологические исследования указывают на сочетанный дефицит Zn и Fe. Единичные наблюдения указывают на вероятную роль дефицита Zn в развитии кардиомиопатии [10].

Кластерный анализ 1760 белков протеома человека, участвующих в гомеостазе железа показал структурную близость (в протеоме) нескольких кофакторов, обеспечивающих функциональную емкость этого микроэлемента: Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , аскорбат. Близко ассоциированными элементами представляются Mg^{2+} , Co^{2+} . Это в равной степени относится как к метаболизму гема, так и к Fe/S кластерам (2Fe/2S, 4Fe/4S). Кластерный анализ на основе публикаций PUBMED по запросу “*heart failure*” обнаруживает (2019 г.) 219000 статей, в том числе 3728 ссылок, содержащих оценку микроэлементного статуса. Выявление 57 ключевых слов по взаимосвязи микроэлементного статуса с ХСН позволяет определить 3 направления исследований:

- 1.Магний, электролиты и ХСН.
- 2.Zn,Cu,Se- транскрипционные и антиоксидантные эффекты.
- 3.Железодефицитная анемия.

Вероятно, ключевым направлением исследований статуса микроэлементов при ХСН должно стать объединение направлений 2 и 3 с целенаправленной оценкой их роли в энергетическом метаболизме миокарда, а именно, их значимости в обеспечении процессов превращения субстратов в ЦТК и окислительном. Независимо от этиологии ХСН митохондриальная дисфункция широко распространена и затрагивает помимо энергетической функции окислительный стресс, регуляцию кальциевого гомеостаза и механизмы воспалительного (иммуно-опосредованного) повреждения.

Это особенно отчетливо демонстрируется на взаимосвязи превращения Fe^{2+} в Fe^{3+} и Cu^{2+} - Cu^{+} , интегрированных в митохондриях Fe-S- содержащими

ферредоксинами, ассоциированными с процессами Cu-опосредованной гибелью (купроптоз) кардиомиоцитов или нарушением в них ключевой реакции липоилирования белков ЦТК. Косвенно сопряженность внутриклеточного метаболизма Fe^{2+} и Cu^{2+} реализуется через Cu-содержащие белки оксидоредуктазы (лизилоксидазу), стабилизирующую клеточный матрикс или СОД,- важнейший фермент антиоксидантной защиты. Указанный выше купроптоз рассматривается как таргетная технология коррекции метаболических нарушений при ХСН [3,10].

С физиологической точки зрения доминирующим является содружество элементов в газообмене (O_2/CO_2) и стабилизации pH крови. Транспортная роль железо-содержащего белка-гемоглобина и функция гема относятся к фундаментальным процессам гемостаза: удаление CO_2 осуществляется посредством цинк-содержащих металлоферментов-карбоангидраз, продукт которых стабилизирует карбонатный буфер.

Субстрат, угольная кислота, фактически рассматривается как депо углекислоты – продукта клеточного дыхания. Получены противоречивые данные о сочетанном приеме Zn и Fe, выявившие значимость их физиологического соотношения (1:2) при поступлении в организм и нежелательность такого приема. Однако несомненен факт синергизма Zn и Fe в коррекции метаболического ответа на гипоксию, реализуемого через Fe, Zn-содержащий белок энгил1(модифицирующий HiF1) и гистондеметилазу 1A (активируемую HiF1). Вероятно, не менее существенной является «содружественность» элементов в NO-синтазе, гемсодержащем ферменте, а ион цинка – доказанным стабилизатором структуры фермента (т.е. шапероном).

Конкурентные отношения двух элементов рассматриваются на уровне транспорта и всасывания кровью. Это объясняет торможение абсорбции цинка избытком железа и наоборот. Кластерный анализ ассоциации кофакторов с функцией железосодержащих белков показывает высокую вероятность взаимодействия с ионами Mn^{2+} и молибдоптеринном.

Марганец – эссенциальный микроэлемент с ограниченной (как и Fe), биодоступностью. Его всасывание осуществляется транспортными белками, в т. ч. ферропортином (MTP1), с суточной потребностью 2,5–5,0 мг. Биохимические функции Mn реализуются посредством Mn-СОД и Mn-зависимых эндонуклеаз (регуляция апоптоза). Являясь индустриально опасным агентом, марганец и его производные способны кумулироваться в миокарде, вызывая нарушения ритма и кардиомиопатию. В экспериментах обнаружена способность Mn активировать NO-синтазу, что не выявлено для Fe, Co, Cu, Zn. Однако интоксикация Mn вызывает накопление Fe в тканях и Fe-индуцированное ПОЛ.

Совершенно новым направлением в биоэлементологии является изучение биохимических функций белков, содержащих молибден.

К настоящему времени известно, что существует обширный класс, представляющий группу ферментов, катализирующих метаболизм сульфитов, ксантина и обладающих гидроксилазной активностью. Их функция тесно сопряжена с инкорпорацией серы в железосерные кластеры,

внутримитохондриальный метаболизм серы и железа, осуществление процесса переноса электронов. Особое внимание привлекает молебдоптерин в составе ксантиноксидазы, содержащей Fe/S и катализирующей образование мочевой кислоты. Роль этого соединения, как антиоксидантного фактора, достаточно хорошо изучена и используется в таргетной терапии кардиологических пациентов. Предполагается существование антогонистических отношений меди и молибдена в механизмах всасывания и транспорта, что возможно проявляется в несбалансированном парентеральном питании пациентов.

Обстоятельное проспективное исследование связи риска смертности и сердечно-сосудистой патологии в одном из регионов Китая указывает высокую положительную корреляцию уровня Cu, Mo, V (ванадия) в плазме крови и смертности от всех причин и отрицательную для уровня Mn, Se, T (таллий).

В случае смертности от сердечно-сосудистых заболеваний положительная связь выявлена для Cu, Mo, V и отрицательная для селена и таллия.

Таким образом, прослеживается необходимость изучения множественного спектра микроэлементов и их соотношения в плазме крови пациентов с сердечно-сосудистой патологией, рассматривая эти показатели как ключевые детерминанты и предикторы смертности от всех причин сердечно-сосудистой патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дубовая, А.В. Эссенциальные и условно эссенциальные биоэлементы у детей с нарушением ритма сердца / А.В. Дубовая // ЭНИ Забайкальский медицинский вестник. – 2017. – № 1. – С. 35-43.
2. Особенности содержания макро- и микроэлементов при заболеваниях сердечно-сосудистой системы / Н.В. Нагорная [и др.] // Здоровье ребенка. – 2012. – Т. 39, № 4. – С. 129-135.
3. Систематический анализ ролей микроэлементов в профилактике и терапии хронической сердечной недостаточности / О.А. Громова [и др.] // Кардиология. – 2019. – Т. 59, №6. – С. 26-34.
4. Camaschella, C. Iron deficiency / C. Camaschella // Blood. – 2019. – Vol. 133, iss. 1. – P. 30-39.
5. Camaschella, C. Iron metabolism and iron disorders revisited in the hepcidin era / C. Camaschella, A. Noi, L. Silvestri // Hematologica. – 2020. – Vol. 105, № 2. – P. 260-272.
6. Deschamps, A.M. Pathways of matrix metalloproteinase induction in heart failure: Bioactive molecules and transcriptional regulation / A. M. Deschamps, F. G. Spinale // Cardiovascular Research. – 2006. – Vol. 69. – P. 666-678.
7. Liu, P. Matrix metalloproteinases in cardiovascular disease/ P. Liu, M. Sun, S. Sader // Can. J. Cardiol. – 2006. – Vol. 22. – Suppl: 25B-30B.
8. Marked Evaluation of miocardial trace elements in idiopathic dilated cardiomyopathy compared with secondary cardiac disfunction / A. Frustaci [et al.] // Journal of the American College of Cardiology. – 1999. – Vol. 33, iss. 6. – P. 1578-1583.

9. Metalloproteinases and hypertrophic cardiomyopathy: a systematic review/ G. F. Serraino [et al.] // *Biomolecules* . –2023. –Vol. 13, iss.4. – P. 1-15.
10. Nishito, Y. Absorption Mechanisms of Iron, Copper, and Zinc: An Overview/ Y. Nishito, T. Kambe // *J.Nutr.Sci.Vitaminol.* –2018. – Vol. 64, iss. 1. – P. 1-7.
11. The molecular mechanisms of defective copper metabolism in diabetic cardiomyopathy / X. Cui [et al.] // *Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2022. – Vol. 2022 . – P.1-16.
12. Trace elements in diabetic cardiomyopathy: An electrophysiological overview / N. Ozturk, Y. Olgar, S. Ozdemir // *World J.Diabetes* . – 2013. – Vol. 4, iss. 4. – P. 92-100.
13. Yan, Hua-Jing. Cuproptosis, the novel therapeutic mechanism for heart failure: a narrative review / Hua-Jing Yan, Yi-Tao Xue, Yang Liu // *Cardiovascular Diagnosis and Therapy*. – 2022. –Vol. 12, №5. – P. 681-707.
14. Yan L. An emerging role of defective copper metabolism in heart disease / Yan Liu, Ji Miao // *Nutrients*. – 2022. – Vol. 14, № 700. – P. 2-21.

ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ КОМПОЗИЦИИ L- ГЛУТАМИНА, L-АРГИНИНА, ЦИНКА И МАГНИЯ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ КАРДИОТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Бадун Е.Г., Шуриберко А.В., Разводовский Ю.Е.

*ГП «Институт биохимии биологически активных соединений
НАН Беларуси», Гродно, Республика Беларусь*

Введение. Метаболическая коррекция последствий хронической алкогольной интоксикации является важной составляющей терапевтического процесса. В настоящее время особое внимание уделяется поиску средств с потенциальной антиалкогольной активностью среди биологически активных веществ и естественных метаболитов (аминокислоты, жирные кислоты, витамины, комплексы макро- и микроэлементов) [5]. Результаты экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют о целесообразности использования комплексов аминокислот с микроэлементами в качестве препаратов метаболической коррекции последствий алкогольной интоксикации [3]. Актуальной задачей дальнейших исследований является разработка препаратов на основе аминокислот и микроэлементов, обладающих способностью корригировать кардиотоксические эффекты алкогольной интоксикации.

Целью работы является обобщение и систематизирование данных о композиции L- глутамина, L-аргинина, ионов цинка и магния, механизмах защитного действия, а также обоснование использования композиции в качестве корригирующей терапии при алкогольном поражении сердца.

Материалы и методы. Проведен анализ 20 литературных источников, посвященных экспериментальному и клиническому исследованию L- глутамина, L-аргинина, сульфата цинка и сульфата магния, 15 из которых содержатся в библиографической базе данных научной медицинской информации PubMed.

Основная часть. Аминокислотный и биоэлементный дисбаланс, сопутствующий алкогольной интоксикации, обусловлен недостаточным поступлением с пищей, ухудшением всасывания, а также чрезмерным выведением. Актуальной задачей является разработка и исследование композиций аминокислот с макро- и микроэлементами, предназначенных для коррекции последствий алкогольной интоксикации. Алкогольная интоксикация сопровождается нарушением гомеостаза глутамина, аргинина, цинка и магния. Применение композиции L- глутамина, L-аргинина, сульфата цинка и сульфата магния на фоне алкогольной интоксикации предупреждает развитие окислительного стресса и восстанавливает минеральный гомеостаз в крови и сердце.

L-Глутамин является наиболее распространенной и универсальной аминокислотой в организме, имеет фундаментальное значение для промежуточного метаболизма и обмена азота. Глутамин играет важную роль в функционировании сердца и в качестве источника энергии. При остром инфаркте миокарда способен регулировать метаболизм эндотелиального оксида азота в сердце и как следствие улучшить функцию сердца. Также сообщалось, что L-глутамин оказывает защитное действие, основанное на активации системы антиоксидантной защиты миокарда, от окислительного стресса, повреждения белков, ДНК и липидов [18].

Хронические и/или чрезмерные изменения окислительно-восстановительного баланса играют важную роль при таких заболеваниях как рак, сердечно-сосудистые заболевания, диабет, сепсис и общие инфекции. При вирусных инфекциях, происходит изменение внутриклеточного окислительно-восстановительного статуса, и все клеточные компартменты становятся уязвимыми для окислительного стресса [7]. При этом глутамин становится более важным в определении прогноза здоровья/восстановления, поскольку низкая доступность глутамина приводит к низкой антиоксидантной защите через путь глутамин-глутатион. В экспериментальных исследованиях выявлено, что при высоком катаболизме низкая концентрация глутамина в плазме является независимым фактором риска смертности [12].

Употребление этанола значительно нарушает всасывание глутамина [10]. Исследования продемонстрировали значительно более низкие уровни глутамина у активно пьющих. Нарушение метаболитных глутаматных рецепторов при воздействии этанола, может вызвать развитие алкогольной зависимости. Синтез эндогенного глутамина не обеспечивает потребности организма при таких состояниях как инфекции, операции, продолжительные и интенсивные физические нагрузки, алкогольные интоксикации [9].

L-Аргинин является условно незаменимой аминокислотой и предшественником синтеза оксида азота (NO). Основные эффекты L-аргинина

на сосудистую систему преимущественно опосредованы NO [11]. Однако он может влиять и на сердечно-сосудистую систему независимо от NO и посредством антигипертензивных и антиоксидантных свойств, снижая вязкость крови, ингибируя активность ангиотензинпревращающего фермента, а также влияя на метаболизм макронутриентов [8]. В критических условиях (стресс, травмы, желудочно-кишечные расстройства и др.) отмечается недостаточный уровень синтеза аргинина. В исследовании W. A. Saka с соавторами в 2021 году, показано, что L -аргинин восстанавливает структурную целостность и функции печени и почек, подавляя накопление мочевой кислоты и продуктов перекисного окисления липидов, а также усиливает активность ферментов антиоксидантной системы [16].

В ряде публикаций показано, что повышение уровня мочевой кислоты в крови является предиктором сердечно-сосудистых заболеваний [6; 19]. При этом мочевая кислота блокирует опосредованное инсулином и фактором роста эндотелия сосудов высвобождение эндотелиальной синтазы оксида азота, блокирует поглощение и стимулирует деградацию L-аргинина (является предшественником синтеза оксида азота) [19].

Цинк – второй по распространенности минерал в организме человека, является компонентом более чем 300 различных ферментов и входит в состав более 2500 различных белков, что эквивалентно 10% всего протеома человека. Нарушение равновесия ионов цинка приводит к снижению каталитических функций ферментов, изменениям в механизмах регуляции генов (белки «цинкового пальца»), сдвигу свободнорадикальных процессов в сторону образования радикалов. Цинк также защищает клетки от окислительного стресса за счет увеличения биосинтеза глутатиона, который отвечает за поддержание окислительно-восстановительного состояния клеток. Дефицит цинка создает среду, в которой организм не может защититься от накопления окислительного повреждения, что вызывает эндотелиальную дисфункцию и атипичные изменения в гладкомышечных клетках сосудов, способствуя размножению и миграции этих клеток при атеросклеротических поражениях [17; 20].

Недостаток цинка наблюдается примерно у 30-50% злоупотребляющих алкоголем, что связано с дефицитом питания и заболеваниями печени, обусловленных алкоголем. Хроническое употребление этанола в больших количествах более чем на 25% снижает концентрацию цинка в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой пациентов [13].

Большая часть исследований оценки влияния добавок Zn^{2+} была сосредоточена на форме $ZnSO_4$ – сульфат цинка, что объясняется дешевизной, доступностью и простотой транспортировки [17; 20]. Следует отметить, что сейчас имеются формы Zn^{2+} (пиколинат цинка, цитрат цинка, глицерат цинка), с лучшим процентом усвоения: около 61%. В исследовании F. F. Liu с соавторами в 2021, показано, что добавление Zn-метионин в корм и раствор $ZnSO_4$ в питьевой воде были более эффективными в отношении накопления цинка в тощей кишке и активности ферментов в тощей и подвздошной кишке [20].

Магний – один из важнейших биогенных макроэлементов, является универсальным регулятором обменных процессов в организме. При помощи

многочисленных магний-зависимых химических реакций происходит энергетический (комплексирование с АТФ и активация АТФ-аз, окислительное фосфорилирование, гликолиз), пластический (синтез белка, липидов, нуклеиновых кислот), электролитный обмены. Наибольшее количество магния содержится в тканях с самыми интенсивными обменными процессами (мышцы, нервная ткань). Более 30% клеточного магния находится в митохондриях [4], что влияет на работу ЦТК (оксоглутаратдегидрогеназа), гликолиза (гексокиназа, фосфофруктокиназа, пируваткиназа) и ЭТЦ (активатор V митохондриального комплекса). Таким образом, дисбаланс магния в митохондриях приводит к снижению образования АТФ, нарушению потенциала митохондриальной мембраны и увеличению окислительного стресса. Совместное использование магния и цинка у пациентов, страдающих ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа, снижает уровень глюкозы, инсулина, С-активного белка, а также увеличивает антиоксидантную способность [14].

Почти треть хронических алкоголиков имеют гипомagneмию. По другим данным риск развития гипомagneмии среди людей, чрезмерно употребляющих алкоголь, колеблется от 30% до 80%. Дефицит приводит к изменениям в функционировании клеточных мембран и вызывает расстройства нервной и сердечной систем, а также неадекватное функционирование мышц [15].

Исследование препарата «Галерин», имеющего в составе таурин, лейцин, рибофлавин, сульфат цинка и сульфат магния на фоне субхронической алкогольной интоксикации, выявило рост уровней триптофана, аргинина и аланина, влияние на уровни аминокислот с разветвленной углеводородной цепью, повышая соотношение их уровней к содержанию ароматических аминокислот, а также усиление катаболизма серосодержащих аминокислот в сердце [3].

Корригирующее действие композиции аминокислот с цинком и магнием при пятисуточной алкогольной интоксикации

Введение композиции на фоне пятисуточной алкогольной интоксикации способствует нормализации активности ферментов сердца, нивелирует дисфункцию митохондриальных систем и восстанавливает корреляционную связь железа с марганцем до уровня контрольных значений [2]. Использование композиции предупреждает развитие окислительного повреждения, дисбаланс химических элементов в митохондриях сердца, снижает количество цитохрома P450 2E1, при этом увеличивая экспрессию MT-2, ZnT1 и ZIP14 в ткани сердца.

Корригирующее действие композиции аминокислот с цинком и магнием при субхронической алкогольной интоксикации

Прием композиции аминокислот с цинком и магнием на фоне субхронической алкогольной интоксикации способствует нормализации активности ферментов тканей сердца и печени, оказывает мембраностабилизирующий эффект за счет нивелирования нарушений биоэнергетических функций митохондрий кардиомиоцита и восстанавливает корреляционную связь цинка с селеном до уровня контрольных значений.

Применение аминокислот с цинком и магнием на фоне субхронической алкогольной интоксикации, предположительно, предотвращает нарастание

продуктов перекисного окисления липидов, оксигеназной активности и приводит к нормализации баланса микроэлементов в ткани сердца. Предположительный механизм действия композиции заключается в поддержании гомеостаза цинка, обладающего непосредственным антиоксидантным эффектом и являющегося наряду с магнием важным кофактором многих ферментов, модуляции антиоксидантной защиты, ингибировании образования активных форм кислорода и как следствие снижение окислительного повреждения в ткани сердца на фоне субхронической алкогольной интоксикации. Таким образом, полученные данные являются экспериментальным обоснованием для использования композиции при разработке препаратов в комплексной коррекции последствий субхронической алкогольной интоксикации [1].

Заключение

Поскольку у пациентов с алкогольной зависимостью часто наблюдаются существенные нарушения гомеостаза аминокислот (L-аргинина и L-глутамина), ионов магния и цинка, выявленные положительные метаболические и функциональные эффекты представленной композиции при алкогольном поражении сердца могут служить основой для дальнейшего изучения механизмов действия комбинации и обоснования ее корригирующей терапии при алкогольной интоксикации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бадун, Е. Г. Элементный статус крови и сердца, биоэнергетические функции митохондрий сердца при субхронической алкогольной интоксикации / Е. Г. Бадун, А. В. Шуриберко, О. Е. Кузнецов // Веснік Гродзенскага дзяржаўнага ўніверсітэта імя Янкі Купалы. Серыя 5, Эканоміка. Сацыялогія. Біялогія. – 2023. – Т. 13, № 1. – С. 149-158.
2. Влияние комбинации аминокислот с цинком и магнием на элементный состав крови, сердца и энергетические функции митохондрий сердца при тяжёлой алкогольной интоксикации / Е. Г. Бадун [и др.] // Новости медико-биологических наук. – 2022. – Т. 22, № 4. – С. 40-47.
3. Влияние препарата «Талерин» на фонд свободных аминокислот при хронической алкогольной интоксикации / В. Ю. Смирнов [и др.] // Журнал ГГМУ. – 2009. – № 3. – С. 51–53.
4. Шейбак, М.П. Магний в клинической практике / М. П. Шейбак // Журнал ГГМУ. – 2003. – №4. – С. 25-27.
5. Эффекты аминокислотных композиций на спектр нейроактивных аминокислот в мозге крыс при хронической алкогольной интоксикации / Е. М. Дорошенко [и др.] // Журнал ГГМУ. – 2007. – № 1. – С. 129–135.
6. Feig, D. I. Uric Acid and Cardiovascular Risk / D. I. Feig, D. H. Kang, R. J. Johnson // N. Engl. J. Med. – 2008. – Vol.]359, No. 17. – P. 1811-1821.
7. Glutamine and glutathione at ICU admission in relation to outcome / P. C. Rodas [et al.] // Clin. Sci. (Lond). – 2012. – Vol. 122, No. 12. – P. 591-597.
8. L-arginine in cardiovascular disease: dream or reality? / D. Tousoulis [et al.] // Vasc. Med. – 2002. – Vol. 7, No. 3. – P. 203-211.

9. Metabotropic Glutamate Receptors in Alcohol Use Disorder: Physiology, Plasticity, and Promising Pharmacotherapies / M. E. Joffe [et al.] // ACS. Chem. Neurosci. – 2019. – Vol. 9, No. 9. – P. 2188-2204.
10. Moderate Alcohol Consumption Inhibits Sodium-Dependent Glutamine Co-Transport in Rat Intestinal Epithelial Cells in Vitro and Ex Vivo / M. Butts [et al.] // Nutrients. – Vol. 11, No. 10. – P. 2516.
11. Ndrepepa, G. Uric acid and cardiovascular disease / Ndrepepa, G. // Clin. Chim. Acta. – 2018. – Vol. 484, No. 1. – P. 150-163.
12. Oral supplementations with free and dipeptide forms of L-glutamine in endotoxemic mice: effects on muscle glutamine-glutathione axis and heat shock proteins / V. F. Cruzat [et al.] // J. Nutr. Biochem. – 2014. – Vol. 25, No. 3. – P. 345–352.
13. Piano, M. R. Alcohol's Effects on the Cardiovascular System / M. R. Piano // Alcohol Res. – 2017. – Vol. 38, No. 2. – P. 219-241.
14. Romani, A. Cell magnesium transport and homeostasis: role of intracellular compartments / A. Romani, C. Marfella, A. Scarpa // Miner. Electrolyte. Metab. – 1993. – Vol. 19, No. 4-5. – P. 282-289.
15. Serum magnesium in chronic alcoholism / J. F. Sullivan [et al.] // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1969. – Vol. 162, No. 2. – P. 947-962.
16. Suppression of uric acid generation and blockade of glutathione dysregulation by L-arginine ameliorates dichlorvos-induced oxidative hepatorenal damage in rats / W. A. Saka [et al.] // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2021. – Vol. 138. – P. 111443.
17. The effects of combined magnesium and zinc supplementation on metabolic status in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease / Z. Hamedifard [et al.] // Lipids. Health. Dis. – 2020. – Vol. 19. – P. 112.
18. The protective effect of L-glutamine against acute Cantharidin-induced Cardiotoxicity in the mice / H. Shao [et al.] // BMC Pharmacol. Toxicol. – Vol. 21, No. 1. – P. 71.
19. Uric Acid and Cardiovascular Disease: An Update / M. L. Muiesan [et al.] // Eur. Cardiol. – 2016. – Vol. 11, No. 1. – P. 54-59.
20. Zinc Supplementation Forms Influenced Zinc Absorption and Accumulation in Piglets / F. F. Liu [et al.] // Animals. (Basel). – 2021. – Vol. 11, No. 1. – P. 36.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИНТЕНСИВНОСТИ ТКАНЕВОГО ДЫХАНИЯ В ОТДЕЛАХ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА

Белоус Е.М., Айснер А.Д.

*УО «Гомельский государственный медицинский университет»,
Гомель, Республика Беларусь*

Исследование интенсивности тканевого дыхания в отделах тонкого кишечника обосновано необходимостью понимания метаболических процессов

в этой части пищеварительной системы. Тонкий кишечник играет важную роль в процессе пищеварения и всасывания питательных веществ, и изучение интенсивности тканевого дыхания в его отделах может способствовать пониманию механизмов обмена веществ, обеспечивающих жизнедеятельность клеток. Потребление кислорода различными отделами тонкого кишечника является актуальной темой, поскольку кислород является необходимым для обеспечения нормального функционирования клеток и тканей.

Тканевое дыхание – это процесс, в результате которого клетки, ткани организма потребляют кислород и освобождают углекислый газ при проведении метаболических реакций. Этот процесс происходит в клетках всех живых организмов, и при этом клетки получают энергию, необходимую для поддержания их жизнедеятельности. Изучение потребления кислорода различными отделами тонкого кишечника представляет собой важную область исследований в биологии и медицине. Тонкий кишечник играет ключевую роль в пищеварении и всасывании питательных веществ, что требует энергозатрат и, следовательно, потребления кислорода. Различные отделы тонкого кишечника – двенадцатиперстная кишка, тощая кишка и подвздошная кишка – имеют уникальные функциональные особенности и, вероятно, различаются по потреблению кислорода. Доступно несколько методов измерения O_2 в тканях живых организмов, а из-за различных экспериментальных подходов значения O_2 , полученные с помощью этих методов, не могут быть напрямую сопоставимы.

Первым прибором, который сделал возможными измерения *in vivo*, был электрод Кларка, который по своей сути представляет собой платиновый электрод, на поверхности которого электрохимически восстанавливается кислород и измеряется генерируемый ток. Несмотря на ряд недостатков, он по-прежнему широко используется, особенно из-за своей простоты. Хотя новые методы, основанные на ядерном или электронном магнитном резонансе, предоставляют беспрецедентную возможность получения трехмерных профилей кислорода в тканях или даже во всем организме, их использование ограничено из-за необходимости дорогостоящего и сложного оборудования. В дополнение к этим методам определения значений O_2 в широком диапазоне существует несколько методов, которые обычно не дают точных значений O_2 , но предоставляют средства для визуализации градиентов кислорода и обнаружения условий с низким содержанием кислорода. Например, экзогенные маркеры гипоксии, добавляемые перед биопсией ткани, используются как в животной, так и в экспериментальной медицине для визуализации гипоксии *ex vivo*.

Распространенными маркерами являются нитроимидазольные красители, например пимонидазол и пентафторпропил, содержание которых в гипоксических клетках ($pO_2 < 10$ мм рт. ст.) снижается и сохраняется за счет образования аддукта краситель-белок. Одним из стандартных методов иммуногистохимического выявления гипоксии также является иммунофлуоресценция пимонидазола с использованием антитела против пимонидазола, конъюгированного с соединением флуоресцентного маркера.

При сравнении различных методов измерения уровня кислорода также важно учитывать, ограничивается ли измерение просветом. Например, классический метод с использованием электрода Кларка позволяет измерять просветную гипоксию, а метод пимонидазола также позволяет визуализировать внутриклеточную гипоксию. Другое соображение заключается в том, что некоторые зонды могут подвергаться эндоцитозу, например, в случае с зондом ЭПР нафтаलोцианина лития, что делает проблематичными измерения только в просвете. Наряду с прямыми измерениями с использованием электродов и косвенными измерениями гипоксии с использованием экзогенных маркеров существуют также эндогенные биомаркеры гипоксии, которые можно обнаружить с помощью иммуногистохимии. Из них наиболее важным является HIF-1 α , который подробно описан в следующих разделах. Другими эндогенными маркерами являются карбоангидраза IX (CA IX) и транспортер глюкозы 1 (GLUT-1), а также некоторые менее специфичные маркеры, такие как остеопонтин (OPN) и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF). [1]

Глутаминовая кислота (Glu) и аспарагиновая кислота (Asp) представляют собой кислые аминокислоты, играющие регулируемую роль в питании, энергетическом обмене и окислительном стрессе. Они так же считаются функциональными аминокислотами. Как правило, Glu и Asp в основном используются в кишечнике для получения аденозинтрифосфата (АТФ) для энтероцитов и положительно влияют на работу митохондрий [2].

Тонкий кишечник делится на три отдела: двенадцатиперстная кишка, тощая кишка, подвздошная кишка. Он имеет несколько оболочек: слизистая оболочка, подслизистая основа, мышечная оболочка, серозная оболочка. Состоит из клеток энтероцитов. В тонком кишечнике проходит большинство процессов расщепления белков, жиров и углеводов, а так же всасывание поступающей жидкости. При реакциях окисления углеводов, жирных кислот, спиртов и аминокислот, которые в свою очередь образуют молекулы НАДН и ФАДН₂, которые поступают в митохондрии, где ферментами дыхательной цепи осуществляется процесс окислительного фосфорилирования.

Эпителий кишечника постоянно подвергается воздействию условий с низким содержанием кислорода. Важным регуляторным механизмом являются митохондрии, которые отвечают за большую часть потребления кислорода клетками. Различные отделы тонкого кишечника могут иметь разную потребность в кислороде из-за различий в их функциях и метаболических процессах. Верхние отделы тонкого кишечника, такие как двенадцатиперстная кишка, могут иметь более высокую потребность в кислороде из-за интенсивного пищеварения и всасывания питательных веществ. Этот отдел тонкого кишечника является первым после желудка и играет ключевую роль в процессе пищеварения. Здесь происходит смешивание пищи с желчью и панкреатическими ферментами для дальнейшего расщепления и усвоения питательных веществ. Поскольку этот процесс требует активного обмена веществ, двенадцатиперстная кишка потребляет значительное количество кислорода. В тонком кишечнике тощая кишка является самым длинным отделом. Здесь происходит дальнейшее расщепление пищи и усвоение

питательных веществ. Тощая кишка имеет большую поверхность всасывания благодаря ворсинкам и клеткам, что требует дополнительного потребления кислорода для обеспечения эффективного процесса усвоения. Подвздошная кишка играет роль в регулировании уровня влаги и абсорбции оставшихся питательных веществ перед передачей неусвоенных остатков в ободочную кишку. Хотя подвздошная кишка не так активно потребляет кислород как двенадцатиперстная и тощая кишка, она все равно играет важную роль в общем процессе усвоения питательных веществ. Нижние отделы, такие как тощая и подвздошная кишки, могут иметь более низкую потребность из-за меньшей активности клеток [1–2].

Было показано, что митохондрии могут служить сигнальными органеллами, необходимыми для многочисленных цитозольных сигнальных путей. Эта передача сигналов в митохондриях может осуществляться через АФК или через высвобождение метаболитов цикла трикарбоновых кислот (ЦТК). Активные формы кислорода (АФК) исторически рассматривались как токсичные побочные продукты метаболизма и возбудители множества патологий человека. Однако более поздние работы показывают, что производство АФК (активных форм кислорода) митохондриями важно, поскольку оно способствует ретроградной окислительно-восстановительной передаче сигналов от органеллы к цитозолю и ядру.[3,4] Например, цитрат метаболита ЦТК может быть перенесен в ядро для создания цитозольного ацетил-КоА, который необходим для ацетилирования белка, что может изменить сигнальные пути посредством посттрансляционных модификаций и экспрессию генов посредством измененного эпигенетического статуса [3].

Утилизация кислорода в митохондриях происходит главным образом в комплексе IV цепи переноса электронов (ЦПЭ) (цитохром С-оксидаза). Из кислорода в управляемом каскаде генерируется универсальная единица клеточной энергии, называемая АТФ. В ЭТЦ O_2 служит терминальным акцептором электронов электрон-транспортной цепи с образованием H_2O в процессе окислительного фосфорилирования. Вдоль ЭТЦ существует много возможностей, при которых может произойти утечка электронов и, следовательно, это имеет значение для передачи сигналов в митохондриях. Когда электрон теряется, один электрон захватывается O_2 ; в сочетании они могут образовывать супероксидный радикал, неполностью восстановленный радикал O_2 , перекись водорода или гидроксильный радикал, обычно называемые АФК. Цепь переноса электронов митохондрий (mETS) является основным источником митохондриальных АФК, где преобладающей реактивной формой является супероксид. Комплексы mETS I и II являются основными продуцентами супероксида и высвобождают его в митохондриальный матрикс и межмембранное пространство. Клетки тканей и органы подвергаются воздействию широкого диапазона уровней O_2 . Недостаточный или чрезмерный уровень O_2 приводит к неадекватным уровням АФК, что приводит к изменению окисления липидов, белков и нуклеиновых кислот, что может привести к гибели или дисфункции клеток. Избыток mtROS, который не элиминируется митофагией, может

привести к множественным клеточным дисфункциям. Например, кишечные стволовые клетки (ISC) в кишечных органоидах, которые не способны устранять излишки mtROS с помощью митофагии/аутофагии, имеют более низкий потенциал самообновления, что приводит к их уменьшенному количеству. Тонкая и толстая кишка в основном потребляют АТФ, выделяющуюся в результате окислительного фосфорилирования. Потребление и регуляция эпителиального кислорода является важным фактором, определяющим кислородный баланс на границе между хозяином и окружающей средой.

Таким образом, как доставка, так и потребление O_2 жестко регулируются с помощью множества различных молекулярных механизмов, контролирующих уровни O_2 в клетках и тканях для поддержания кислородного гомеостаза. mETS в организме функционально варьируются от условий окружающей среды O_2 (21% O_2), через гипероксию и гипоксию, до почти аноксии (приблизительно 0,5% O_2). Любое отклонение от этих условий (как в сторону повышения, так и в сторону понижения pO_2) может привести к патологии. Сигналы митохондриальных АФК необходимы для различных клеточных функций, и их количество связано с активностью mETS, метаболических ферментов и активацией AMPK, тиолфосфатазы, каспазы, киназы, протеасомы, а также транскрипционной активностью. АФК могут оказывать дополнительное влияние на дифференцировку, пролиферацию и адаптацию стволовых клеток к стрессорам, включая гипоксию. Различные генетические и антиоксидантные методы были использованы, чтобы продемонстрировать необходимость увеличения АФК для восприятия кислорода. Митохондриальные АФК имеют решающее значение для активации HIF; точный механизм стабилизации HIF-1 α , опосредованной АФК, до сих пор неизвестен.

В литературе ведутся споры о том, увеличиваются или уменьшаются АФК в митохондриях во время гипоксии, что обсуждалось в других источниках. Однако различные генетические и антиоксидантные методы были использованы, чтобы продемонстрировать необходимость обнаружения АФК для определения кислорода. Было показано, что гипоксия увеличивает генерацию митохондриальных АФК в комплексе III и увеличивает накопление белка HIF-1 α . Кроме того, было показано, что митохондриальные промежуточные продукты, используемые в ЦТК для производства энергии, такие как сукцинат и фумарат, увеличивают выработку АФК [4].

Вывод. Интенсивность тканевого дыхания в отделах тонкого кишечника представляет важное значение для понимания особенностей метаболических процессов в этой части пищеварительной системы. Потребление кислорода разными отделами тонкого кишечника зависит от их функций и метаболической активности. Более активные процессы пищеварения и всасывания питательных веществ могут требовать большего потребления кислорода, чтобы обеспечить энергию для этих процессов. Подробное изучение характеристик тканевого дыхания в отделах тонкого кишечника может способствовать новым открытиям в области метаболизма и обмена веществ,

создавая потенциал для развития инновационных подходов в различных областях, в том числе и медицинской науке и практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Konjar, S. Regulation of Oxygen Homeostasis at the Intestinal Epithelial Barrier Site. / S. Konjar, M. Pavsic, M. Veldhoen // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22, № 9170. – P. 17-22.
2. Chen, S. Low-protein diets supplemented with glutamic acid or aspartic acid ameliorate intestinal damage in weaned piglets challenged with hydrogen peroxide. / S. Chen [et al.] // Animal Nutrition – 2021. – Vol. 7, iss. 2. – P. 356-364.
3. Hamanaka, R. B. Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. / R. B. Hamanaka, N. S. Chandel // Cell Press Trends in Biochemical Sciences – 2010. – Vol. 35, iss. 9. – P. 505-515.
4. Murphy, M. P. How mitochondria produce reactive oxygen species. / M.P. Murphy // Biochem J. – 2009. – Vol. 417, iss. 1. – P. 1-13.

ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ ТКАНЕВОГО ДЫХАНИЯ, ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ

Белоус Е.М., Новикова Д.В.

*УО «Гомельский государственный медицинский университет»,
Гомель, Республика Беларусь*

Изучение тканевого дыхания имеет важное значение для понимания биохимических процессов, происходящих в клетках живых организмов. Этот процесс является основой для понимания метаболизма, энергетического обмена и физиологических адаптаций организма к различным условиям. Таким образом, развитие и совершенствование методов исследования тканевого дыхания имеет большое значение для биологической науки и медицины.

Тканевое дыхание – это важный биологический процесс, в ходе которого клетки организма окисляют органические вещества, освобождая энергию, необходимую для жизнедеятельности. Понимание механизмов тканевого дыхания имеет фундаментальное значение для изучения метаболизма и патологических процессов в организме. Полярографический метод является одним из наиболее важных и широко используемых методов для изучения скорости поглощения кислорода. Кислород – один из важнейших компонентов, который обеспечивает окислительно-восстановительные процессы в живых структурах. Прямое определение напряжения кислорода в тканях без их существенного повреждения было введено в физиологическую практику Davies и Brink, применившими полярографический метод [7]. В данной работе мы рассмотрим принципы и применение полярографического метода, а также оценим его преимущества и недостатки.

Материалами исследования полярографического метода тканевого дыхания могут быть различные компоненты, необходимые для проведения экспериментов и получения данных о метаболической активности клеток или

тканей. Образцы ткани или клеток: это основной объект исследования, который содержит живые клетки или ткани, для которых оценивается метаболическая активность. Образцы могут быть из различных источников, включая животных, растения, человеческие клетки или ткани.

Полярографический метод позволяет вести кинетические наблюдения за короткое время при моделировании функциональных нагрузок и использовании специфических ингибиторов, в условиях, наиболее приближенных к физиологическим [3]. Все это необходимо учитывать для оценки метаболического состояния тканей организма, подвергнутых действию факторов малой и сверхмалой интенсивности, к каковым относится, например, низко дозовое ионизирующее излучение [1].

Особенностями полярографического метода анализа являются:

- 1) быстрота аналитического определения не занимает много времени;
- 2) большая чувствительность, позволяющая вести аналитические определения малых количеств исследуемого вещества (до 10^{-5} моль/л);
- 3) независимость результатов определений от индивидуальных особенностей экспериментатора;
- 4) возможность одновременно вести определение нескольких элементов, не прибегая к предварительному их разделению.

В данном методе используется специальный кислородный электрод, который помещается в раствор с образцом ткани или клеток. После настройки прибора на постоянный потенциал происходит редукция кислорода на катоде, что приводит к изменению тока, проходящего через электрод. Это изменение тока пропорционально потреблению кислорода клетками, что позволяет оценить скорость тканевого дыхания [8].

Для проведения полярографических измерений необходимы:

- 1) Кислородный электрод: это ключевой компонент, который чувствителен к изменениям концентрации кислорода в растворе и используется для измерения скорости тканевого дыхания.
- 2) Электродный детектор: позволяет измерять изменение тока, проходящего через кислородный электрод, и преобразовывать его в числовые данные.
- 3) Электронный контроллер: используется для подачи постоянного потенциала на электрод и контроля параметров измерения.

Кислородные электроды: кислородные электроды являются ключевым компонентом полярографического метода. Эти электроды, часто состоящие из платиновой проволоки с покрытием из оксида ртути, чувствительны к изменениям концентрации кислорода в растворе и используются для измерения его потребления клетками или тканями.

Электронный контроллер и измерительные приборы: для проведения экспериментов необходимы специализированные устройства для подачи постоянного потенциала на кислородный электрод и измерения изменения тока, протекающего через электрод. Эти устройства обеспечивают точное контролирование условий эксперимента и регистрацию полученных данных. Специализированное программное обеспечение: для анализа полученных

данных часто используются специальные программы: OCTAVE, FlexCell, LabChart и другие [2].

К другим материалам ним могут относиться стандартные химические реактивы, расходные материалы для подготовки образцов, средства для обеспечения стерильности и безопасности эксперимента.

В основе полярографии лежит зависимость между характером поляризации рабочего электрода и составом раствора, в котором он находится, зависимости представляют в виде кривой – полярограммы, вычерченной в координатах, соответствующих основным переменным, которые характеризуют ход этого процесса. Анализ полярограммы позволяет сделать вывод о том, какие ионы из числа определяемых и в какой концентрации присутствуют в растворе. Нижний предел определяемых концентраций составляет 10^{-5} – 10^{-6} кмоль/м³ (10^{-5} – 10^{-6} моль/л), что позволяет определять миллионные доли граммов вещества в 1 см³ испытуемого раствора. Полярографический метод имеет некоторые преимущества. Обладает высокой чувствительностью к изменениям концентрации кислорода, что позволяет измерять даже небольшие изменения в тканевом дыхании. После настройки и калибровки прибора полярографический метод достаточно прост в использовании и не требует специальных навыков для его проведения. Позволяет проводить измерения динамики тканевого дыхания в реальном времени, что позволяет получать более точные данные о метаболических процессах. Кроме преимуществ полярографический метод имеет и недостатки. Для проведения полярографических измерений требуется специализированное оборудование, что может быть ограничивающим фактором для некоторых исследовательских лабораторий. Полярографический метод может иметь ограничения в применении к определенным типам образцов, таким как живые ткани, требующие специальных методов подготовки [1–3, 7–8].

Эксперименты проводились на крысах, изучая тканевое дыхание селезенки, тимуса [6], миокарда [4], печени [7], семенников, тонкого кишечника [5], бедренной и икроножной мышцы. В ходе эксперимента крысу помещали в пластмассовый станок-фиксатор, на задней дверце которого было сделано отверстие для отведения задней лапы. Лапа была зафиксирована на деревянной подставке. Прибегали именно к этому методу фиксации, так как в хроническом опыте нельзя было использовать применение жгута, сильное растяжение животного и наркоз приводят к физиологическим сдвигам в организме. После прокола стерильной инъекционной иглой рабочий электрод был введен на 20 минут в икроножную мышцу. Вспомогательный электрод приводился в электрический контакт с животным через солевой мостик. На электрод подавалось постоянное напряжение. До и после каждого исследования электроды калибровали для измерения их чувствительности к кислороду. Для этого применяли два раствора: изотонический раствор натрия хлорида уравновешенный с воздухом и такой же раствор, но лишенный кислорода, с добавлением натрия сульфита. Цель подобных исследований определялась тем, что аналоги 2-О-3,6-ДХБК (2,3,6-трихлорбензойная кислота, дианат

и салицилаты), имеющие в основе бензойную кислоту, оказывают серьезное влияние на окислительно-восстановительные ферменты и тканевое дыхание.[2]

Растворы и культурные среды: растворы, используемые для диссоциации тканей, поддержания клеточной культуры или подготовки образцов, играют важную роль в проведении экспериментов. Они должны быть подобраны с учетом специфики исследуемых клеток или тканей.

Таким образом, полярографический метод является мощным инструментом для изучения тканевого дыхания, обладающим как преимуществами, так и недостатками. Несмотря на свои ограничения, он остается одним из наиболее широко используемых методов, благодаря своей высокой чувствительности и возможности проведения измерений в реальном времени. Полярографический метод исследования широко применяется в различных областях, включая биохимию, фармакологию и экологию. Дальнейшие исследования в этих областях могут привести к совершенствованию методики и расширению его применения в различных биологических и медицинских исследованиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Физиолого-микробиологические методы исследования. Модуль 4 : учебное пособие / А.А. Катаев, А.А. Кособрюхов, В.Б. Бородин [и др.] ; под ред. Ф.Ф. Литвина. – Москва : ИНФРА-М, 2021. – 120 с.
2. Абдулкадер, А. Характеристика митохондриального окисления селезенки крыс //Проблемы здоровья и экологии. – 2007. – №. 4. – С. 78-81.
3. Аль Меселмани М. А. Характеристика процессов митохондриального окисления в семенниках интактных крыс / Аль Меселмани М. А., М. А. Евсеева, А. В. Евсеев // Медицинский журнал. – 2011. – № 1. – С. 20-22.
4. Грицук, А. И. Митохондриальное окисление и ультраструктура миокарда при инкорпорации радионуклидов цезия / А. И. Грицук, [и др.] // Авиакосмич. и экол. медицина. 2002. – №. 2. – С. 40-44.
5. Коваль, А. Н. Изменения энергетического метаболизма миокарда крыс при воздействии ионизирующих излучений / Коваль А. Н. // Проблемы здоровья и экологии. – 2024. – №21 (1). – С. 89-92.
6. Мышковец, Н. С. Изменение уровня эндогенного дыхания слизистой тонкого кишечника в различные сроки после облучения //Проблемы здоровья и экологии. – 2023. – Т. 20, №. 2. – С. 72-77.
7. Никитина, И. А. Роль глутамата в энергетическом метаболизме тимуса //Проблемы здоровья и экологии. – 2022. – Т. 19, №. 4. – С. 87-94.
8. Сергеенко, С. М. Тканевое дыхание миокарда, печени и тимуса белых крыс после внешнего облучения в дозе 1 Гр / С. М. Сергеенко [и др.] // Российская научная конференция с межд. участием «Актуальные проблемы токсикологии и радиобиологии»: тез. докл., Санкт-Петербург, 19–20 мая 2011 г. / Воен.-мед. акад. им. С. М. Кирова [и др.]. – СПб., 2011. – С. 141.
9. Физиолого-микробиологические методы исследования / А.А. Катаев [и др.]; под ред. Ф.Ф. Литвина. – Москва: ИНФРА-М, 2021. – 120 с.

ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В КЛЕТКАХ. РОЛЬ МИТОХОНДРИЙ

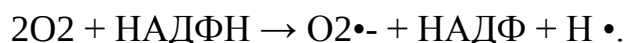
Белоус Е.М., Синьковская К.Д.

*УО «Гомельский государственный медицинский университет»,
Гомель, Республика Беларусь*

Исследование процессов образования активных форм кислорода в клетках является крайне актуальным в современной науке и медицине. Активные формы кислорода, такие как супероксид, перекись водорода и гидроксильные радикалы, играют двойственную роль в живых системах. С одной стороны, они являются важными сигнальными молекулами, участвующими в регуляции различных биохимических процессов. С другой стороны, избыточное образование активных форм кислорода может привести к повреждению клеток, что ассоциируется с развитием различных патологий.

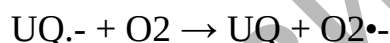
Активные формы кислорода (АФК) – это термин, используемый для описания форм кислорода, которые являются энергетически более активными, чем молекулярный кислород. Под активными формами кислорода подразумевают совокупность взаимно превращающихся высоко реакционноспособных форм кислорода, большинство из которых существует короткое время. Среди них выделяют свободно радикальные частицы – супероксидный анионрадикал ($O_2^{\bullet-}$), гидроксильный радикал ($OH^{\bullet}$), пероксидные радикалы ($RO_2^{\bullet-}$ и др.) и нейтральные молекулы, такие как пероксид водорода (H_2O_2), синглетный кислород (O_2) [3]. В клетке образуются активные формы кислорода в результате проведения различных окислительно-восстановительных реакций. Эти реакции включают как ферментативные, так и спонтанные процессы, которые приводят к образованию свободных радикалов кислорода [8]. Радикал представляет собой молекулу, содержащую один или несколько неспаренных электронов. Обычно они образуются в различных метаболических процессах и могут находиться в свободном состоянии, взаимодействуя с различными компонентами тканей, вызывая дисфункцию [1].

Источники активных форм кислорода в клетке широко известны. Один из основных источников – пероксисомы, в которых находится целый комплекс ферментов, участвующих в метаболизме перекиси водорода. В основном, клетка использует перекись водорода для детоксикации ксенобиотиков, и практически все это вещество утилизируется внутри этих органелл. В гладком эндоплазматическом ретикулуме находится ряд цитохром-зависимых оксигеназ, которые производят супероксидный радикал. В плазмалемме макрофагов и эндотелиоцитов присутствует НАД(Ф)Н- оксидазная система, которая вырабатывает супероксидный анион во время иммунного и воспалительного ответа. Фагоциты быстро поглощают значительное количество кислорода (дыхательный «взрыв»), что приводит к образованию супероксида $O_2^{\bullet-}$ на внешней стороне мембраны путем окисления цитозольного НАД(Ф)Н:



Дыхательная цепь митохондрий является основным источником АФК в клетках. Обусловлено это тем, что в дыхательной цепи происходит диссипация электронов с I и III митохондриальных ферментных комплексов (МФК), что приводит к тому, что примерно 2-5% поступающего кислорода превращается в активную форму, при этом часть активной формы кислорода используется для окислительной модификации макромолекул. Выработка $O_2^{\bullet-}$ в митохондриях осуществляется несколькими способами и сильно зависит от активности дыхания и изменений частичного давления кислорода (гипоксия или реоксигенация). Главным местом утечки электронов является убихинол цитохром C оксидоредуктаза, где генерация АФК происходит за счет одноэлектронного восстановления молекулярного кислорода от убисемихинона.

Причиной образования $O_2^{\bullet-}$ в НАДН-убихинон-редуктазе является семихиновая форма флавина. Если интенсивность потока электронов и степень восстановления компонентов дыхательной цепи митохондрий изменяется, то также будет изменяться и количество выпавших электронов. Продукция супероксида в присутствии цианида и ротенона понижается, а при добавлении ингибитора комплекса III антимицина А (который способствует увеличению пула семихинонов) происходит увеличение образования АФК. Таким образом, Qцикл является одним из главных источников активных форм кислорода в митохондриях. С помощью двух Q-связывающих сайтов комплекса III происходит процесс создания убисемихинон анионрадикала, который способен взаимодействовать с молекулярным кислородом и производить убихинон и супероксид:



Реакционноспособные АФК способны быстро переходить из одной формы в другую, при этом они легко окисляют различные молекулы. Это происходит по причине того, что в результате утечки электронов из дыхательной цепи и в реакции НАД(Ф)Н-оксидазы и ксантин-оксидаза первым формируется супероксид анион-радикал, который очень быстро дисмутирует до перекиси водорода (рисунок 1) [3]. В процессе метаболизма свободные радикалы могут образовываться под воздействием солнечного света (фотолиз), радиоактивного воздействия (радиолиз) или даже ультразвука.

Митохондрии более восприимчивы к атаке АФК, чем любая другая органелла, что приводит к повреждению мембранных липидов, белков, ДНК и даже смерти. Более того, для гибели митохондрий не требуется никаких дополнительных белков, кроме тех, которые присутствуют в них самих.

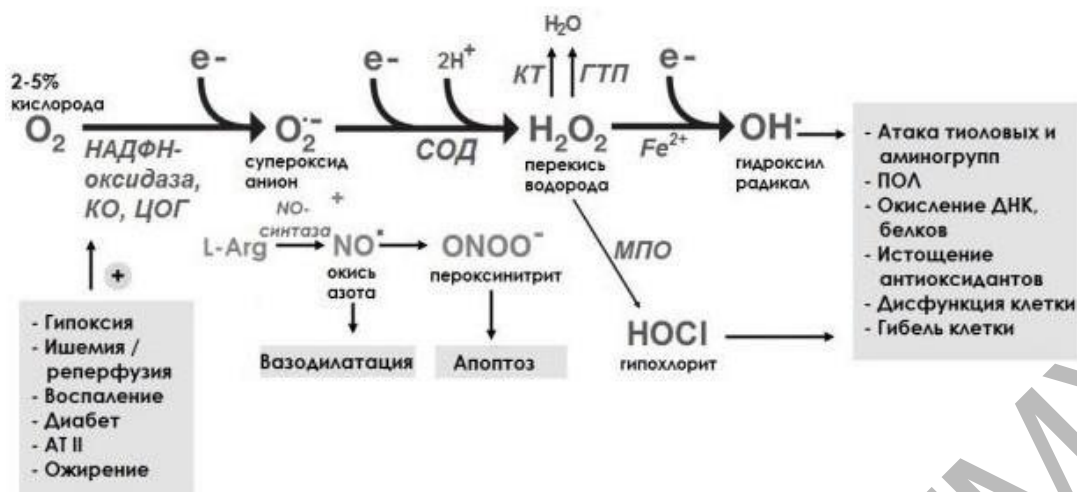


Рисунок 1 – Образование активных форм кислорода и их воздействие на клетку. КО – ксантиноксидаза, ЦОГ – циклооксигеназа, АТ II – ангиотензин II, L-Arg – L-аргинин, СОД – супероксиддисмутаза, КТ – каталаза, ГТП – глутатионпероксидаза, МПО – миелопероксидаза, ПОЛ – перекисное окисление липидов [3]

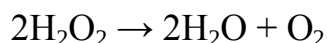
Когда митохондрии не способны детоксицировать вырабатываемые ими активные формы кислорода, в клетках возникает так называемый «окислительный стресс». Из-за избыточного образования кислородных радикалов, последние начинают выполнять преимущественно деструктивные функции, а не действовать как сигнальные молекулы. Специфические изменения клеточных компонентов: повреждение структуры мембран вследствие перекисного окисления липидов (ПОЛ), окисление тирозиновых, цистеиновых и сериновых остатков белков, повреждение ДНК и развитие клеточного окислительно-восстановительного потенциала вследствие окисления глутатиона и НАД(Ф)Н. Наблюдается разрушение митохондриальных структур от мембраны до митохондриальных ДНК [5, 6]. Окислительный стресс является причиной многочисленных дегенеративных заболеваний, старения и потери клеток. Считается, что активные формы кислорода, образующиеся в митохондриях, являются основной причиной развития внутреннего окислительного стресса в ответ на гипоксию, ишемию и реперфузию [4].

Образование АФК с участием митохондрий играет важную роль в индукции апоптоза при патофизиологических процессах в нейронах, кардиомиоцитах, а также в процессе старения. Считается, что нервная ткань имеет предрасположенность к окислительному стрессу, который связан с высоким уровнем окислительного метаболизма и увеличенной генерацией кислородных радикалов. Кислородные радикалы являются очень активными молекулами, способными повредить клетки и их компоненты, включая ДНК, белки и липиды. Повышенное производство АФК в митохондриях при дефиците антиоксидантов, например, при церебральной ишемии, повреждает митохондриальную цепь переноса электронов и снижает синтез АТФ, что в

свою очередь, снижает активность АТФ-зависимых ферментов. Активные формы кислорода (АФК) оказывают вредное воздействие, особенно на мембраны митохондрий. Под их воздействием происходит окисление SH-группы Cys-56 в белке внутренней мембраны митохондрий, ответственном за передачу АТФ/АДФ, что способствует образованию неспецифического митохондриального канала (mPTP), который пропускает низкомолекулярные вещества. АФК значительно влияют на уровень ионов кальция как в матриксе митохондрий, так и в цитоплазме клеток, вызывая перераспределение Ca^{2+} из внеклеточного пространства и внутриклеточных запасов в цитоплазму, а из цитоплазмы в матрикс путем стимуляции кальциевых транспортеров.

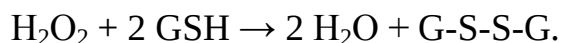
Митохондриальная ДНК (мтДНК) становится объектом атаки со стороны активных форм кислорода из-за их высокой концентрации в митохондриях и несовершенства в системе репарации органелл. Это приводит к более частым мутациям в мтДНК по сравнению с ядерной ДНК. Радикалы кислорода являются источником специфических изменений в структуре ДНК. Например, гидроксил-радикал вызывает повреждения в ДНК путем окисления оснований, их модификации и разрушения хромосом. Такие изменения могут привести к различным патологиям, гибели клеток или даже их злокачественному превращению. Ущерб мтДНК особенно опасен из-за накопления мутаций под воздействием активных форм кислорода в течение времени. Геном митохондрий кодирует ряд важных митохондриальных белков, и повреждение соответствующих генов приводит к нарушениям их экспрессии и последующему нарушению функций. Существует прямая зависимость между возрастом человека и накоплением мутаций в митохондриальной ДНК, снижением эффективности дыхания и увеличением производства активных форм кислорода, что послужило основой для митохондриальной теории старения. Свободные радикалы кислорода и продукты перекисного окисления липидов, образующиеся под их воздействием, играют ключевую роль в развитии отеков и нарушений метаболизма в мозговой ткани в посттравматическом и постишемическом периодах. АФК являются сильными окислителями и могут причинить серьезные повреждения молекулам ДНК, белков и ненасыщенных жиров, способствовать гемолизу эритроцитов, а также разрушать мембраны путем перекисного окисления их липидов. Поскольку образование активных форм кислорода происходит постоянно в клетках аэробных организмов, в этих клетках существует защитная система, направленная на предотвращение их вредного воздействия. Защита клетки от избытка кислородных радикалов и вызванных ими окислительных повреждений осуществляется с помощью антиоксидантной системы. Эта система включает в себя антиоксидантные ферменты, низкомолекулярные соединения, способные поддерживать редокс-буфер, альбумины, витамины, комплексоны ионов металлов, свободные жирные кислоты. К числу антиоксидантных ферментов, которые нейтрализуют активные формы кислорода, относятся супероксиддисмутаза (СОД), каталаза и глутатионпероксидаза. СОД превращает супероксидные анионы в пероксид водорода. Изоферменты СОД присутствуют как в цитозоле, так и в

митохондриях и являются первой линией защиты, поскольку супероксидный анион, как правило, образуется вначале из активных форм кислорода при утечке электронов из дыхательной цепи. СОД является индуцируемым ферментом, что означает, что его синтез увеличивается при активации перекисного окисления в клетках. Пероксид водорода, способный породить самую активную форму гидроксильного радикала, разлагается с помощью каталазы:



Каталаза преимущественно присутствует в пероксисомах, где образуется наибольшее количество пероксида водорода, а также в лейкоцитах, где она защищает клетки от последствий "респираторного взрыва".

Глутатионпероксидаза играет ключевую роль в инактивации активных форм кислорода, поскольку этот фермент разлагает как пероксид водорода, так и гидропероксиды липидов. Он способствует восстановлению пероксидов с использованием трипептида глутатиона (γ -глутамилцистеинилглицин). Сульфгидрильная группа глутатиона (GSH) действует как донор электронов и, окисляясь, образует дисульфидную форму глутатиона, в которой две молекулы глутатиона соединены дисульфидной связью.



Окисленный глутатион восстанавливается глутатионредуктазой:



Глутатионпероксидаза, способная восстанавливать гидропероксиды липидов в мембранах, использует селен в качестве кофермента (необходимый микроэлемент питания). Недостаток селена приводит к снижению активности антиоксидантной защиты.

Карнозин и его производные играют значительную роль в защите от окислительного стресса, поскольку являются естественным дипептидом, который может метаболизироваться в организме человека и животных. Они обладают способностью стабилизировать уровень pH, а также взаимодействовать с гидроксильными радикалами, супероксидами и гипохлоритами, что приводит к их неактивности. Карнозин также регулирует поведенческие реакции благодаря своим антиоксидантным свойствам.

Витамин Е (α -токоферол), самый распространенный антиоксидант в природе, представляет собой липофильную молекулу, способную нейтрализовать свободные радикалы прямо в гидрофобном слое мембран, что помогает предотвращать цепные реакции окисления. Существует восемь разновидностей токоферолов, но наиболее активным является α -токоферол. Витамин Е передает водородный атом свободному радикалу пероксида липида ($\text{ROO}\cdot$), восстанавливая его до гидропероксида (ROOH) и таким образом

прерывает цепную реакцию. Образовавшийся свободный радикал витамина Е остается стабильным и не способен продолжать реакцию. Напротив, этот радикал взаимодействует непосредственно с радикалами липидных пероксидов, восстанавливая их, а сам при этом превращается в стабильную окисленную форму – токоферолхинон.

Витамин С (аскорбиновая кислота), также являющийся антиоксидантом, участвует в ингибировании цепных реакций окисления с помощью двух различных механизмов. Прежде всего, витамин С восстанавливает окисленную форму витамина Е, обеспечивая необходимый уровень этого антиоксиданта непосредственно в клеточных мембранах. Кроме того, витамин С, как водорастворимый витамин и мощный антиоксидант, взаимодействует с активными формами кислорода, такими как H_2O_2 , $OH\cdot$ и инактивирует их.

Бета-каротин, который является предшественником витамина А, обладает антиоксидантным эффектом и способен ингибировать перекисное окисление липидов. Исследования показывают, что растительное питание, богатое витаминами Е и С, каротиноидами, значительно снижает риск развития атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний, предотвращает развитие катаракты – изменения прозрачности хрусталика глаза, и обладает антиканцерогенным действием. Существует множество доказательств в пользу того, что положительное воздействие этих пищевых компонентов связано с ингибированием перекисного окисления липидов и других молекул, что, в свою очередь, поддерживает нормальную структуру клеток. Эффекты антиоксидантных ферментов (например, супероксиддисмутазы, каталазы), ряда натуральных препаратов (как, например, препараты Кампо) и синтетических агентов (например, стобадин, нитрозопин, ингибиторы АПФ) указывают на то, что гладкомышечные ткани представляют ценные модели для изучения действия антиоксидантов и медикаментозного вмешательства при повреждениях, вызванных антиоксидантами [7].

Эпителиальные клетки кишечника являются первым барьером защиты от кишечных микробов, который включает секрецию различных антимикробных веществ. АФК хорошо изучены как часть врожденного фагоцитарного иммунитета, однако их точная роль в противостоянии микроорганизмам в просвете кишечника остается менее понятной. АФК, синтезируемые синтазой (iNOS) и NOX1, играют важную роль в поддержании баланса кишечной микробиоты. Наблюдения в реальном времени ясно показывают высокие уровни АФК в подвздошной кишке обычных здоровых мышей, которые коррелируют с количеством бактерий в кишечнике (рисунок 2). Уровень АФК зависит от активности iNOS и NOX1, которые производят оксид азота и супероксид соответственно, что предположительно приводит к образованию пероксинитрита как эффекторного вещества. В подвздошной кишке мышей с недостаточным уровнем iNOS и NOX1 наблюдается увеличение бактериальной нагрузки, а состав микробиоты становится более похожим на состав слепой кишки.

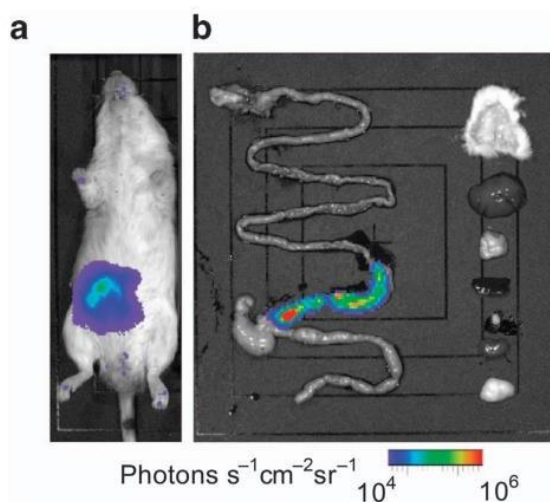


Рисунок 2 – *iNOS*-и *NOX1*- зависимая продукция АФК подвздошной кишки.(a, b)

Эти данные указывают на уникальную роль подвздошной кишки в поддержании баланса кишечной микробиоты за счет выработки АФК, которые могут иметь важное значение для предотвращения рециркуляции из толстой кишки, избыточного размножения бактерий и транслокации. [2]

Вывод. Образование активных форм кислорода (АФК) в клетках играет важную роль во многих биологических процессах, таких как сигнальные пути, антибактериальная защита, физиологический ответ на стресс, регуляция клеточного цикла и многое другое. Митохондрии, как центр энергетического обмена в клетке, являются основным местом образования большинства АФК. Понимание механизмов образования и регуляции АФК в митохондриях имеет большое значение для изучения различных заболеваний, связанных с окислительным стрессом, и разработки новых методов лечения и профилактики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kehrer, J. P. Free radicals as mediators of tissue injury and disease / Kehrer JP // Crit Rev Toxicol. – 1993. – Vol. 23, № 1. – P. 21-48.
2. Matziouridou, C iNOS- and NOX1-dependent ROS production maintains bacterial homeostasis in the ileum of mice / C. Matziouridou [et al.] // Mucosal Immunol. – 2018. – Vol. 1, № 3. – P. 74-784.
3. Колупаев, Ю. Е. Активные формы кислорода и стрессовый сигналинг у растений / Ю. Е. Колупаев, Ю. В. Карпец // Ukrainian biochemical journal. – 2014. – Т. 86, № 4 – С. 18–35.
4. Миронова Г.Д. Использование модуляторов ионных каналов как возможный путь лечения сердечно-сосудистых заболеваний, окислительного стресса и нейродегенеративных нарушений / Г. Д. Миронова // Патогенез. – 2011. – Т.9, № 3. – С. 47.
5. Новиков, В.Е., Ковалёва Л.А. Влияние веществ с ноотропной активностью на окислительное фосфорилирование в митохондриях мозга при острой

черепно-мозговой травме / В. Е. Новиков, Л. А. Ковалёва // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1997. – Т. 60, № 1. – С. 59-61.

6. Новиков, В.Е. Влияние ноотропов на функцию митохондрий мозга в динамике черепно-мозговой травмы в возрастном аспекте / В. Е. Новиков, Л. А. Ковалёва // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1998. – Т.61, №2. – С. 65–68.

7. Новиков, В.Е. Аминотиоловые антигипоксантаы при травматическом отеке головного мозга / В. Е. Новиков, Н. С. Понамарева, П. Д. Шабанов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – Смоленск – СПб.: Элби-СПб, 2008. – 176 с.

8. Пожилова, Е.В. Активные формы кислорода в физиологии и патологии клетки / Е. В. Пожилова, В. Е. Новиков, О. С. Левченкова // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2015. – Т. 14, № 2. – С. 13–22.

СЕКЦИЯ 1. ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ

УЧАСТИЕ ЛАКТАТА ЭРИТРОЦИТОВ В АДАПТАЦИИ К ГИПОКСИИ НАГРУЗКИ

Акулич Н.В.¹, Медянцева Н.Б.¹, Зинчук В.В.²

¹ ГУ «Республиканский научно-практический центр спорта», Минск

² УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Оценка физической работоспособности при помощи нагрузочного тестирования является методом текущего и этапного контроля спортсменов. Принято считать, что одной из основных причин развития утомления в работающих мышцах является снижение рН внутренней среды организма, а косвенным доказательством этого является рост концентрации лактата (La^-). Изменение концентрации La^- наряду с оценкой выдыхаемого воздуха применяется для определения зоны интенсивности тренировочных нагрузок [1], а концентрация лактата в сыворотке крови может использоваться для определения тренированности спортсмена [2, 3].

Считается, что при преобладании аэробного способа энергообеспечения (например, в аэробном режиме) концентрация лактата в цельной крови не высокая [1, 6], и наоборот – при высокоинтенсивной (гликолитический режим работы спортсмена).

С другой стороны, практически нет данных, касающихся влияния интенсивности гликолиза в эритроцитах на работоспособность спортсмена. Показано [4], что при заражении эритроцитов малярийным паразитом *Plasmodium falciparum* скорость гликолиза эритроцитов увеличивается до 100 раз, приводя к ацидозу, влияя на сродство гемоглобина к кислороду.

Цель работы является оценка роли лактата эритроцитов в адаптации спортсменов к гипоксии нагрузки.

Материалы и методы. Тестирование общей физической работоспособности спортсменов ($n=22$) национальных команд проводилось при выполнении велоэргометрической нагрузки «до отказа» со ступенчатым повышением ее мощности каждую минуту с 50 Вт, при скорости педалирования 60-65 об/мин.

Забор капиллярной крови из дистальной фаланги пальца для определения лактата крови производился гепаринизированными капиллярами на каждой ступени нагрузочного тестирования и на третьей и восьмой минутах восстановления после проведения тестирования. Концентрация лактата в капиллярной крови и в эритроцитах измерялась электрохимическим методом с использованием анализатора лактата BIOSEN (Германия). Группы (1-ая (7 спортсменов), 2-ая (7 спортсменов) и 3-я (8 спортсменов) разделялись по

концентрации La^- на пике выполняемой нагрузки (Max La^-): 1 – до 8, 2-я – 8-11 и 3-я – более 12 ммоль/л). Для оценки полученных данных использовали однофакторный дисперсионный анализ с использованием программного обеспечения «JASP», версия 0.18.3.0.

Результаты и обсуждение. Результаты тестирования показали, что до тестирования в эритроцитах и цельной крови различий не зарегистрировано, концентрация лактата не превышала 3 ммоль/л. У всех спортсменов наблюдался биэкспоненциальный рост концентрации лактата капиллярной крови в зависимости от выполняемой нагрузки. В первой группе концентрация La^- на пике нагрузки составила $7,75 \pm 0,54$, во второй – $11,96 \pm 1,01$, а в третьей – $15,18 \pm 0,66$ ммоль/л, $p < 0,05$. Прямо пропорциональная $r = 0,91$, $p < 0,05$ корреляционная связь выявлена между мощностью на пике нагрузки и концентрацией лактата.

Выполнение нагрузки «до отказа» сопровождалось ростом частоты сердечных сокращений. Наиболее выраженный прирост выявлен во второй группе $191,35 \pm 10,14$ уд/мин. Спортсмены третьей группы, несмотря на большую мощность выполняемой нагрузки (более 450 Вт), характеризовались меньшей максимальной частотой сердечных сокращений, которая не достигала 180 ударов в минуту.

Анализ концентрации лактата эритроцитов в группах наблюдения показал, что наибольшая концентрация La^- в цельной крови выявлялась во второй группе наблюдения, а наименьшая – в первой (рисунок).

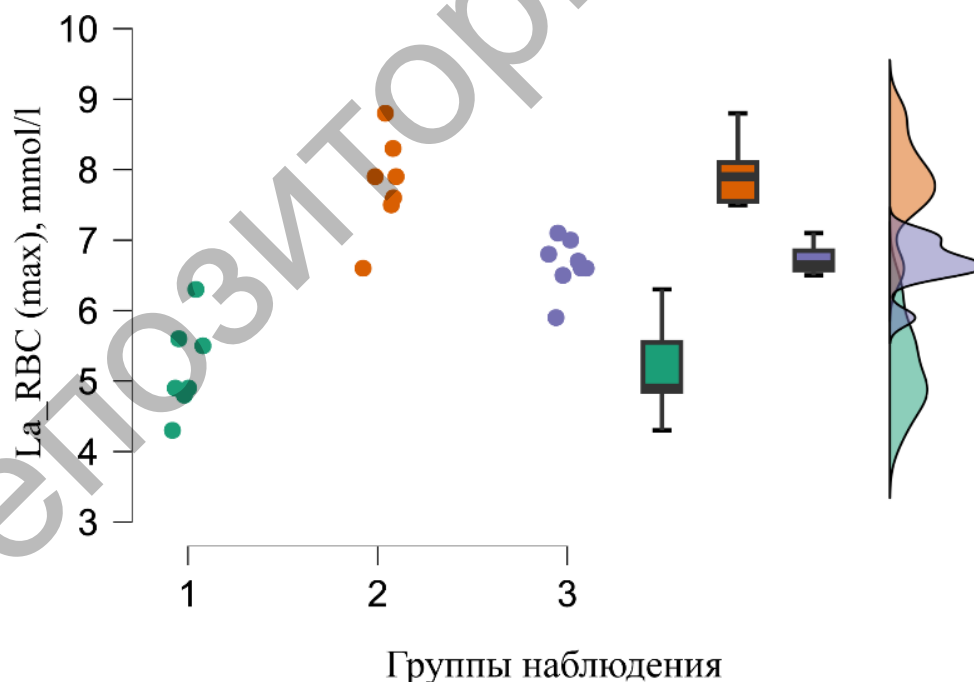


Рисунок - Концентрация лактата в эритроцитах спортсменов

Проведенный дисперсионный анализ выявил статистически значимые различия между группами (таблица 1).

Таблица 1 – Дисперсионный анализ концентрации лактата в эритроцитах спортсменов

Группы наблюдения	df	Mean Square	F	p
Max La ⁻ (1-3)	2	1.48	43.97	< .001
Остатки	19	0.03		

Ранее в работе [5] показано, что распределение лактата между плазмой и эритроцитами подчиняется уравнению Доннана и концентрация La⁻ пропорционально реагирует на изменение рСО₂ и рО₂. Из данных, представленных на рисунке следует, что лактат эритроцитов не зависит от La⁻ цельной крови.

Следовательно, его концентрация в красных кровяных тельцах – это не результат процессов транспорта La⁻ из внутренней среды организма в клетки вследствие градиента концентрации. Можно предположить, что внутриклеточная (в частности, внутриэритроцитарная) концентрация лактата, одной стороны, является результатом поддержания клеточного гомеостаза, а, с другой – возможным фактором, влияющим на концентрацию La⁻ в эритроцитах, является разная активность буферных и других функциональных систем организма.

Выводы

Впервые проведен анализ лактата цельной крови и эритроцитов спортсменов при выполнении ими нагрузочного тестирования. Установлено, что рост мощности выполняемой нагрузки обеспечивается за счет активации гликолитической системы энергообеспечения, при этом в красных кровяных тельцах доминируют внутриэритроцитарные процессы поддержания гомеостаза, на фоне которых эритроциты принимают участие в адаптации спортсменов к гипоксии нагрузки.

Рост внутриэритроцитарной концентрации La⁻ в условиях гипоксии нагрузки обеспечивается за счет собственных механизмов, что подтверждается отсутствием связи между концентрацией лактата в плазме и эритроцитах в группах наблюдения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Blood Lactate Measurements and Analysis during Exercise: A Guide for Clinicians / M.L. Goodwin [et al] // J Diabetes Sci Technol. – 2007. – Т. 1, № 4. – P. 558-569.
2. Lactate influx into red blood cells of athletic and nonathletic species / M.S. Skelton [et al.] // American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. – 1995. – Vol. 268, № 5. – P. R1121-R1128.
3. Lactate influx into red blood cells from trained and untrained human subjects: / M.S. Skelton [et al.] // Medicine & Science in Sports & Exercise. – 1998. – Vol. 30, № 4. – P. 536-542.
4. Modeling of the Glycolysis Pathway in Plasmodium falciparum using Petri Nets / J. Oyelade [et al.] // Bioinform Biol Insights. – 2016. – Т. 10 – С. 49-57.

5. A mathematical model for lactate transport to red blood cells / P. Wahl [et al.] // J Physiol Sci. – 2011. – Vol. 61, № 2. – P. 93-102.

НОВЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Аль-Джебур Д.Ш.О.¹, Зинчук В.В.², Подопригора М.В.²,
Глуткина Н.В.²

¹УО «Гродненский государственный университет им. Янки Купалы»

²УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Частота случаев возникновения сахарного диабета 2 типа (СД2Т) и его осложнений неуклонно растет, особенно среди взрослого трудоспособного населения, что влечет за собой социально-экономические потери. По прогнозам ВОЗ, к 2030 г. более 40% населения всех стран будет иметь избыточный вес, что является основным фактором риска развития инсулинорезистентности (ИР), ведущей к развитию гипергликемии и СД2Т, нарушению функций сердечно-сосудистой системы, почек и зрения [1].

Резистентность к инсулину, а также нарушение функции β -клеток поджелудочной железы являются основной причиной СД2Т. Ее выраженность коррелирует с центральным ожирением, нарушением липидного обмена и гипертензией, метаболическим синдром, приводит к тяжелому атеросклерозу, в связи с чем важно оценить ее степень у пациентов с ожирением и СД2Т для улучшения медикаментозного лечения. Относительно недавно открыт новый гормон из группы адипокинов аспросин, который является регулятором важнейших реакций организма на непродолжительное голодание, усиливает аппетит, регулирует работу печени, высвобождает из нее глюкозу и повышает ее уровень в плазме [6]. Аспросин проникает через гематоэнцефалический барьер и оказывает влияние на центральную нервную систему: активирует нейроны агути-родственного пептида (AgRP) в дугообразном ядре гипоталамуса посредством связывания с рецептором протеинтирозинфосфатазы δ (Ptp δ), увеличивая аппетит и потребление пищи [4]. В наших предыдущих исследованиях было показано значение аспросина при избыточной массе тела и при ИР для формирования кислородсвязующих свойств крови и развития возникающего метаболического дисбаланса [2, 3].

Известны различные методы оценки нарушений углеводного обмена. Широко распространен метод расчета индекса HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance), который основан на определении концентраций инсулина и глюкозы натощак. Хотя данный параметр HOMA-IR относительно легко рассчитывается, но существуют определенные ограничения в его использовании, особенно у пациентов с гипергликемией натощак. В частности, показано низкая корреляция HOMA-IR с M-значением при СД2Т у пациентов с умеренной гипергликемией [5]. Так как данный метод имеет

определенные недостатки, это предопределяет интерес к поиску других альтернативных методов оценки ИР.

Цель. Разработка нового подхода к оценке инсулинорезистентности.

Материалы и методы исследования. Исследования были проведены на лицах мужского пола в возрастном диапазоне 45-60 лет с различной массой тела (100 исследуемых). Проводили исследование в следующих группах: здоровые, при ИР с нормальной и избыточной массой тела, при СД2Т с нормальной и избыточной массой тела.

Производился забор венозной крови из локтевой вены. В полученных образцах плазмы крови определяли концентрацию аспросина методом иммуноферментного анализа при помощи тест-системы «ELISA Kit For Asprosin» (Biobase, China), а также концентрацию инсулина. Концентрацию глюкозы и гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) определяли спектрофотометрическим методом на анализаторе COBAS 111 (ROCHE). Для оценки ИР использовался индекс HOMA-IR, который рассчитывался по формуле: $\text{HOMA-IR} = \text{инсулин натощак (мкЕд/мл)} \times \text{глюкоза натощак (ммоль/л)} / 22,5$.

Для анализа данных использовалась непараметрическая статистика с применением программы “Statistica 10.0”. Все показатели проверяли на соответствие признака закону нормального распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. Для выявления взаимосвязи между исследуемыми параметрами использовали корреляционный анализ.

Результаты и обсуждение. Данные пациенты характеризовались значительными нарушениями показателей углеводного обмена в сравнении со здоровыми. Отмечалось повышенное содержание инсулина, гликированного гемоглобина у них и более высокое значение индекса ИР по HOMA-IR. Согласно проведенным расчетам по определению индекса ИР по стандартной методике (HOMA-IR) были получены следующие его значения: у здоровых – 2,4 (1,09; 1,41), при нарушениях углеводного обмена (при ИР) с нормальной – 2,81 (2,63; 3,33), $p < 0,05$, и избыточной массой тела – 5,35 (4,98; 6,06), $p < 0,05$, при СД2Т с нормальной – 7,13 (6,18; 7,68), $p < 0,05$, и избыточной массой тела – 9,31 (8,18; 10,40), $p < 0,05$.

ИР представляет собой эволюционно выработанный защитный механизм, препятствующий избыточному усвоению пищевых компонентов, при котором в митохондриях из-за переизбытка глюкозы – субстрата, доступного для производства АТФ, образуется избыточная продукция активных форм кислорода, негативно воздействующих на внутриклеточную трансдукцию сигнала. При ИР, связанной с ожирением, содержание адипонектина снижается, что ведет к активации сигнальных путей, регулирующих метаболизм, но вопрос о влиянии инсулина на синтез и секрецию адипонектина а также взаимосвязь между адипонектиновой системой и ИР в современной литературе изучен недостаточно. При ИР при нормальном ИМТ его величина равнялась 20,95 (18,87; 25,11) пмоль/л, $p < 0,05$, что выше, чем у здоровых, а при избыточной массе тела 40,26 (37,36; 41,26) пмоль/л, $p < 0,05$. У лиц с СД2Т при нормальном ИМТ его значение составляло 52,8 (50,3; 54,9) пмоль/л, $p < 0,05$, что было

значительно выше, чем у здоровых. У пациентов с данной патологией при избыточной массе тела этот параметр был выше (83,6 (79,9; 87,2) пмоль/л, $p < 0,05$).

Известен способ расчета индекса HOMA-AD, основанный на определении уровня инсулина и глюкозы, а также адипонектина натощак, который с последующим расчетом его значение по следующей формуле: $\text{инсулин (мкЕд/мл)} \times \text{глюкоза (мг/дл)} / \text{адипонектин (мг/мл)}$ [5]. Однако, он также имеет определенные ограничения в своем использовании, требует определение сложных параметров, трудоемок.

Нами предлагается рассчитывать индекс ИР (HOMA-AS), на основании определения концентрации инсулина, глюкозы и аспросина в плазме крови с последующим расчетом его величины по формуле: $\text{HOMA-AS} = [\text{инсулин (мкЕд/мл)} \cdot \text{глюкоза (ммоль/л)} \cdot \text{аспросин (пмоль/л)}] / 225$.

Согласно проведенным расчетам по определению индекса ИР по предлагаемой методике были получены следующие его значения: в контроле 1,06 (0,92; 1,22), при нарушениях углеводного обмена (ИР) с нормальной – 6,23 (5,44; 6,97) и избыточной массой тела – 21,92 (19,92; 23,88), а при СД2Т с нормальной – 36,70 (34,13; 40,03) и избыточной массой тела – 76,95 (65,69; 90,63). В сравнении с данными стандартной методики изменение предлагаемого показателя достаточно сильно коррелирует между собой, что подтверждается соответствующими коэффициентами корреляции.

Выводы. Таким образом, предлагаемый способ позволяет определять выраженность нарушений углеводного обмена, а именно, ИР, и может быть использован для оценки ее степени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воротников, А. В. Сигнализация и генная экспрессия в скелетной мышце при диабете 2 типа: текущие результаты и перспективы широкозахватных подходов / А. В. Воротников, Д. В. Попов, П. А. Махновский // Биохимия. – 2022. – Т. 87, № 9. – С. 1260-1276.
2. Зинчук, В. В. Кислородсвязывающие свойства крови при инсулинорезистентности с различным содержанием аспросина / В. В. Зинчук, Д. Ш. О. Аль-Джебур, Н. В. Глуткина // Биомедицинская химия. – 2023. – Т. 69, № 2. – С. 133-139.
3. Зинчук, В. В. Роль аспросина в регуляции механизмов транспорта кислорода кровью и системы газотрансмиттеров у мужчин с различным индексом массы тела / В. В. Зинчук, Д. Ш. О. Аль-Джебур, Н. В. Глуткина // Физиология человека. – 2023. – Т. 49, № 4. – С. 101-107.
4. Asprosin promotes feeding through SK channel-dependent activation of AgRP neurons / B. Feng [et al.] // Sci Adv. – 2023. – Vol. 9, № 8. – P. 1-14.
5. A novel index of insulin resistance determined from the homeostasis model assessment index and adiponectin levels in Japanese subjects / M. Matsuhisa [et al.] // Diabetes Res Clin Pract. – 2007. – Vol. 77, № 1. – P. 151-154.
6. Asprosin, a fasting-induced glucogenic protein hormone / C. Romere [et al.] // Cell. – 2016. – Vol. 165, № 3. – P. 566-579.

МИНОРНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА ПИЩИ - МОДУЛЯТОРЫ РЕДОКС-ЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ NRF2/KEAP1/ARE

Балакина А.С.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и
безопасности пищи», Москва, Российская Федерация*

Актуальность. Сигнальный путь Nrf2/Keap1/ARE является защитной системой клетки от повреждающего действия экзогенных и эндогенных факторов. В физиологических условиях Keap1 считается негативным регуляторным адаптером транскрипционного фактора Nrf2. При воздействии электрофилов или окислительном стрессе Keap1 модифицируется с высвобождением Nrf2 и прекращается его деградация. Накопленный Nrf2 переносится в ядро и связывается с белком ARE (антиоксидант-чувствительный элемент) для инициации транскрипции генов-мишеней (NAD(P)H-хиноноксидоредуктаза (XР) и гемоксигеназа-1 (ГО-1)) [3].

Согласно литературным данным к наиболее изучаемым и постоянно используемым в питании современного человека БАВ пищи относят флавоноиды: кверцетин, рутин, гесперидин, эпигаллокатехин-3-галлат, а так же ресвератрол, куркумин и индол-3-карбинол [1,2]. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* показано, что природные полифенолы и индолы, ингибируя выработку активных форм кислорода, играют значительную роль в регуляции сигнального пути Nrf2/Keap1/ARE. Изучение регуляторных эффектов БАВ на молекулярные механизмы системы антиоксидантной защиты является актуальной задачей и расширяет перспективы в профилактике неинфекционных заболеваний и поддержания здоровья.

Цель. Изучить раздельное и комбинированное влияние минорных БАВ пищи на экспрессию транскрипционного фактора Nrf2 и Nrf2-регулируемых ферментов в печени здоровых интактных животных и на модели окислительного стресса.

Материалы и методы. На интактных животных было проведено 4 эксперимента по 32 крысы самца Вистар. В течение 14 дней в модифицированный AIN93M отдельно и в комбинации включали:

1. рутин и гесперидин в количестве, обеспечивающем дозу 400 мг/кг массы тела (м.т.);
2. кверцетин и ресвератрол - 100 мг/кг м.т.;
3. куркумин и кверцетин - 200 мг/кг м.т.;
4. индол-3-карбинол и эпигаллокатехингаллат - 50 мг/кг м.т. и 200 мг/кг м.т., соответственно.

На модели окислительного стресса было проведено 2 эксперимента по 40 самцов Вистар. В течение 14 дней в рацион включали:

1. рутин и гесперидин - 400 мг/кг м.т.;
2. куркумин и кверцетин - 200 мг/кг м.т.

За сутки до выведения из эксперимента, крысам вводили внутривентриально 25% или 50%-й раствор CCl_4 в оливковом масле, контрольной группе – оливковое масло. Исследования на животных одобрены Этическим комитетом «ФИЦ питания и биотехнологии» и выполнены в соответствии с требованиями ГОСТ Р 33647-2015 и ГОСТ Р 33216-2014.

Для оценки антиоксидантного статуса животных изучали активность ферментов ГО-1 и ХР спектрофотометрическими методами, уровень экспрессии белка этих ферментов и транскрипционного фактора Nrf2 методом Вестерн блоттинг и уровень экспрессии генов ферментов ХР (*NQO1*) и ГО-1 (*Hmox1*) и транскрипционного фактора Nrf2 (*Nrf2*) методом ПЦР-РТ.

Результаты. Результаты, полученные в экспериментах на интактных животных:

1. Рутин в составе рациона приводит к значимому повышению в печени активности изученных антиоксидантных ферментов (ГО-1 на 28% и ХР на 61%) и разнонаправленному влиянию на экспрессию генов ферментов: возрастание *Hmox1* на 35% и снижение *NQO1* 35%, с одновременным снижением *Nrf2* на 27%. Комбинация рутина и гесперицина обладает синергетическим эффектом в 2,2 раза на экспрессию белка ГО-1, что сопровождается усилением экспрессии *Nrf2* и количества его белка в цитозольной фракции.

2. Совместное включение в рацион кверцетина и ресвератрола приводит к достоверному снижению уровня *Nrf2* в ядерной фракции (на 38%) и возрастанию в цитозольной и, как следствие, к увеличению экспрессии гена *Nrf2* (на 20%). В то же время, у крыс в этой группе обнаруживали резкое 4х кратное возрастание экспрессии белка ХР.

3. В микросомах печени в группе животных, получавших совместно куркумин и кверцетин с рационом, обнаружено возрастание только активности ГО-1 на 33%.

4. Обогащение рациона индол-3-карбинолом или эпигаллокатехингаллатом оказывают ингибирующее влияние на экспрессию генов *Hmox1* и *Nrf2* в печени крыс. Наряду с этим, комплексное включение в рацион изученных БАВ повышает активность ГО-1 на 29% и экспрессию *Nrf2* до уровня контроля.

Результаты, полученные в экспериментах на модели острого токсического действия четыреххлористого углерода (CCl_4):

1. Однократное внутривентриальное введение CCl_4 вызывает в печени крыс существенное снижение белка ХР и экспрессии её гена, а также достоверное возрастание активности ГО-1, экспрессии белка и гена.

2. В печени крыс рутин приводит к возрастанию экспрессии *Hmox1* на 80%, а гесперидин – активности ГО-1 на 95%, комбинация этих БАВ приводит к двукратному возрастанию и активности ГО-1, и экспрессии её гена. В группах животных, получавших рутин и/или гесперидин, было обнаружено возрастание в 1,5 и 2,5 раза экспрессии гена *NQO1*, соответственно. Таким образом, окислительный стресс, индуцированный четыреххлористым углеродом, достоверно снижается при включении в рацион рутина и гесперицина.

3. В печени крыс показана способность куркумина и кверцетина к подавлению острого токсического действия CCl_4 , путем снижения выраженности индукции активности ГО-1, экспрессии ее белка и гена. Наиболее выраженный эффект наблюдали в группе при совместном включении флавоноидов, также в этой группе было обнаружено возрастание в 3.6 раз экспрессии *NQO1*.

Выводы. Таким образом, минорные БАВ пищи полифенольной и индольной природы оказывают модулирующее влияние на систему антиоксидантной защиты организма на транскриптомном, протеомном и метаболомном уровнях регуляции, причем эффективность комбинированного действия БАВ в значительной степени превышает их индивидуальны́е свойства.

ЛИТЕРАТУРА

1 Попова, А.Ю. О новых (2021) Нормах физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации / А.Ю. Попова, В.А. Тутельян, Д.Б. Никитюк // Вопросы питания. – 2021. – Т 90, № 4. – С. 6-19.

2 Нутриом как направление "главного удара": определение физиологических потребностей в макро- и микронутриентах, минорных биологически активных веществах пищи / В.А. Тутельян [и др.] // Вопросы питания. – 2020. – Т 89, № 4. – С. 24–34.

3 Recent Advances of Natural Polyphenols Activators for Keap1-Nrf2 Signaling Pathway / Y. Zhou [et al.] // Chem. Biodivers. – 2019. – Vol. 16, N 11. – Article number e1900400.

Научно-исследовательская работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания FGMF-2022-0003.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КАПСАИЦИНОИДОВ И ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ У КРЫС, ПОЛУЧАЮЩИХ ВЫСОКОКАЛОРИЙНЫЙ РАЦИОН, НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ЛИПОГЕНЕЗА DE NOVO

Балакина А.С., Трусов Н.В.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и
безопасности пищи», Москва, Российская Федерация*

Актуальность. Глобальная распространенность избыточного веса и ожирения продолжает расти и остается одной из главных причин смертности во всем мире [3]. В последние годы большое внимание привлекли пищевые антиоксиданты, которые содержатся в большом количестве в продуктах растительного происхождения, особенно во фруктах и овощах [2]. Такими соединениями являются капсаициноиды - природные активные компоненты перца чили. Литературные данные свидетельствуют о том, что капсаициноиды эффективны при развитии ожирения, снижают прибавку массы тела, накопление липидов в печени и резистентность к инсулину, влияют на состав микробиоты кишечника [1,4].

Целью настоящего исследования являлось изучить влияние капсаициноидов и умеренной физической нагрузки у крыс, получающих высококалорийный холинодефицитный рацион, на экспрессию генов липогенеза *de novo*.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проводили на крысах самцах линии Вистар с исходной массой тела 300 г. Животных разделяли на 6 групп по 10 особей в каждой. 1-я группа - **парный контроль** - получали полусинтетический модифицированный AIN93M в количестве, равном по весу среднему потреблению во 2-й группе животных; содержание жира в рационе составляло 9% от общей энергетической ценности. 2-я группа - **высококалорийный холинодефицитный рацион (ВКХДР)** - полусинтетический модифицированный AIN93M с увеличенным содержанием жира (лярд) до 45%, добавлением 20% фруктозы от общей калорийности и исключением холина в рационе. 3-я группа - **ВКХДР+Капсаициноиды (КАП)** – животные получали ВКХДР и КАП (Hunan Insen Biotech Co., Ltd., КНР) в дозе 15 мг/кг м.т. внутрижелудочно в виде раствора в подсолнечном масле 3 раза в неделю (пн, ср, пятн.). 4-я группа – **парный контроль+Физическая нагрузка (ФН)** - крысы занимались на беговой дорожке 3 раза в неделю (пн, ср., пятн.): угол 10^0 , скорость 15 см/с в течение 12 мин; с постепенным увеличением длительности до 18 мин и скорости до 21 см/с. 5-я группа - **ВКХДР+ФН** – животные получали ВКХДР и ФН. 6-я группа – **ВКХДР+КАП+ФН** - крысы получали ВКХДР и КАП за 30 минут до ФН. Потребность ВКХДР составляла – 20 г сухого корма/крыса/сутки, питье – *ad libitum*. В помещениях вивария соблюдались условия окружающей среды: температура 21-24°C, относительная влажность 30-60%, цикл освещения день/ночь - 12/12 ч.

Экспрессию генов оценивали методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ПЦР-ОТ). Из ткани печени выделяли общую РНК с использованием ExtractRNA (Евроген, Россия), синтез комплементарной ДНК - MMLV RT kit (Евроген, Россия). Реакционная смесь для ПЦР общим объемом 25 мкл содержала 2,5 мкл кДНК (разведение 1:10), полученной в реакции обратной транскрипции из 2 мкг тотальной РНК, 2,5 мкл 10x Taq Turbo буфера для HS Taq ДНК-полимеразы (с 2,5 mM MgCl₂) (Евроген, Россия), 1 мкл (F+R) праймеров (10 мкМ) (ООО "ДНК Синтез", Россия), 0,5 мкл зонда FAM (10 мкМ) (ООО "ДНК Синтез", Россия), 1,0 мкл смеси dNTPs (10 mM) (Евроген, Россия), 0,25 мкл HS Taq ДНК-полимеразы (5 ед/мл) (Евроген, Россия), 17,25 мкл воды без нуклеаз (Евроген, Россия). Амплификацию проводили на приборе CFX 96 (Bio-Rad, США). Экспрессию генов оценивали по значению порогового цикла и нормализовали относительно референсного гена *Actb* методом $2^{-\Delta\Delta C_t}$. Для установления статистически значимых различий ($p < 0,05$) между группами животных применяли тест Kruskal-Wallis и, в качестве *post hoc* теста, критерия множественного сравнения Dunn.

Результаты и обсуждение. Увеличение доли жиров и простых сахаров в рационе крыс приводило к достоверному увеличению массы тела и относительной массы забрюшинного жира. У животных, получавших ВКХДР и

умеренную ФН на беговой дорожке обнаруживали достоверное снижение массы тела и относительной массы забрюшинного жира, однако включение в рацион крыс КАП независимо от ФН не оказывало влияния на изученные интегральные показатели.

Во 2-й группе крыс, получавших ВКХДР, было обнаружено статистически значимое снижение экспрессии генов липогенеза *de novo*: ацетил-КоА-карбоксилазы (*Acaca*) на 72%, синтазы жирных кислот (*Fasn*) на 64% и стеароил-КоА десатуразы (*Scd*) на 95%. Внутривентрикулярное введение КАП не оказывало влияния на гены ферментов липогенеза при ВКХДР, однако, в этой группе была обнаружена тенденция к возрастанию количества мРНК карнитин-пальмитоилтрансферазы (*Cpt1a*), являющейся лимитирующим звеном β -окисления жирных кислот, на 22% по сравнению со 2-й группой, хотя и статистически незначимая.

Умеренная ФН у крыс, получавших ВКХДР (5-я группа), приводила к 4-х кратному возрастанию экспрессии *Scd* ($p < 0,05$), по сравнению со 2-й группой (ВКХДР без ФН). При этом экспрессия изученных генов ферментов липогенеза *de novo*: *Acaca*, *Fasn* и *Scd* в 5-й группе на 69%, 85% и 83% достоверно снижалась по сравнению с группой контроля, получавшей ФН (4-я группа). Включение в рацион животных КАП не оказывало статистически значимого влияния на выраженность эффектов ВКХДР при ФН.

Выводы. Умеренные физические нагрузки приводят к снижению массы тела и относительной массы забрюшинного жира у крыс, получавших рацион с увеличением доли жиров и простых сахаров. Включение в рацион капсаициноидов в дозировке 15 мг/кг массы тела не влияет на экспрессию генов *de novo* липогенеза у крыс, получавших ВКХДР независимо от интенсивности физической нагрузки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Assessment of pharmacology, safety, and metabolic activity of capsaicin feeding in mice / P. Baskaran [et al.] // Sci. Rep. – 2019. – Vol. 9, No 1. – Article number 8588. doi: 10.1038/s41598-019-45050-0.
2. Eslami, O. Dietary phytochemical index and overweight/obesity in children: a cross-sectional study / O. Eslami, M. Khoshgoo, F. Shidfar // BMC Res. Notes. – 2020. – Vol. 13, No 1. – Article number 132. doi: 10.1186/s13104-020-04979-6.
3. Normal weight obesity and cardiometabolic risk factors: a systematic review and meta-analysis / N. Mohammadian Khonsari [et al.] // Front Endocrinol (Lausanne). – 2022. – Vol. 13. – Article number 857930. doi: 10.3389/fendo.2022.857930.
4. Capsaicin has an anti-obesity effect through alterations in gut microbiota populations and short-chain fatty acid concentrations / Y. Wang [et al.] // Food Nutr. Res. – 2020. – Vol. 64. doi: 10.29219/fnr.v64.3525.

Научно-исследовательская работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания FGMF-2022-0003

ОЦЕНКА ГУМОРАЛЬНОГО И КЛЕТОЧНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У МЫШЕЙ ЛИНИИ BALB/C, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ПРОТИВОКОРОНАВИРУСНОЙ ВАКЦИНОЙ

Бервинова А.В.¹, Замятина А.В.¹, Шипелин В.А.², Мазо В.К.²,
Никитюк Д.Б.²

¹ Филиал Института биоорганической химии им. Шенякина и
Овчинникова РАН, Пущино

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и
безопасности пищи», Москва, Российская Федерация

Актуальность. Для оптимального поддержания иммунной системы человека и повышения его устойчивости к вирусной инфекции важнейшим фактором иммунопрофилактики является эффективная вакцинация. Эффективность вакцинации определяется как качеством применяемой вакцины, так и состоянием иммунной системы вакцинируемого. Пищевая цианобактерия *Arthrospira platensis* (*A. platensis*), является пищевым источником минорных БАВ пищи и прежде всего, фикобилипротеинов С-фикоцианина и аллофикоцианина: комплексами белков, ковалентно связанных тиоидной связью с хромофором фикоцианобилином - нециклическим тетрапирролом. С-фикоцианин и аллофикоцианин обладают широким спектром фармакологической активности, что подтверждается исследованиями их экстрактов *in vitro* и *in vivo* и клиническими наблюдениями. Значительное число токсикологических исследований свидетельствуют об отсутствии рисков здоровью человека при использовании в питании фикоцианин содержащих экстрактов *A. platensis* в дозе до 40 000 мг/кг массы тела в сутки. Установленные адекватный и верхний допустимый уровни содержания фикоцианинов в составе специализированных пищевых продуктов и БАД к пище являются безопасными для человека. Иммуномодулирующие свойства (влияние на врожденный и специфический иммунитет) биомассы *A. platensis* и *Arthrospira maxima* (*A. maxima*) и их экстрактов, содержащих фикоцианины, на протяжении ряда лет являются предметом тестирований *in vitro*, *in vivo* и в клинических исследованиях. В рамках выполнения исследований по проекту «Пищевые ингредиенты, повышающие эффективность вакцинации против коронавирусной инфекции: технология, доклиническая оценка *in vivo*» сотрудниками ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» разработаны и модифицированы технологические подходы к получению концентратов фикобилипротеинов *A. Platensis*. Обоснование с позиций доказательной медицины возможного использования полученных концентратов в качестве пищевых ингредиентов, повышающих эффективность вакцинации против коронавирусной инфекции, предполагает тестирование их иммуномодулирующих свойств *in vivo* с использованием соответствующей верифицированной модели.

Цель данного исследования изучить влияние модельной иммунизации противокоронавирусной вакциной Гам-КОВИД-Вак на интегральные показатели и состояние гуморального и клеточного звеньев иммунной системы лабораторных грызунов-мышей линии BALB/c.

Материалы и методы. Исследования выполнены на SPF (свободные от патогенной флоры) животных на базе лаборатории биологических испытаний филиала ИБХ РАН, которая включена в программу государственной инспекции Росаккредитацией на соответствие принципам надлежащей лабораторной практики. Исследование было выполнено в соответствии с международными биоэтическими правилами (протокол этической комиссии ИБХ РАН № 939/23 от 23.06.2023). В качестве тест-системы в исследовании были использованы мыши линии BALB/c по 6 в контрольной и опытной группах. Комбинированную векторную вакцину Гам-КОВИД-Вак для профилактики коронавирусной инфекции вводили двукратно животным опытной группы (0-й и 21-й день исследования) внутримышечно по 50 мкл в каждую четырехглавую мышцу бедра. Всех животных осматривали после первого введения вакцины и далее ежедневно для своевременного выявления отклонений после иммунизации. Массу тела и потребление корма регистрировали также еженедельно в течение всего исследования.

Результаты и обсуждение. Введение вакцины не повлияло на прирост массы тела животных. На протяжении всего исследования ни у одного животного как контрольной, так и опытной группы не наблюдалось клинических отклонений в состоянии здоровья, связанных с введением противокоронавирусной вакцины. В ходе прижизненной фазы исследования у животных собирали образцы крови в объеме 100 мкл для получения сыворотки с последующим проведением иммуноферментного анализа на 20-й, 28-й и 35-й дни исследования с целью определения специфических иммуноглобулинов класса G (IgG) к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S (spike) коронавируса SARS-CoV-2.

Через 20 день после введения первого компонента вакцины титр специфических IgG составил в среднем 1/2000 у всех иммунизированных животных опытной группы. Через 14 дней (на 35-й день) после второй иммунизации титры специфических антител в крови животных опытной группы составляли 1/60000. Для оценки клеточного иммунного ответа (иммунофенотипирование лимфоцитов) образцы цельной крови собирали за день до введения первого компонента, через 48 часов после введения первого компонента вакцины (21-й день), и через 24 часа после введения 2-го компонента (22-й день). Методом проточной цитометрии получены данные о процентном содержании В-клеток (CD19-ER780), NK-клеток (CD335-APC), общем содержании Т-клеток (меченых антителами к CD3, содержащими флуорофор PE), Т-helper (в популяции CD3 меченные CD4-PerCP/Cy5.5) и Т-killer (в популяции CD3 меченные CD8a-PE/Cy7). Данные определены в популяции лейкоцитов (CD45-FITC).

По результатам анализа Т-клеток определено значение иммунорегуляторного индекса. Все статистически значимые изменения были

обнаружены относительно животных контрольной группы на 2-й день исследования. На 22-й день исследования в опытной группе (двукратная иммунизация противокоронавирусной вакциной) концентрация В-клеток и NK-клеток была статистически снижена на 52,5% и 56,7% относительно их содержания в крови интактных животных.

Выводы. Двукратное внутримышечное введение противокоронавирусной вакцины мышам линии BALB/c, не влияя на состояние здоровья животных, вызвало гуморальный ответ специфических IgG к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S (spike) коронавируса SARS-CoV-2, стимулируя функции клеточного звена иммунитета.

Заключение. Иммунизация противокоронавирусной вакциной Гам-КОВИД-ВАК лабораторных грызунов мышей линии BALB/c может быть эффективно использована для доклинической оценки иммуномодулирующих свойств концентратов фикоцианина *Arthrospira platensis*.

Финансирование. Исследование проведено за счет средств гранта РФФ № 22-16-00006.

НАРУШЕНИЯ ХОЛЕСТЕРИНОВОГО И ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У КРЫС-САМЦОВ ЛИНИИ ВИСТАР, ИНДУЦИРОВАННЫЕ ЭКЗОГЕННОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ

Бирюлина Н.А., Сидорова Ю.С., Мазо В.К., Кочеткова А.А.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и
безопасности пищи», Москва, Российская Федерация*

Актуальность. Отвечающая высоким требованиям доказательной медицины доклиническая оценка эффективности специализированной пищевой продукции, предназначенной для диетической профилактики/коррекции нарушений холестеринового обмена, предполагает использование в экспериментах *in vivo* соответствующих верифицированных моделей. Влияние введения повышенных доз экзогенного холестерина в рационы грызунов на показатели холестеринового и липидного обмена исследуется достаточно широко.

Целью данного исследования явились модификация и верификация одной из моделей экзогенной гиперхолестеринемии у крыс-самцов линии Вистар в плане её дальнейшего использования для характеристики гипохолестеринемических свойств разрабатываемого диетического профилактического продукта.

Материалы и методы. Крысы-самцы стока Вистар (n=70) с исходной массой тела 45±5г получены из питомника лабораторных животных Филиал "Столбовая" ФГБУН "Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства". Исследования на животных выполнены в соответствии с требованиями, изложенными в Национальных

стандартах РФ ГОСТ 33647-2015 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и одобрены этическим комитетом ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии». Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды (температура 20-24°C, относительная влажность 30-60%, 12 часовой цикл освещения).

В течение семидневного карантина и последующего двухнедельного содержания в виварии крысы получали стандартный виварный рацион (СВР). На 21 сутки эксперимента каждого животного взвешивали, определяли состав тела и показатели, характеризующие его поведение в тесте «Открытое Поле». На основании полученных результатов крыс рандомизированно разделили на 5 групп: К1 (n=14), Г2 (n=14), Г3 (n=14), Г4 (n=14) и Г5 (n=14). Животные контрольной группы К1 на протяжении всего эксперимента продолжали получать СВР. Вплоть до окончания эксперимента животные группы Г2 стали получать изоазотистый высокожировой высокоуглеводный (ВЖВУ) рацион, где жир составлял 50% по калорийности. Животные групп Г3, Г4 и Г5 стали получать модифицированные ВЖВУ рационы с добавлением 0,5% холестерина, 1% и 2% холестерина соответственно. На протяжении эксперимента контролировали потребление корма, производили взвешивание животных, проводили тест на инсулинорезистентность (на 58 и 85 сутки), изучали состав тела животных (57 и 82 сутки). На 88 сутки животных выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом. После декапитации получали сыворотку крови для общего биохимического анализа крови и извлекали печень, которую лиофилизировали. В сыворотке крови на автоматическом биохимическом анализаторе «Konelab 20i», фирмы «Thermo Scientific» определяли содержание показателей липидного обмена. Методом ИФА анализа в сыворотке крови определяли содержание лептина и грелина. Содержание триглицеридов и холестерина в жире, экстрагированном из печени, определяли спектрофотометрически на автоматическом биохимическом анализаторе Konelab 20i (ThermoScientific, США). Жир экстрагировали из печени по методу Фолча.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программного пакета SPSS Statistics 20 (IBM). Выборка подвергалась проверке на нормальность с использованием критерия Колмогорова–Смирнова при $p=0.05$. Статистические различия между группами оценивали с использованием критерия Тьюки. Вычисляли среднее значение (M) и стандартную ошибку среднего (SEM); данные представлены в виде $M \pm SEM$. Статистически значимыми считали различия при $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение. Общее состояние животных всех групп по внешнему виду и качеству шерстного покрова при ежедневном осмотре на протяжении всего эксперимента было удовлетворительным. Крысы опытных групп, получавшие модифицированные ИВЖВУ рационы, потребляли достоверно меньше корма по сравнению с животными контрольной группы К1, что связано с большей калорийностью этих рационов. При этом потребление энергии животными групп Г2, Г3, Г4, Г5 было достоверно выше по сравнению с контрольной группой К1.

Введение в рацион холестерина в количестве 0,5г/100г и 1г/100г корма, приводило к меньшему потреблению корма и энергии животными. Прирост массы тела животных опытных групп Г2 (ВЖВУ рацион), Г4 (ВЖВУ рацион с добавлением 1% холестерина) и Г5 (ВЖВУ рацион с добавлением 2% холестерина), начиная с 3 недели кормления и до окончания эксперимента, был достоверно выше по сравнению с приростом животных контрольной группы К1. Прирост массы тела животных группы Г5 (ВЖВУ с добавлением 2% холестерина) также был достоверно выше по сравнению с приростом животных группы Г3 (ВЖВУ с добавлением 0,5% холестерина) на 8 и 9 неделе кормления. Прирост массы тела групп Г2, Г4 и Г5 достоверно между группами не отличался на протяжении всего эксперимента.

На момент окончания эксперимента средняя масса тела животных группы К1 (408 ± 15 г) была достоверно ниже средней массы тела крыс группы Г2 (456 ± 14 г) и группы Г5 (448 ± 12 г). Для групп Г3 (426 ± 23 г) и Г4 (440 ± 14 г) различия по средней массе животных недостоверны по сравнению с контрольной группой К1. Средняя масса всех опытных групп (Г2, Г3, Г4, Г5) на протяжении всего эксперимента достоверно между группами не отличалась. Уже на 57 сутки эксперимента состав тела животных всех опытных групп, получавших модифицированные ВЖВУ рационы, изменился достоверно по сравнению с животными контрольной группы К1: процентное содержание жира у этих животных стало достоверно выше, при одновременном достоверном снижении процента мышечной массы тела и общей воды. При этом не было отмечено достоверных отличий между животными опытных групп по данным показателям. На 88 сутки животных выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом.

У животных всех опытных групп выявлено достоверное увеличение общего холестерина по сравнению с контрольной группой. Содержание холестерина в крови животных группы Г5 (2% холестерина) было также достоверно выше по сравнению с группой Г2 (ВЖВУ рацион). Снижение коэффициента де Ритиса и рост в 1,5 раза абсолютного значения АЛТ в крови указывает на повреждения клеток печени животных опытной группы Г5. Для животных группы Г4 и Г5, получавших ВЖВУ рацион с добавлением 1% и 2% холестерина соответственно, установлен достоверный рост уровня лептина по сравнению с животными группы К1. Полученные данные свидетельствуют о развитии тенденции к снижению в крови животных группы Г5 грелина по сравнению с контрольной группой животных К1.

Животные групп Г3, Г4 и Г5, получавшие ВЖВУ рацион с добавлением холестерина, накапливали экстремально высокое количество жира, холестерина и триглицеридов в печени по сравнению с группой контрольных животных К1. Для животных группы Г2, также был характерен рост уровня всех показателей по сравнению с группой К1, однако содержание жира, холестерина и триглицеридов в печени этих животных было достоверно ниже, чем для животных групп Г3, Г4, Г5. Для животных группы Г5, получавших ВЖВУ рацион с добавлением 2% холестерина, содержание жира и холестерина во

влажной ткани печени были достоверно выше по сравнению с животными всех других групп.

Выводы. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что в условиях проведенного эксперимента потребление животными групп ГЗ, Г4 и Г5 высокожирового высокоуглеводного рациона с добавлением холестерина оказывало неблагоприятное влияние на некоторые показатели, характеризующие углеводный, жировой и холестериновый обмен. Увеличилось процентное содержание жира с одновременным снижением мышечной массы тела животных. Крысы накапливали экстремально высокое количество жира, холестерина и триглицеридов в печени. Увеличение на порядок вводимого в состав рациона холестерина для крыс группы Г5 усилило его неблагоприятное действие, увеличив содержание в крови холестерина и содержание жира и холестерина в печени. Снижение коэффициента де Ритиса и рост в 1,5 раза абсолютного значения АЛТ в крови указывает на существенные повреждения клеток печени.

Заключение. Верифицированная в условиях *in vivo* модель нарушений холестеринового и липидного обмена у крыс-самцов Вистар, индуцированных потреблением гиперхолестериновых рационов может быть эффективно использована при тестировании гиполипидемических свойств диетических профилактических продуктов.

Финансирование. Работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания в рамках Программы фундаментальных научных исследований (тема № FGMP-2022-0002).

ИЗМЕНЕНИЯ ПУЛА АМИНОКИСЛОТ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА БЕСПОРОДНЫХ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

**Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Дорошенко Е.М., Смирнов В.Ю.,
Курочкина Е.Д.**

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Аминокислоты (АК) играют важную роль в метаболизме и функционировании головного мозга. Это объясняется не только исключительной ролью аминокислот как источников синтеза большого числа биологически важных соединений (белки, медиаторы, липиды, биологически активные амины).

Цель: Оценить изменения пула аминокислот у крыс с ишемией головного мозга различной степени тяжести.

Эксперименты выполнены на 72 самцах беспородных белых крыс массой 260 ± 20 г с соблюдением требований Директивы Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей.

Моделирование ИГМ осуществляли в условиях внутривенного тиопенталового наркоза (40-50 мг/кг).

В исследованиях использованы модели тотальной (ТИГМ), субтотальной (СИГМ), ступенчатой субтотальной (ССИГМ) и частичной (ЧИГМ) ишемии головного мозга [2].

Частичную ишемию головного мозга (ЧИГМ) моделировали путем перевязки одной ОСА справа.

Ступенчатую субтотальную ИГМ (ССИГМ) осуществляли путем последовательной перевязки обеих ОСА с интервалом 7 суток (подгруппа 1), 3-е суток (подгруппа 2) или 1 сутки (подгруппа 3).

Субтотальную ишемию головного мозга (СИГМ) моделировали путем одномоментной перевязки обеих общих сонных артерий (ОСА).

Тотальную ишемию головного мозга (ТИГМ) моделировали путем декапитации животных.

Взятие материала осуществляли через 1 час после операции.

Для изучения эффектов Омега-3 ПНЖК животным до ИГМ в течение недели внутривенно вводили препарат Омега-3 ПНЖК в дозе 5 г/кг массы тела [1].

Контрольную группу составили ложно оперированные крысы аналогичных пола и веса.

Материалы и методы: После извлечения головного мозга осуществляли забор фрагмента теменной коры и гиппокампа с его последующим замораживанием в жидком азоте [3].

Подготовка пробы для исследования включала гомогенизацию в 10-ти кратном объеме 0,2М хлорной кислоты, центрифугирование в течение 15 мин. при 13000 g при 4°C с последующим отбором супернатанта. Анализ аминокислот проводился методом обращенно-фазной хроматографии с предколоночной дериватизацией о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой в Na-боратном буфере на хроматографе Agilent 1100.

Для предотвращения систематической ошибки измерений образцы головного мозга от сравниваемых контрольной и опытных групп животных изучали в одинаковых условиях.

Результаты и обсуждения. В результате исследований получены количественные непрерывные данные. Так как в эксперименте использованы малые выборки, которые имели ненормальное распределение, анализ проводили методами непараметрической статистики с помощью лицензионной компьютерной программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США). Данные представлены в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана, LQ – значение нижнего квартиля; UQ – значение верхнего квартиля. Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$ (непараметрический тест Геймса-Хоувелла).

При проведении исследований по изучению изменений пула аминокислот (АК) в теменной доле и гиппокампе головного мозга крыс с ишемией различной степени тяжести (частичной (ЧИГМ), субтотальной (СИГМ),

ступенчатой субтотальной (ССИГМ) с различными сроками между перевязками обеих общих сонных артерий, ОСА (1 подгруппа, пг – 7 суток, 2 пг – 3 суток, 3 пг – 1 сутки) и тотальной, ТИГМ) выявлены однотипные изменения (увеличение содержания L-аргинина, а также уменьшение содержания метионина) во всех моделях ишемии головного мозга (ИГМ), за исключением ТИГМ. Наличие этих изменений может являться признаком ишемии головного мозга. Наряду с этим отмечались отличительные изменения, которые могут трактоваться как специфические проявления ИГМ определенной степени тяжести. В частности, только при ЧИГМ отмечался рост содержания глутамата, ГАМК и аспартата. Особенностью изменений при СИГМ явилось увеличение содержания таурина и лизина, и уменьшение содержания цистеата.

При ССИГМ с интервалом между перевязками обеих ОСА 7 суток специфическими проявлениями этого вида ИГМ явилось увеличение содержания валина, лейцина и триптофана. При наиболее тяжелом виде ИГМ – ТИГМ отмечалось увеличение содержания метионина, треонина и триптофана.

Изучение пула аминокислот в теменной доле и гиппокампе крыс с ССИГМ с интервалами между перевязками ОСА 1 сутки и 3 суток не выявило каких-либо специфических изменений и они были схожи с теми, которые отмечались при СИГМ, за исключением увеличения содержания аспарагина и аланина. Изменения пула аминокислот в теменной доле и гиппокампе носили аналогичный характер, за исключением выраженности ряда изменений (при ССИГМ с интервалом между перевязками обеих ОСА 7 суток в ТД происходило более значительное снижение содержания цистеата, а при ЧИГМ – уровня метионина).

Введение омега-3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) в дозе 5 г/кг массы тела в течение недели крысам с СИГМ не оказывало влияния на уровень L-аргинина, метионина, таурина и лизина, изменение которых происходило при СИГМ ($p > 0,05$).

Выводы: Изучение пула аминокислот и биогенных аминов в структурах головного мозга крыс с церебральной ишемией различной степени тяжести выявило наличие однотипных изменений (увеличение содержания L-аргинина, снижение содержания метионина, за исключением ТИГМ), что указывает на наличие ишемических повреждений в головном мозге. Также выявлены специфические изменения для ИГМ различной степени тяжести, которые могут выступать в качестве маркеров тяжести ишемического повреждения. Так, для наиболее тяжелых моделей ИГМ – ТИГМ – характерно увеличение содержания метионина, а для более легких (ЧИГМ и ССИГМ с интервалом между перевязками ОСА 7 суток) – уменьшение содержания аминокислот с разветвленной углеводородной цепью (валина и лейцина) и увеличение содержания триптофана. Особенностью изменений АК пула при СИГМ в теменной доле и гиппокампе явилось увеличение содержания таурина и лизина, и уменьшение содержания цистеата.

Таким образом, выявленные неспецифические и специфические изменения аминокислот могут быть использованы для выявления ИГМ и оценки степени ее тяжести. Определение содержания аминокислот и биогенных

аминов в структурах головного мозга важно для разработки патогенетической нейропротекторной терапии, направленной на нормализацию пула АК

ЛИТЕРАТУРА

1. Бонь Е.И. Аминокислоты головного мозга / Е.И. Бонь, Н.Е. Максимович, Д.Г. Волчкевич, А.Д. Сидоренко // Медицинское образование сегодня. – 2022. – № 4(20). – С. 72-84.

2. Bon E.I. Amino Acid Pool Disorders in Rats in the Hippocampus in Modeling Partial Cerebral Ischemia / E.I. Bon, N. Ye. Maksimovich, Ye.M. Doroshenko, V.Yu. Smirnov, Y. Ye. Razvodovsky, A.M. Portonenko, D.G. Khilkevich // Journal of Biology. – 2023. – Vol. 2, № 1. – P. 1-3.

Bon E.I. Comparative characteristics of the pool of amino acids in partial cerebral ischemia and subtotal cerebral ischemia in outbred white rats / N.Ye. Maksimovich, E.I. Bon, I. K. Dremza, Ye.M. Doroshenko, V.Yu. Smirnov, Yu.Ye. Razvodovsky [et all.] // Clinical Research and Clinical Reports. – Vol. 2, № 2. – P. 1-5.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА ПЛАЗМЫ КРОВИ ВОЛОНТЕРОВ, ПРОЖИВАЮЩИХ В РАЙОНАХ ЧЕРНОМОРСКОГО ПОБЕРЕЖЬЯ И В УСЛОВИЯХ КРАЙНЕГО СЕВЕРА, МЕТОДОМ ХЕМОЛЮМИНИСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА

Бородулин Я.В., Проскурнина Е.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» (ФГБНУ «МГНЦ»), г. Москва, Российская Федерация

Актуальность. Известно, что экстремальные условия провоцируют развитие окислительного стресса, который может завершаться развитием клеточного апоптоза [1], что наиболее характерно при воздействии на организм человека факторами внешней среды: перепадами температуры, изменением циркадных ритмов, характером питания, физическими нагрузками, особенно в условиях Крайнего Севера (Арктики), где морозы могут достигать экстремальных значений, а полярная ночь продолжается до полугода. В Российской Федерации на сегодняшний день нет ни стандартов, ни клинических рекомендаций, в том числе и на генетическом уровне, для понимания наличия стрессоустойчивости у волонтеров, проживающих в экстремальных условиях внешней среды.

Цель. Изучение окислительного потенциала плазмы крови у волонтеров, проживающих в экстремальных условиях Крайнего Севера и явилось предметом наших исследований.

Материалы и методы. Хемилюминометр Lum-1200 с аппаратно-программным обеспечением, предназначенным для регистрации и анализа сверхслабых световых потоков, сопровождающих химические и биологические процессы [2]. Плазму венозной крови получали традиционным способом. Исследование проводили в буферном растворе, pH 7.4, в присутствии люминола

и реактива 2,2'-азо-бис(2-амидинопропан)-гидрохлорид (АБАП) для регистрации тушения плазмой крови образующихся свободных радикалов из данного реактива.

Результаты собственных исследований. Обнаружены изменения тушения скоростей протекающих радикальных реакций в контрольных образцах (без плазмы крови) и опытных образцах (плазма крови) у здоровых добровольцев Крайнего Севера и волонтеров Черноморского побережья. Q-критерий равен 0,6, что является достоверным признаком и не является промахом в выборке. При расчёте среднего значения (W) получили значение 8,71. При расчёте стандартного отклонения (S) точным оказалось значение 0,35. Относительное стандартное отклонение (Sr) равно 0,04. При расчёте доверительного интервала (ΔW) получилось значение 0,56. Данные по волонтерам Севера и Черноморского побережья представлены в таблице 1. Обнаружены достоверные отличия при сравнении процессов тушения хемолуминисценции плазмой крови волонтеров Севера и Черноморского побережья.

Таблица 1 - Статистические данные тушения хемолуминесценции плазмой крови волонтеров Севера и Черноморского побережья.

N	Название (N)	Q-критерий	Наличие промахов в выборке	Расчёт среднего значения W	Расчёт стандартного отклонения S	Относительное стандартное отклонение Sr	Расчёт доверительного интервала ΔW	Полная запись результатов (W + ΔW) [%]
1	Контроль Крайний Север	0,6	0,6<0,76 Достоверно	8,71	0,35	0,04	0,56	8,71 ± 0,56
2	Контроль Черноморское побережье	0,21	0,21<0,38 Достоверно	6,23	1,42	0,23	0,95	6,23 ± 0,95
3	Крайний Север	0,15	-	0,86	0,18	0,21	0,09	0,86 + 0,09
4	Черноморское побережье	0,05	-	1,58	0,43	0,27	0,14	1,58 + 0,14

Продолжение таблицы

N	Абсолютная случайная погрешность $\Delta = \Delta W = 0,56$ (от... – до...)	Относительная случайная погрешность $\Delta\Gamma = \frac{\Delta W \cdot X}{W}$ 100 %	n, P=0,95	$\Delta\Gamma$ %	S r	$t = \frac{W_1 - W_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$	Значения t при различных уровнях значимости (P) P<0,01 P=0,99 Число степеней свободы	
1	0,56 % (от 8,52 – до 8,9)	6,43%	4	6,39	0,04	1,7	Не достоверно	
2	0,95 % (от 5,28 – до 7,18)	15,32%	11	15,32	0,23	3,75	Достоверно <0,001	Достоверно
3	0,09 % (от 0,77 – до 0,95)	10,57%	18	10,57	0,21	3,75	Достоверно <0,001	Не достоверно
4	0,14 % (от 1,44 – до 1,72)	8,62%	40	8,62	0,27	3,13		

Вывод. Достоверность значений t при различных уровнях значимости обнаруживает факт ускорения тушения хемолуминисценции плазмы крови волонтеров Черноморского побережья по сравнению с скоростью тушения хемолуминисценции плазмой крови волонтеров Севера, что, вероятно, указывает на наличие большего количества антиоксидантных соединений в крови волонтеров Черноморского побережья. Вероятно, подобный феномен можно объяснить большим количеством липопротеинов низкой и очень низкой плотности в крови волонтеров Севера. Подобные липопротеины легко окисляются свободными радикалами, генерируемыми в системе люминол – АБАП при отсутствии достаточного количества антиоксидантов в крови волонтеров Севера.

ЛИТЕРАТУРА

1. Проскурнина, Е. В. Методы оценки свободнорадикального гомеостаза крови / Е. В. Проскурнина. - Москва: Российская Федерация, 2018. – 221 с.
2. Измайлов Д. Ю. Хемилуминометр Lum-1200 / Д. Ю. Измайлов. - Москва: Российская Федерация, 2018. – 16 с.

ДИНАМИКА ПУЛА НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ АМИНОКИСЛОТ В СРЕДНЕМ МОЗГЕ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ АЛКОГОЛЬНОГО АБСТИНЕНТНОГО СИНДРОМА

Виницкая А.Г., Третьяк М.Н.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Под термином «алкогольный абстинентный синдром» (ААС) понимают совокупность соматических, неврологических и психопатологических расстройств, возникающих у людей при прекращении потребления алкоголя [1]. Состояние ААС можно моделировать на лабораторных животных для чего животных предварительно подвергают длительному введению растворов этанола. После прекращения действия алкоголя животные проявляют симптомы «спонтанной абстиненции» – агрессивное поведение, тремор, «скрежетание» зубами, феномена «отряхивания мокрой собаки» (wet dog shakes), и другие [2, 6]. Эти симптомы, как правило, достигают пика через 10-24 часа после последней инъекции этанола, в зависимости от модели алкоголизации [6].

На нейрохимическом уровне алкоголь изменяет активность нескольких нейромедиаторных систем, включая системы гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) и глутамата [3]. Изменениям в активности этих нейромедиаторных систем приписывают появление признаков гипервозбудимости ЦНС спустя 10-20 часов после последнего приема алкоголя [3].

Целью данного исследования явилась оценка динамики уровней нейромедиаторных аминокислот – ГАМК, глицина, глутамата, в среднем мозге крыс при экспериментальном алкогольном абстинентном синдроме (ААС).

Материалы и методы исследования. Эксперименты были выполнены на 40 белых беспородных крысах-самцах массой 180–220 г. Животные были разделены на 4 групп по 10 особей в каждой.

Для моделирования ААС был использован модифицированный метод интрагастральных интубаций по Майхровичу, описанный в работах [4, 5]. Животным внутривентрикулярно вводили 25%-ный раствор этанола (2 раза в сутки по 5 г/кг массы тела) с интервалом 12 ч на протяжении 5 суток. Контрольные животные (I группа) получали 0,9%-ный раствор NaCl внутривентрикулярно, дважды в сутки, в течение 5 суток. Выбор единого контроля для всех подопытных групп животных был обусловлен отсутствием достоверных и статистически значимых различий в уровнях изученных соединений в тканях крыс, подвергнутых введению физиологического раствора.

Декапитацию подопытных крыс проводили через 1 сутки (II группа), 3 суток (III группа) и 7 суток (IV группа) после последней инъекции алкоголя. После декапитации у животных выделяли головной мозг, из которых были выделен средний мозг (включая область четверохолмия и нижележащие структуры). Отделы мозга депонировались в жидком азоте.

Определение уровней свободных аминокислот проводили в хлорнокислых экстрактах головного мозга методом обращенно-фазной хроматографии [4]. Помимо содержания отдельных аминокислот, были рассчитаны суммарные уровни нейромедиаторных аминокислот, включающий ГАМК, глицин, таурин, глутамат, аспартат. Концентрации исследуемых показателей выражали в нмоль/ грамм ткани. Результаты были представлены как «медиана, 1-я и 3-я квартили». Достоверность различий между группами оценивали параметрическим методом с применением дисперсионного анализа (ANOVA) и измерения t критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждения.

Через 1 сутки после последнего введения этанола (группа № 2) в среднем мозге достоверно снизились уровни тормозных нейромедиаторов – глицина и ГАМК, относительно контрольной группы. Содержание глутамата достоверно не изменилось. Одновременно наблюдалось уменьшение общего пула нейромедиаторных и пула тормозных аминокислот (таблица 1).

Таблица 1 – Содержание аминокислот и их производных (нмоль/г), суммарный пул нейромедиаторных аминокислот в среднем мозге крыс в динамике алкогольного абстинентного синдрома (ААС) (медиана, 1-я и 3-я квартили)

Показатели	Экспериментальные группы			
	№ 1 Контроль	№2 ААС - 1 сутки	№3 ААС - 3 суток	№4 ААС - 7 суток
Глутамат	2670,6 (2263,1;2921)	2735,0 (2540,6;2752,4)	2658,8 (2522,1;2840,8)	2389,9 (2333,7;2483,3)
Глицин	1315,9 (1159;1441,5)	1095,1* (935,2 ; 1217,0)	1414,8 * (1239,6;1442)	1589,7 * (1497,5;1742,4)
ГАМК	2729,5 (2271;2956,6)	1882,5* (1717,9;2035,5)	2756,5 # (2598,1;2822)	2647,5 # (2417,6;2763,4)
Пул нейромедиаторных аминокислот	8746 (8462 /9428)	7832* (7493 / 8242)	8968# (8525/9173)	8827# (8396/9255)

* – статистически значимые различия с контролем;

– статистически значимые различия с группой № 2.

На 3-и и 7-е сутки ААС у животных сохранилось снижение содержания глицина в среднем мозге относительно контроля, и произошло повышения уровня ГАМК относительно группы 2. Это коррелировало с исчезновением симптомов «спонтанной абстиненции», по сравнению с пиком абстиненции на 1 сутки ААС. Суммарные уровни нейромедиаторных аминокислот также выросли по сравнению с группой 2 (таблица 1). Полученные данные согласуются с результатами предыдущих исследований, полученными на модели хронической алкогольной интоксикации в течение 6 месяцев. Через 24 часа после прекращения введения алкоголя в ствол головного мозга крыс наблюдали повышение скорости катаболизма ГАМК. Последний эффект мог свидетельствовать об активации тормозных процессов в этих отделах мозга, которые ослабили признаки абстиненции у крыс в дальние сроки отмены [3].

Выводы.

1. Отмена алкоголя после 5-дневного курса интрагастральных интубаций сопровождается значительным снижением уровней тормозных нейромедиаторов в среднем мозге по сравнению с уровнем глутамата.

2. Наиболее выраженное снижение концентраций глицина и ГАМК в исследуемом отделе мозга происходит на 1 сутки ААС, что коррелирует с появлением у животных признаков спонтанной абстиненции. В дальнейшие сроки ААС сохраняется снижение уровня глицина на фоне частичной нормализации уровня ГАМК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Веретило, Л.В. Злокачественный алкоголизм: особенности формирования и клинические варианты / Л.В. Веретило, [и др.] // Наркология. – 2014. – № 2. – С. 42-61.

2. Лелевич, В. В. Метаболические механизмы алкогольной абстиненции (экспериментальные аспекты) / В.В. Лелевич, А.Г. Веницкая, С.В. Лелевич // Наркология – 2017. – № 11. – С. 92-106.

3. Лелевич, В. В. Алкоголь и мозг (метаболические аспекты) : монография / В. В. Лелевич, С. В. Лелевич, А. Г. Веницкая. – Гродно : ГрГМУ, 2019. – 244 с.

4. Сравнительная характеристика обмена γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) в головном мозге и печени при синдроме отмены этанола / А.Г. Веницкая, [и др.] // Весці НАН Беларусі. Сэрыя медыцынскіх навук. – 2009. – № 3. – С. 27-30.

5. Faingold, C.L. The Majchrowicz Binge Alcohol Protocol: an intubation technique to study alcohol dependence in rats / C. L. Faingold. // Current Protocols in Neuroscience. – 2008. – Chapter 9, Unit 9.28.

6. Ripley, T.L. Critical thoughts on current rodent models for evaluating potential treatments of alcohol addiction and withdrawal / T.L. Ripley, D. N. Stephens // Br J Pharmacol. – 2011. – N 4. – P. 1335-1356.

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВИТАМИННОГО СТАТУСА КРЫС ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ВЫСОКОЖИРОВОГО ВЫСОКОУГЛЕВОДНОГО РАЦИОНА

Вржесинская О.А., Бекетова Н.А., Кошелева О.В., Сидорова Ю.С.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и
безопасности пищи», г. Москва, Российская Федерация*

Актуальность. Нерациональное питание, потребление большого количества жиров и добавленных сахаров, характерное для подавляющего большинства населения РФ [1], определяет пищевой статус организма и может оказать влияние на показатели витаминной обеспеченности.

Цель. В связи с этой целью работы было охарактеризовать влияние высокожирового высокоуглеводного рациона на показатели обеспеченности витаминами А, Е, В₁ и В₂ растущих крыс.

Материалы и методы исследования. После 7-дневного карантина в течение 92 суток крысы-отъемыши (самцы) стока Wistar получали полноценный полусинтетический рацион, содержащий 20% белка (казеин), 10% жира (лярд и подсолнечное масло в соотношении 1:1), 58% углеводов в виде крахмала (384 ккал/100 г) (группа сравнения, n=10) или изоазотистый высокожировой высокоуглеводный рацион (ВЖВУР), содержащий 5% подсолнечного масла и 23% лярда, 2% холестерина, 18% углеводов в виде крахмала, 20% - в виде сахарозы (511 ккал/100 г) (основная группа, n=8) при адекватном уровне всех витаминов и минеральных веществ в рационе. Выведение из эксперимента проводили путем декапитации с предварительным анестезированием эфиром.

Концентрацию витаминов А (ретинол и пальмитат ретинола) и Е (α -токоферол) в сыворотке крови и лиофильно высушенной печени крыс определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, витамины В₁ и В₂ в печени и рибофлавин в сыворотке крови – флуориметрически [2].

Биохимические показатели сыворотки крови, содержание триглицеридов (ТГ) и холестерина (ХС) в жире, экстрагированном из печени, определяли на биохимическом анализаторе.

Результаты и обсуждение. В экспериментальной модели, применяемой для воспроизведения алиментарно-зависимых заболеваний – ожирения и дислипидемии, замена стандартного рациона с адекватным содержанием всех макро- и микронутриентов на высококалорийный рацион с повышенным содержанием насыщенных жирных кислот, холестерина и дисахаридов у крыс основной группы сопровождалась закономерным по сравнению с показателями животных из группы сравнения увеличением массы тела животных на 9,9% ($p>0,05$), массы печени в 2,0 раза, содержания в ней жира в 3,3 раза, ХС и ТГ - в 32,6-33,0 раза ($p\leq 0,001$), увеличением в сыворотке крови концентрации ХС липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) в 5,4 раза, а также коэффициента атерогенности – в 2,5 раза при сниженной в 1,4 раза концентрации ХС липопротеидов высокой плотности ($p\leq 0,05$).

Применение ВЖВУР не отразилось на концентрации рибофлавина в сыворотке крови. При этом если удельное содержание витаминов В₁ и В₂ в печени животных основной группы статистически значимо снизилось на 26,5-28,9% ($p<0,01$), то запасы в целом органе, наоборот, повысились в 1,5 раза ($p<0,01$) относительно показателя животных из группы сравнения.

Практически аналогичная картина была выявлена в отношении показателей обеспеченности крыс витамином А. Концентрация ретинола в сыворотке крови у крыс основной группы не отличалась от показателя животных из группы сравнения. В то же время удельное содержание ретинола пальмитата в печени было снижено в 2,5 раза ($p<0,01$), а запасы витамина А в целом органе оказались уменьшенными на 20,4% ($p>0,05$), хотя различия и не достигали уровня статистической значимости.

Более существенными оказались изменения показателей обеспеченности жирорастворимым витамином Е при скормливании животным ВУВЖР. Абсолютная концентрация α -токоферола в сыворотке крови у крыс основной группы, снизившись на 19,2%, статистически значимо не отличалась от показателя животных из группы сравнения. Однако соотнесенная с уровнем общего ХС она оказалась сниженной на 31,8% ($p=0,003$), а с уровнем ХС ЛПНП – в 7,6 раза ($p<0,05$) по отношению к показателям животных из группы сравнения. При этом уровень витамина Е в печени крыс, получавших высокожировую рацион, статистически значимо повысился как в расчете на 1 г влажной ткани (в 1,4 раза, $p=0,010$), так и в пересчете на целый орган (в 2,9 раза, $p=0,002$). Несмотря на это, избыточное накопление липидов в печени привело к существенному снижению удельного содержания витамина Е в пересчете на ХС и ТГ в 7,4-10,7 раз ($p\leq 0,001$).

В целом, полученные данные свидетельствуют о том, что применение ВЖВУР оказывает разнонаправленное влияние на показатели обеспеченности организма витаминами, несмотря на их адекватное поступление с пищей.

Выводы. Существенное снижение показателей обеспеченности витамином Е, соотнесенных с липидами, свидетельствует о значительном ухудшении антиоксидантного статуса организма и повышении риска атеросклеротических нарушений при потреблении рациона с высоким содержанием насыщенных жиров, холестерина и добавленных моно- и дисахаридов.

Финансирование.

Работа по подготовке рукописи проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания (FGMF-2022-0002).

ЛИТЕРАТУРА

1. Батурин, А.К. Структура питания населения России на рубеже XX и XXI столетий / А.К. Батурин, А.Н. Мартинчик, А.О. Камбаров // Вопросы питания. – 2020. – Т. 89, № 4. – С. 60-70. DOI: 10.24411/0042-8833-2020-10042
2. Методы оценки витаминной обеспеченности населения / В.Б. Спиричев [и др.]. – Учебно-методическое пособие. – М.: ПКЦ Альтекс. 2001. – 68 с.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КАПСАИЦИНОИДОВ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ У КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ ВЫСОКОКАЛОРИЙНЫЙ ХОЛИНОДЕФИЦИТНЫЙ РАЦИОН

Гусева Г.В., Аксенов И.В.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и
безопасности пищи», Москва, Российская Федерация*

Актуальность. Сердечно-сосудистые заболевания и новообразования являются ведущей причиной смертности населения в Союзном государстве

Белоруссии и России [3, 4]. Одним из основных факторов риска развития данных заболеваний является неправильное питание, связанное с употреблением высококалорийного рациона с избыточным содержанием насыщенных жиров и простых углеводов, приводящее к развитию ожирения [1, 2, 6]. При этом активно изучается в качестве нутритивной коррекции метаболических нарушений возможность использования нутрицевтиков растительного происхождения, в т.ч. капсаициноидов острого перца. Согласно данным литературы они могут оказывать благоприятное действие на показатели липидного и углеводного обмена в крови [5].

Цель. Изучение влияния капсаициноидов на биохимические показатели крови у крыс, получавших высококалорийный холинодефицитный рацион.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проводили на трех группах крыс самцов линии Wistar (по 10 шт. в группе). В течение 8 недель крыс 1-й группы (контроль) кормили стандартным полусинтетическим рационом (3,9 ккал/г; в т.ч. жиров - 9% от калорийности; с добавлением холина), в количестве, равном среднему потреблению во 2-й группе животных, получавших *ad libitum* высококалорийный холинодефицитный рацион (ВКХДР) (4,9 ккал/г; в т.ч. жиров - 45%, фруктозы - 20% от калорийности; без добавления холина). Крысам 3-й группы (ВКХДР+КАП) внутрижелудочно 3 раза в неделю (понедельник, среда, пятница) вводили капсаициноиды (Hunan Insen Biotech Co., Ltd., КНР) в среднесуточной дозе 15 мг/кг массы тела в подсолнечном масле (что соответствовало максимально возможному уровню их естественного поступления с рационом человека). Отъем корма производили за 16 часов до выведения животных из эксперимента. Для установления статистически значимых ($p < 0,05$) различий между группами использовали дисперсионный анализ и *post hoc* тест множественного сравнения Tukey после предварительной проверки на нормальность распределения (тест D'Agostino & Pearson) и равенство дисперсий (тест Brown-Forsythe).

Результаты и обсуждение. Введение капсаициноидов крысам, получавшим в течение 8 недель высококалорийный холинодефицитный рацион, не оказывало статистически значимого влияния на изученные показатели липидного и углеводного обмена (таблица 1). В отличие от полученных в работе [5] данных, в нашем исследовании не было установлено статистически значимого влияния капсаициноидов на уровень триглицеридов, что может быть обусловлено различием в условиях эксперимента (в т.ч. в дозе и продолжительности введения капсаициноидов). Наряду с этим, результаты клинических исследований также не выявили существенного воздействия капсаициноидов на углеводный обмен (в т.ч. на уровень глюкозы натощак) [7].

Таблица 1 – Показатели липидного и углеводного обмена

Показатель	Группы крыс		
	Контроль	ВКХДР	ВКХДР+КАП
ТГ, мМ	1,19±0,09	1,25±0,13	1,27±0,16
СвЖК, мкМ	618±41	640±31	584±56
ХС, мМ	1,47±0,08	1,29±0,05	1,35±0,09
ЛПВП, мМ	1,20±0,06	1,14±0,03	1,13±0,08
ЛПНП, мкМ	79,9±8,4	87,3±13,0	77,4±18,4
Глюкоза, мМ	5,63±0,22	6,34±0,42	6,19±0,35

Примечание - Данные представлены в виде среднего арифметического (М) и стандартной ошибки среднего (m): (М±m).

Выводы. Капсаиноиды не оказывают существенного влияния на показатели липидного и углеводного обмена у крыс, получающих высококалорийной холинодефицитный рацион.

ЛИТЕРАТУРА

1. Евразийские рекомендации по профилактике и лечению сердечно-сосудистых заболеваний у больных с ожирением (2022) / И.Е. Чазова [и др.] // Евразийский кардиологический журнал. – 2022. - № 3: - С. 6-56.

2. Кардиоваскулярная профилактика 2022. Российские национальные рекомендации / С.А. Бойцов [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2023. – Т. 28, № 5: 5452.

3. Статистический бюллетень «Естественное движение населения по республике Беларусь за 2019 год». URL: <https://www.belstat.gov.by/upload/iblock/33c/33c0a6840b614b5885f5039f9a1f40cf.pdf>. (Дата обращения: 31.03.2024).

4. Число умерших по причинам смерти // РОССТАТ: [Электронный ресурс] URL: https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/demo24-2_2021.xlsx. (Дата обращения: 31.03.2024).

5. Kawada, T. Effects of capsaicin on lipid metabolism in rats fed a high fat diet / T. Kawada, K. Hagihara, K. Iwai // J. Nutr. – 1986. – Vol. 116, N 7. – P.1272-1278.

6. Koene, R.J. Shared Risk Factors in Cardiovascular Disease and Cancer / R.J. Koene, A.E. Prizment, A. Blaes, S.H. Konety // Circulation. – 2016. – Vol. 133, N 11. – P: 1104-1114.

7. Szallasi, A. Capsaicin for Weight Control: "Exercise in a Pill" (or Just Another Fad)? / A. Szallasi // Pharmaceuticals (Basel). – 2022. – Vol. 15, N 7: 851.

Работа выполнена в рамках государственного задания (№ FGMP-2022-0003).

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДИАЦЕТОФЕНОНИЛСЕЛЕНИДА В РАСТВОРАХ, МОДЕЛИРУЮЩИХ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЖИДКОСТИ ОРГАНИЗМА С РАЗЛИЧНЫМ ЗНАЧЕНИЕМ pH

Гусельников П.И.¹, Бородулин Я.В.²

¹ *Институт тонкой химической технологии им. М.В.Ломоносова (МИТХТ им. М.В.Ломоносова) ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» Минобрнауки России (РТУ МИРЭА)*

² *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» (ФГБНУ «МГНЦ»), Москва, Российская Федерация*

Актуальность. Диацетофенонилселенид (ДАФС) является действующим веществом препарата Селенобел, обладающего антиоксидантными свойствами и предназначенного для повышения эффективности химиотерапии онкологических пациентов [1].

Структурная формула представлена на рисунке. 1.

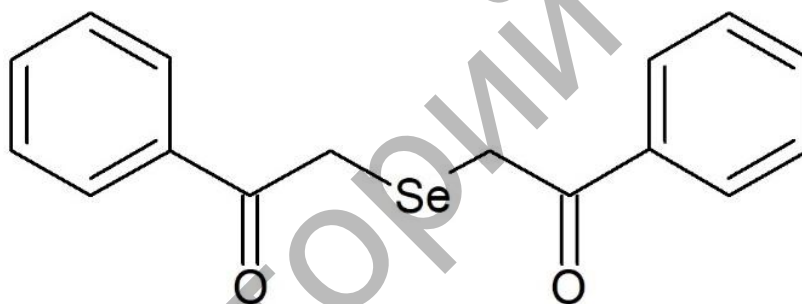


Рисунок 1 – Структурная формула диацетофенонилселенида

Препарат ДАФС может быть исследован как биодобавка. В то же время интерес представляет физико-химическое исследование этого вещества, моделирующих биологические жидкости с разной концентрацией HCl. Известно, что pH принимает следующие значения в биологических жидкостях организма: слюна- 6,8 ед. pH, желудочный сок- 1-2 ед. pH, кислотность тонкого кишечника- 8-9 ед. pH, сыворотка крови- 7,4 ед. pH.

Материалы и методы. Использовали спектрофотометр ПЭ-5400 УФ. Кювета с толщиной слоя 10 мм. ДАФС хорошо растворим в малополярных органических растворителях, подсолнечном масле (20 г на 1 л) и практически нерастворим в воде (0,003 г на 1000 мл). Ацетонитрил (ХЧ, Экос-1)– модель подсолнечного масла. Исходный раствор ДАФС ($C_{\text{ДАФС}} = 3.15 \cdot 10^{-3}$ М) готовили растворением навески препарата (0,01 г) в 10 мл ацетонитрила. В кювету с 5 мл ацетонитрила добавляли 0,04 мл этого раствора и 5 раз 0,1 мл HCl (ОСЧ, СигмаТек) с концентрацией 0,2 М. Конечная концентрация соляной кислоты в растворе составила $2 \cdot 10^{-2}$ М.

Результаты собственных исследований. Обнаружено изменение спектра поглощения ДАФС, смещение длины волны максимума с 243 нм на 1 нм (244 нм), появление изобестической точки на 249 нм (рис. 2, 3. Оптическая плотность длины волны максимума уменьшается, что связано с разведением исходной концентрации препарата. Добавка соляной кислоты объемом 0,1 мл увеличивала свою концентрацию в кювете на 0,004 М, так как 0,2 М HCl разбавлялась в 50 раз при перенесении 0,1 мл в 5 мл раствора. В таблице 1 представлены объемы соляной кислоты, оптические плотности на длине волны 243 нм.

При изучении спектра ДАФС в ацетонитриле при добавлении воды без соляной кислоты (контрольный образец) смещение длины волны осталось, а изобестической точки не было. Смещение максимума укладывается в погрешность прибора и связано с тем, что вода более полярный растворитель, чем ацетонитрил и ДАФС в более полярном растворителе имеет более большую длину волны максимума поглощения (таблица 1).

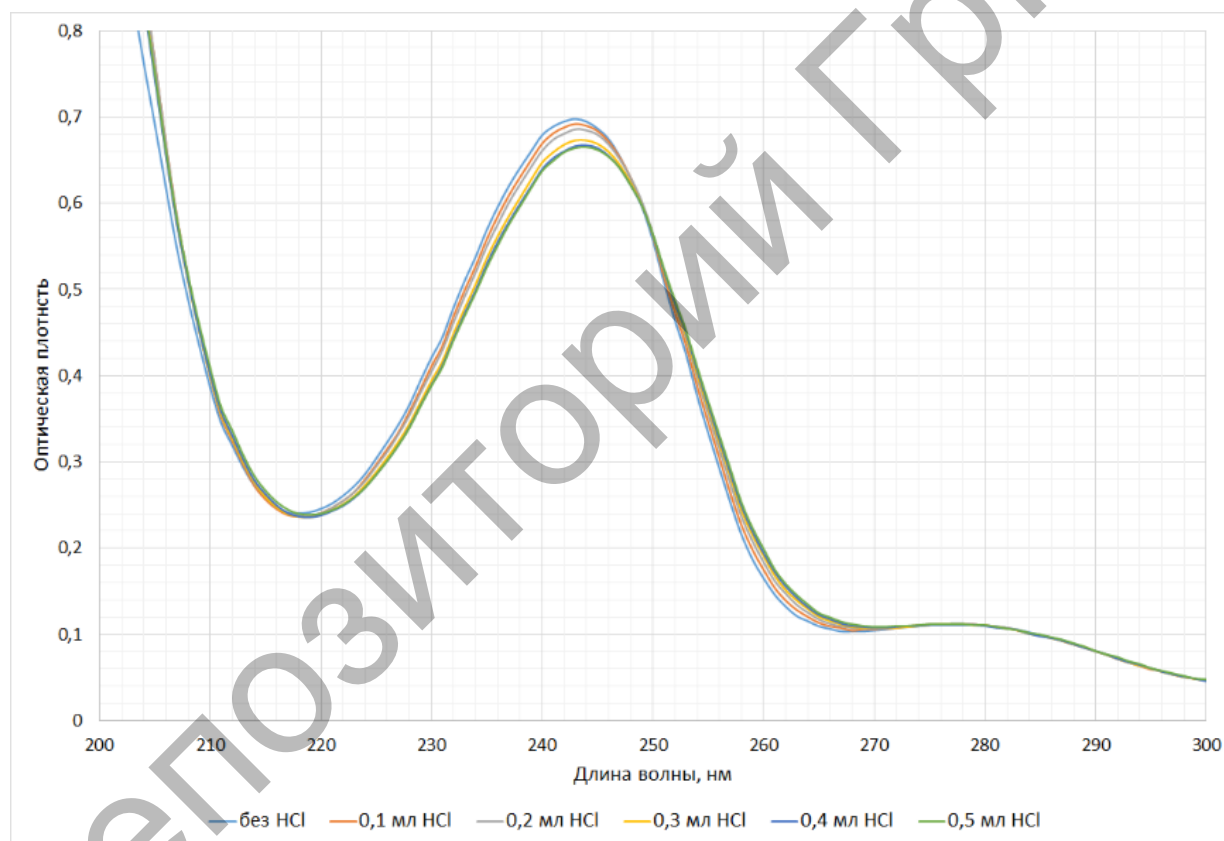


Рисунок 2 – Спектры поглощения ДАФС в CH₃CN при добавлении в раствор 0,2 М HCl

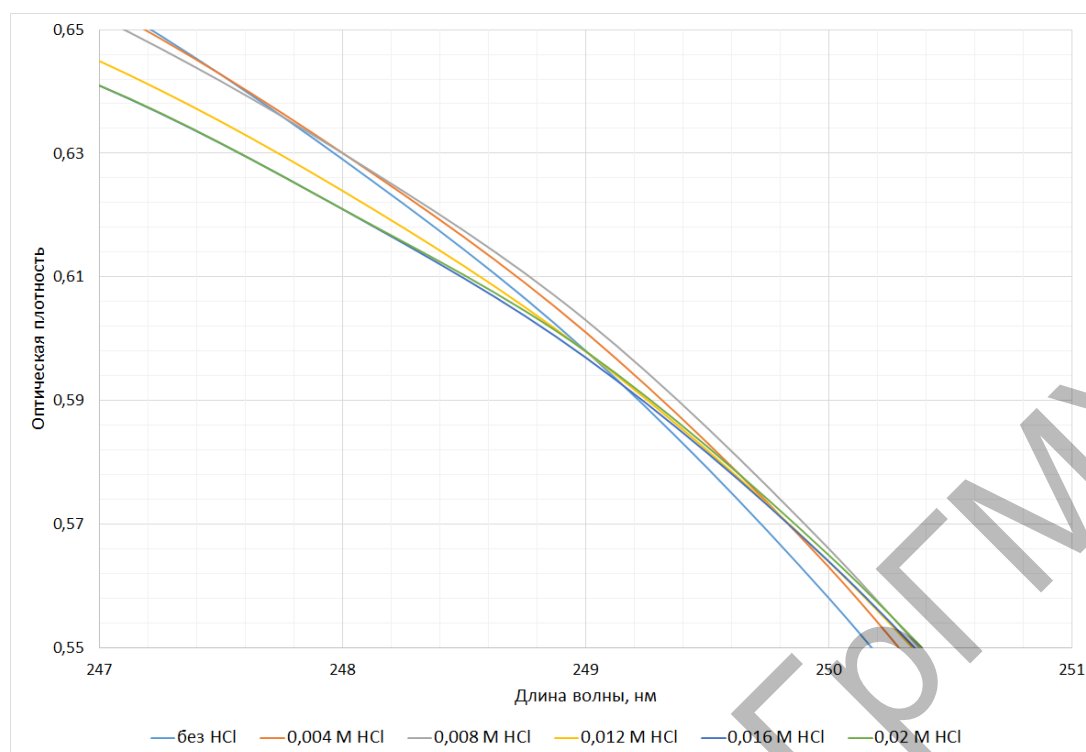


Рисунок 3 – Изобестическая точка в спектре ДАФС в ацетонитриле с HCl на длине волны $\lambda = 249$ нм

Таблица 1 – Спектр поглощения ДАФС в максимуме, $\lambda = 243$ нм, при добавлении разных объемов соляной кислоты

$V_{0,2 \text{ М HCl, мл}}$	$A, \text{ о. е.}$
	$\lambda = 243 \text{ нм}$
0	0,698
0,1	0,692
0,2	0,686
0,3	0,673
0,4	0,666
0,5	0,664

Выводы. Спектр диацетофенонилселенида не изменяется при добавлении аликвот соляной кислоты, что указывает на сохранение в целом структуры этого вещества в растворах с высокой концентрацией ионов водорода. В то же время наблюдается изобестическая точка при длине волны 249 нм, что вероятнее всего указывает на появление изомерной формы ДАФС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Физико-химические свойства и аналитические методы контроля диацетофенонилселенида – субстанции для производства препарата Селенобел® / Н.И. Атрахимович [и др.] // Рецепт. – 2012. – № 6. – С. 90-100.

ИЗМЕНЕНИЯ ФОНДА СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ И БИОГЕННЫХ МОНОАМИНОВ СТВОЛЕ МОЗГА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА И ИХ КОРРЕКЦИЯ

Дорошенко Е.М.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Проблема эффективности лечения и метаболической коррекции при ИБС остается актуальной [1]. Аминокислоты в качестве средств метаболической коррекции могут оказывать влияние также на пул нейроактивных соединений в мозге, а центральные механизмы регуляции функции сердца, в том числе аминергические, которые могут быть опосредованы доступностью аминокислот-предшественников, могут являться частью механизма коррекции. Уровни метаболитов триптофана и синтез в мозге кинуреновой кислоты из кинуренина связаны с развитием когнитивных нарушений у лиц, перенесших инфаркт миокарда [2]. Триптофан является предшественником серотонина, а заболевания сердца сопровождаются нарушениями серотонинергических функций [3]. Метаболизм серосодержащих аминокислот сопряжен с реакциями метилирования, синтезом глутатиона, а таурин и гипотаурин обладают антиоксидантными свойствами [4]. Представляется перспективным поиск способов метаболической терапии при ИБС с помощью триптофана и серосодержащих аминокислот.

Цель. Оценить эффекты экспериментальной острой ишемии миокарда (ОИМ) на показатели пула свободных аминокислот и родственных соединений, включая биогенные моноамины, в стволе мозга крыс, а также эффекты коррекции с помощью аминокислот и родственных им соединений.

Методы исследования. ОИМ у крыс вызывали с использованием модификации модели изадрин-питуитринового инфаркта миокарда [5], в которой использовался Арг-вазопрессин, который вводили однократно внутривентрикулярно в дозе 1,6 мкг/кг. Через 15 мин подкожно вводили изопrenalина ацетат (35 мг/кг). Через 6 ч введение последнего повторяли.

В качестве средств метаболической коррекции вводили (дважды в сутки внутривентрикулярно, 7 сут): таурин 150 мг/кг (здесь и далее – в сутки), триптофан 80 мг/кг; композицию, содержащую: таурин 150 мг/кг, триптофан 80 мг/кг, аргинин 245 мг/кг, цинка диглутат 25 мг/кг; животным этой группы одновременно вводили пиридоксальфосфат (ПАЛФ) в/б 25 мг/кг; S-аденозилметионин (SAM) – в/б 100 мг/кг. Начало введения препаратов – через 48 ч после начала моделирования ОИМ. Композиция является модификацией композиции «Тритарг» [6] с увеличенным содержанием триптофана.

Образцы ткани мозга гомогенизировали 1:10 (об.) в среде, содержащей 0,2 М раствор хлорной кислоты, 40 мг/л ЭДТА, 40 мг/л $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, а также 0,2 мМ норвалина (внутренний стандарт). Далее осаждали белки центрифугированием. Свободные аминокислоты и их дериваты определяли в экстрактах обращенно-фазной ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией ОРА-3-МРА и детектированием по флуоресценции [4]. Для определения метаболитов триптофана использовали обращенно-фазную ВЭЖХ с изократическим элюированием с ацетатом цинка. Кинуренин детектировали по поглощению (362 нм), кинуреновую кислоту – по флуоресценции (244/386 нм). Биогенные моноамины и их метаболиты определяли ион-парной ВЭЖХ с детектированием по природной флуоресценции.

Для анализа различий контрольных и опытных групп использовали бутстреппированный t-критерий Стьюдента. Для анализа различий трех групп при оценке эффектов коррекции проводили дисперсионный анализ с апостериорным сравнением по критерию Тьюки. Использовали пакет программ Statistica 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q) и бесплатный пакет статистических программ R.

Результаты и их обсуждение. ОИМ в сроке 1 сут вызывала повышение уровня 3-метилгистидина в стволе мозга крыс (в 1,8 раза, здесь и далее $p < 0,05$), тогда как в печени он повышался в 13 раз [7]. Более высокими, чем в контроле, были также концентрации норадреналина и гомованилиновой кислоты. Уровни альфа-аминоадипиновой кислоты, глицина и ГАМК значимо снижались.

Обращает на себя внимание повышение уровня гипотаурина (в 3,8 раза), в то время как уровень таурина снижался. Большинство сдвигов по направленности совпадало таковыми в сердце [8], что свидетельствует о происхождении сдвигов за счет пула аминокислот сердечной мышцы. Очевидно, в острой фазе ишемии миокарда снижается соотношение тормозных аминокислот-трансммиттеров к возбуждающим за счет тормозных, что сопровождается снижением уровня альфа-аминоадипиновой кислоты, которая является ингибитором синтеза KYNA в мозге.

При применении таурина в качестве метаболической коррекции сохранялось повышение относительно ОИМ в том же сроке наблюдения (7 сут) уровня 3-метилгистидина, повышался уровень ГАМК и метионина, а также фенилаланина и лейцина. Уровень таурина повышался, гипотаурина – снижался более чем в 2 раза ниже значений при ОИМ. Уровень триптофана повышался, как и соотношение уровней триптофана к кинуренину.

Коррекция триптофаном приводила к повышению уровней аспартата и глутамата, а также серина, глутамина, ГАМК, метионина, триптофана, фенилаланина и лейцина в стволе мозга по сравнению с ОИМ в том же сроке. Это может говорить о возможности восполнении недостаточности триптофана в этой структуре мозга при ОИМ, но применение триптофана не изменяло соотношение уровней тормозных аминокислот-трансммиттеров к возбуждающим.

Эффектами коррекции SAM в стволе мозга были снижение уровней аспартата, глутамата, цистеинсульфиновой кислоты, альфа-аминомасляной

кислоты, цистатионина, серина, изолейцина и лейцина, но не изменялись уровни других серосодержащих аминокислот (по отношению к ОИМ). Повышались уровни тирозина и триптофана, норадреналина и норметанефрина, снижались – серотонина. Таким образом, эффекты SAM включают снижение транссульфурирования, а также активацию норадренергической системы.

Введение композиции аминокислот совместно с ПАЛФ на фоне ОИМ приводило к сходным эффектам, повышались соотношение уровней триптофана к кинуренину, т.е. возрастал синаптический выброс норадреналина и доступность предшественника в серотониновой системе. Уровни таурина повышались, цистеинсульфината – снижался, в отличие от введения только таурина, что может говорить о торможении синтеза последнего. Таким образом, применение данной композиции корректирует проявления аминокислотного дисбаланса при ОИМ.

Выводы. При ОИМ применение таурина устраняет снижение соотношения уровней тормозных аминокислот-трансммиттеров к возбуждающим в стволе мозга крыс. Эффекты SAM при ОИМ включают снижение скорости транссульфурирования и активацию норадренергической системы. Введение триптофана совместно с таурином, аргинином и ПАЛФ корректирует недостаточность предшественников в аминергических системах ствола мозга.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мрочек, А.Г. Экстремальная кардиология: профилактика внезапной смерти: руководство для врачей / А.Г. Мрочек, В.В. Горбачев // М.: Мед. книга, 2010. – 431 с.
2. Early activation of the kynurenine pathway predicts early death and long-term outcome in patients resuscitated from out-of-hospital cardiac arrest / G. Ristagno [et al.] // J. Am. Heart Assoc. – 2014. – V. 3, N.4. – P. e001094.
3. Role of serotonin 5-HT_{2A} receptors in the development of cardiac hypertrophy in response to aortic constriction in mice / O. Lairez [et al.] // J. Neural Transm. – 2013. – V. 120, N. 6. – P. 927-935.
4. Taurine suppresses oxidative stress-potentiated expression of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor and restenosis in balloon-injured rabbit iliac artery / G. Gokce [et al.] // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2011. – V. 38, N. 12. – P. 811-818.
5. Моделирование поражений миокарда различной степени выраженности / К.М. Резников [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1985. – Т. XCIC, №. 5. – С. 532-534.
6. Влияние композиции "Тритарг" на концентрацию свободных аминокислот в лимфоцитах и сыворотке крови крыс / В.М. Шейбак [и др.] // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2012. – № 1. – С. 85-89.
7. Дорошенко, Е.М. Изменения фонда свободных аминокислот и родственных соединений печени крыс при экспериментальной ишемии миокарда и их коррекция / Е. М. Дорошенко // Актуальные проблемы

медицины: сб. материалов итоговой научно- практической конференции. Гродно: ГрГМУ, 2023. – Электрон. текст. дан. (объем 5,9 Мб). – 1 эл. опт. диск (CD-ROM). – С. 126-128.

8. Дорошенко, Е.М. Метаболическая коррекция фонда свободных аминокислот и родственных соединений сердца крыс при экспериментальной ишемии миокарда / Е.М. Дорошенко // Актуальные проблемы медицины: сб. материалов итоговой научно-практической конференции. Гродно: ГрГМУ, 2022. – Электрон. текст. дан. (объем 6,54 Мб). – 1 эл. опт. диск (CD-ROM). – С. 69-72.

ДОФАМИНЕРГИЧЕСКАЯ НЕЙРОМЕДИАТОРНАЯ СИСТЕМА ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ КОМПЛЕКСНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ И МОРФИНОМ И ИХ ОТМЕНЕ

Дробышевская А.А., Лелевич В.В., Дорошенко Е.М.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. В последнее время все чаще поднимается проблема опиатной зависимости, осложненной алкоголизмом, а также наличие наследственной отягощенности алкоголизмом у лиц с опийной наркоманией. Известно, что избыточное употребление алкоголя приводит к дисфункции почти всех нейрохимических систем мозга [2-3]. Одновременно с этим стоит проблема сочетанного воздействия на нейромедиаторные системы алкоголя и опиатов. Общим звеном фармакологического действия этанола и морфина является влияние на катехоламиную нейромедиацию [2]. Следует отметить, что данная проблема недостаточна изучена, и поэтому ее исследование является целью данной работы.

Цель. Проанализировать литературные данные об изменении компонентов дофаминергической системы головного мозга при длительной комплексной интоксикации этанолом и морфином и их отмене.

Материалы и методы.

В анализируемых нами литературных источниках хроническую алкогольную интоксикацию (ХАИ) моделируют на крысах-самцах массой 180-220 г. Животным внутрижелудочно вводили 25% раствор этанола в дозе 3,5 г/кг два раза в сутки в течение 7-ми, 14-ти и 21 суток. Комплексную морфиново-алкогольную интоксикацию (ХМИ+ХАИ) моделировали следующим образом: крысам внутрибрюшинно вводили 1% раствор морфина гидрохлорида в дозе 10 мг/кг, а через 12 часов внутрижелудочно – этанол в дозе 3,5 г/кг на протяжении 7-ми, 14-ти и 21 суток. Особи контрольной группы получали эквивалентные количества изотонического раствора хлористого натрия. Декапитацию проводили через 1 час после последнего введения этанола или физиологического раствора [2-3].

Моделирование комплексного морфиново-алкогольного постинтоксикационного синдрома в анализируемых нами источниках осуществлялось путем внутрибрюшинного введения раствора морфина гидрохлорида (1%) в дозе 10 мг/кг и через 12 часов внутрижелудочного – 25% раствора этанола в дозе 3,5 г/кг на протяжении 5 суток. Особи контрольной группы (1 гр.) получали эквивалентные количества изотонического раствора хлористого натрия. Животных декапитировали через 3 часа – 2 группа, 1 сутки – 3 гр., 3 суток – 4 гр. и 7 суток – 5 гр. после последнего введения [1].

Результаты и обсуждение.

В вышеописанной модели введение алкоголя на протяжении 7 суток привело к уменьшению уровня 3,4-диоксифенилуксусной кислоты (3,4-ДОФУК) в коре больших полушарий (КБП), а также к снижению уровня дофамина и ростом содержания 3,4-ДОФУК в стриатуме. Увеличение срока алкоголизации до 14-ти суток сопровождалось нормализацией уровней показателей дофаминергической системы в КБП. Хроническая 21-дневная алкогольная интоксикация сопровождалась значительным снижением концентрации диоксифенилаланина (ДОФА) в КБП [3].

В КБП через 7 суток хронической морфиновой интоксикации повышается уровень гомованилиновой кислоты (ГВК). В гипоталамусе отмечается снижение содержания дофамина, повышение уровней 3,4-ДОФУК и ГВК, в стволе мозга снижается содержание дофамина, увеличивается уровень 3,4-ДОФУК и ГВК [5].

Согласно литературным данным, к концу 14 суток морфинизации увеличивается концентрация 3,4-ДОФУК в КБП, снижается уровень дофамина и повышается содержание ГВК в гипоталамусе. В стволе головного мозга отмечено снижение уровня дофамина и увеличиваются концентрации 3,4-ДОФУК и ГВК. Через три недели от начала введения морфина в гипоталамусе отмечалось повышение содержания ГВК. В стволе мозга наблюдалось снижение содержания дофамина [5].

При комплексном введении этанола и морфина на протяжении 7-ми суток было выявлено снижение концентрации ДОФА, 3,4-ДОФУК, ГВК и рост уровня тирозина в КБП. В стриатуме увеличивалось содержание тирозина, 3,4-ДОФУК, ГВК, в мозжечке возрастал уровень тирозина и ДОФА [3].

Хроническая 14-суточная морфиново-алкогольная интоксикация сопровождалась ростом концентрации тирозина в КБП. В стриатуме отмечалось повышение уровня тирозина и ГВК. Наблюдался рост содержания тирозина и снижение концентрации ДОФА в мозжечке [3]. На 21 сутки морфиново-алкогольного воздействия был выявлен рост уровня ГВК в стриатуме и уменьшение содержания 3,4-ДОФУК в КБП [3].

По мнению ряда авторов, алкогольный постинтоксикационный синдром продолжительностью 1 сутки приводит к снижению дофамина и увеличению уровня 3,4-ДОФУК в мозжечке. К окончанию 3 суток алкогольного постинтоксикационного синдрома наблюдается повышение уровня дофамина и ГВК в КБП [4].

При алкогольной абстиненции продолжительностью 7 суток происходит снижение концентрации 3,4-ДОФУК в КБП. В мозжечке отмечалось уменьшение концентрации дофамина, что сопровождалось увеличением уровней ГВК и 3,4-ДОФУК [4].

В КБП при 3-суточном морфиновом абстинентном синдроме (МАС) отмечалось падение концентрации 3,4-ДОФУК. Через 7 суток после отмены морфина в стволе головного мозга и мозжечке отмечают повышение концентрации 3,4-ДОФУК и ГВК [5].

Спустя 1 сутки после отмены введения двух психоактивных веществ (ПАВ) в гипоталамусе был выявлен рост концентрации тирозина и ДОФА. При трехсуточной морфиново-алкогольной абстиненции в мозжечке наблюдалось увеличение концентрации дофамина и 3,4-ДОФУК. На 7 сутки отмены введения морфина и алкоголя в гипоталамусе отмечался рост концентрации ДОФА, а в мозжечке при этом было выявлено увеличение уровня дофамина [1].

Выводы:

1. 7-суточная ХАИ сопровождается уменьшением уровня 3,4-ДОФУК в КБП, а через 21 сутки снижается уровень ДОФА.
2. Двухнедельная ХМИ приводит к снижению уровня дофамина в гипоталамусе и мозжечке, а уровень ГВК возрастает в гипоталамусе на всем протяжении морфиновой интоксикации.
3. При комплексной интоксикации на 7 сутки в КБП снижается уровень ДОФА, 3,4-ДОФУК и ГВК, в то время как в стриатуме их содержание увеличивается. На 21 сутки наблюдается рост 3,4-ДОФУК в КБП и ГВК в стриатуме.
4. Через 1 сутки после отмены алкоголя в мозжечке снижается уровень дофамина и увеличивается содержание 3,4-ДОФУК, на 7 сутки возрастает концентрация ГВК и 3,4-ДОФУК на фоне снижения уровня дофамина.
5. После окончания 7-суточного МАС в стволе и мозжечке наблюдается повышение содержания ГВК и 3,4-ДОФУК.
6. Спустя 7 суток после отмены введения морфина и алкоголя в гипоталамусе возрастает концентрация ДОФА, а в мозжечке – дофамина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Величко, И. М. Изменения дофаминергической системы в гипоталамусе и мозжечке крыс при отмене совместного введения этанола и морфина [Электронный ресурс] / И. М. Величко // Актуальные проблемы биохимии : сб. материалов науч.-практ. конф. с междунар. участием, [Гродно, 28 мая 2021 г.] / редкол.: В. В. Лелевич (отв. ред.), А. Г. Веницкая, И. О. Леднева. – Гродно, 2021. – С. 100-103. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).
2. Величко, И. М. Нейромедиаторные изменения в головном мозге при длительном комплексном действии морфина и этанола / И. М. Величко // Актуальные проблемы психиатрии, наркологии и медицинской психологии : материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. памяти профессора А.В. Погосова (с использованием дистанционных технологий), Курск, 16-17 мая 2022 г. / под ред. В. А. Липатова. – Курск, 2022. – С. 101-106.

3. Величко, И. М. Совместное длительное воздействие этанола и морфина на показатели дофаминергической системы в головном мозге крыс [Электронный ресурс] / И. М. Величко // Актуальные проблемы медицины : сб. материалов итог. науч.-практ. конф., 28-29 января 2021 г. / редкол.: Е. Н. Кроткова (отв. ред.), С. Б. Вольф, М. Н. Курбат. – Гродно, 2021. – С. 145-148. – 1 электрон. опт. диск.

4. Лелевич, С. В. Нейрохимические аспекты алкогольной интоксикации / С. В. Лелевич, И. М. Величко, В. В. Лелевич // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2017. – Т. 15, № 4. – С. 375-380.

5. Лелевич, С. В. Центральные и периферические механизмы алкогольной и морфиновой интоксикации / С. В. Лелевич ; Министерство здравоохранения Республики Беларусь; ГрГМУ. – Гродно : ГрГМУ, 2015. – 248 с.

СОСТОЯНИЕ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕЙРОМЕДИАТОРНОЙ СИСТЕМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ОДНОКРАТНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭТАНОЛА И МОРФИНА

Дробышевская А.А., Дорошенко Е.М.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Проблема избыточного употребления алкоголя не теряет своей актуальности и на сегодняшний день. Известно, что воздействие алкоголя приводит к дисфункции почти всех нейрохимических систем мозга [1-6]. Кроме чрезмерного употребления алкоголя и его действия на центральную нервную систему также стоит проблема сочетанного воздействия на нейромедиаторные системы алкоголя и опиатов. Морфин способен равномерно распределяться по отделам головного мозга и вызывать существенные метаболические нарушения в тканях, в том числе при однократном введении [3].

В настоящее время присутствуют существенные трудности в толковании клинических проявлений совместного действия этанола и морфина. Всё еще неясно, является ли алкогольный этап опиоидной наркомании простой ее трансформацией или же это процесс формирования новой, коморбоидной патологии [4]. Следует отметить, что данная проблема недостаточна изучена, и поэтому ее исследование является целью данной работы.

Цель. Проанализировать литературные данные об изменении компонентов дофаминергической системы головного мозга при комплексном однократном воздействии этанола и морфина.

Материалы и методы. В анализируемых нами литературных источниках [5-6] комплексную алкоголь-морфиновую интоксикацию моделируют на беспородных крысах самцах массой 180-220 г. Особей делили на 4 группы. Контрольным особям 1 группы вечером вводили внутривенно, через 12 часов – внутривенно эквивалентные количества 0,9% NaCl.

Контрольным особям 2 группы физ. раствор вечером вводили внутрибрюшинно, а утром – внутривентрикулярно. Животным 3 экспериментальной группы вечером интратекально вводили эквивалентное количество физ. раствора, и через 12 часов однократно внутрибрюшинно – 1% раствор морфина гидрохлорида в дозе 20 мг/кг массы тела. Крысам 4 группы вечером внутрибрюшинно вводили эквивалентное количество 0,9% NaCl, и через 12 часов - 25% раствор этанола (внутривентрикулярно) в дозе 3,5 г/кг массы тела. Особям 5 группы вечером вводили морфин, через 12 часов внутривентрикулярно – этанол. Крысам 6 группы вечером вводили этанол, а через 12 часов – морфин. Декапитацию осуществляли через час после последнего введения психоактивных веществ (ПАВ) [5-6].

Результаты и обсуждение.

В вышеописанной модели при острой алкогольной интоксикации (ОАИ) происходит усиление дофаминергической проводимости в некоторых отделах центральной нервной системы (ЦНС), что сопровождается повышением концентрации дофамина, что, в свою очередь, является основной причиной стимулирующего действия небольших доз этанола [5].

По мнению некоторых авторов, непосредственной причиной повышения уровня дофамина в ЦНС при ОАИ может быть прямое возбуждение этанолом дофаминергических нейронов в вентральной области покрышки [5].

Авторами отмечается отсутствие изменений содержания дофамина и продуктов его метаболизма в мозжечке и гипоталамусе при однократном введении этанола. После острого введения этанола обнаружено увеличение оборота дофамина, измеряемого как содержание 3,4-ДОФУК в стриатуме крыс [2].

В анализируемой модели ОАИ сопровождается признаками усиления оборота дофамина в стриатуме, что подтверждается увеличением содержания дофамина и продукта его распада – гомованилиновой кислоты (ГВК). В среднем мозге концентрация ГВК снижается, что может свидетельствовать о снижении активности дофаминергической системы в данном отделе головного мозга [2].

В литературе отмечается, что при однократном введении морфина происходит интенсификация метаболизма и выделения дофамина в медиальной префронтальной коре, а также в прилежащем ядре и стриатуме. Так же острая морфиновая интоксикация (ОМИ) приводит к снижению уровня дофамина в среднем мозге, гипоталамусе, гиппокампе, коре больших полушарий на фоне повышенного обмена его и увеличенного синтеза в некоторых подкорковых структурах [5]. Так же при ОМИ в коре больших полушарий увеличивается уровень тирозина [1].

При исследованиях нарушений функционирования дофаминергической системы коры больших полушарий головного мозга при острой алкогольно-морфиновой интоксикации авторы отмечают постоянную концентрацию дофамина в коре больших полушарий [1].

Согласно литературным данным при введении веществ в очередности этанол+морфин приводит к расходованию дофамина и росту концентрации 3,4-ДОФУК в гипоталамусе [2]. При изменении очередности введения ПАВ

уровень дофамина не изменяется. В то же время исследователи отмечают повышение уровня тирозина при комплексной интоксикации обоими ПАВ по сравнению с аналогичным показателем при однократном введении алкоголя, что может свидетельствовать об определенной интенсификации процессов распада нейромедиатора [1].

Выводы:

1. При острой алкогольной интоксикации в стриатуме возрастает уровень дофамина, ГВК и 3,4-ДОФУК. В то время как в мозжечке и гипоталамусе концентрация дофамина не изменяется.

2. После однократного введения морфина наблюдается снижение концентрации дофамина в гипоталамусе, среднем мозге. В коре больших полушарий так же происходит повышение уровня тирозина.

3. Комплексная этанол-морфиновая интоксикация приводит к снижению уровня дофамина в гипоталамусе, в то время как при морфин-алкогольной интоксикации уровень дофамина не изменяется.

ЛИТЕРАТУРА

1. Величко, И. М. Нарушения функционирования дофаминергической системы коры больших полушарий головного мозга крыс при острой алкогольно-морфиновой интоксикации / И. М. Величко, С. В. Лелевич // Актуальные проблемы медицины : Сборник материалов итоговой научно-практической конференции, Гродно, 24 января 2020 года / отв. редактор В. А. Снежицкий. – Гродно : ГрГМУ, 2020. – С. 106-110.

2. Величко, И. М. Особенности функциональной активности дофаминергической нейромедиаторной системы при воздействиях психоактивных веществ / И. М. Величко, С. В. Лелевич, В. В. Лелевич // Актуальные проблемы общей и клинической биохимии – 2023 : сборник материалов республиканской научно-практической конференции, Гродно, 26 мая 2023 года. – Гродно: ГрГМУ, 2023. – С. 45-51.

3. Величко, И. М. Содержание нейромедиаторных аминокислот в коре и стриатуме головного мозга крыс при острой комплексной интоксикации этанолом и морфином / И. М. Величко, С. В. Лелевич, О. И. Случич // Актуальные проблемы медицины : материалы ежегодной итоговой научно-практической конференции, Гродно, 25 января 2019 года. – Гродно: ГрГМУ, 2019. – С. 102-104.

4. Винникова, М. А. Терапевтические стратегии модификационной профилактики при синдроме зависимости, вызванном сочетанным употреблением психоактивных веществ: обзор данных литературы / М. А. Винникова, Е. В. Ежкова, Р. А. Булатова // Профилактическая медицина. – 2018. – № 2 (2). – С. 61-67.

5. Лелевич, С. В. Центральные и периферические механизмы алкогольной и морфиновой интоксикации: монография / С. В. Лелевич. – Гродно : ГрГМУ, 2015. 252 с.

6. Модель острой комплексной интоксикации этанолом и морфином / И. М. Величко, С. В. Лелевич, В. В. Лелевич, А. Ю. Нечай // Материалы

республиканской с международным участием научно-практической конференции, посвященной 60-летию Гродненского государственного медицинского университета : сборник статей, Гродно, 28 сентября 2018 года / Ответственный редактор В. А. Снежицкий. – Гродно : ГрГМУ, 2018. – С. 133-135.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕЙРОМЕДИАЦИИ В РАЗЛИЧНЫХ СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА ФОНЕ ГИПОДИНАМИИ

Дробышевская А.А., Лелевич В.В., Дорошенко Е.М.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. В настоящее время алкоголизация часто сочетается с гиподинамией. Но при широкой распространенности данного сочетания, его редко учитывают при проведении экспериментов, связанных с алкогольной интоксикацией. Поэтому изучение комплексного воздействия алкогольной интоксикации и гиподинамии на головной мозг является актуальным [2].

Цель. Проанализировать литературные данные о изменении состояния серотонинергической нейромедиаторной системы при острой и хронической алкогольной интоксикации на фоне гиподинамии.

Материалы и методы. В анализируемой нами модели опыты проводились на беспородных белых крысах самцах массой 180-220 г. Моделирование гиподинамии (ГД) проводилось путем помещения крыс в индивидуальные клетки-пеналы, ограничивающие их подвижность, на 7, 14 и 28 суток. Контрольная группа животных находилась в общей клетке с обычным двигательным режимом. При моделировании хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) животным предоставлялся раствор этанола в качестве единственного источника жидкости в течение 7, 14 и 28 суток. В течение первой недели использовался 10%-й раствор этанола, в течение второй недели – 15%-й, в течение третьей недели и далее – 20%-й раствор [4]. Модель острой алкогольной интоксикации (ОАИ) на фоне ГД проводилась путем помещения белых беспородных крыс-самцов массой 160-180 г в специальные клетки-пеналы на сроки от 7, 14 и 28 суток с последующим введением 25%-го раствора этанола в/бр в дозе 3,5 г/кг за 1 час до декапитации. Контрольная группа получала эквивалентное количество физиологического раствора [2].

Результаты и обсуждение.

В вышеописанной модели при гиподинамии сроком 7 суток в коре больших полушарий (КБП) наблюдается снижение уровня серотонина [2].

Гиподинамия сроком 14 суток сопровождалась снижением концентрации триптофана в мозжечке крыс [1]. В КБП наблюдался рост концентрации

5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК) [2] и снижение уровня 5-окситриптофана в стриатуме [1].

Увеличение срока гиподинамии до 28 суток приводит к уменьшению уровня 5-гидрокситриптофана в мозжечке и КБП [2, 4].

Согласно литературным данным, ОАИ ни в одном из описываемых отделов мозга не сопровождается значительными изменениями уровня серотонина, его предшественников и метаболитов [2-3].

По мнению некоторых авторов, ОАИ на фоне 7-суточной ГД сопровождается снижением концентрации 5-гидрокситриптофана, 5-ОИУК и серотонина в КБП [2-3], падением уровня серотонина в среднем мозге. В мозжечке отмечается повышенный уровень серотонина, 5-гидрокситриптофана и 5-ОИУК [3].

При 14-суточном комплексном воздействии ГД и ОАИ наблюдается снижение содержания серотонина в КБП [2-3]. В мозжечке и среднем мозге крыс происходит снижение концентрации триптофана [3].

Острая алкоголизация на фоне 28-суточной гиподинамии сопровождается ростом концентрации триптофана, серотонина и 5-ОИУК в КБП [2-3]. В среднем мозге увеличивается уровня триптофана, серотонина и 5-ОИУК, а также возрастает содержание триптофана в мозжечке [3].

ХАИ в течение 28 суток характеризуется снижением концентрации 5-гидрокситриптофана и 5-ОИУК в мозжечке [4]. В стриатуме и гипоталамусе наблюдается повышение уровня 5-окситриптофана [1].

Согласно литературным данным, комбинированное воздействие ХАИ и ГД в течение 14 суток приводит к уменьшению уровня триптофана и 5-ОИУК в мозжечке крыс [4]. В стриатуме и гипоталамусе снижается концентрация 5-окситриптофана. При этом в гипоталамусе снижается концентрация триптофана [1].

При увеличении срока сочетанного воздействия ГД и ХАИ до 28 суток концентрации триптофана и 5-ОИУК в мозжечке снижались [4]. В гипоталамусе отмечалось снижение концентрации триптофана и серотонина [1].

Выводы:

1. При 7-суточной гиподинамии в КБП снижается уровень серотонина, на 28 сутки снижается уровень 5-окситриптофана в коре больших полушарий и мозжечке.

2. В ранние сроки ХАИ изменений параметров серотонинергической системы в структурах мозга не регистрируется, а спустя 28 суток ХАИ в стриатуме и гипоталамусе повышается уровень 5-окситриптофана.

3. Острая алкогольная интоксикация на фоне недельной гиподинамии приводит к снижению концентрации серотонина в КБП и среднем мозге, а после 28 суток отмечается увеличение содержания серотонина в данных отделах мозга.

4. Сочетание гиподинамии и ХАИ через 14 суток приводит к уменьшению концентрации триптофана и 5-ОИУК в мозжечке. Комплексное воздействие этих факторов в течение 3 недель сопровождается снижением содержания 5-ОИУК в мозжечке и уровня серотонина в гипоталамусе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мамедова, А. Е. Влияние комплексного воздействия хронической алкогольной интоксикации и гиподинамии на серотонинергическую систему в некоторых отделах головного мозга крыс [Электронный ресурс] / А. Е. Мамедова, В. В. Лелевич // Кислород и свободные радикалы: сб. материалов науч.-практ. конф. с междунар. участием, 26-27 мая 2022 г. / [редкол.: И. Г. Жук, С. Б. Вольф, В. В. Зинчук] ; под ред. В. В. Зинчука. – Гродно, 2022. – С. 105-108. – 1 электрон. опт. диск.
2. Мамедова, А. Е. Содержание отдельных компонентов серотонинергической системы в коре больших полушарий крыс при комплексном воздействии гиподинамии и острой алкогольной интоксикации [Электронный ресурс] / А. Е. Мамедова // Сборник материалов республиканской научно-практической конференции студентов и молодых ученых, посвященной 95-летию со дня рождения профессора Маслакова Дмитрия Андреевича, 28-29 апреля 2022 г. / редкол.: И. Г. Жук (отв. ред.) [и др.]. – Гродно, 2022. – С. 489-491. – 1 электрон. опт. диск.
3. Мамедова, А. Е. Содержание серотонина, его предшественников и метаболитов в головном мозге крыс в условиях острой алкогольной интоксикации и гиподинамии / А. Е. Мамедова, В. В. Лелевич, Е. М. Дорошенко // Вопросы наркологии. – 2022. – № 1 (208). – С. 69-82.
4. Серотонинергическая система мозжечка при комплексном воздействии хронической алкоголизации и гиподинамии [Электронный ресурс] / А. Е. Мамедова [и др.] // Актуальные проблемы общей и клинической биохимии - 2023 : сб. материалов респ. науч.-практ. конф., Гродно, 26 мая 2023 г. / отв. ред. В. В. Лелевич. – Гродно, 2023. – С. 216-219. – 1 электрон. опт. диск.

МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСА БЕЛКА BSA С NBD-АЗИДОАНИЛИНОМ

Карпушенкова В.С., Фалетров Я.В.

УО «Белорусский государственный университет»,

Минск, Республика Беларусь

Актуальность. 7-Нитробензофуразан (NBD-) входит в состав ряда флуоресцентных зондов для биохимических исследований [1]. С другой стороны, используются как часть зондов для рамановской спектроскопии и фотоактивируемой модификации компонентов клетки [2], что делает полученный нами ранее *para*-NBD-азидоанилин (NAzan) перспективным для исследования в таких аспектах. Альбумины – белки крови, транспортирующие ионы металлов, жирные кислоты, стероиды, билирубин и ряд лекарственных соединений [3].

Цель. Провести молекулярное *in silico* исследование взаимодействия альбумина с NAzan для оценки возможности транспорта данного лиганда в токе крови.

Материалы и методы исследования. Молекулярный докинг был проведен с помощью программного обеспечения LABODOCK [4]. Согласно базе Uniprot (номер P02769 ALBU_BOVIN), белку бычьему сывороточному альбумину (BSA) соответствует несколько экспериментально полученных структур в базе PDB: (коды 6RJV, 3V03, 4JK4, 4F5S, 4OR0). При проведении докинга использовались только координаты атомов аминокислот (АК) цепей А и В. Для каждой из двух цепей белка молекулярный докинг проводился отдельно. Также с помощью ColabFold [5] получена модельная структура (AF). Программное обеспечение NAMD [6] использовалось для симуляции молекулярной динамики в воде, T = 310 K, 0,15 M NaCl.

Результаты и обсуждение. В таблице 1 представлены результаты молекулярного докинга – энергии взаимодействия (E) и АК сайта связывания.

Показано, что наибольшей аффинностью характеризовался комплекс со структурой PDB 4OR0 (цепь А), значение энергии составило E=-9,260 ккал/моль. С данным комплексом проведена симуляция молекулярной динамики – комплекс стабилен, среднее значение RMSD составляет 1,078 в пределах 0,15 нс. Работа выполнена при поддержке ГПНИ № г.р. 20210560.

Таблица 1 – Результаты молекулярного докинга

Код PDB	Цепь	E, ккал/моль	Аминокислотные остатки	Расстояние, Å
6RJV	A	-8,323	196-ARG; 455-ILE; 189-LEU; 193-ALA; 145-HIS	3,87; 3,53; 3,49 3,73; 3,17
	B	-8,052	196-ARG; 455-ILE; 189-LEU; 193-ALA; 145-HIS	3,94; 3,54; 3,54 3,75; 3,21
3V03	A	-8,483	196-ARG; 455-ILE; 458-ARG 193-ALA; 145-HIS	3,69; 3,74; 3,70 3,74; 3,22
	B	-8,446	189-LEU; 455-ILE; 193-ALA 145-HIS; 190-THR	3,62; 3,95; 3,74 3,46; 3,04
4JK4	A	-8,867	189-LEU; 455-ILE; 458-ARG 193-ALA; 196-ARG	3,62; 3,52; 3,72 3,64; 3,33
	B	-8,458	451-TYR; 458-ARG; 431-LYS 145-HIS; 192-SER	3,82; 3,76; 3,02 3,37; 3,36
4F5S	A	-8,750	196-ARG; 455-ILE; 189-LEU 193-ALA; 145-HIS	3,80; 4,00; 3,56 3,73; 3,12
	B	-8,675	212-ALA; 326-LEU; 330-LEU 208-ARG; 323-ASP	3,80; 3,77; 3,52 3,99; 3,36
4OR0	A	-9,260	508-PHE; 547-MET; 527-ALA 531-LEU; 550-PHE	3,57; 3,59; 3,59 3,76; 3,47
	B	-9,260	196-ARG; 455-ILE; 458-ARG 145-HIS; 435-ARG	3,76; 3,61; 3,80 3,07; 3,85

AF	B	-8,294	346-LEU; 346-LEU; 349-ALA 212-ALA; 212-ALA	3,80; 3,72; 3,88 3,78; 3,91

Выводы

Полученные с привлечением современных методов компьютерного моделирования с использованием онлайн ресурсов результаты свидетельствуют в пользу возможности эффективного связывания NAzan с данным альбумином *Bos taurus* и, вероятно, его гомологами из других организмов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ghosh, P. Benzofurazans and Benzofuroxans: Biochemical and Pharmacological Properties / P. Ghosh, B. Ternai, M. Whitehouse // Medicinal Research Reviews. – 1981. – Vol. 1, № 2. – P. 159-187.
2. New Photochemical Properties of Azidoaniline and Ciprofloxacin / Karpushenkova V.S. [et al.] // Chem. Proc. 2022. – Vol. 12(1). – p. 66. – <https://doi.org/10.3390/ecsoc-26-13571>
3. Structural and immunologic characterization of bovine, horse, and rabbit serum albumins / Karolina A. [et al.] // Molecular Immunology. 2012 – Vol. 52., № 3-4 – P. 174-182. - ISSN 0161-5890, <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2012.05.011>.
4. Loke, Z. R. LABODOCK: A Colab-Based Molecular Docking Tools (v2.0.0) / Z.R. Loke // Zenodo. 2023. – <https://doi.org/10.5281/zenodo.8432838>
5. ColabFold: making protein folding accessible to all / M. Mirdita [et al.] // Nat Methods 19. 2022 – p. 679–682. – <https://doi.org/10.1038/s41592-022-01488-1>.
6. Scalable molecular dynamics with NAMD / C. James [et al.] // Journal of Computational Chemistry. 2005. – Vol. 26. – p. 1781-1802.

КАРДИО- И ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ ФЛАВОНОИДОВ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭТАНОЛА У КРЫС

Коваленя Т.А.¹, Белоновская Е.Б.², Кузьмицкая И.А.², Кирко С.Н.²,
Лапшина Е.А.¹, Климович И.И.³, Буко В.У.², Заводник И.Б.¹

¹ УО «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы»

² Отдел биохимической фармакологии, Институт биохимии биологически
активных соединений НАН Беларуси

³ УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Патология сердечно-сосудистой системы и поражения печени представляют серьезную медикосоциальную проблему. Причиной различных типов патологии печени и сердца во многих случаях является дисфункция и структурные аномалии митохондрий, нарушения энергетики и митохондриального кальциевого гомеостаза. Алкогольное поражение сердца и печени представляет собой сложный патологический процесс, включающий

нарушение сигнальных каскадов и экспрессию факторов транскрипции, контролирующих липидный обмен, нарушение катаболизма жирных кислот, и стеатоз печени и воспаление миокарда, генерацию активных форм кислорода [3].

Предотвращение митохондриальной дисфункции, особенно на ранних стадиях жировой болезни печени и алкогольной кардиомиопатии может предотвратить прогрессирование заболевания [1].

Богатые растительными полифенолами экстракты или изолированные полифенолы предотвращают развитие токсических эффектов несколькими путями: снижение синтеза липидов, усиление окисления жирных кислот за счет экспрессии соответствующих генов, снижение содержания воспалительных цитокинов (например, IL-1 β и NF- κ B p65) [4]. Флавоноиды, вторичные метаболиты высших растений, не синтезируемые в животных тканях, демонстрируют многочисленные благоприятные эффекты как в экспериментах *in vivo*, так и *in vitro*, предотвращают развитие неврологических, сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний, диабета, токсических повреждений печени и ряда других. В качестве кардио- и гепатопротекторов в нашей работе мы использовали антоцианы краснокочанной капусты (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*), широко используемой в питании человека, и флавоноид нарингин.

Цель работы заключается в доказательстве возможности специфического гепатопротекторного и кардиопротекторного эффектов редокс-активных флавоноидов (антоцианы краснокочанной капусты, гликозид нарингин) при токсическом поражении печени и кардиопатологии у крыс.

Материалы и методы исследования. В работе использовали следующие реактивы: дегидрат хлорида кальция (CaCl₂), сукцинат натрия динатриевая соль, АДФ, нарингин и ряд других (Sigma-Aldrich, США; Германия).

Экстракт краснокочанной капусты (ЭКК) получали из свежей краснокочанной капусты (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*), собранной на экспериментальном участке Гродненского государственного аграрного университета, Беларусь [2]. Процедуры с экспериментальными животными одобрены Этическим комитетом Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (протокол № 29/16 от 23.05.2016) и соответствуют Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях.

Для экспериментов использовали белых крыс-самцов линии Вистар (200–230 г, по 8–10 крыс в группе). В первом эксперименте животные групп 2–4 (алкогольный стеатогепатит, АСГ) получали раствор этанола внутрижелудочно (30 %, об/об, 8 недель) в дозе 4 г/кг массы тела. Группа 3 (АСГ + 11 мг/кг ЭКК) – крысы получали ЭКК внутрижелудочно (11 мг фенольных соединений/кг.). Группа 4 (АСГ + 22 мг/кг ЭКК) – крысы получали экстракт внутрижелудочно (22 мг фенольных соединений/кг). В следующем эксперименте на фоне алкогольной интоксикации животным вводили нарингин (40 мг/кг массы животного, ежедневно, внутрижелудочно). Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования. Использовали среду выделения, содержащую 0.125 М KCl, 0.05 М сахарозу,

0.01 М трис-НCl, 0.0025 М KH_2PO_4 , 0.005 М MgSO_4 и 0.0005 М ЭДТА, pH 7,4. Биохимический анализ проводили, используя наборы для определения активности сывороточных маркерных ферментов (LaChema, Брно, Чехия). Показатели оценивали статистически при помощи программного обеспечения Statistica 10.0, при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Введение этанола достоверно повышало активность ферментов-маркеров повреждения печени и уровень общего и связанного билирубина (в 1,5 раза каждый) в сыворотке крови крыс. Лечение животных экстрактом антоцианов при интоксикации вызывало частичную дозозависимую нормализацию сывороточной активности АлТ (но не АсТ) и щелочной фосфатазы и полное восстановление уровней общего и связанного билирубина. Введение антоцианов существенно снижало накопление нейтральных липидов в печени крыс. Гистологический анализ показал, что длительное введение высоких доз этанола вызвало стеатогепатит, наличие поражений проявлялось макро- и микровезикулярным стеатозом, баллоной дистрофией и лимфоцитарной инфильтрацией. Введение крысам, получавшим алкоголь, ЭКК частично предотвращало эти патологические изменения. Гепатопротекторный эффект носил дозозависимый характер.

Длительное введение этанола существенно нарушало дыхательную активность митохондрий печени крыс. Введение ЭКК (11 и 22 мг/кг) при интоксикации крыс восстанавливало скорость потребления кислорода V3 и V4 и нормализовало значения коэффициентов АДФ/О и RCR. В присутствии ЭКК мы наблюдали дозозависимое уменьшение потенциала митохондриальной мембраны. Антоцианы увеличивали скорость Ca^{2+} -индуцированного процесса МРТР при низких концентрациях (1–4 мкг/мл) и ингибировали этот процесс при более высоких концентрациях. Длительное введение флавоноида нарингина (40 мг/кг) на фоне алкоголизации частично предотвращало развитие токсического эффекта этанола у крыс, восстанавливало параметры потребления кислорода митохондриями сердца (нормализовывало коэффициенты фосфорилирования АДФ/О и дыхательного контроля V3/V2), снижало скорость Ca^{2+} -индуцированного набухания митохондрий сердца, что отражает повышение устойчивости митохондрий сердца к воздействию Ca^{2+} .

Выводы. Одним из механизмов алкогольной интоксикации у крыс является нарушение функциональной активности митохондрий: снижается скорость и эффективность потребления кислорода при интоксикации. Многочисленные исследования подтвердили терапевтические свойства антоцианов краснокочанной капусты и гликозида нарингина в профилактике разных видов патологий. Можно предположить, что протекторный эффект антоцианов опосредован их антиоксидантным, мембраностабилизирующим митохондриотропным действием. Лечение ЭКК (22 мг полифенолов/кг), как и нарингином, крыс, получавших этанол, существенно облегчало стеатоз печени и нарушения респираторной активности митохондрий кардиомиоцитов и гепатоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ajith, T. A. Role of mitochondria and mitochondria-targeted agents in non-alcoholic fatty liver disease / T. A. Ajith // *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. – 2018. – V. 45, iss. 5. – P. 413-421.
2. Antidiabetic effects and erythrocyte stabilization by red cabbage extract in streptozotocin-treated rats / V. Buko [et al.] // *Food & Function*. – 2018. – Vol. 9, iss. 3. – P. 1850-1863.
3. Sozio, M. Alcohol and lipid metabolism / M. Sozio, D. W. Crabb // *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*. – 2008. – V. 295, iss. 1. – P. E10-E16.
4. Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) peel polyphenol-rich extract attenuates rat liver mitochondria impairments in alcoholic steatohepatitis in vivo and after oxidative treatment in vitro / I. B. Zavodnik [et al.] // *Journal of Functional Foods*. – 2019. – V. 57. – P. 83-94.

ИНГИБИТОРЫ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ 3-АРИЛ-2-ИЗОКАЗОЛИН-5-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ

**Ковганко Н.Н., Пархач М.Е., Борисевич С.Н., Глинник С.В.,
Принькова Т.Ю.**

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. Тромбозы артерий и вен являются ведущей причиной смертности и инвалидизации населения всего мира, несмотря на большое количество лекарственных препаратов, созданных фармацевтами для борьбы с этим заболеванием [1]. Формирование тромбов в артериях, венах, полостях сердца и их эмболия в разные органы является причиной развития инфаркта миокарда, инсультов, тромбоэмболии легочной артерии. Тромбы закрывают приток крови к отдельным участкам органов и вызывают их гибель. Проведение своевременных и правильных профилактических и лечебных мероприятий позволяет увеличить продолжительность жизни пациентов, улучшить ее качество и снизить экономические затраты на лечение.

Поиск новых лекарственных средств, способных эффективно препятствовать агрегации тромбоцитов, в настоящее время является актуальной задачей и вызван, в первую очередь, наличием побочных эффектов у используемых в настоящее время антиагрегантов. Перспективными соединениями являются производные изоксазола, среди которых найдены блокаторы GPIIa/IIIb рецептора тромбоцитов [1]. Изоксазолиновый цикл, являясь неароматическим аналогом изоксазольного, также обладает высоким потенциалом для получения ингибиторов агрегации тромбоцитов [2].

Цель работы – изучить способность производных 3-арил-2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты ингибировать АДФ-зависимую агрегацию тромбоцитов.

Материалы и методы. В качестве потенциальных ингибиторов агрегации тромбоцитов исследованы производные 3-арил-2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты (таблица 1), общая формула которых представлена ниже.

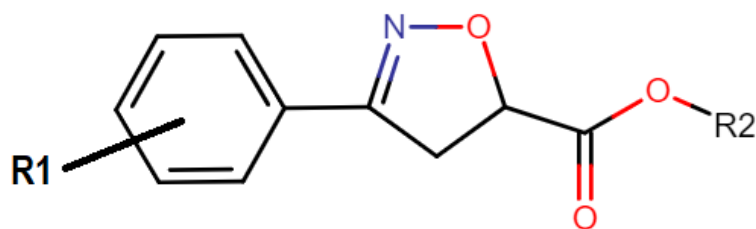


Таблица 1 – Строение исследованных соединений

Номер	Название	R1	R2
1	3-(2-Фторфенил)-2-изоксазолин карбоновая кислота	2-F	H
2	3-(3-Фторфенил)-2-изоксазолин карбоновая кислота	3-F	H
3	3-(4-Фторфенил)-2-изоксазолин карбоновая кислота	4-F	H
4	Метилвый эфир 3-(2-фторфенил)-2-изоксазолин карбоновой кислоты	2-F	CH ₃
5	Метилвый эфир 3-(3-фторфенил)-2-изоксазолин карбоновой кислоты	3-F	CH ₃
6	Метилвый эфир 3-(4-фторфенил)-2-изоксазолин карбоновой кислоты	4-F	CH ₃

Получение указанных соединений осуществлялось методом [3+2]-диполярного циклоприсоединения нитрилоксидов, генерируемых из соответствующих оксимов, к акриловой кислоте или её метиловому эфиру [3].

Исследование способности ингибировать агрегацию тромбоцитов осуществляли методом проточной цитометрии [4]. Для этого в 100 мкл плазмы, обогащенной тромбоцитами, вносили раствор АДФ (конечная концентрация 12 мкмоль/л) и соответствующее синтезированное вещество в 10 мкл ДМСО (конечная концентрация 5 и 10 мкмоль/л, соответственно). В качестве образца для сравнения использовали плазму, в которую вносили 10 мкл ДМСО без эффектора. Активация тромбоцитов добавлением АДФ приводит к изменению конформации мембранных GPIIa/IIIb рецепторов, ответственных за дальнейшую агрегацию. Образцы плазмы крови, обогащенной тромбоцитами, с внесенными эффекторами выдерживали 15 мин при комнатной температуре, потом добавляли раствор меченых антител: CD 41a-FITC и CD61-PE. Дальнейший анализ поверхностных маркеров тромбоцитов GPIIa (CD41a) и GPIIb (CD61) проводили с помощью проточного цитофлюориметра Perlong FC2060 (Perlong Medical Equipment, КНР). В качестве образца для контроля способности тромбоцитов к агрегации использовался метиловый эфир (+)-(S)-альфа-(о-хлорфенил)-6,7-дигидротиено[3.2-с]пиридин-5(4H)-уксусной кислоты (клопидогрел) – используемый в настоящее время как антиагрегант (конечная концентрация 5 и 10 мкмоль/л, соответственно).

Результаты и обсуждение.

Все изученные соединения проявили способность к подавлению агрегационной способности тромбоцитов (таблица 2). Увеличение концентрации вещества с 5 до 10 мкмоль/л привело к возрастанию ингибирующей силы эффикторов.

Таблица 2 – Результаты ингибирования агрегационной способности тромбоцитов

Эффиктор	Ингибирование агрегации, %	
	Концентрация, мкмоль/л	
	5	10
1	25	31
2	27	33
3	21	29
4	37	43
5	39	46
6	31	38
клопидогрел	67	77

Следует отметить, что метиловые эфиры в сравнении с веществами со свободной карбоксильной группой, проявили более сильную способность к подавлению перехода тромбоцитарных рецепторов GPIIa/IIIb в активное состояние, в котором они далее способны связываться с фибриногеном и, соответственно, в дальнейшем подвергаться агрегации. Сравнение с используемым в настоящее время антиагрегантом клопидогрелем указывает на необходимость дальнейшего поиска новых соединений, что может выразиться в модификации ароматического заместителя в структуре новых веществ.

Заключение. Производные 3-арил-2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты, содержащие один атом фтора в ароматическом цикле, проявили способность к подавлению активации тромбоцитарных рецепторов GPIIa/IIIb и в дальнейшем могут быть использованы как строительные блоки при создании новых антиагрегантов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sysak, A. Isoxazole ring as a useful scaffold in a search for new therapeutic agents / A. Sysak, B. Obmińska-Mrukowicz // Eur. J. Med. Chem. – 2017. – Vol. 137, № 2. – P. 292-309.
2. Synthetic isoxazole as antiplatelet agent / Gutiérrez M [et al] // Platelets. – 2014. Vol. 25, № 4. – P. 234-238.
3. An easy and regioselective synthesis of new functionalized isoxazoline derivatives via a 1,3-dipolar cycloaddition reaction / C. Messaoudi [et al] // Synth. Comm. – 2022. – Vol. 52, № 24. – P. 2291-2300.

4. Measurement of platelet aggregation, independently of patient platelet count: a flow-cytometric approach / P.J. Vinholt [et al] // J. Thromb. Haemost. – 2017. – Vol. 15, № 6. – P. 1191-1202.

СТРАТЕГИЯ ПРИМЕНЕНИЯ ВИТАМИННО-МИНЕРАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ С РАЗНЫМИ ДОЗАМИ МИКРОНУТРИЕНТОВ

Коденцова В.М.¹, Рисник Д.В.², Мойсеёнок А.Г.³

¹ *ФГБУН "Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи"*

² *ФГБОУ ВО "Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова", биологический факультет, Москва, Российская Федерация*

³ *Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси», Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. В питании большинства населения России и Белоруссии, независимо от возраста и места проживания, в течение всего года обнаруживается множественная микронутриентная недостаточность. Это является следствием недополучения витаминов D и группы B, а также ряда минеральных веществ (Ca, Mg и Zn) в количествах соответствующих рекомендуемым нормам потребления [1]. Одновременно сниженный уровень в крови или моче имеется не менее чем у 1/3 обследованных лиц [1]. Одним из самых надежных способов оптимизации витаминного статуса является использование ВМК. В аптечной сети имеется большой ассортимент витаминно-минеральных комплексов (ВМК), различающихся по композиционному составу, формам выпуска и дозам микронутриентов. При этом унифицированный подход к разработке их рецептуры отсутствует. Наличие такого разнообразия ВМК и зачастую агрессивной рекламы, мотивирующей их приобретение, затрудняет выбор наиболее эффективных ВМК для устранения недостаточности микронутриентов. В связи с этим представляется актуальным провести анализ собственных результатов и данных литературы, что позволит сориентироваться в разнообразии ВМК и сделать конкретные рекомендации и врачам и населению по поэтапному эффективному применению ВМК.

Цель – обоснование стратегии применения ВМК для эффективной коррекции множественной микронутриентной недостаточности у населения.

Материалы и методы исследования.

Анализ существующей по проблеме литературы за последние годы осуществляли по базам данных РИНЦ, Pubmed, а также в системах Google Scholar, ReserchGate по ключевым словам: «vitamin-mineral supplements», «efficacy», а также их русским аналогам. Критериями включения были только рандомизированные интервенционные исследования, проведенные с участием

взрослых в возрасте старше 18 лет, независимо от калорийности рациона и физической активности участников, в которых имелась информация о продолжительности перорального приема, дозировках витаминов и минеральных веществ в составе ВМК, не превышающих верхний допустимый уровень потребления, наличие данных о концентрациях микронутриентов в плазме (сыворотке) крови, собранной натощак после ночного голодания, до и после курса приема ВМК, включавших не менее 5 витаминов. Критериями исключения были тезисы, опубликованные в сборниках материалов конференций, результаты, полученные *in vitro*, и на моделях экспериментальных животных.

Результаты и обсуждение.

ВМК по дозам содержащихся в них микронутриентов делятся на 3 категории: с низкими дозами, составляющими 15-50% от рекомендуемого потребления (РНП); с физиологическими дозами, примерно соответствующими физиологической потребности организма; повышенными дозами, которых содержание витаминов превышает РНП для детей в 2 раза, для взрослых – в 3 раза.

Между дозой микронутриентов в ВМК и сроком повышения концентрации в крови, собранной натощак после ночного перерыва, наблюдается обратная зависимость. Для улучшения витаминного статуса требуется более длительное время при приеме ВМК с низкими дозами и более короткий срок для ВМК с повышенными дозами. Для каждого из витаминов время достижения оптимальных концентраций в крови индивидуальное. При приеме ВМК с дозами, соответствующими 100% от РНП, для витаминов В₂ и В₆ необходим прием ВМК в течение не менее 4-6 недель, а витамина D – в течение 12-20 недель [2]. При приеме ВМК с повышенными дозами (200-300% от РНП) время, необходимое для повышения уровня в крови, сокращается. Курсового приема ВМК в течение 1 мес. может оказаться недостаточно для коррекции дефицита всех витаминов.

В повседневных условиях организм испытывает дефицит витаминов различной степени на протяжении всего года. После отказа от приема ВМК начинается возврат к исходному состоянию недостаточности, т.е. происходит постепенное снижение концентрации витаминов в крови («вымывание» витаминов (wash-out)). Для витаминов группы В период вымывания короткий и составляет 1-3 недели, для витаминов А, Е, К₂ – 2-3 недели, для витамина D – 8-12 недель [3]. Прекращение приема ВМК сразу же приводит к возобновлению дефицита микронутриентов в питании и, следовательно, постепенному возврату к исходному состоянию недостаточной обеспеченности. Наглядно процесс элиминации витаминов после прекращения приема ВМК, можно представить как катание на санках с горок, крутизна которых для каждого из витаминов разная.

Универсальная научно обоснованная стратегия применения ВМК для оптимизации микронутриентного статуса организма включает 2 этапа [4]. Для достижения оптимальной обеспеченности особенно после перенесенной болезни или приема антибиотиков, в период сезонных заболеваний, при

стрессах любой природы на первом этапе необходим курсовой прием в течение 1 месяца ВМК с высоким (200-300% от РНП) содержанием микронутриентов. Второй этап заключается в поддержании достигнутой на первом этапе оптимальной обеспеченности, что обеспечивается регулярным приемом без каких-либо перерывов ВМК с дозами, содержащими недостающие в рационе микронутриенты в дозе 50-100% от РНП. Женщинам в периконцептуальный период и в течение всей беременности рекомендуется ежедневный прием многокомпонентных ВМК, специально предназначенных для беременных женщин, содержащих дозы микронутриентов, соответствующие физиологической потребности организма.

Прекращение приема ВМК сразу после родов у женщин, регулярно принимавших ВМК на протяжении всей беременности, приводит к снижению суточного выделения витаминов А, Е, В1 и В2 с грудным молоком в течение 2-3 недель до уровня секреции у женщин, которые не принимали ВМК во время беременности [5].

Выводы

Для значительной части населения характерен одновременный хронический дефицит нескольких микронутриентов.

Витамины взаимосвязаны в организме в сложные метаболические сети, дефицит одного из них приводит к развитию функционального дефицита других микронутриентов.

Для быстрого устранения недостатка витаминов целесообразен прием ВМК с повышенными дозами.

Достижение оптимального уровня витаминного обеспечения после курса приема ВМК не гарантирует его долгосрочное поддержание вследствие возврата в течение нескольких недель к исходному состоянию дефицита вследствие уменьшения потребления микронутриентов.

Регулярный прием ВМК с физиологическими дозами является эффективной профилактической мерой против недостаточного потребления микронутриентов с пищей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коденцова, В.М. Микронутриентные метаболические сети и множественный дефицит микронутриентов: обоснование преимуществ витаминно-минеральных комплексов / В.М. Коденцова, Д.В. Рисник // Микроэлементы в медицине. – 2020.- Т. 21, № 4. С. 3–20 DOI: 10.19112/2413-6174-2020-21-4-3-20
2. Специализированные витаминно-минеральные комплексы для лиц, находящихся в экстремальных условиях / В.М. Коденцова, [и др.] // Вопросы питания. – 2022. – Т. 91, № 6. – С. 6-16 DOI: <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2022-91-6-6-16>.
3. Steady-state vitamin K2 (menaquinone-7) plasma concentrations after intake of dairy products and soft gel capsules / М.Н. Knapen, [et al] // Eur J Clin Nutr. - 2016.- Vol. 70, N 7.- P.:831-836. DOI: 10.1038/ejcn.2016.3

4. Коденцова, В.М. Научно обоснованные подходы к выбору и дозированию витаминно-минеральных комплексов / В.М. Коденцова, О.А. Вржесинская // Традиционная медицина. – 2011. – № 5. – С. 351-357.

5. Зависимость витаминного состава грудного молока женщин от приема поливитаминных препаратов в период беременности и лактации / О.Л. Лукоянова, [и др.] // Вопросы питания. – 1999. – № 4. – С.24-26.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕПРЕССИВНЫХ РАССТРОЙСТВ

Коцуба И.В., Леднёва И.О.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Различного рода нарушения – эмоциональные или аффективные расстройства и, прежде всего, депрессия – являются тяжелым заболеванием, распространяющимся более чем на 12% населения экономически развитых стран и представляют собой серьезную медико-социальную проблему [1].

Цель. Рассмотреть биохимические механизмы развития депрессии.

Методы исследования. Проведен анализ научных публикаций по теме исследования [1-3].

Результаты и обсуждение. Депрессия – психическое заболевание, характеризующееся патологически сниженным настроением с негативной, пессимистической оценкой себя, своего положения в окружающей действительности, своего прошлого и будущего [2]. С точки зрения биохимии интерес представляет один из аспектов механизма развития и течения депрессии – нарушение метаболизма биогенных аминов. Моноаминовая теория считается одной из наиболее поддерживаемых среди врачей относительно причин развития эндогенной депрессии. Согласно ей депрессия развивается из-за нарушений баланса биогенных аминов – дофамина, норадреналина и серотонина. Существуют сведения о резком снижении содержания всех моноаминов и увеличения уровня их метаболитов в мозге крыс после моделирования депрессии. Ученые считают неоднородной роль моноаминов в формировании отдельных симптомов депрессии. За чувства никчемности и вины, суицидальные мысли, нарушение аппетита может отвечать дефицит серотонина. Дофамин и норадреналин отвечают за апатию, исполнительную дисфункцию и усталость. При дефиците всех моноаминов в ЦНС говорят о нарушениях сна, подавленном настроении, психомоторной дисфункции. По большей степени эта теория подтверждается клинически: при назначении антидепрессантов, которые влияют на метаболизм или концентрацию этих нейромедиаторов, состояние пациентов улучшается.

В середине XX века была сформулирована, так называемая, катехоламиновая теория происхождения депрессии. Данная теория

предполагала нарушение регуляции системы мозга, чувствительной к норадреналину. Норадреналин усиливает обработку сенсорных входов, усиливает внимание, усиливает формирование и извлечение как долговременной, так и рабочей памяти. В настоящее время известно, что содержание норадреналина в клетках мозга контролируется особыми окончаниями нервной клетки – пресинаптическими адренорецепторами. Стимуляция этих рецепторов тормозит высвобождение норадреналина, что в свою очередь, приводит к его недостатку в синапсе и уменьшению нейротрансмиссии. Блокада данных рецепторов антидепрессантами, напротив, приводит к усилению процесса выделения норадреналина.

На основе данных возникла теория предполагающая наличие двух вариантов возникновения депрессии, один, связанный с истощением норадреналина и более чувствительный к лечению одними антидепрессантами (дезимипрамин или имипрамин) и другой – связанный с дефицитом серотонина и реагирующий на терапию другими препаратами (амитриптилин). Допускалось, что антидепрессанты оказывают свое терапевтическое влияние путем облегчения передачи, как норадреналина, так и серотонина. Последние исследования показали, что система мозга, чувствительная к норадреналину обладает выраженным влиянием на систему, чувствительную к серотонину. Оказалось, что нервные клетки, чувствительные к норадреналину контролируют скорость высвобождения серотонина посредством влияния на окончания нейронов, расположенных на телах серотонинергических нейронов. Увеличение же возбудимости серотонинергических нейронов в свою очередь усиливает выброс серотонина в нервных окончаниях.

В 70-х годах XX века получила развитие серотонинергическая теория возникновения депрессии. Согласно данной теории, серотонин рассматривался как биологически активное вещество (биогенный амин) – медиатор, отвечающий за повышение настроения, обеспечивающий контроль за уровнем агрессивности, внезапно возникающими влечениями, регуляцию аппетита, цикл «сон – бодрствование» и чувствительность к боли. Серотонинергическая теория подтверждается рядом клинических наблюдений, в которых снижается уровень 5-гидроксииндолуксусной кислоты – конечного продукта окисления серотонина в церебральной жидкости пациентов. На основе этой гипотезы были приняты попытки лечения с помощью предшественников серотонина – триптофана и 5-гидрокситриптофана.

Результаты такой терапии были крайне неоднозначны. В одних случаях была подтверждена высокая эффективность триптофана, в других речь шла лишь о незначительных улучшениях состояния пациентов после приема триптофана. Кроме того, некоторые авторы подчеркивали нестойкость положительного эффекта в результате его приема. Вероятно, именно поэтому в последнее время серотониновая теория подвергалась сомнению, несмотря на то, что остается одной из ведущих для объяснения патогенеза депрессии. Положительный эффект селективных ингибиторов обратного захвата серотонина потенциально подтверждает роль серотонина в развитии депрессии,

однако есть вероятность, что это действие может реализовываться через эффект плацебо или притупление эмоций.

В основе патогенеза депрессии может также лежать недостаток еще одного биологического вещества, являющегося предшественником норадреналина – дофамина [2]. В нормальных концентрациях дофамин, воздействуя на дофаминергические рецепторы, выполняет следующие функции в организме: вызывает повышенный интерес к жизни, повышает силу воли, повышает инициативность, увеличивает способность концентрации внимания, повышает мотивацию и др. На основании того, что блокада дофаминовых рецепторов нейрорептиками вызывала симптомы депрессии, а агонисты и предшественники дофамина оказывали терапевтическое действие, депрессию связывали со снижением дофаминергической активности в мозге. Известно, что нарушения обмена дофамина сопровождаются значительными изменениями баланса нейромедиаторов, в том числе ацетилхолина и глутамата, которым отводится важная роль в регуляции двигательной активности. Имеются сведения, подтверждающие, что снижение функциональной активности нигростриарной и мезолимбической дофаминергических систем и повышение активности норадреналинергической системы играют важную роль в формировании и поддержании смешанного тревожно-депрессивного состояния у животных [3].

При моделировании у крыс состояния, схожего с депрессивным (выращивание в условиях частичной или полной изоляции), выявлено значительное снижение содержания дофамина и серотонина при неизменном уровне норадреналина в структурах мозга, контролирующей двигательную активность и эмоциональное поведение. Доказательством норадреналиновой и дофаминовой теорий патогенеза депрессии является то, что при использовании препарата L-диоксифенилаланина, который является предшественником дофамина и норадреналина, у пациентов отмечается положительный эффект в виде улучшения психического состояния и повышения психомоторной активности в 25% случаев. Кроме того, к депрессии может привести прием медикаментов, понижающих содержание дофамина, например, препаратов раувольфии (лекарственное растение). Снижение уровня дофамина наблюдается при ряде неврологических и соматических заболеваний, также сопровождающихся депрессией, например, таких как болезнь Паркинсона. Вместе с тем было показано, что депрессия может развиваться и на фоне повышенной активности дофамина, например, при шизофрении.

Выводы. Таким образом, триггером возникновения депрессии и одним из основных механизмов развития и течения заболевания является нарушение метаболизма моноаминов в центральной нервной системе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Яковлева, Е.Е. Нейробиологические механизмы депрессивных расстройств и их фармакотерапия / Е.Е. Яковлева, Л.К. Хныченко, Н.А. Лосев // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2011, том 11, – № 3. – С. 20-24.

2. Зотов, П.Б. Депрессии в общемедицинской практике: Метод. пособие для врачей / П.Б. Зотов, М.С. Уманский // Тюмень: ТМА, 2006.

3. Кушнарева, Е. Ю. Уровень моноаминов и их метаболитов в структурах мозга крыс с экспериментальным тревожно-депрессивным состоянием, вызванным введением ингибитора дипептидилпептидазы IV в раннем постнатальном периоде / Е.Ю. Кушнарева [и др.] // Нейрохимия. – 2012. – Т. 29, № 1. – С. 35-44.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ И МОРФИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА АКТИВНОСТЬ АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ В ПЕЧЕНИ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС

Леднёва И.О.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Алкогольная и морфиновая интоксикации вызывают целый комплекс метаболических нарушений в органах и тканях организма [1]. Патологии печеночной ткани отводится одно из ведущих мест при длительном поступлении в организм алкоголя и других психоактивных веществ. Одним из индикаторных ферментов печеночного профиля является аланинаминотрансфераза (АлАТ) [2]. На сегодняшний день достаточно широко исследовано влияние алкогольной или морфиновой интоксикации на организм экспериментальных животных. В то же время недостаточно изучены эффекты сочетанного воздействия этанола и морфина, что достаточно часто встречается в клинической практике [3].

Цель. Изучение сочетанного влияния этанола и морфина на активность АлАТ в печени экспериментальных крыс при хронической алкогольной и морфиновой интоксикации.

Методы исследования. В исследованиях использовались белые беспородные крысы-самцы массой 180-220 г., находящиеся на полноценном рационе вивария со свободным доступом к воде. Эксперименты выполнены на 69 крысах-самцах которые были разделены на 7 групп. При хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) животным вводили в/ж 25% раствор этанола в дозе 3,5 г/кг два раза в сутки в течение 7, 14 и 21 суток. Морфин-алкогольную интоксикацию моделировали следующим образом: вводили в/б 1% раствор морфина гидрохлорида в дозе 10 мг/кг, а через 12 часов в/ж – этанол в дозе 3,5 г/кг на протяжении 7-ми, 14-ти и 21-х суток. Крысы контрольной группы получали эквивалентные количества изотонического раствора хлористого натрия (в/б – в/ж с интервалом в 12 часов) в течении 7-21 суток. Декапитацию проводили через 1 час после последнего введения этанола или физиологического раствора. После декапитации у крыс извлекали печень и замораживали в жидком азоте. Активность АлАТ определяли кинетическим

методом с помощью стандартного набора реактивов ООО «Анализ Плюс» (Беларусь).

Результаты и их обсуждение. Повышение активности АлАТ в сыворотке крови традиционно рассматривается как один из признаков токсического поражения печени [4]. В наших экспериментах при моделировании хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) активность АлАТ в сыворотке крови достоверно изменяется на 21-е сутки, что свидетельствует об отсутствии глубоких токсических повреждений паренхимы печени на ранних этапах алкоголизации (7-е и 14-е сутки) (табл.1).

Согласно данным литературных источников у пациентов с опиоидной зависимостью наблюдается превышение физиологической нормы активности АлАТ в сыворотке крови более чем в половине случаев [5]. В нашем эксперименте комплексное введение морфина и этанола экспериментальным животным сопровождается более значительным повышением активности фермента в сыворотке крови по сравнению с группами ХАИ на 14 и 21 сутки, что может свидетельствовать о потенцировании токсических эффектов этих ПАВ (таблица 1).

Таблица 1 – Активность АлАТ в сыворотке крови крыс при хронической алкогольной и комплексной морфин-алкогольной интоксикации (ммоль/ч/л, $M \pm m$)

Экспериментальная группа	Активность АлАТ (ммоль/ч/л)
1-я контроль	$0,31 \pm 0,01$
2-я ХАИ 7 сут	$0,29 \pm 0,03$
3-я ХМАИ 7 сут	$0,33 \pm 0,02$
4-я ХАИ 14 сут	$0,35 \pm 0,008$
5-я ХМАИ 14 сут	$0,47 \pm 0,02^*$
6-я ХАИ 21 сут	$0,52 \pm 0,01^*$
7-я ХМАИ 21 сут	$0,58 \pm 0,04^*$

*Примечание: * статистически значимые изменения по сравнению с интактным контролем ($p < 0,05$)*

Печень является одним из центральных органов метаболизма морфина и этанола в организме, а признаки ее поражения наблюдаются в ранние сроки после их введения лабораторным животным. Выявлено, что выраженность метаболических нарушений в печени при ХАИ достоверно коррелирует с длительностью их введения в организм. Наиболее выраженные изменения активности АлАТ при ХАИ выявлены через 21 сутки (7-я группа), что может свидетельствовать о повреждении гепатоцитов (таблица 2). Хроническая комплексная морфин-алкогольная интоксикация сопровождается более значительным повышением активности фермента по сравнению с группами ХАИ на 14 и 21 сутки. Активация АлАТ в печени экспериментальных животных может являться следствием адаптационных изменений интеграции

углеводного и аминокислотного обменов и осуществляется на уровне глюкозо-аланинового шунта. По мнению Т.В. Чернобровкиной и других авторов, изменение активности фермента при алкоголизме отражает не только процесс цитолиза, но и защитную адаптационную реакцию, направленную на поддержание постоянства внутренней среды в условиях хронической интоксикации ПАВ [6,7].

Таблица 2 – Активность АлАТ в печени крыс при хронической алкогольной и комплексной морфин-алкогольной интоксикации (мколь/ч/мг белка, $M \pm m$)

Экспериментальная группа	Активность АлАТ (мколь/ч/мг белка)
1-я контроль	$1,74 \pm 0,07$
2-я ХАИ 7 сут	$1,91 \pm 0,06$
3-я ХМАИ 7 сут	$1,93 \pm 0,04$
4-я ХАИ 14 сут	$2,26 \pm 0,07$
5-я ХМАИ 14 сут	$2,39 \pm 0,04^*$
6-я ХАИ 21 сут	$2,57 \pm 0,06^*$
7-я ХМАИ 21 сут	$2,68 \pm 0,05^*$

Примечание: * статистически значимые изменения по сравнению с интактным контролем ($p < 0,05$)

Выводы. Степень выраженности метаболических нарушений при ХАИ в печени крыс определяется длительностью алкоголизации. Патологический процесс усугубляется при сочетанном введении этанола и морфина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Федотов, И. А. Расстройства, связанные с приемом психоактивных веществ, и аддиктивное поведение: общие вопросы / И. А. Федотов, А. В. Сахаров // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2022. – Т. 24, № 1. – С. 4–14.
2. Пронько, П.С. Биомаркеры в диагностике алкоголизма / П.С. Пронько // Весці Нацыянальнай Акадэміі Навук Беларусі. – 2009. – № 2. – С. 103–116.
3. Ялтонский, В. М. Сочетанное употребление наркотиков и других психоактивных веществ подростками как актуальная проблема наркологии / В. М. Ялтонский, Н. А. Сирота, А. В. Ялтонская // Вопросы наркологии. – 2017. – № 7. – С. 82-93.
4. Сиволап, Б.П. Поражение печени у больных алкоголизмом / Б.П. Сиволап // Наркология. – 2012. – № 3. – С. 76-83.
5. Абушаева, А. Г. Активность аминотрансфераз при опиоидной наркомании / А. Г. Абушаева, М. В. Астафьева, В. Г. Крива. - Инновационные технологии, экономика и менеджмент в промышленности : сборник научных статей VII международной научной конференции, Волгоград, 22–23 июля 2021 года. – Волгоград: Общество с ограниченной ответственностью "КОНВЕРТ", 2021. – С. 10-11.
6. Рослый, И. М. Биохимические показатели плазмы крови в оценке метаболических особенностей патогенеза алкоголизма / И. М. Рослый [и др.] //

7. Чернобровкина, Т. В. Феноменология наркоманического меостаза: от энзимодиагностики к энзимотерапии / Т. В. Чернобровкина // Наркология. – 2004. – № 3. – С. 59-68.

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ

Лелевич В.В.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Клиника хронического алкоголизма характеризуется многочисленными неврологическими и психическими расстройствами, морфологическими изменениями в нервной системе [1]. К ним относятся алкогольный абстинентный синдром, алкогольная эпилепсия, алкогольный делирий, алкогольные аффективные нарушения, алкогольные энцефалопатии нескольких клинических форм, нарушения мозгового кровообращения, алкогольные изменения периферической нервной системы [2]. Это предопределяет достаточно широкое применение нейротропных препаратов в наркологической практике. Так, например, современная преобладающая тенденция в лечении алкогольного абстинентного синдрома – массивное нейролептическое, а не нутриционное и собственно детоксицирующее лечение [3]. Представилось интересным изучить в сравнительном плане острую токсичность и специфические симптомы отравления различных представителей нейротропных препаратов, применяемых в наркологии. Для исследования были взяты хлорпротиксен из группы нейролептических средств, элениум из группы транквилизаторов, психотропный препарат карбонат лития и апоморфин из группы рвотных препаратов. Все они относятся к лекарственным средствам, действующим преимущественно на ЦНС, и достаточно часто используются для лечения пациентов с синдромом зависимости от алкоголя. Полученные результаты позволят соотнести в сравнительном плане фармакокинетические, фармакодинамические и токсикологические компоненты действия каждого из них. Это может служить одним из обоснований к их дифференцированному назначению в клинике с учетом психоневрологических нарушений при алкоголизме.

Цель: определить острую токсичность хлорпротиксена, элениума, апоморфина и карбоната лития при однократном внутривенном введении.

Материалы и методы исследования. Опыты выполнены на беспородных крысах-самцах массой 160-180 г. Препараты вводили однократно, внутривенно, в виде суспензии в 1% слизи крахмала. Процентное содержание препарата в суспензии определялось назначаемой дозой, и для апоморфина равнялось 20%, лития карбоната – 10%, элениума – 5%, хлорпротиксена – 1%. Регистрировали длительность латентного периода,

начало периода интоксикации и его длительность. Токсичность рассчитывали по методу Миллера и Тейтнера с использованием графического пробит-анализа [4]. Вычислялись величины LD_{50} и ее стандартная ошибка LD_{16} и LD_{84} .

Результаты и обсуждение. На основании анализа имеющихся литературных данных для каждого препарата была определена начальная установочная доза. Каждая доза исследовалась в группе из 6 крыс. Продолжительность и периодичность стадий интоксикации будет приводиться для доз равных или близких к LD_{50} . В таблице 1 представлены параметры острой токсичности карбоната лития. Было апробировано пять доз этого препарата. В первый час после назначения крысы ведут себя спокойно. Длительность латентного периода $58,3 \pm 12,9$ минут. Это хорошо согласуется с результатами о максимальном накоплении ионов лития в органах и тканях через 1 час после внутрижелудочного введения. С нарастанием интоксикации развиваются симптомы угнетающего действия на ЦНС: малоподвижность, слабая реакция на звуковые и болевые раздражители, атаксия. Отмечается также анорексия, бледность видимых кожных покровов, снижение температуры тела, снижение тонуса скелетной мускулатуры. Животные гибнут при первичной остановке дыхания в «боковом» положении. Для карбоната лития LD_{50} равняется – 0,80 г/кг; LD_{16} – 0,625 г/кг; LD_{84} – 1,03 г/кг.

При введении апоморфина после относительно короткого латентного периода ($20,3 \pm 4,5$ минуты) развивается стереотипия, характерная для действия данного препарата. Крысы постоянно грызут опилки, совершают мелкие стереотипные движения, шерсть взъерошена. Отмечается покраснение видимых кожных покровов. Длительность периода стереотипии $3,7 \pm 0,6$ часа. Животные гибнут через 7 – 8 часов от начала введения препарата при первичной остановке дыхания. Параметры токсичности для апоморфина получились равными следующим величинам: LD_{50} – 3,05 г/кг; LD_{16} – 2,45 г/кг и LD_{84} – 3,85 г/кг.

После назначения элениума длительность латентного периода составляет $1,8 \pm 0,3$ часа. После этого у животных развиваются симптомы резкого угнетения ЦНС, атаксия, тремор, урежение дыхания. Болевая чувствительность резко снижена или отсутствует вообще, развивается паралич задних конечностей, «боковое» положение и гибель при первичной остановке дыхания. Характерным симптомом интоксикации элениумом является саливация. На основании полученных результатов LD_{50} при внутрижелудочном назначении элениума равна 0,78 г/кг; LD_{16} – 0,60 г/кг; LD_{84} – 1,0 г/кг.

Таблица 1. Показатели острой токсичности противоалкогольных препаратов для крыс при внутрижелудочном введении

Препарат	LD_{16}	LD_{50}	LD_{84}
Карбонат лития (г/кг)	0,625	0,80	1,03
Апоморфин (г/кг)	2,45	3,05	3,85
Элениум (г/кг)	0,60	0,78	1,00
Хлорпротиксен (мг/кг)	74,0	85,0	97,0

Длительность латентного периода при введении хлорпротиксена равна таковой для элениума – $1,8 \pm 0,6$ часа. В этот период крысы чувствуют себя спокойно, адекватно реагируют на раздражители. После этого развиваются симптомы угнетения ЦНС. Отмечается снижение реакции на звуковые и болевые раздражители, малоподвижность, отказ от пищи, вялость, снижение тонуса скелетной мускулатуры, атаксия, адинамия. Затем животные переходят в «боковое» положение, гибель наступает при полном расслаблении скелетной мускулатуры и первичной остановке дыхания. При расчете основных показателей токсичности хлорпротиксена LD_{50} равно 85 мг/кг; LD_{16} – 74 мг/кг; LD_{84} – 97 мг/кг.

Заключение. Таким образом, острая токсичность по LD_{50} среди изученных препаратов снижается в следующей последовательности: хлорпротиксен > элениум > карбонат лития > апоморфин. Следует отметить весьма существенные различия по величине LD_{50} , что объясняется различной фармакологической принадлежностью этих препаратов. Если токсикологическую активность карбоната лития принять за единицу, то относительная токсикологическая активность апоморфина равняется 0,26; элениума 1,03; хлорпротиксена 9,41.

Картина интоксикации и ее характерные симптомы для каждого из изученных препаратов обусловлена, в основном, спецификой их действия на ЦНС. Эта специфика определяется направленностью изменений определенных видов обмена в мозге, нейромедиаторными и, как следствие этого, функциональными отклонениями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич В.В., Лелевич С.В., Веницкая А.Г. Алкоголь и мозг / В.В. Лелевич, С.В. Лелевич, А.Г. Веницкая. – Гродно: ГрГМУ, 2019. – 244 с.
2. Сиволап Ю.М. Алкогольная болезнь мозга: топология, патогенез, подходы к лечению / Ю.П. Сиволап // Наркология. – 2006. – № 1. – С. 63-72.
3. Альтшулер В.Б. Алкоголизм / В.Б. Альтшулер. – Москва: ГЭОТАР – Медиа, 2010. – 264 с.
4. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький. – Ленинград, 1963. – 152 с.

СОДЕРЖАНИЕ ЭТАНОЛА В КРОВИ КРЫС ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ЕГО ВВЕДЕНИЯ НА ФОНЕ ДЕЙСТВИЯ ХЛОПРОТИКСЕНА И КАРБОНАТА ЛИТИЯ

Лелевич В.В.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Алкоголизация населения продолжает оставаться большой медико-социальной проблемой для многих современных стран. Терапия пациентов с алкогольной зависимостью в общих чертах была

сформулирована достаточно давно и претерпевает определенную эволюцию до настоящего времени [1]. Можно выделить несколько ее важных общих положений:

1. Непрерывность и длительность противоалкогольной терапии;
2. Максимальная индивидуализация лечения в зависимости от клинических и микросоциальных факторов;
3. Комплексность лечения;
4. Установка пациентов на полное воздержание от алкоголя;
5. Этапность и преемственность лечебных мероприятий [2].

Терапевтическая тактика меняется в зависимости от задач, возникающих при лечении пациентов с алкогольной зависимостью. Несколько десятилетий тому назад ключевым моментом в противоалкогольном лечении являлась выработка отвращения к спиртным напиткам с использованием условно-рефлекторной терапии. Однако достаточно часто у таких пациентов имеют место аффективные, психопатоподобные и неврозоподобные расстройства, что обосновывает применение психотропных средств [2]. В отличие от использования средств универсального применения психофармакотерапия алкоголизма имеет дифференцированный характер, поскольку базовым принципом клинической психофармакотерапии является поиск и установление определенных психопатологических ориентиров, необходимых для правильного подбора препаратов.

Антидепрессанты, как следует из их названия, назначаются преимущественно в тех случаях, когда аффективный компонент синдрома патологического влечения к алкоголю имеет сходство с определенными эмоциональными нарушениями депрессивного регистра, которые подсказывают выбор того или иного препарата. Что же касается дифференцированного назначения нейрорепрессантов, то вопрос здесь решается не столь однозначно. До настоящего времени остается недостаточно изученным вопрос, как влияют эти препараты на биотрансформацию этанола. Такая информация имеет практическое значение, поскольку использование препаратов в амбулаторных условиях не исключает эпизодический прием алкоголя больными.

Цель: определить параметры фармакокинетики этанола после однократного его введения на фоне действия хлорпротиксена и карбоната лития.

Материалы и методы исследования. Опыты проведены на беспородных крысах-самцах массой 160-180 г. При моделировании препарат-алкогольных реакций крысам, голодавшим 12 часов, внутривенно вводили исследуемый препарат в дозе $1/10 LD_{50}$, а через один час внутривенно 25% раствор этанола из расчета 2,5 г/кг массы тела. Доза вводимого хлорпротиксена составляла 8,5 мг/кг, а карбоната лития – 80 мг/кг. Содержание этанола в крови определяли методом газовой хроматографии на газовом хроматографе «Биохром-1» с плазменно-ионизационным детектором. Анализ фармакокинетики проводили с использованием однокамерной модели по уравнению первого порядка [3].

Результаты и обсуждение. Внутривенное введение этанола приводит к максимальному повышению его концентрации в крови через 1 час (таблица 1). Такой уровень поддерживается в течение последующих 30 минут и затем постепенно снижается к 6 часу. Это соответствует данным о скорости элиминации этанола при его однократном назначении [4].

Хлорпротиксен выражено, особенно в первые 3 часа, изменяет содержание этанола в крови. Его уровень увеличивается уже через 0,5 часа, сохраняясь более высоким, чем в контроле, через один и полтора часа (табл.). Чем обусловлен такой эффект хлорпротиксена однозначно сказать трудно. Он, очевидно, не связан с замедленным переходом из крови в ткани и распределением в них этанола, так как кажущийся объем распределения (V_p) при этом не изменяется. В то же время хлорпротиксен изменяет некоторые показатели фармакокинетики этанола – снижает время полувыведения ($T_{1/2}$) на 20%, но увеличивает площадь под фармакокинетической кривой (S) на 6%, общий клиренс (Cl) на 36%, константу элиминации (K_e) на 18%. Хлорпротиксен эффективен при лечении острых алкогольных психозов, оказывая седативный и антипсихотический эффект [2]. В то же время этот препарат противопоказан при отравлении алкоголем и снотворными [1]. Полученные нами данные позволяют говорить о новом аспекте его фармакологического действия. Можно предположить, что прием алкоголя на фоне действия хлорпротиксена или их совместное применение способно вызвать реакцию типа тетурам-алкогольной.

Карбонат лития при совместном назначении с этанолом достоверно не изменяет его уровень в крови, но уплощает кривую элиминации. Это сопровождается увеличением $T_{1/2}$ на 15% и S на 11%, тогда как величины константы элиминации и общего клиренса не изменяются. Карбонат лития обладает депримирующим действием в отношении углеводного и энергетического обменов [5]. По всей вероятности, этот депримирующий эффект проявляется и в отношении ферментов биотрансформации этанола, что согласуется с имеющимися литературными данными.

Таблица 1 – Концентрация этанола в крови крыс (ммоль/л) после однократного его введения на фоне действия хлорпротиксена и карбоната лития

Время после введения этанола	Этанол	Хлорпротиксен	Карбонат лития
0,5	43,8 ± 19,8	64,9 ± 4,5*	35,1 ± 3,9
1,0	52,6 ± 4,1	65,0 ± 3,2*	44,1 ± 4,3
1,5	53,1 ± 2,5	60,7 ± 2,8*	43,9 ± 4,3
2,5	47,5 ± 1,9	47,0 ± 2,1	42,4 ± 3,8
4,0	33,2 ± 1,7	37,9 ± 2,2	30,7 ± 3,0
6,0	24,0 ± 2,3	23,6 ± 3,9	23,6 ± 5,8

Примечание – звездочкой отмечены статистически значимые изменения в сравнении с группой, которой вводили этанол.

Заключение. Таким образом, лекарственные средства, применяемые для купирования некоторых проявлений алкоголизма, неодинаково влияют на фармакокинетику этанола. Карбонат лития незначительно влияет на фармакокинетику алкоголя, что объясняет хорошую переносимость спиртных напитков у здоровых испытуемых, принимающих соли лития. Однако следует учитывать потенцирование действия алкоголя и лития на нейрохимические процессы. Хлорпротиксен изменяет некоторые параметры биотрансформации этанола и, возможно, способен вызывать сенсibilизацию к алкоголю, усиливая его токсическое действие.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альтшулер В.Б. Алкоголизм / В.Б. Альтшулер. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 264 с.
2. Морозов Г.В. Алкоголизм / Г.В. Морозов. – Москва: Медицина, 1983. – 432 с.
3. Соловьев В.Н. Фармакокинетика / В.Н. Соловьев, А.А. Фирсов, В.А. Филов – Москва: Медицина, 1990. – 423 с.
4. Шабанов П.Д., Калишевич С.Ю. Биология алкоголизма / П.Д. Шабанов, С.Ю. Калишевич – СПб: Лань, 1998. – 272 с.
5. Кораблев М.В. Характеристика энергетического обмена в различных отделах головного мозга крыс при действии этанола и карбоната лития / М.В. Кораблев, В.В. Лелевич // Фармакол. и токсикол. – 1989. – № 5. – С. 83-85.

ЭФФЕКТЫ СИНДРОМА ОТМЕНЫ ЭТАНОЛА И МОРФИНА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Лелевич С.В.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Злоупотребление этанолом и наркотиками уже много лет является проблемой как социально-экономического, так и медицинского характера [3]. При этом происходит нарушение функционирования разных физиологических и биохимических процессов, что может приводить к формированию алкогольной и наркотической зависимости, толерантности и абстинентного синдрома. Нейробиологические исследования затрагивают поведенческие, клеточные и молекулярные аспекты действия опиатов и алкоголя на ЦНС. Изменение функциональной активности нейромедиаторных систем мозга можно рассматривать как первичные патогенетические факторы развития заболевания. В формировании признаков интоксикации участвуют дофамин-, ГАМК-, глутамат- и опиоидергические системы.

Возбуждение дофаминергической нейромедиаторной системы при воздействии алкоголя и наркотиков приводит к интенсивному выбросу ДА из

депо, что сопровождается положительно окрашенными эмоциями. Катехоламины достаточно быстро разрушаются, что приводит к ухудшению психоэмоционального состояния и поиску повторного потребления наркотика. Ранее нами было изучено влияние алкогольного и морфинового постинтоксикационного синдрома на систему ДА [1, 2]. В тоже время, эффекты отмены совместно вводимых этанола и морфина на изменения уровней катехоламинов головного мозга практически не изучены, что предопределило проведение данного исследования.

Цель. Исследовать содержание параметров дофаминергической нейромедиаторной системы в ряде регионов головного мозга крыс, при отмене ранее вводимого этанола и морфина.

Материалы и методы исследования. В эксперименте было использовано 43 белых беспородных крыс-самцов. Моделирование форсированной 5-суточной морфин-алкогольной интоксикации осуществлялось путем в/бр введения 1% раствора морфина гидрохлорида в дозе 10 мг/кг и через 12 часов в/ж 25% раствора этанола в дозе 3,5 г/кг на протяжении 5-ти суток.

Животных декапитировали через 3 часа (2-я группа), одни, трое и семь суток (3-я, 4-я и 5-я группы соответственно) после последнего введения этанола. Особи контрольной группы (1-я группа) получали эквивалентные количества изотонического раствора хлористого натрия в/бр и через 12 часов в/ж на протяжении 5-ти суток. Животные контрольной группы были разделены на равные подгруппы и декатированы через 3 часа, одни, трое и семь суток после последнего введения физиологического раствора.

В коре больших полушарий, стриатуме, среднем мозге, гипоталамусе и мозжечке с помощью метода ВЭЖХ были определены основные параметры дофаминергической системы (тирозин, диоксифенилаланина (ДОФА), дофамин (ДА), 3,4-диоксифенилуксусная (3,4-ДОФУК), гомованилиновая кислоты (ГВК), норадреналин (НА)). В качестве методов статистической обработки использован U-критерий Манна-Уитни, пошаговый дискриминационный и корреляционный анализ по Спирмену.

Результаты и обсуждение. Спустя три часа после 5-суточной морфин-алкогольной интоксикации (2-я группа) не было выявлено достоверно значимых изменений исследованных показателей дофаминергической системы в больших полушариях. Через сутки отмены в данном регионе мозга было выявлено снижение уровня дофамина по сравнению с 1-й и 2-й группами, а через 3 суток содержание ДА нормализовалось, превышая аналогичные значения в 3-й группе. В отдаленные сроки отмены (7 суток) концентрации исследованных метаболитов дофамина не отличались от контрольных значений, при этом следует отметить только достоверно значимое повышение уровня самого нейромедиатора в сравнении со 2-й группой и его снижение в сравнении с 3-й.

На диаграмме рассеяния канонических значений в пространстве дискриминантных функций видно, что наблюдения, принадлежащие соответствующим группам, локализованы в определенных областях плоскости. Результаты, отраженные на рисунке, подтверждают изменения уровня ДА в больших полушариях при отмене совместного воздействия алкоголя и

опиоида через сутки по отношению к контрольной группе, что сопровождается смещением данных относительно первого корня (кор. 1).

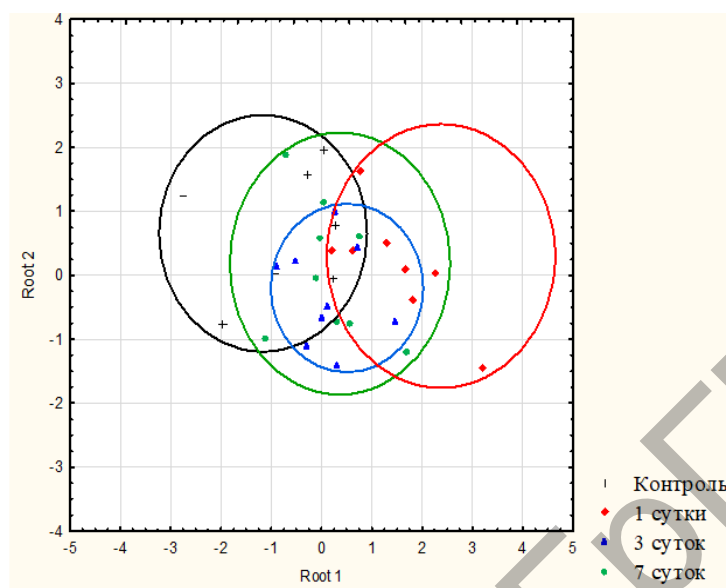


Рисунок – Расположение реализаций экспериментальных групп для пула исследованных показателей дофаминергической системы в больших полушариях головного мозга крыс при отмене морфин-алкогольной интоксикации относительно 1-й и 2-й дискриминантных функций

В стриатуме комплексная интоксикация обоими психоактивными веществами (2-я группа) сопровождалась статистически значимым снижением содержания ДА и 3,4-ДОФУК, а также тенденцией к росту уровня ГВК. На высоте проявлений абстиненции (1-е сутки) в этом регионе мозга содержание самого нейромедиатора и 3,4-ДОФУК статистически значимо снижалось по сравнению с контролем, при этом была выявлена положительная корреляционная взаимосвязь в паре ДА/ГВК ($r_s=0,81$), что позволяет предположить об уменьшении оборота ДА в данных экспериментальных условиях. Изменения уровня дофамина в стриатуме сохранялись и на 3-и, а также 7-е сутки отмены психоактивных веществ.

В гипоталамусе головного мозга крыс прекращение совместного введения морфина и этанола сопровождалось увеличением концентрации ДОФА на разных сроках отмены (1-7 сутки) по сравнению с контролем на фоне неизменного содержания остальных исследованных показателей.

На начальных сроках отмены морфин-алкогольной интоксикации (3 часа и сутки) не было выявлено статистически значимых изменений содержания исследованных показателей дофаминергической нейромедиаторной системы в среднем мозге. Спустя 3-е и 7 суток отмены (4-я и 5-я группы, соответственно) наблюдались признаки ускорения оборота дофамина в среднем мозге крыс, что подтверждается ростом уровня самого нейромедиатора и 3,4-ДОФУК по сравнению с контролем. В 5-й группе была выявлена умеренная положительная корреляционная взаимосвязь в паре тирозин/НА ($r_s=0,67$).

Комплексная морфин-алкогольная интоксикация не приводила к существенным изменениям содержания исследованных параметров дофаминергической системы в мозжечке, где повышался только уровень 3,4-ДОФУК. После трехсуточной отмены комплексного воздействия обоими ПАВ (4-я группа) в данном регионе мозга выявлены признаки ускорения оборота дофамина, что подтверждается ростом концентрации самого нейромедиатора и 3,4-ДОФУК по сравнению с контролем. Это согласуется с аналогичными изменениями в среднем мозге в тех же экспериментальных условиях. В отдаленные сроки отмены введения морфина и этанола (7 суток) в мозжечке сохранялся повышенный уровень дофамина по сравнению с контролем.

Выводы. Таким образом, при морфин-алкогольном постинтоксикационном синдроме отмечается изменение функционального состояния дофаминергической нейромедиаторной системы головного мозга, что подтверждается отклонениями содержания нейромедиатора и его метаболитов. Эти изменения имеют региональную специфику и зависят от длительности отмены морфина и этанола.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич, С. В. Состояние нейромедиаторных систем в некоторых отделах головного мозга крыс в динамике алкогольного постинтоксикационного синдрома / С. В. Лелевич, Е. М. Дорошенко // Экспер. и клин. фармакол. – 2011. – № 2. – С. 29-33.
2. Лелевич, С. В. Характеристика нейромедиаторных систем головного мозга крыс при экспериментальной алкогольной и морфиновой абстиненции / С. В. Лелевич // Вопросы наркологии – 2011. – № 1. – С. 61-71.
3. Сиволап, Ю. П. Аминокислотные расстройства: мишени и средства терапии / Ю. П. Сиволап // Наркология. – 2014. – № 3. – С. 34-38.

ТРАНСЛОКАЗЫ: 7-Й КЛАСС ФЕРМЕНТОВ

Лукашевич А.С., Леднёва И.О.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Современные классификация и номенклатура ферментов утверждены на V Международном биохимическом конгрессе в 1961 г. в Москве. В соответствии с этой классификацией все ферменты делятся: – на 6 классов. Однако стало очевидно, что ни один из них не может описать важную группу ферментов, катализирующих движение ионов или молекул через мембраны или их разделение внутри мембран. В августе 2018 г. учеными Университета Маккуори был предложен 7-й класс ферментов – Транслоказы, объединивший мембранные ферменты, функцией которых является перенос ионов. К ферментам этого класса не относятся каналы, изменяющие конформацию между открытым и закрытым состоянием в ответ на какое-либо

воздействие, а также транспортеры, которые не зависят от фермент-катализируемых реакций.

Цель. Рассмотреть строение и биологические функции основных траснлоказ.

НАДН-дегидрогенáзный кóмплeкс – первый мультибелковый комплекс дыхательной цепи переноса электронов. Этот комплекс играет центральную роль в процессах клеточного дыхания и окислительного фосфорилирования: почти 40 % протонного градиента для синтеза АТФ создаются именно этим комплексом. У млекопитающих этот фермент состоит из 44 субъединиц. Электронная микроскопия показала, что комплекс I (как из бактерий, так и из митохондрий) имеет характерную L-образную форму. Катализирует реакцию восстановления убихинона до убихинола при переносе протонов из матрикса в межмембранное пространство митохондрии. Мутации в генах субъединиц комплекса I могут привести к митохондриальным заболеваниям, например, к синдрому Лея. Недавние исследования выявили необычную роль комплекса I в работе мозга. Комплексы I и II играют ключевую роль в процессах, влияющих на старение и на продолжительность жизни.

Цитохрóм- bc_1 -кóмплeкс – мультибелковый комплекс дыхательной цепи переноса электронов и важнейший биохимический генератор протонного градиента на мембране митохондрий. Катализирует перенос электронов с цитохрома с на кислород с образованием воды. События, которые при этом происходят, известны как Q-цикл, который был постулирован Питером Митчеллом в 1976 году. Мутации в генах Комплекса III обычно приводят к непереносимости физических упражнений.

АТФ-синтаза – повсеместно распространенный мембранный фермент, играющий ключевую роль в биологическом энергетическом обмене. Имеющаяся в митохондриях АТФ-синтаза F_1F_0 очень хорошо исследована. Компонент F_0 – трансмембранный домен, компонент F_1 находится вне мембраны, в матриксе. Катализирует реакцию переноса протонов из межмембранного пространства митохондрии в матрикс с образованием при этом молекулы АТФ из АДФ и неорганического фосфата. В 60-70 годах XX века Пол Бойер предположил, что синтез АТФ связан с изменениями конфигурации АТФ-синтазы. У аэробных бактерий в нормальных условиях АТФ-синтаза, как правило, работает в обратном направлении. ДОБАВИТЬ ИНФУ

Na^+/K^+ -АТФаза – была открыта Йенсом Скоу в 1957 году. Na^+/K^+ -АТФаза является ферментом наружной мембраны клеток всех тканей животных. Na^+/K^+ -АТФаза – мембраносвязанный фермент, участвующий во многих жизненно важных функциях клеток млекопитающих, вовлечен в процессы нервной передачи, транспорта электролитов, поддержания электрического градиента клеточной мембраны, регуляция объёма каждой клетки. Функциональная единица фермента состоит из двух полипептидных цепей: большей (альфа-субъединицы) и меньшей (бета-субъединицы), входящих в состав ферментного комплекса в соотношении 1 : 1. Катализирует

перенос 3 Na^+ во внеклеточное пространство и 2 K^+ во внутриклеточное пространство. В итоге во внеклеточной среде создается высокая концентрация ионов Na^+ , а внутри клетки – высокая концентрация K^+ . Эта разность концентраций используется в клетках при проведении нервного импульса. Активность фермента значимо ниже у пациентов с СД по сравнению с лицами без диабета ($p < 0,05$). Её активность не имела зависимости от возраста и пола обследованных лиц, оставалась низкой при всех сроках заболевания и достоверно снижалась с увеличением продолжительности диабета. Изучаемый показатель имеет зависимость от уровня HbA1c, повышения активности сиалидазы эритроцитов, уровня нитритов и нитратов крови. Активность Na^+/K^+ -АТФазы отражает степень метаболических нарушений и дисфункции эндотелия при СД.

H^+/K^+ АТФаза – водородно-калиевая аденозинтрифосфатаза является протонной помпой и играет важнейшую роль при секреции соляной кислоты в желудке. H^+/K^+ -АТФаза состоит из двух субъединиц, α (АТР4А) и β (АТР4В). H^+/K^+ -АТФаза транспортирует ион водорода H^+ из цитоплазмы париетальной клетки в полость желудка через апикальную мембрану в обмен на ион калия K^+ , который она переносит внутрь клетки. При этом оба катиона транспортируются против электрохимического градиента. Источником энергии для этого транспорта служит гидролиз молекулы АТФ. Одновременно с ионами водорода в просвет желудка путём активного транспорта против градиента переносятся ионы хлора Cl^- . Входящие в клетку ионы K^+ покидают её по градиенту концентрации вместе с ионами Cl^- через апикальную мембрану париетальных клеток. Таким образом в просвет желудка при участии H^+/K^+ -АТФазы выделяется соляная кислота в виде ионов H^+ и Cl^- , а ионы K^+ возвратным образом перемещаются через мембрану. Ингибиторы протонной помпы являются наиболее эффективными и современными лекарственными препаратами, предназначенными для лечения кислотозависимых заболеваний желудка, двенадцатиперстной кишки и пищевода, блокирующими протонную помпу (H^+/K^+ -АТФазу) обкладочных (париетальных) клеток слизистой оболочки желудка и уменьшающие, таким образом, секрецию соляной кислоты.

Карнитин-ацилкарнитинтранслоказа – митохондриальный белок-переносчик. Внутренняя мембрана митохондрий не проницаемая для многих жирных кислот, в том числе и в виде ацилов карнитина. Для её прохождения существует белок-переносчик – карнитин-ацилкарнитинтранслоказа, который способен транспортировать ацилированный карнитин внутрь матрикса и молекулы свободного карнитина из матрикса в межмембранное пространство посредством антипорта.

Дефицит карнитин-ацилкарнитинтранслоказы представляет собой опасное для жизни наследственное нарушение окисления жирных кислот, которое проявляется в неонатальный период и сопровождается тяжёлой гипокетотической гипогликемией, гипераммониемией, кардиомиопатией и/или аритмией, дисфункцией печени, слабостью скелетных мышц и энцефалопатией. Очень опасна у новорождённых, так как среди них наблюдается высокая летальность. За дефицит СACT отвечают мутации гена SLC25A20. Хотя L-

карнитин поступает в организм экзогенно в качестве компонента рациона, а также может синтезироваться эндогенно, данные свидетельствуют о первичных и вторичных дефицитах карнитина, который может быть приобретен, например, в результате врожденной ошибки обмена веществ. Недоношенные дети также подвержены риску развития дефицита карнитина из-за нарушения синтеза и недостаточной резорбции почечных канальцев. Другие состояния, связанные с дефицитом L-карнитина включают рак, диабет, болезнь Альцгеймера, патологии сердца.

Класс транслоказ объединяет мембранные ферменты, имеющие различное строение и различные биологические функции. Основной их функцией является «катализировать движение ионов или молекул через мембраны или их разделение внутри мембран». Резюмируя всё вышесказанное также можно отметить, что помимо основной функции транслоказ, у них имеются свои специфические, к примеру: НАДН-дегидрогеназный комплекс – центральная роль в процессах клеточного дыхания и окислительного фосфорилирования, Цитохром-bc1-комплекс – генератор протонного градиента на мембране митохондрий, АТФ-синтаза – перенос протонов из межмембранного пространства в матрикс митохондрий, Na^+/K^+ -АТФаза – нервная передача и регуляция объема каждой клетки, H^+/K^+ АТФаза – продукция соляной кислоты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Международный союз биохимии и молекулярной биологии. Новый класс ферментов: транслоказы. IUBMB NEWS (август 2018).
2. Манувера, В.А. Исследование роли сигнальных пептидов в транслокации рекомбинантных белков в периплазматическое пространство клеток *Escherichia coli* на модели энтеротоксинов *Staphylococcus aureus* / В. А. Манувера [и др.] // Биотехнология. – 2008. – № 6. – С. 3-14.
3. Зайцева, Л.Г. Импорт белков в митохондрии / Л. Г. Зайцева, Т. В. Овчинникова, В. А. Гринкевич // Биоорганическая химия. – 2000. – Т. 26, № 9. – С. 643-661.

ЛАКТОФЕРРИН И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ГРУДНОГО МОЛОКА ЖЕНЩИН Г. ОРЕНБУРГА

Мачнева И.В., Лебедева Е.Н., Карнаухова И.В.

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования "Оренбургский государственный медицинский
университет", Оренбург, Российская Федерация*

Актуальность. Лактоферрин (ЛФ) присутствует в различных биологических жидкостях, однако наибольшее его содержание отмечается в молозиве и молоке. В количественном отношении – это второй белок грудного молока (ГМ), уступающий только казеинам. Лактоферрин представляет собой полифункциональный гликопротеин, который наряду с основной функцией

(связывание, транспорт и депонирование железа) также участвует в транспорте других ионов (меди, цинка, марганца), проявляет антибактериальную, противовирусную, антипаразитарную, антиоксидантную и каталитическую активность и обладает мембранопротекторными функциями.

Широкий спектр биологического действия лактоферрина обуславливает устойчивый интерес ученых различных специальностей к его изучению и возможности практического использования. В мировой научной литературе лактоферрину посвящено огромное количество работ, но в России системное изучение этого белка специалистами различных направлений только начато.

Цель. Определение содержания лактоферрина в грудном молоке женщин, проживающих на территории города Оренбурга, и оценка его вклада в общую антиоксидантную активность сыворотки грудного молока.

Материалы и методы исследования. Материалом исследования выступало ГМ, полученное от женщин, постоянно проживающих на территории г. Оренбурга. Собранная в стерильные контейнеры утренняя порция молока замораживалась и хранилась при температуре -20°C . Всего в обследование было включено 30 женщин, которые дали информированное добровольное согласие и прошли анкетирование.

Средний возраст обследуемых женщин составил $27,1 \pm 0,65$ года, а средний возраст детей – $4,3 \pm 0,27$ месяца. Абсолютное большинство детей (96%) находились исключительно на грудном вскармливании (ГВ).

Определение лактоферрина проводили ИФА-методом (Cloud-Clone Corp, США) с использованием иммуноферментного фотометра-680 (Bio-Rad Laboratories, Inc., США).

Общая антиоксидантная активность молока оценивалась колориметрическим методом с использованием набора реагентов для оценки интегрального состояния антиоксидантной системы (Общий антиоксидантный статус, Вектор-Бест, Россия).

Для проведения исследования предварительно из образцов молока была получена молочная сыворотка [1].

Экспериментальные результаты были обработаны методами математической статистики. Для оценки корреляции использовался коэффициент Пирсона.

Результаты и обсуждение. В таблице приведены данные, полученные в ходе исследования молочной сыворотки ($n=30$). Содержание ЛФ и сывороточного белка в исследуемых образцах грудного молока женщин Оренбургской области коррелирует с данными, приведенными в отечественной и зарубежной литературе.

Общая антиоксидантная активность исследуемых образцов составила в среднем $0,88 \pm 0,11$ ммоль/л, и в целом коррелировала с известными в литературе данными.

Таблица – Сравнительные данные содержания общего белка, ЛФ и антиоксидантной активности грудного молока

Исследуемый показатель	Собственные данные	По отечественным литературным источникам [1-3]		По зарубежным литературным источникам [4-7]	
Лактоферрин, г/л	1,39±0,18	1,49	1,0-1,5	3,39±1,43	0,99-1,91
Общий белок, г/л	9,06±0,19	9,0-12,0	8,0-11,0	10,5±2,3	2,56±0,62
Антиоксидантная активность, ммоль/л	0,88±0,11	-	-	1,01±0,37	1,61±0,94

Поскольку ЛФ обладает антиоксидантной активностью, представлялось актуальным оценить его вклад в общий антиоксидантный статус грудного молока. Проведенный корреляционный анализ показал положительную корреляцию между содержанием лактоферрина и общей антиоксидантной активностью сыворотки грудного молока ($r=0,3$).

Выводы.

1. Впервые в Оренбуржье была проведена оценка ЛФ и антиоксидантной активности ГМ.

2. Особенностью региональных значений лактоферрина следует отметить более сниженное его количество по сравнению с данными зарубежных исследователей. Для получения региональных референсных значений ЛФ необходимо проведение более широкого обследования женщин Оренбуржья на разных этапах лактации.

3. Полученные данные могут быть использованы педиатрами при ведении детей 0-6 месяцев для оценки их антиоксидантного статуса, определяемого, в том числе, и компонентами ГМ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арзуманян В.Г. Вклад лактоферрина, сывороточного альбумина и секреторного иммуноглобулина класса А в антимикробную активность сыворотки грудного молока /В.Г. Арзуманян и др. //Инфекция и иммунитет. - 2022. – Т. 12. – № 3. – С. 519-526.

2. Скидан И.Н. Белки грудного молока как целевой ориентир для совершенствования рецептур детских адаптированных молочных смесей / И.Н. Скидан, Е.А. Пырьева, И.Я. Конь //Вопросы питания. – 2017. – Т. 86. – № 4. – С. 39-49.

3. Захарова И.Н. Грудное молоко – живая ткань! Как сохранить грудное вскармливание? / И.Н. Захарова, Е.Б. Мачнева, И.С. Облогина //Медицинский совет. – 2017. – №19. – С. 24-29.

4. Czosnykowska-Łukacka M. Lactoferrin in Human Milk of Prolonged Lactation /M. Czosnykowska-Łukacka et al. //Nutrients. – 2019. – Oct 2;11(10):2350. doi: 10.3390/nu11102350.

5. Yang Z. Concentration of Lactoferrin in Human Milk and Its Variation during Lactation in Different Chinese Populations /Z. Yang et al. //Nutrients. – 2018. – Sep 5;10(9):1235. doi: 10.3390/nu10091235.

6. Ongprasert K. Macronutrient, immunoglobulin and total antioxidant capacity profiles of human milk from 1 to 24 months: a cross-sectional study in Thailand /K. Ongprasert et al. //Int Breastfeed J. – 2020. – Oct 30;15(1):90. doi: 10.1186/s13006-020-00333-5.

7. Alberti-Fidanza A. Total antioxidant capacity of colostrum, and transitional and mature human milk /A. Alberti-Fidanza, G. Burini, G. Perriello //J Matern Fetal Neonatal Med. – 2002. - Apr;11(4):275-9. doi: 10.1080/jmf.11.4.275.279.

МИКРОЭЛЕМЕНТЫ В СЛЮНЕ КУРИЛЬЩИКОВ ЭЛЕКТРОННЫХ СИГАРЕТ

¹Михеев И.В., ²Сапрыкин В.П., ¹Чермашенцев Г.Р., ³Проскурнина Е.В.

¹*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»*

²*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Государственный университет просвещения»*

³*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва, Российская Федерация*

Актуальность. В настоящее время электронные испарители для курения пользуются большой популярностью. Несмотря на большое число работ, сведения о токсичности электронных сигарет противоречивы, что связано с отсутствием стандартизированного аналитического подхода и наличием большого числа разнообразных коммерческих продуктов [4]. Помимо никотина, ароматизаторов и растворителей (пропиленгликоль, глицерин), жидкость для испарителей содержит токсичные органические вещества, тяжелые металлы и микрочастицы. Обнаружено значительное содержание Cr, Cu, Mn, Ni и Zn во всех жидкостях, при этом концентрации Cr и Ni превышали рекомендованное суточное потребление [2]. В обзоре [5] показано, что уровни металлов значительно варьируются в жидкостях и вдыхаемых аэрозолях в зависимости от жидкости и типа устройства. Концентрации большинства металлов в биологических образцах были не ниже, а некоторых случаях и выше, чем аналогичные показатели у курильщиков обычных сигарет. Отбор проб слюны – наиболее простой способ оценить влияние курения на состояние ротовой полости. Авторы [1] доказали, что при курении электронных сигарет в слюне повышается содержание никеля и хрома (элементов, из которых состоит сплав нагревательного элемента). В целом, есть убедительные доказательства влияния курения электронных сигарет на свойства слюны [6].

Цель. Задачей исследования явилось изучение содержания микроэлементов Co, Fe, Mn, Zn, Cu, Ni в слюне практически здоровых курильщиков электронных сигарет.

Материалы и методы исследования. В исследовании участвовали 6 мужчин и 8 женщин в возрасте 19–21 лет со стажем курения от 1 до 5 лет (средний стаж 2,3 года). Материалами для исследования служили: а) исходное сырье для наполнения сигареты («щелочной» и «солевой» никотин с различными анионами), б) жидкость, извлеченная из электронной сигареты, в) слюна курильщиков до и после курения.

Отбор проб слюны производили строго натощак в первой половине дня. Участники исследования предварительно ополаскивали рот прохладной кипяченой водой, производили отбор слюны, выкуривали одну сигарету, и повторно производили отбор слюны в специальные контейнеры Salivette. Слюну в контейнерах хранили при температуре –20°C не более 1 месяца перед анализом. Для оценки степени чистоты контейнера Salivette анализировали смывы деионизованной воды.

Образцы биоматериала размораживали при комнатной температуре 20°C в течение 90 мин, центрифугировали в течение 10 мин при 1065 g, отбирали 2000 мкл образца, добавляли 50 мкл концентрированной азотной кислоты, еще раз центрифугировали в течение 5 минут при 15100 g и разбавляли в 10 раз деионизованной водой. Определение металлов проводили методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-АЭС) на приборе Agilent 720 (Agilent, Австралия).

Результаты и обсуждение. Результаты определения металлов в потенциальных источниках поступления элементов в слюну приведены в таблице.

Таблица – Содержание металлов в исходных жидкостях, среднее $\pm$ SD ($n=5$, $P=0.95$)

Проба	Co	Fe	Mn	Zn	Cu	Ni
Щелочной никотин (наполнитель), мг/л	—*	—	—	0,06 $\pm$ 0,01	—	—
Никотин (малат-анион) (наполнитель), мг/л	—	0,50 $\pm$ 0,05	—	0,10 $\pm$ 0,02	—	—
Жидкость из электронной сигареты, мг/л	—	0,70 $\pm$ 0,10	—	1,00 $\pm$ 0,10	—	0,17 $\pm$ 0,05

* – ниже предела обнаружения метода ИСП-АЭС (0,01 мг/л)

Результаты свидетельствуют о том, что железо, цинк и никель могут поступать в слюну из электронных сигарет, при этом щелочной никотин характеризуется более низкими значениями содержания металлов-примесей. В жидкости из электронной сигареты обнаружено значительное количество Fe, Ni, Zn, возможно, вследствие деградации металлического нагревательного элемента [3]. Co, Mn и Zn содержались в жидкости в неопределяемых количествах.

Результаты определения металлов в слюне представлены в виде тепловой карты, построенной по отношению содержания элемента после и до курения (рисунок). Значение $N > 1$ свидетельствует о повышении концентрации элемента после курения; $N < 1$, соответственно, свидетельствует об уменьшении концентрации.

Содержание кобальта и никеля в слюне оказалось ниже пределов обнаружения метода. Уровень Zn снижался в $\geq 1,5$ раза в 8 случаях, повышался в $\geq 1,5$ раза в 2 случаях и практически не изменялся в 4 случаях. Уровень Cu снижался в $\geq 1,5$ раза в 8 случаях, повышался в $\geq 1,5$ раза в 1 случае и практически не изменялся в 5 случаях. Концентрация Fe снижалась в $\geq 1,5$ раза в 3 случаях, повышалась в $\geq 1,5$ раза в 2 случаях и практически не изменялась в 9 случаях. Концентрация Mn снижалась в $\geq 1,5$ раза в 5 случаях, повышалась в $\geq 1,5$ раза в 8 случаях и практически не изменялась в 1 случае.

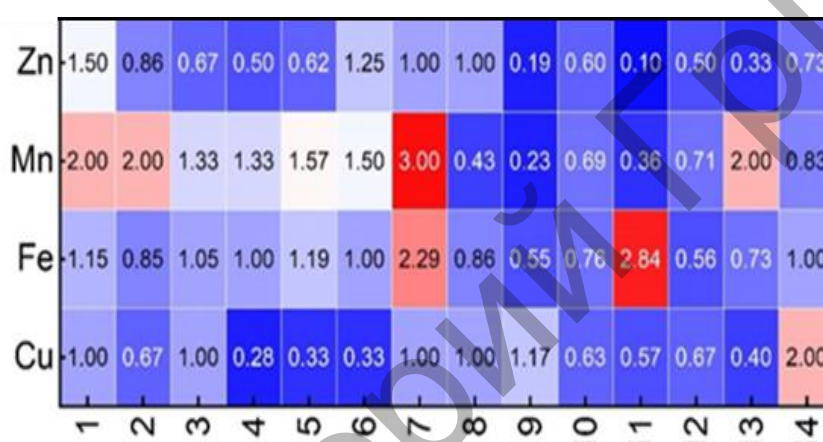


Рисунок – Тепловая карта распределения содержания металлов в слюне, приведены отношения концентраций N в слюне до и после курения

Концентрация Fe изменяется мало при курении электронных сигарет, концентрация Cu и Zn в большинстве случаев снижается. Не исключено, что снижение концентрации Cu происходит за счет образования комплексов с глицерином или пропиленгликолем. Интересен факт повышения концентрации Mn, который видимо, обусловлен биохимическими причинами.

Выводы. Курение электронных сигарет может вызвать изменение концентрации биологически активных микроэлементов в слюне – Zn, Cu, Fe, Mn. Изменения индивидуальны, но в большинстве случаев содержание Zn и Cu снижается, а Mn – повышается. Таким образом, при курении электронных сигарет нарушается гомеостаз биологически значимых металлов, что может повлечь за собой изменения, в частности, в звене оксидативного метаболизма. В дальнейшем целесообразно расширить спектр микроэлементов, увеличить размер группы и оценить антиоксидантный потенциал слюны.

ЛИТЕРАТУРА

1. The association of e-cigarette use with exposure to nickel and chromium: A preliminary study of non-invasive biomarkers / A. Aherrera [et al.] // Environmental Research. – 2017. – V. 159. – P. 313–320.
2. Examining Metal Contents in Primary and Secondhand Aerosols Released by Electronic Cigarettes / K. F. Kapiamba [et al.] // Chemical Research in Toxicology. – 2022. – V. 35 – P. 954–962.
3. Chemical characterisation of the vapour emitted by an e-cigarette using a ceramic wick-based technology // M. I. Pinto [et al.] // Scientific Reports. – 2022. – V. 12 – P. 16497.
4. Toxicity assessment of electronic cigarettes / G. Wang [et al.] // Inhalation Toxicology. – 2019. – V. 31 – P. 259–273.
5. Metal/Metalloid Levels in Electronic Cigarette Liquids, Aerosols, and Human Biosamples: A Systematic Review / D. Zhao [et al.] // Environmental Health Perspectives. – 2020. – V. 128 – P. 36001.
6. Can smoking alter salivary homeostasis? A systematic review on the effects of traditional and electronic cigarettes on qualitative and quantitative saliva parameters // S. Zieba [et al.] // Dental and Medical Problems. – 2024. – V. 61 – P. 129–144.

ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ СТАБИЛИЗАЦИИ АНТИОКСИДАНТНОГО И ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ГОМЕОСТАЗА ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ, АССОЦИИРОВАННЫЙ С ДЕПОНИРОВАНИЕМ ЖЕЛЕЗА И БИОСИНТЕЗА КОФЕРМЕНТА АЦЕТИЛИРОВАНИЯ

Мойсеёнок А.Г.¹, Титко О.В.¹, Катковская И.Н.¹, Гуринович В.А.¹,
Черемисин А.С.¹, Азизбекян С.Г.²

¹Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие
«Институт биохимии биологически активных соединений
НАН Беларуси», Гродно

²Государственное научное учреждение «Институт физико-
неорганической химии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Значительный прогресс микроэлементологии последнего десятилетия в полной мере относиться к области металлопротеинов, в частности, железосодержащих белков и предупреждения чрезвычайно распространенных железодефицитной анемии и синдром недостаточности микроэлемента железа в питании и ряде болезненных и полиморбидных состояний. Это в полной мере относится к алкогольной интоксикации, характеризующейся нарушением процессов всасывания, транспорта и образования железосодержащих белков и формирования внутри- и внеклеточной прооксидантной среды, развитию митохондриальной дисфункции, алкогольных болезней печени, других внутренних органов и нарушению функций ЦНС.

Определены ряд железорегуляторных механизмов (транспортер 2-х валентного металла-1, DMT1 или Nramp2, ферропортин, MTP 1, ireg 1, рецептор трансферина 1, TrfR), которые наряду с регулятором всасывания железа гепсидином, подвержены воздействию провоспалительных молекул и алкоголя. Прямое воздействие алкогольной интоксикации (АИ) на биосинтез гепсидина и опосредованный рост DMT1 и ферропортина в кишечнике доказано [3]. Однако остается неясным роль транспортных и внутримитохондриальных процессов метаболизма железа с учетом новых представлений о роли системы кофермента А (КоА) в биогенезе железосерных кластеров, процесса 4'-фосфо-пантетеинилирования белков в их переносе на белки ЦТК, а также в поддержании гомеостаза метаболизма железа за счет регуляции функции TrfR другим производным КоА – пальмитил-КоА [4].

Цель исследования – оценить основные показатели активности ферментов ЦТК, в т.ч. зависимых от активности железо-серных кластеров (аконитаза), метаболизма гем-содержащих структур (сукцинатдегидрогеназа, 2-оксоглутаратдегидрогеназа) и концентрацию железа и ферритина в сыворотке крови животных (белые крысы), подвергнутых субхронической алкогольной интоксикации и в период ее отмены на фоне применения наноконцентрации микроэлементов (Fe, Zn, Se), предшественников биосинтеза КоА (D-пантенол, N-ацетилцистеин) или сорбирующего Fe белка-лактоферрина.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на половозрелых крысах-самках линии Wistar, которым внутрижелудочно вводили коллоидный раствор наночастиц (Se 1,3 г/кг, Zn 1,1 г/кг, Fe 1,4 г/кг) в течение 3 недель, после чего отдельным группам ежедневно 2 раза в сут вводили этанол (30%, 5 г/кг) в течение 5 дней, а также D-пантенол (ПЛ, 200 мг/кг), N-ацетилцистеин (АЦЦ, 200 мг/кг) или лактоферрин (ЛФ, 100 мг/кг). Эффект отмены этанола и введение препаратов наблюдали через 5 сут от дня отмены этанола и фиксировали нарастание показателей окислительного стресса (ОС), нарушений редокс-статуса (система глутатиона) и энергетического метаболизма в полушариях головного мозга и кровообращении.

Активность ферментов ЦТК – аконитазы, сукцинатдегидрогеназы (СДГ), 2-оксоглутаратдегидрогеназы (ОГДГ) в митохондриях исследовали по методам [1,2,6], анализ уровня железа и ферритина стандартным иммуноферментативным методом (ИТФК «Анализ Х»), анализ системы глутатиона как описано ранее [5]. Содержание элементного состава ЦНС осуществляли масс-спектрометрическим методом с использованием прибора ICP-MS NexION 2000B (Perkin-Elmer, США).

Результаты и обсуждение. На фоне субхронической алкогольной интоксикации отмечено снижение активности аконитазы и СДГ, но не ОГДГ в больших полушариях мозга. При этом назначение ПЛ, АЦЦ, ЛФ не приводило к восстановлению активности, за исключением ЛФ, стабилизирующего активность аконитазы в период после отмены потребления этанола. Эффект отмены также проявился в частичном увеличении активности аконитазы под действием ПЛ и АЦЦ, назначаемых в этот период. Падение уровня

восстановленного глутатиона в ЦНС сопровождалось ростом S-глутатионилирования белков.

При назначении подопытным животным наноконцентрации увеличивался уровень сывороточного железа, который снижался практически 2-хкратно в результате 5-дневного потребления субтоксической дозы этанола (таблица). При этом выявлен защитный эффект предшественников КоА (АЦЦ>ПЛ), нормализующих этот показатель. Восстановление уровня сывороточного железа наблюдали при отмене назначения этанола в т.ч. при введении предшественников КоА, но не лактоферрина. АИ снижала уровень ферритина в сыворотке крови, а введение препаратов не выявило защитный эффект, как и отмена потребления этанола (таблица 1).

Таблица 1 – Показатели метаболизма железа в кровообращении при алкогольной интоксикации и ее отмене при введении препаратов

Название группы	Концентрация железа в сыворотке (мкмоль/л)	Концентрация ферритина в сыворотке (мкг/л)
Контроль	44,01 ± 2,09	157,1 ± 8,35
НК	73,82 ± 3,57*	170,7 ± 4,02
НК+этанол	32,54 ± 3,40* [#]	128,8 ± 3,03* [#]
НК+этанол +ПЛ	39,16 ± 3,63 [#]	127,8 ± 4,35* [#]
НК+этанол + АЦ	43,55 ± 3,98	135,1 ± 4,59*
НК+этанол+отмена	51,51 ± 5,23 ^{&}	129,4 ± 3,02 [#]
НК+этанол +отмена+ПЛ	53,19 ± 3,99	130,2 ± 8,68 [#]
НК+этанол +отмена+АЦ	57,03 ± 4,37*	134,2 ± 5,05 [#]
НК+(этанол+ЛФ)+(отмена+ЛФ)	45,24 ± 4,12	128,1 ± 6,17* [#]

Примечание – НК-наноконцентрация (Zn-Fe-Se);*-p<0,05 по отношению к группе «Контроль» ,# - p<0,05 по отношению к группе «НК» - [&]- p<0,05 по отношению к группе «НК+этанол +ПЛ» (тест Стьюдента)

При масс-спектрометрическом исследовании установлено увеличение уровня Se (при тенденции к увеличению Fe и Zn) в ЦНС при назначении наноконцентрации микроэлементов. В результате А

И выявлено падение уровня Cr и Se и эффект АЦЦ в предупреждении падения Cr.Отмена потребления этанола повлекла падение уровня Se, что частично предупреждалось всеми изученными препаратами. Отмечен эффект нормализации уровня Al при назначении ПЛ.

Таким образом, токсическое воздействие этанола на гомеостаз железа реализуется не только через систему его всасывания и транспорта, но и затрагивает систему биогенеза железо-серных кластеров митохондрий, что приводит к падению активности аконитазы и сукцинатдегидрогеназы лишь частично стабилизируемых назначением предшественников КоА на фоне наноконцентрации микроэлементов. Назначение АЦЦ способствует стабилизации

уровня сывороточного железа в период АИ и ближайший период, после его отмены.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биссвангер, Х. Практическая энзимология / Х. Биссвангер. – М.: Лаборатория знаний, 2013. – 132 с.
2. Ещенко, Н. Д. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы / Н. Д. Ещенко, Г. Г. Вольский // Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. – С. 207-2012.
3. Игумнов. С. А. Влияние железа на алкоголизм и алкогольные заболевания печени / С. А. Игумнов, Н.В. Коренский/ [электронный ресурс]. – 2020. –URL: <https://mypsyhealth.ru/2020/10/05/ferrum-and-alchogolizm>
- 4.Мойсеенок, А. Г. Система метаболизма CoA и ацетил-CoA головного мозга в механизмах нейродегенерации / А.Г. Мойсеенок, Н.П. Канунникова // Биохимия. – 2023. – Т.88, вып.4. – С. 569-587.
5. Эффект модуляторов системы биосинтеза кофермента А на проявления метаболического стресса и систему глутатиона в ЦНС при алюминиевом нейротоксикозе/Д. С. Семенович [и др.] // Нейрохимия. – 2023. – том 40, № 1. – С. 48-58.
6. Quirós, P. M. Determination of Aconitase Activity: A Substrate of the Mitochondrial Ion Protease / P. M. Quirós // Methods in Molecular Biology. 2018. Vol. 1731. P. 49-56.

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ СИСТЕМЫ СОПРЯЖЕНИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ В ТКАНИ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА, ПОДВЕРГНУТОГО ОБЛУЧЕНИЮ

Мышковец Н.С.¹, Бабенко А.С.², Литвинчук А.В.¹, Алексейко Л.Н.¹

¹УО «Гомельский государственный медицинский университет»,
Гомель;

²УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Актуальность Лучевая терапия - ценный медицинский метод, особенно для уничтожения раковых клеток (Bing et al., 2014; Lee et al., 2015). Гамма-облучение является одним из наиболее распространенных радиотерапевтических подходов, используемых для лечения опухолей. Повреждение системы желудочно-кишечного тракта считается острой проблемой при местном рентгеновском облучении опухолей брюшной полости или таза, а также при рентгеновском облучении всего тела перед трансплантацией костного мозга (Buell and Harding, 1989, Hauer-Jensen, 1990, Отчи и Нельсон, 1993, Олгуд и др., 1996). До недавнего времени считалось, что подострые и поздние осложнения рентгеновского облучения кишечника

зависят главным образом от количества выживших клеток крипт (Potten et al., 1983, Potten et al., 1994, Potten, 1995). Однако, ионизирующее облучение приводит к более сложным изменениям в физиологии, биохимии и структуре ткани кишечника (Wilson et al., 1998, Somosy et al., 2002, Dublineau et al., 2006, Ha-Young Park, Jin-Hee Yu, 2023). Тонкий кишечник поддерживает гомеостаз, координируя внутренние биохимические процессы, приспосабливаясь к меняющимся внешним условиям. Эпителиальный слой кишечника, состоящий из абсорбирующих, секреторных и криптогенных стволовых клеток, непрерывно обновляется. Все функции тонкого кишечника, начиная от переваривания и всасывания нутриентов, включая пролиферацию, дифференцировку, регенерацию клеток, реакцию на повреждение и стресс до регуляции пищевого поведения и возрастных изменений иммунной активности, являются исключительно энергозависимыми. Поэтому для слизистой оболочки тонкой кишки крайне важна высокая активность оксидазных систем дыхательной цепи митохондрий и эффективная работа всех точек окислительного фосфорилирования (ОФ). При разобщении процессов фосфорилирования и транспорта электронов тканевое дыхание протекает с максимальной скоростью, но не сопровождается образованием АТФ, что снижает эффективность митохондриального окисления [2]. Клетки оказываются в состоянии «энергетического голода» и функциональная активность ткани падает. Ранее нами было показано, что снижение энергообразования дыхательной цепи слизистой тонкого кишечника после воздействия ионизирующего облучения связано с явлением разобщения [4]. Подобные выводы были получены С.В. Хижняком и соавторами (2014), которые изучали процессы ОФ в митохондриях энтероцитов тонкой кишки крыс, подвергнутых ионизирующему излучению [6].

Целью данного исследования явилась оценка возможности коррекции нарушений системы сопряжения ОФ ткани тонкого кишечника, подвергнутого γ -облучению в дозе 0,5 Гр естественными метаболитами тканевого дыхания.

Материалы и методы исследования

Четыре группы белых крыс-самцов массой 180 – 230 г однократно облучили на установке «ИГУР-1», источник ^{137}Cs в дозе 0,5 Гр (мощность дозы 0,92 Гр/мин). Первая и четвёртая группы животных после облучения содержались на стандартном рационе вивария, вторая и третья получали смесь солей сукцината и глутамата калия в желатиновых таблетках в дозах 25 мг/кг веса в течение 3 – 10 дней после облучения. Контрольная группа также получала с пищей смесь солей. Количество животных в каждой экспериментальной группе составляло 6-10 особей. Животных выводили из эксперимента путем декапитации на третьи и десятые сутки. Препараты тонкого кишечника получали из тонкой кишки, которую изолировали (первые 10 см от желудка), отмывали физиологическим раствором, выворачивали «наизнанку», делили на отрезки (1,5 – 2 мм). Изучение параметров тканевого дыхания проводили полярографическим методом на устройстве Record 4 (РФ) электродом Кларка при 25 °С [3]. Для характеристики состояния системы сопряжения исследуемой ткани определяли скорость потребления кислорода кусочками кишечника на эндогенных субстратах ($V_{\text{энд}}$) и

используя разобщитель ОФ 2,4-динитрофенол ($V_{\text{днф}}$) фирмы «Serva», также рассчитывали коэффициент стимулирующего действия: $\text{СДднф} = V_{\text{днф}}/V_{\text{энд}}$. Статистически результаты обрабатывали с использованием непараметрических критериев (программа GraphPad Prism 4) и электронных таблиц Microsoft Excel 2003.

Результаты и обсуждение

Данные, полученные в результате исследования представлены в виде $Me (Q1; Q3)$. Коэффициент стимулирующего действия 2,4-динитрофенола (2,4-ДНФ) для контрольной группы животных составил 1,20 (1,08;1,32). В группах облучённых животных третьи сутки – 1,14 (0,98;1,29), а на десятые – 0,76 (0,58;0,95). Снижение коэффициента СДднф в обеих опытных группах указывает на то, что под действием γ -облучения целостность внутренней митохондриальной мембраны нарушается и митохондрии не способны к ОФ, в таком случае динитрофенол уже не оказывает влияния на степень сопряжения. В активно дышащих митохондриях, ОФ сопровождается накоплением K^+ , Na^+ , Ca^{2+} и Mg^{2+} , а также фосфата и баланс катионов поддерживается на определенном уровне. Разобщение дыхания и фосфорилирования под действием ионизирующего облучения приводит к потере ионов митохондриями, при этом эффективность энергообразования существенно снижается из-за разницы в ионном составе между двумя сторонами внутренней мембраны, при этом перенос электронов по дыхательной цепи к кислороду и в этих условиях может продолжаться.

В группах облучённых животных, получавших дополнительно в рацион смесь солей сукцината и глутамата калия на третьи сутки СДднф составил 1,20(1,01;1,34), а на десятые - 1,08 (0,92;1,24). Исследуемый показатель на третьи сутки соответствовал контрольному значению.

Кроме того, необходимо отметить, что и в контрольной, и в опытных группах, получавших смесь солей, ткань кишечника показала высокую норму дыхания на эндогенных субстратах, соответствовавшую контрольной группе [1]. При внесении в ячейку 2,4-ДНФ интенсивность дыхания возрастала, что отразилось на увеличении СДднф в данных группах по сравнению с облучёнными животными, не получавшими смесь солей. При внесении в среду разобщителя наблюдался эффект усиления дыхательной активности, возможно связанный с восстановлением целостности системы ОФ за счёт дополнительного внесения экзогенных субстратов тканевого дыхания в форме солей глутамата и сукцината. Респираторное разобщение может представлять собой внутренний биоэнергетический сигнал, который инициирует скоординированное увеличение экспрессии ядерных респираторных генов, что приводит к метаболической адаптации митохондрий внутри клеток [5].

Выводы

Полученные данные подтверждают, что под действием γ -облучения снижается способность митохондрий ткани кишечника к ОФ, угнетается активность ферментных систем митохондрий, что сопровождается диссоциацией электрохимического потенциала и отсутствием энергетического сопряжения.

Коррекция нарушений системы сопряжения ОФ ткани тонкого кишечника, подвергнутого γ -облучению в дозе 0,5 Гр естественными метаболитами тканевого дыхания, а именно глутаматом и сукцинатом калия оказалась эффективной в изучаемые сроки после облучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мышковец, Н. С. Оценка эффективности применения субстратов тканевого дыхания для коррекции пострadiaционных нарушений энергетического обмена тонкого кишечника / Н. С. Мышковец // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 30-летию юбилею Гомел. гос. мед. ун-та, Гомель, 12-13 нояб. 2020 г.: в 5 т. / Гомел. гос. мед. ун-т; редкол. : И. О. Стома [и др.]. – Гомель : ГомГМУ, 2020. – Т. 3. – С. 7-10.
2. Основы биохимии: в 3 т. / сост.: А. Уайт [и др.]. – Москва: Мир, 1981. – Т. 1, ч. 3. – 538 с.
3. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом / Г. М. Франк [и др.]; под общ. ред. Г.М. Франка. – Москва: Наука, 1973. – 196 с.
4. Яськова, Н. С. Изменения энергетического обмена тонкого кишечника на десятки суток после гамма-облучения / Н. С. Яськова // Проблемы здоровья и экологии. – 2007. – № 4 (14). – С. 141-145.
5. Desquiere, V Dinitrophenol-induced mitochondrial uncoupling in vivo triggers respiratory adaptation in HepG2 cells / Desquiere V [et al.] // Biochim Biophys Acta. – 2006. – Vol. 1757, № 1. – P. 21-30.
6. Khyzhnyak, S.V. Oxidative phosphorylation in mitochondria of small-intestinal enterocytes at chronic and single exposure to low power ionizing radiation / Khyzhnyak S.V. [et al.] // Problem Radiac Med Radiobiology. – 2014. – Vol. 19. – P. 482-9.

ЭФФЕКТЫ КОМПЛЕКСНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ АЦЕТАТА СВИНЦА И ЭТАНОЛА НА МИКРОБНО-ТКАНЕВОЙ КОМПЛЕКС ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА

Николаева И.В., Шейбак В.М., Смирнов В.Ю.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Свободные аминокислоты в микробно-тканевом комплексе генерируются микрофлорой, поступают в клетки из просвета кишечника в процессе расщепления пищевых и эндогенных белков [1]. Свинец является тканевым ядом, оказывающим влияние на микроорганизмы, как в живом организме, так и в окружающей среде. Поступление свинца с загрязненной почвой привели к модуляции кишечной флоры: увеличению соотношения Firmicutes/Bacteroidetes, что свидетельствует о сниженном метаболизме липидов и углеводов; пути биосинтеза и деградации углеводов,

липидов и/или жирных кислот, а также механизмы детоксикации модулируются дозой [1,4]. Нами ранее показано, что энтеральное поступление ацетата свинца с питьевой водой изменяет профиль свободных аминокислот и их производных в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника, что коррелирует с нарушением гомеостаза аминокислот в печени. Анализ корреляционных связей определяемых нами показателей указывает на существенную роль азотсодержащих метаболитов аминокислот – этаноламина и фосфоэтанолamina, таурина, а также цистатинина в обеспечение антиоксидантной защиты клеток тканей в условиях свинцовой интоксикации [3].

Потребление этанола увеличивает количество кишечных бактерий. Чрезмерный бактериальный рост может быть напрямую стимулирован алкоголем, а также может быть косвенным побочным продуктом нарушения функций пищеварения: снижается метаболизм желчи, тормозится перистальтика кишечника [2]. Поступление на этом фоне свинца должно оказывать негативное влияние на рост индигенной микрофлоры. Однако, в доступной нам литературе подобная информация отсутствует.

Целью - изучить показатели свободных аминокислот и их производных в микробно-тканевом комплексе толстого кишечника крыс в условиях комплексного поступления ацетата свинца и этанола в ЖКТ.

Материалы и методы исследования. Животные были разделены на четыре группы – контрольные и три опытные. Крысы первой опытной группы в течение 3 недель получали с питьевой водой ацетат свинца (в суммарной дозе 420 мг/кг, что составило 65% от LD₅₀). Второй опытной группе - однократно внутрижелудочно вводили 25% водный раствор этанола в дозе 4,5 г/кг массы тела. Третья опытная группа на фоне свинцовой интоксикации получала этанол. Декапитацию животных осуществляли через сутки после последнего поступления ацетата свинца в организм. Для анализа использовали микробно-тканевый комплекс толстого кишечника. Для идентификации свободных аминокислот и их дериватов использовали метод обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Для анализа данных использовали пакет программ Statistica 10.0 и Microsoft Excel. Для корреляционного анализа – коэффициент ранговой корреляции (r) Спирмена. Во всех процедурах статистического анализа применяли критический уровень $p \geq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Через сутки после однократного введения этанола в дозе 4,5 г/кг массы в микробно-тканевом комплексе толстого кишечника происходит увеличение концентрации треонина (на 43%), цитруллина (на 64%), β-аминомасляной кислоты (на 58%), α-аминомасляной кислоты (на 91%). Одновременно ниже контрольных значений были концентрации цистатинина (на 37%), фосфоэтанолamina (на 31%), гидроксизина (на 42%). Повышение концентрации цитруллина отразилось на метаболическом соотношении аргинин/цитруллин, которое регистрировали выше контроля (в 3 раза). Одновременно были увеличены соотношения серин/цистатинин (на 63%) и метионин/цистатинин (на 59%).

У животных второй опытной группы, получавших ацетат свинца с питьевой водой в течение 21 суток в микробно-тканевом комплексе толстого кишечника увеличивалось общее количество серосодержащих аминокислот и метаболически родственных им соединений (на 19%). Также выше контрольных значений было общее число азот-содержащих производных и метаболитов аминокислот (на 15%), что привело к достоверному снижению индекса протеиногенные амаинокислоты/производные. Анализ индивидуальных концентраций свободных аминокислот показал увеличение содержания заменимых аминокислот: аспарагина (на 23%) и аланина (на 26%). Выше контрольных значений были уровни азот-содержащих производных аминокислот: глутатиона (на 42%) и β -аланина (на 14%), β -аминомасляной кислоты (на 85%). Одновременно регистрировали снижение содержания незаменимой аминокислоты - треонина (на 37%), а также производных: гидроксизина (на 29%) и (гомосерина на 39%). Увеличение соотношения серин/этаноламин (на 44%), может быть следствием токсического влияния ацетата свинца на интенсивность синтеза фосфолипидов в энтероцитах толстого кишечника.

Комплексное воздействие ацетата свинца с питьевой водой на протяжении 21 суток и однократное внутрижелудочное поступление этанола на микробно-тканевой комплекс толстого кишечника приводило к снижению концентрации треонина (на 32%), глутамата (на 36%), гидроксизина (на 31%). Выше контрольных значений были уровни лизина (на 29%), β -аланина (на 68%).

В сравнении с группой животных получавших однократно этанол, после совместного воздействия ацетата свинца и этанола были снижены концентрации триптофана (на 15%), на фоне увеличения свободного глицина (на 26%). Обмен глицина в клетке тесно сопряжен с метаболизмом серина, что может иметь следствием изменение синтеза цистеина и образование таурина, и, вероятно, указывает на нарушение использования этой аминокислоты в цикле фолиевой кислоты и других реакциях одноуглеродного метаболизма. В сравнении с группой животных получавших ацетат свинца регистрировали снижение уровней изолейцина (на 26%), при повышении содержания аспартата и гомосерина (на 60% и 22%).

Комплексное воздействие ацетата свинца и этанола вызывает увеличение в микробно-тканевом комплексе кишечника концентрации лизина и цитруллина. Тогда как в сравнении с группой животных получавших однократно этанол, уровень цитруллина был ниже: (на 50%); в сравнении с группой, получавшей только ацетат свинца (на 34%). Уменьшение метаболического индекса/соотношения аргинин/цитруллин (на 47%) в сравнении с контролем (при отсутствии достоверных изменений концентрации аргинина, является результатом повышенной выработки цитруллина, местом синтеза которого является кишечник. Следует отметить увеличение метаболического соотношения аргинин/цитруллин по отношению к группе этанол (в 5,8 раз) и сравнении с животными получавшими ацетат свинца (в 2,5 раза). Регистрировали снижение концентрации треонина у животных

первой и третьей опытных групп по отношению к контролю (на 32%) и в сравнении с животными 2 опытной группы (у которых его уровень был повышен).

Выводы. Совместное поступление ацетата свинца и этанола усугубляет аминокислотный дисбаланс в микробно-тканевом комплексе толстого кишечника. Впервые показано, что острая алкогольная интоксикация на фоне субхронической свинцовой повышает уровни лизина, аспартата, глицина, цитруллина - которые являющиеся продуктами бактериального синтеза. Напротив уменьшаются концентрации аминокислот, которые активно включающихся в образование белкового компонента муцина (треонин) а также которые являющихся предпочтительными субстратами для кишечной микробиоты (глутамат, изолейцин, триптофан).

ЛИТЕРАТУРА

1. Amino acid metabolism / N. S. Chandel [et al.] // Cold Spring Harb Perspect Biol. – 2021. – Vol. 13, N 4.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33795250/a040584>

2. Gut Microbiota Targeted Approach in the Management of Chronic Liver Diseases / J. Liu [et al.] // Front Cell Infect Microbiol. – 2022. – 12. Vol. – P. 1-30 <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.774335>.

3. Николаева, И. В. / Уровень свободных аминокислот и их метаболитов в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника и печени в условиях введения ацетата свинца / И.В. Николаева, В. М. Шейбак, Е. М. Дорошенко // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2022. – Т. 67, № 2. – С. 000–000. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-2-000-000>

4. The role of probiotic intervention in regulating gut microbiota, short-chain fatty acids and depression-like behavior in lead-exposed rats / X.Chen[et al.] // Int J. Occup Med Environ Health. – 2022. – 35. №1. P. 95–106. <https://doi.org/10.13075/ijom.1896.01795>.

ОЦЕНКА 1,3-ДИКАРБОНИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 2-ОКСИНДОЛА В КАЧЕСТВЕ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ

Панада Я.В., Фролова Н.С., Фалетров Я.В.

*Учреждение БГУ "Научно-исследовательский институт
физико-химических проблем", Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. Конъюгация низкомолекулярных соединений со специфичными сайтами белков представляет собой важный инструмент для получения антител, действующих как носители лекарств, и меченых зондов для исследовательских, аналитических и клинических целей [1-3]. Кроме того, намеренное повреждение белков с помощью реакционноспособных электрофильных агентов (например, сесквитерпена зерумбона) может быть использовано для индуцирования апоптотических и аутофагических

механизмов запрограммированной клеточной гибели и осуществления потенциального хемопротекторного эффекта [4-6]. Наиболее распространенной целью для химической модификации являются остатки цистеина, характеризующиеся сочетанием высокой нуклеофильности, сравнительно низкой природной долей и удобством введения путем сайт-специфичного мутагенеза [3]. Классический метод модификации состоит в реакции тиольных групп остатков цистеина с α -галогенкарбонильными либо α,β -ненасыщенными карбонильными соединениями (например, малеимидами). В то же время, данный метод может приводить к образованию побочных продуктов и снижению белковой активности ввиду формирования внутримолекулярных дисульфидных связей. В качестве альтернативой мишени может выступать N-концевая α -аминогруппа, являющаяся ключевым сайтом для посттрансляционных модификаций, регулирующих процессы активации, превращения и деградации белков [1]. Таким образом, дизайн реагентов для контролируемой химической N-концевой модификации белков с целью модулирования аутофагии и прочих процессов представляет интерес для клинической терапии.

Цель. Целью данной работы было получение двух α,β -ненасыщенных дикарбонильных производных 2-оксиндола и оценка их взаимодействия с модельным белком альбумином.

Материалы и методы исследования. В работе были использованы следующие реагенты: изатин (Реахим, ч.д.а.), ацетилацетон (Реахим, ч.д.а.), диэтилоксалоацетат натрия (Acros Organics, 95%), 1,4-дизабицикло[2.2.2]октан (DABCO; Merck, >98%), альбумин из сыворотки быка (BSA; Sigma-Aldrich), додецилсульфат натрия (SDS; Wako Pure Chemical Industries, 95%); 2-меркаптоэтанол (Sigma-Aldrich, $\geq 99\%$). Все растворители были перегнаны перед использованием. Конъюгаты **1** и **2** были получены путем конденсации изатина и соответствующего дикарбонильного соединения в присутствии 20 мол. % DABCO с выходом 46% и 52%, соответственно (рисунок) [7].

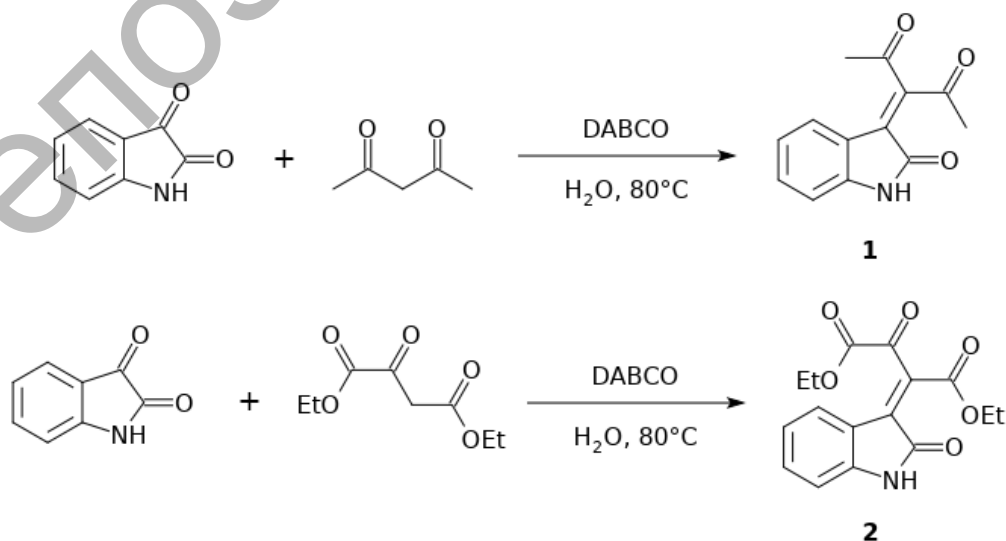


Рисунок – Схема синтеза оксиндольных конъюгатов по реакции Кнёвенагеля

Для оценки взаимодействия с BSA аликвоту соответствующего оксиндола в этаноле добавляли к 2,5 мл р-ра BSA в натрий-фосфатном буфере (рН = 7,0; 1,32 мг/мл BSA, 20 мкМ) и инкубировали при 37°C на протяжении 6 ч [1, 8]. В качестве контроля был использован натрий-фосфатный буфер, не содержащий белка. Конечная концентрация оксиндола составляла от 3 до 4 мМ. Конечная доля этанола не превышала 1%. По окончании опыта свободный лиганд экстрагировали 0,5 мл CHCl_3 . Для оценки неспецифического связывания раствор белка подвергали денатурации в присутствии 1% SDS и 0,01 М 2-меркаптоэтанола на протяжении 1 ч при 25°C и повторно экстрагировали 0,5 мл CHCl_3 . Остаток после упаривания экстрактов перерастворяли в 1,5 мл этанола, фильтровали и фотометрировали на приборе Solar PB2201 (Беларусь).

Результаты и обсуждение.

Как можно видеть из таблицы, в присутствии альбумина количество экстрагированного лиганда **1** сокращается до 26% от контроля, что указывает на значительное связывание с белком. При денатурации и повторной экстракции высвобожденного лиганда не было обнаружено статистически значимых различий между контрольным и опытными образцами, что позволяет предположить ковалентную природу взаимодействия между **1** и альбумином.

Таблица – Сравнительная концентрация несвязанного лиганда

Образец	OD ⁴²⁰	Отн. доля, %	Образец	OD ²⁸⁵	Отн. доля, %
1 (конт.)	2,00±0,04	100±2	2 (конт.)	0,65±0,05	100±8
1 (BSA)	0,52±0,06	26±3	2 (BSA)	0,61±0,05	94±8
1 (конт., SDS)	0,17±0,04	8,5±2	2 (конт., SDS)	0,42±0,04	65±6
1 (BSA, SDS)	0,20±0,05	10±2,5	2 (BSA, SDS)	0,51±0,03	78±5

В противоположность тому, первичная экстракция лиганда **2** показывает сопоставимые количества несвязанного лиганда в контрольном и опытном образцах, что свидетельствует о более слабом белок-лигандном взаимодействии по сравнению с конъюгатом **1**. Денатурация и повторная экстракция приводят к увеличению количества экстрагированного конъюгата на 21% относительно контрольного образца, не содержащего альбумин, что подтверждает неспецифичное нековалентное связывание **2**. Наблюдаемое различие в реакционной способности **1** и **2** может быть объяснено стерическими факторами и отталкиванием между электронными парами кето- и карбоксильных групп в боковой цепи **2**, что приводит к отклонению от планарной сопряженной структуры и снижению активирующего эффекта двойной углерод-углеродной связи на кетогруппу.

Выводы. В ходе данной работы были получены два α,β -ненасыщенные дикарбонильные конъюгата 2-оксиндола и проведена оценка их способности ковалентного взаимодействия с аминок группами белков на примере модели альбумина. Для конъюгата **1** выявлено существенное связывание с альбумином с признаками ковалентного взаимодействия, тогда как для конъюгата **2** наблюдалось более слабое неспецифическое связывание. Предложено объяснение наблюдаемых различий в реакционной способности, связанное с

влиянием строения на электронную структуру молекул и, как следствие, сравнительную активность кетогруппы. Полученные результаты представляют интерес для дальнейшей оптимизации и дизайна реагентов для модификации белков на основе кетопроизводных 2-оксиндола.

Данная работы была выполнена в рамках задания ГПНИ 2.2.04.01 (программа "Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биооргхимия", подпрограмма "Биорегуляторы", № гос. регистрации 20210560).

ЛИТЕРАТУРА

1. N-terminal α -amino group modification of antibodies using a site-selective click chemistry method / D. Li [et al.] // mAbs. – 2018. – Vol. 10. – P. 712-719.

2. Chung, W.-J. Chemical modulation of M13 bacteriophage and its functional opportunities for nanomedicine / W.-J. Chung, D.-Y. Lee, S. Y. Yoo // Int. J. Nanomed. – 2014. – Vol. 9. – P. 5825-5836.

3. Yu, J. Highly reactive and tracelessly cleavable cysteine-specific modification of proteins via 4-substituted cyclopentenone / J. Yu, X. Yang, Z. Yin // Angew. Chem. – 2018. – Vol. 130. – P. 11772-11776.

4. Zerumbone, an electrophilic sesquiterpene, induces cellular proteo-stress leading to activation of ubiquitin–proteasome system and autophagy / K. Ohnishi [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Comm. – 2013. – Vol. 430. – P. 616-622.

5. To eat, or NOt to eat: S-nitrosylation signaling in autophagy / C. Montagna [et al.] // FEBS J. – 2016. – Vol. 283. – P. 3857-3869.

6. Dopamine-derived biological reactive intermediates and protein modifications: implications for Parkinson's disease / Y. Jinsmaa [et al.] // Chem. Biol. Interact. – 2011. – Vol. 192. – P. 118-121.

7. Approaches towards 3-substituted-3-hydroxyoxindole and spirooxindole-pyran derivatives in a reaction of isatin with acetylacetone in aqueous media / R. Chandran [et al.] // ChemistrySelect. – 2019. – Vol. 4. – P. 12757-12761.

8. Получение флуоресцентно-меченых препаратов бычьего сывороточного альбумина и определение их спектральных характеристик / О. А. Завадская [и др.] // Вестник БГУ. Серия 2. – 2016. – № 2. – С. 12-17.

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ В ЦИТОПЛАЗМЕ ПЕРВИЧНЫХ СПЕРМАТОЦИТОВ СЕМЕННИКОВ КРЫС В РАННЕМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА *E. COLI*

Поплавская Е.А.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Эффективная борьба с инфекциями, сопровождающимися развитием воспалительного процесса в органах мочеполовой системы человека и животных, а также приводящих в последующем к развитию бесплодия, является одной из наиболее актуальных проблем. Сперматогенез является

одним из наиболее динамичных процессов в организме человека и животных, связанных с интенсивной клеточной пролиферацией и дифференцировкой. Нормальное его протекание требует скоординированного влияния многочисленных факторов – гормональных, клеточных генетических и других, что делает этот процесс весьма чувствительным для всякого рода негативных воздействий [2, 3, 5].

Бактериальные ЛПС имеют различные точки приложения своего действия. Во врачебной практике ЛПС применяются в первую очередь для стимуляции иммунитета и неспецифической резистентности организма, при этом, обладают и выраженным токсическим эффектом [1]. В многочисленных работах, как клинических, так и экспериментальных, представлены различные нарушения дифференцировки и созревания полового эпителия. При этом вопрос о влиянии бактериальных ЛПС на цитохимические изменения в клетках сперматогенного эпителия представляет несомненный интерес.

Целью работы явилось изучение изменения уровня активности ферментов в цитоплазме первичных сперматоцитов семенников крыс в раннем периоде после воздействия бактериального ЛПС *Escherichia coli* (*E. coli*).

Методы исследования

В эксперименте было использовано 12 беспородных крыс-самцов массой 230 ± 20 грамм. Из животных были сформированы опытная и контрольная группы. Самцам опытной группы вводился ЛПС *E. coli* производства фирмы «Sigma», США в дозе 50 мкг/кг массы внутривенно, однократно. Самцам контрольной группы – физиологический раствор в эквивалентном количестве.

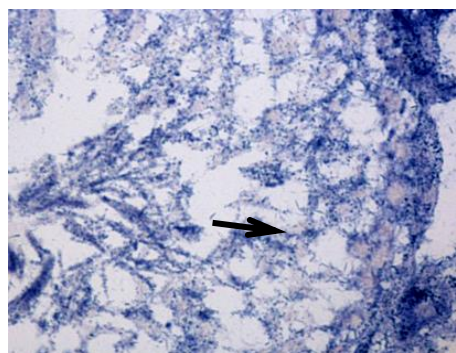
На 3-и сутки после воздействия ЛПС самцов экспериментальной группы усыпляли парами эфира с последующей декапитацией. Животных вскрывали, выделяли семенники. Часть семенника замораживали в жидком азоте и готовили криостатные срезы, на которых проводили гистохимические реакции по выявлению активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), НАДН₂-дегидрогеназы (НАДН₂ДГ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ) и НАДФН₂-дегидрогеназы (НАДФН₂ДГ) [4]. Все гистохимические исследования сопровождались безсубстратными контролями.

Количественную оценку активности НАДН₂-ДГ, НАДФН₂-ДГ, ЛДГ, Г-6-Ф-ДГ проводили, определяя оптическую плотность полученного осадка хромогена в цитоплазме первичных сперматоцитов на максимуме поглощения окрашенных продуктов реакций. Изучение гистологических препаратов и их цитофотометрию проводили с помощью микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры Leica DFC 320 (Leica Microsystems GmbH, Германия) и программы компьютерного анализа изображения ImageWarp (BitFlow, США). Оценку достоверности изменения численных значений проводили с помощью непараметрической статистики с применением компьютерной программы Statistica 6.0 для Windows.

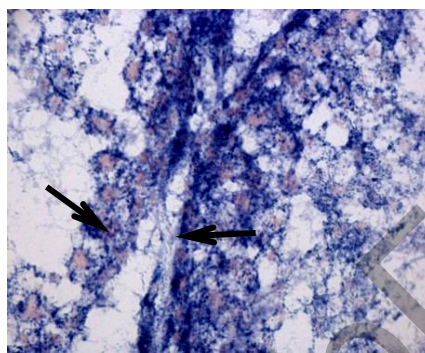
Результаты и их обсуждение

Результаты гистохимического исследования показали, что при введении ЛПС *E. coli* в дозе 50 мкг/кг массы животного на 3-и сутки после воздействия в цитоплазме первичных сперматоцитов наблюдается статистически достоверное

по сравнению с контролем повышение активности НАДН-ДГ на 27,90 % ($Z = -2,08, p = 0,00$) (рисунок 1) и ЛДГ на 20 % ($Z = -2,73, p = 0,00$) (рисунок 2). Уровень активности НАДФН₂-ДГ незначительно снижается (статистически не достоверно), а уровень активности Г-6-Ф-ДГ в цитоплазме первичных сперматоцитов у контрольных и опытных животных незначительно повышается (статистически не достоверно) (таблица).



А



Б

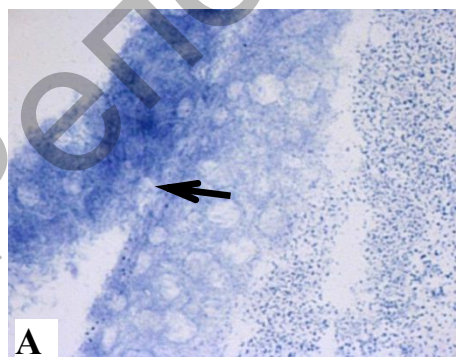
Тетразолиевый метод по Lojda. Цифровая микрофотография. Ув. об. 40

Рисунок 1 – Активность НАДН-ДГ в цитоплазме первичных сперматоцитов самцов крыс контрольной группы (А) и на 3-и сутки после однократного, внутрибрюшинного введения ЛПС *E. coli* (Б)

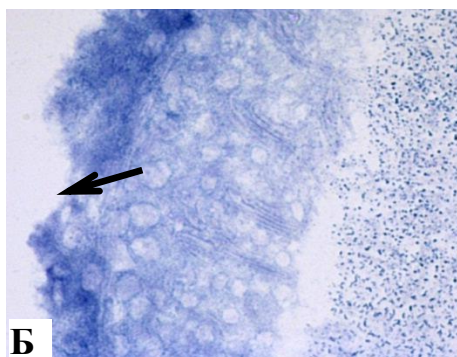
Таблица – Гистохимические изменения в цитоплазме первичных сперматоцитов на 3-и сутки после воздействия ЛПС *S. marcescens*

Исследуемые показатели	3-и сутки	
	контроль	опыт
НАДН ₂ -ДГ	0,172 (0,141; 0,183)	0,220 * (0,217; 0,243)
НАДФН ₂ -ДГ	0,154 (0,105; 0,212)	0,145 (0,138; 0,181)
ЛДГ	0,160 (0,131; 0,174)	0,192* (0,190; 0,198)
Г-6-Ф-ДГ	0,055 (0,034; 0,066)	0,066 (0,060; 0,070)

Примечание – * – $p < 0,05$ при сравнении с контролем



А



Б

Тетразолиевый метод по Lojda. Цифровая микрофотография. Ув. об. 40

Рисунок 2 – Активность ЛДГ в цитоплазме первичных сперматоцитов самцов крыс контрольной группы (А) и на 3-и сутки после однократного, внутрибрюшинного введения ЛПС *E. coli* (Б)

Известно, что ЛПС грамотрицательных бактерий при попадании в организм млекопитающих вызывают целый ряд эффектов, одним из которых является окислительный стресс в клетке с появлением активных форм кислорода (АФК) (супероксид анион радикал, гидроксильный радикал). В качестве защиты от АФК клетка использует, в частности, антиоксиданты (глутатион). Изменение уровня активности исследуемых дегидрогеназ является следствием изменения окислительного статуса в организме крыс и, в частности, в семенниках, в ответ на введение ЛПС грамотрицательных бактерий. В ответ на окислительный стресс изменяются соответствующим образом уровни активности ферментов, прямо или косвенно участвующие в нивелировке последствий появления АФК.

Выводы. Результаты проведенного исследования показали, что однократное внутрибрюшинное введение бактериального ЛПС *E. coli* приводит к изменениям уровня активности исследуемых ферментов в цитоплазме первичных сперматоцитов семенников крыс в ранние сроки после воздействия, что может привести к изменению структуры и функции органа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаренко, В.М. Молекулярные аспекты повреждающего действия бактериальных липополисахаридов/В.М. Бондаренко, Е.В. Рябиченко, Л.Г. Веткова // Журн. Микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2004. – № 3. – С. 98-105.

2. Быков, В.Л. Сперматогенез у мужчин в конце XX века (обзор литературы) /В.Л. Быков // Проблемы репродукции. –2000. №1. – С. 6-13.

3. Логинова, А.К., Стадников А.А., Немцева Н.В. Особенности формирования морфологических изменений в семенниках крыс при интратестикулярном воздействии бактерий *E.coli* с антигистоновой активностью/А.К. Логинова, А.А. Стадников, Н.В. Немцева//Вестник ОГУ. – 2014. – №13 (174). – С. 53-58.

4. Лойда З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы. М., 1982

5. Hormonal regulation of spermatogenesis and spermiogenesis / N. Sofikitis [et al.] // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2008. – Vol. 109, № 3/5. – P. 323-330.

АМИНОКИСЛОТЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ КАК БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ АЛКОГОЛИЗМА

Разводовский Ю.Е.¹, Дорошенко Е.М.¹, Смирнов В.Ю.²

*Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие
«Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси»*

*²УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Хроническая алкогольная интоксикация сопровождается аминокислотным дисбалансом в плазме крови, который зависит от тяжести

дефицита пищевых белков, степени выраженности алкогольного поражения печени и других факторов [1]. Литературные данные относительно аминокислотного дисбаланса в плазме крови зависимых от алкоголя пациентов достаточно противоречивы [2,3]. Наиболее часто отмечаются сдвиги в уровне аминокислот с разветвленной углеводородной цепью (АРУЦ), ароматических аминокислот (ААК), метионина и α -аминомасляной кислоты, повышенный уровень которой был предложен в качестве маркера алкоголизма [4]. Отсутствие единого паттерна дисбаланса в фонде аминокислот плазмы крови у пациентов, страдающих алкогольной зависимостью, обуславливает актуальность дальнейшего изучения содержания аминокислот в плазме крови с целью идентификации биохимических маркеров алкоголизма.

Цель. Изучить особенности фонда свободных аминокислот и их производных плазмы крови зависимых от алкоголя мужчин.

Материалы и методы исследования. В исследовании принимали участие 127 зависимых от алкоголя мужчин, проходивших стационарное лечение в Гродненском областном клиническом центре «Психиатрия-Наркология». Забор биологического материала (венозная кровь) проводился при поступлении пациентов медицинским персоналом отделения наркологии. Контрольную группу составили 136 умеренно пьющих мужчин, проходивших профессиональный осмотр в медицинском консультативном центре. Анализ аминокислот и их дериватов проводился на хроматографе Agilent 1200 методом обращенно-фазной хроматографии с предколоночной дериватизацией *o*-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой в Na-боратном буфере. Статистическая обработка данных производилась с помощью программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США). Применялись методы описательной статистики, регрессионный и ROC анализ. При условии нормальности распределения сравнение групповых средних осуществлялось по критерию Стьюдента с поправкой на различие дисперсий, в противном случае проводилось сравнение непараметрическим методом по критерию Манна-Уитни. С целью выявления показателей, ассоциированных с алкогольной зависимостью, была выполнена множественная логистическая регрессия. Уменьшение количества переменных модели, без существенного снижения её прогностической значимости, являлось важной задачей данного этапа. Для этого с помощью процедуры Бурута провели предварительный отбор переменных. Для дальнейшего анализа были отобраны наиболее значимые показатели.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что у зависимых от алкоголя мужчин имеет место выраженный дисбаланс аминокислотного фонда плазмы крови, проявляющийся в снижении практически всех рассчитанных интегральных показателей аминокислотного фонда: содержание ААК, АРУЦ, заменимых и незаменимых аминокислот, гликогенных аминокислот, кетогенных аминокислот, суммарного пула протеиногенных аминокислот.

Сравнение многофакторных регрессионных моделей, имеющих достоверные коэффициенты регрессии, позволило выбрать оптимальную модель, согласно которой наибольшей значимостью в диагностике алкогольной

зависимости обладает изменение уровней серина, глицина и α -аминомасляной кислоты. Диагностическая эффективность полученной модели была оценена при помощи ROC-анализа. Вычисленная площадь под ROC-кривой составила 0,979, что свидетельствует о хорошей прогностической ценности модели. При пороговом значении 0,546 показатели диагностической надежности составили: чувствительность - 90%, специфичность - 72%, прогностическая ценность положительного результата (ПНПР) – 88,5%, прогностическая ценность отрицательного результата (ПНОР) – 75%.

Логистический регрессионный анализ выявил высокую информативность изменений уровней серина, глицина и α -аминомасляной кислоты, что может быть обусловлено вовлеченностью этих соединений в транссульфирование гомоцистеина, высокий уровень которого сопровождается ростом содержания гипотаурина [5], а при одновременном ингибировании фолатного цикла такой рост сочетается также со снижением уровня таурина [6]. Нами наблюдался именно такой характер изменений уровней таурина и гипотаурина. Одновременно с последним повышалось также содержание цистеинсульфината, что может говорить о снижении синтеза таурина за счет преимущественно снижения окисления SO_2 -групп.

Таким образом, хроническая алкогольная интоксикация сопровождается выраженным аминокислотным дисбалансом плазмы крови, который характеризуется снижением содержания большинства аминокислот, что приводит к значительному обеднению как заменимых, так и незаменимых компонентов аминокислотного фонда плазмы крови. Изменение содержания в плазме крови уровней серина, глицина и α -аминомасляной кислоты обладает высокой надежностью в диагностике алкогольной зависимости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Островский, Ю.М. Аминокислоты в патогенезе, диагностике и лечении алкоголизма / Ю.М. Островский, С.Ю. Островский – Минск: Навука і тэхніка, 1995. – 280 с.
2. Nakajima, T. Metabolic abnormalities of amino acids in patients with alcoholic liver damage / T. Nakajima, A. Sato, N. Murayama // Nippon Rinsho. – 1992. – Vol. 50, № 7. – P. 1609-1613.
3. Shaw, S. Plasma amino acid abnormalities in the alcoholic, respective role of alcohol, nutrition and liver injury / S. Shaw, C.S. Lieber // Gastroenterol. – 1978. – Vol. 74. – P. 677–681.
4. Siegel, F.L. Plasma amino acids pattern in alcoholism the effects of ethanol loading / F.L. Siegel, M.K. Roach, L.R. Pomeroy // Biochem. – 1964. – Vol. 51. – P. 605-611.
5. Stipanuk, M. H. Metabolism of sulfur-containing amino acids: how the body copes with excess methionine, cysteine, and sulfide / M. H. Stipanuk // The Journal of Nutrition. – 2020. – Vol. 150. – P. 2494S–2505S.
6. Новгородская, Я. И. Сравнительный анализ пула серосодержащих аминокислот в плазме крови и печени крыс и гистологическая структура печени после ингибирования фолатного цикла на фоне длительного введения

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОРОГА КОНЦЕНТРАЦИИ ЭТИЛГЛЮКУРОНИДА В ВОЛОСАХ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ

Разводовский Ю.Е.¹, Шуриберко А.В.¹, Казинец Е.О.¹, Бадун Е.Г.¹,
Климович И.И.², Кременецкая Т.А.³, Давыдик Н.С.³, Лазаревич Д.С.³,
Переверзев В.А.⁴, Смирнов В.Ю.²

¹Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие
«Институт биохимии биологически активных соединений НАН
Беларуси»,

²УО «Гродненский государственный медицинский университет

³ГОКЦ «Психиатрия-наркология», Гродно

⁴УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Актуальность. В последние годы в разных странах мира активно изучается возможность использования концентрации этилглюкуронида (ЭГ) в волосах в качестве биохимического маркера хронического злоупотребления алкоголем [1-3]. Поскольку ЭГ образуется только в присутствии алкоголя, он обладает значительно большей диагностической надежностью, чем традиционные непрямые биохимические маркеры злоупотребления алкоголем [4]. Общество тестирования волос рекомендовало использовать пороговый уровень ЭГ 30 пг/мг в проксимальном фрагменте волос головы длиной 0-3 см для дискриминации между злоупотреблением алкоголем и умеренным его употреблением [5]. Однако эти рекомендации вызывают сомнения у некоторых экспертов, указывающих на значительную индивидуальную вариабельность образования и элиминации ЭГ [6]. Поэтому в настоящее время продолжаются исследования по установлению пороговых значений содержания ЭГ в волосах, позволяющих дискриминировать разные группы потребителей алкоголя.

Целью настоящей работы было определение оптимального порогового уровня концентрации ЭГ в волосах для диагностики алкогольной зависимости.

Материалы и методы исследования. В исследовании принимали участие 127 зависимых от алкоголя мужчин и 25 зависимых от алкоголя женщин, проходивших стационарное лечение в Гродненском областном клиническом центре «Психиатрия-Наркология». Забор биологического материала (проксимальный сегмент волос головы длиной 3 см.) проводился при поступлении пациентов медицинским персоналом отделения наркологии. Определение концентрации ЭГ в волосах осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии – тандемной масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС) [2]. Статистическая обработка данных

(описательная статистика, логистическая регрессия) производилась с помощью программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США). Для проверки статистических гипотез о виде распределения был применён критерий Шапиро-Уилка. Количественные признаки с асимметричным распределением описывались с помощью медианы и процентилей. Для оценки диагностической значимости (чувствительность, специфичность, прогностическая ценность положительного (ПЦПР) и отрицательного (ПЦОР) результата), а также определения оптимальной пороговой концентрации ЭГ был проведен ROC (receiver operating characteristic) анализ. Для оценки прогностической ценности определяли площадь области под ROC-кривой – AUC (area under the ROC curves). Диагностическая точность маркера растёт по мере приближения данного показателя к единице. 95% доверительный интервал AUC высчитывался по методу DeLong. При определении порогового уровня ЭГ использовался индекс Юдена (Youden index).

Результаты и их обсуждение. На основании проведённого логистического регрессионного анализа установлено уравнение, описывающее зависимость между содержанием ЭГ в волосах и переменной, определяющей принадлежность к контрольной группе или группе зависимых от алкоголя: $Z = -4,35 + 0,125 \times [\text{ЭГ, нг/мг}]$.

Анализ ROC-кривой позволил определить оптимальное значение концентрации, выше которой можно с высокой вероятностью утверждать наличие алкогольной зависимости. Пороговая концентрация ЭГ рассчитывалась по формулам: $p_{\text{пор}} = 1/(1+\exp(-Z_{\text{пор}})) = 0,336$; $Z_{\text{пор}} = -0,682$, $[\text{ЭГ}]_{\text{пор}} = 35$ нг/мг. При данной пороговой концентрации ЭГ чувствительность, специфичность, ПЦПР и ПЦОР составили 95%, 95%, 98%, 90% соответственно. Площадь под ROC кривой (AUC) составила 0,99, что свидетельствует о хорошей прогностической ценности модели.

Полученные данные свидетельствуют о высокой эффективности ЭГ в качестве биохимического маркера алкогольной зависимости, что согласуется с результатами предыдущих исследований [2,5]. Рассчитанная нами пороговая концентрация ЭГ, дискриминирующая между умеренным потреблением алкоголя (социальным пьянством) и алкогольной зависимостью, хорошо соотносится с пороговыми значениями, предложенными другими авторами [3-6].

Таким образом, результаты настоящего исследования свидетельствуют о высокой диагностической надежности ЭГ в качестве биохимического маркера алкогольной зависимости. Определение концентрации ЭГ в волосах является эффективным вспомогательным диагностическим инструментом, позволяющим объективизировать постановку диагноза алкогольной зависимости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Разводовский, Ю.Е. Биохимические маркеры алкогольной зависимости. Наркология. – 2020. – Т. 19, № 1. – С. 85-92.
2. Шуриберко, А.В. Разработка и валидизация метода количественного определения этилглюкуронида в волосах. / А.В. Шуриберко,

Ю.Е. Разводовский // Актуальные проблемы алкогольной и других химических зависимостей: тезисы докладов III Международной научно-практической конференции (5 октября 2023 г., Гродно). С. 39-40.

3. Sensitivity and specificity of EtG in hair as a marker of chronic excessive drinking: pooled analysis of raw data and meta-analysis of diagnostic accuracy studies. / R. Boscolo-Berto // Ther Drug Monit. – 2014. – Vol. 36, N.5. – P. 560-575.

4. Ethyl glucuronide concentration in hair for detecting heavy drinking and/or abstinence: a meta-analysis. / R. Boscolo-Berto // Int J Legal Med. – 2013. – Vol. 127, N. 3. – P. 611-619.

5. Hair ethyl glucuronide levels as a marker for alcohol use and abuse: a review of the current state of the art. / C.L. Crunelle // Drug Alcohol Depend. – 2014. – Vol. 134. – P. 1-11.

6. Hair ethyl glucuronide as a biomarker of alcohol consumption in alcohol-dependent patients: role of gender differences. / C.L. Crunelle // Drug Alcohol Depend. – 2014. – Vol. 141. – P. 163-166.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПУЛА СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ И РОДСТВЕННЫХ ИМ СОЕДИНЕНИЙ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ 28-ДНЕВНОЙ ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Семенчук А.К.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Для сохранения азотистого баланса, поддержания здоровья человека и обеспечения его работоспособности необходимо нормальное функционирование систем белкового обмена, главным компонентом которого являются аминокислоты. У взрослого человека при нормальной обеспеченности пищевым белком в норме поддерживается постоянная концентрация аминокислот в крови (0,5 г/л или около 2,5 г во всем объеме крови) [1].

Как известно, формирование аминокислотного пула плазмы крови и тканей в организме зависит от активности их транспорта через клеточные мембраны, а также от соотношения процессов биосинтеза белка в клетках и протеолиза в мышечных тканях. При большинстве патобиохимических состояний аминокислотный дисбаланс отражает негативные изменения, происходящие в пораженных органе или ткани. Изменение количественного спектра аминокислот, в свою очередь, будет оказывать существенное воздействие на интенсивность транспортных и/или метаболических процессов в клетках [5]. Одним из возможных патологических воздействий на организм является алкогольная интоксикация, которая приводит к изменениям практически всех обменных процессов, в том числе обмена аминокислот [2]. Одной из форм поступления этанола в организм является прерывистая

алкогольная интоксикация (ПАИ), которая широко распространена в человеческом обществе и в связи с этим представляет интерес для более подробного изучения. В экспериментальной наркологии известно несколько способов моделирования прерывистой алкогольной интоксикации, которые отличаются длительностью эксперимента, дозами и способом введения этанола. В данной работе рассматриваются два варианта ПАИ, отличающиеся сроками алкоголизации и отмены и использующие внутрижелудочное введение этилового спирта [2].

Цель работы: определить концентрации серосодержащих аминокислот и родственных им соединений в плазме крови крыс при влиянии 28-дневной прерывистой алкогольной интоксикации.

Материалы и методы исследования. В эксперименте была использована 31 особь белых беспородных крыс-самцов массой 180-220 г, находящихся на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. Прерывистая алкогольная интоксикация (ПАИ) моделировалась путем внутрижелудочного введения этанола в дозе 3,5 г/кг массы тела два раза в сутки в виде 25%-го раствора по следующим схемам: 4 суток алкоголизации – 3 суток внутрижелудочное введение эквивалентного количества воды (ПАИ-4) и 1 сутки алкоголизации – 1 сутки внутрижелудочное введение эквивалентного количества воды (ПАИ-1). Животные контрольной группы внутрижелудочно дважды в сутки получали эквивалентные количества воды [2]. Продолжительность эксперимента составляла 28 суток. Декапитацию проводили через 1 час после последнего введения алкоголя и воды. При выполнении исследований придерживались правил и норм биоэтического обращения с экспериментальными животными.

Содержание свободных аминокислот определяли методом обращенно-фазной ВЭЖХ с использованием жидкостного хроматографа Agilent 1200 (Agilent Technologies, США), после дериватизации с о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой с детектированием по флуоресценции (338/455 нм). Обработка хроматограмм осуществлялась по методу внутреннего стандарта (норвалин). Определение SH-содержащих соединений (цистеина, гомоцистеина, цистеинилглицина и глутатиона) проводили с использованием предколоночной дериватизации с аммоний-7-фторбензол-2-оксо-1,3-диазола-4-сульфонатом (SBD-F) с последующим разделением полученных производных методом обращенно-фазной ВЭЖХ с изократическим элюированием и детектирование по флуоресценции [4].

Статистическую обработку данных проводили с помощью непараметрических методов. Результаты выражали в виде медианы (Me) и рассеяния (25 и 75 перцентилей). Для сравнения двух независимых выборок по количественным признакам использовали U-критерий Манна-Уитни, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. При этом использовали пакет статистических программ Statistica 10.0.

Результаты исследования и их обсуждение. При 28-суточной прерывистой алкогольной интоксикации в плазме крови крыс наблюдалось достоверное снижение концентрации целого ряда определяемых показателей,

что может свидетельствовать об обеднении аминокислотного пула плазмы крови при данном режиме алкоголизации и что показано рядом авторов для хронической алкогольной интоксикации [3].

В группе ПАИ-4 наблюдалось уменьшение содержания незаменимой серосодержащей аминокислоты – метионина (медианное значение отличается в 1,79 раза, $p < 0,05$) по сравнению со значениями в контрольной группе. Это может быть вызвано нарушением всасывания аминокислот в ЖКТ, поскольку известно о повреждающем действии этанола на слизистую оболочку желудка и кишечника [3]. Это, в свою очередь, могло привести к уменьшению концентраций цистеина и гомоцистеина (медианные значения отличаются от контроля в 2,25 и 1,6 раза соответственно, $p < 0,05$), которые непосредственно метаболически связаны с метионином.

Так же при ПАИ-4 отмечаются отклонения в содержании метаболитов γ -глутамильного цикла, участниками которого являются серосодержащие соединения. Здесь по отношению к контролю достоверно снижены концентрации цистеинилглицина, γ -глутамилцистеина и глутатиона (медианные значения отличаются в 1,81, 1,73 и 1,6 раза соответственно, $p < 0,05$). Это указывает на нарушение процессов транспорта аминокислот через клеточные мембраны. В ряде работ отражена способность этанола и ацетальдегида влиять на трансмембранный перенос аминокислот, индуцируя, таким образом, возникновение аминокислотного дисбаланса [1].

Кроме того, в группе ПАИ-4 в сравнении с контрольными значениями наблюдалось достоверное снижение уровней серина и глицина, являющихся непосредственными участниками метаболизма серосодержащих аминокислот, необходимыми для транссulfурирования гомоцистеина и образования глутатиона.

Подобное снижение концентраций серина и глицина в плазме крови крыс было отмечено и при алкоголизации в режиме ПАИ-1, но было выражено менее значительно (медианные значения отличаются в 1,13 и 1,27 раза соответственно по отношению к контролю, $p < 0,05$).

В группе ПАИ-1 так же наблюдалось достоверное уменьшение содержания 2 компонентов γ -глутамильного цикла – γ -глутамилцистеина и глутатиона – в сравнении с контрольными значениями.

Уровень метионина в группе ПАИ-1 был достоверно снижен в сравнении с контролем даже более значительно, чем при ПАИ-4 (медианное значение отличается в 2,1 раза, $p < 0,05$). Возможно это привело к снижению уровня таурина при данном режиме алкоголизации (медианное значение отличается в 1,2 раза, $p < 0,05$).

Выводы.

1. Введение этанола в режиме ПАИ-4 приводит к значительному обеднению пула серосодержащих аминокислот и их метаболитов плазмы крови, что проявляется в снижении концентраций, метионина, цистеина, гомоцистеина, цистеинилглицина, γ -глутамилцистеина, глутатиона, серина и глицина.

2. Эффекты прерывистой алкогольной интоксикации в режиме ПАИ-1 сходны с ПАИ-4, но для большинства показателей выражены менее значительно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Костюченко Л.Н. Границы возможностей нутриционной поддержки при критических состояниях/ Л.Н.Костюченко // Вопросы интенсивной терапии в хирургической клинике. Приложение consilium medicum. Хирургия. – 2014. – № 2. – С. 25-32.

2. Лелевич В.В. Прерывистая алкогольная интоксикация – новая модель экспериментального алкоголизма / В.В. Лелевич, С.В. Лелевич //Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2014. – №3(11). – С.90-97.

3. Лелевич С.В. Центральные и периферические механизмы алкогольной и морфиновой интоксикации: монография / С.В. Лелевич – Гродно: ГрГМУ, 2015. – 252 с.

4. Новгородская, Я. И. Показатели фонда свободных аминокислот и их дериватов в плазме крови и печени крыс при введении тиацетамида / Я. И. Новгородская, М. Н. Курбат // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2021. – Т. 19, № 6. – С. 679–685.

5. Jousse C. Amino acids as regulators of gene expression: molecular mechanisms / C. Jousse [et al.]// Biochem Biophys Res Commun. – 2004. – Vol. 313, № 2. – P. 447-452.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ, МОДИФИЦИРОВАННОГО ФОСФАТИДИЛХОЛИНОМ

Созарукова М.М.,¹ Проскурнина Е.В.²

¹ *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН»;*

² *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»,
Москва, Российская Федерация*

Актуальность. Среди нового класса наноматериалов, обладающих ферментоподобной активностью (нанозимов), особое место занимает нанокристаллический CeO_2 . Уникальные физико-химические свойства наряду с широким спектром биокаталической активности и относительно низкой токсичностью делают нанодисперсный диоксид церия перспективным компонентом тераностических (терапевтических и диагностических) препаратов нового поколения [2]. Развитие наномедицины делает актуальной задачу создания наноматериалов, одновременно сочетающих в себе биосовместимость, коллоидную стабильность и редокс-активность. Функционализация поверхности наночастиц лигандами позволяет не только решать эти проблемы, но и создавать наноматериалы с совершенно новыми свойствами. В свою очередь эту обуславливает, с одной стороны, поиск перспективных биосовместимых лигандов, а с другой – необходимость

всестороннего анализа наночастиц после взаимодействия с ключевыми биомолекулами.

Цель. Целью работы был анализ антиоксидантной активности наночастиц диоксида церия, модифицированного фосфатидилхолином – одним из ключевых компонентов биологических мембран.

Материалы и методы исследования. Электростатически стабилизированный коллоидный раствор наночастиц CeO_2 получали методом термогидролиза гексанитратоцерата аммония(IV) [3]. Предварительно был приготовлен водный раствор лиганда фосфатидилхолина (препарат «Фосфолипovit», НИИБМХ, ультрадисперсная эмульсия (наночастицы размером до 30 нм), содержащая 80–95% фосфатидилхолина и 20–5% мальтозы). Золь CeO_2 модифицировали постепенным введением (по каплям) при непрерывном перемешивании коллоидного раствора CeO_2 к раствору фосфолипида в мольных соотношениях 1:1, 1:2, 2:1 (CeO_2 :фосфолипид). После добавления наночастиц CeO_2 перемешивание продолжали в течение 30 мин.

Для анализа антиоксидантных свойств золь CeO_2 использовали модельную реакцию генерации алкилпероксильных радикалов при разложении 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорида (АБАП) [1]. В кювету с фосфатным буферным раствором (100 мМ, pH 7.4), термостатированную при 37 °С, добавляли АБАП (2.5 мкМ) и люминол (2.0 мкМ). После выхода интенсивности хемилюминесценции (ХЛ) на стационарное значение добавляли аликвоту исследуемого коллоидного раствора CeO_2 . Хемилюминесценцию регистрировали на 12-канальном хемилюминометре Lum-1200 (ДИСофт, Россия) в течение не менее 20 мин. Результаты обрабатывали с использованием программного обеспечения PowerGraph (версия 3.3).

Результаты и обсуждение. Были получены золи CeO_2 , в том числе модифицированные фосфатидилхолином, с размерами частиц, равными 3.3 ± 0.2 нм и 4.5 ± 0.7 нм, соответственно. Антиоксидантную активность образцов анализировали по отношению к алкилпероксильным радикалам (рисунок).

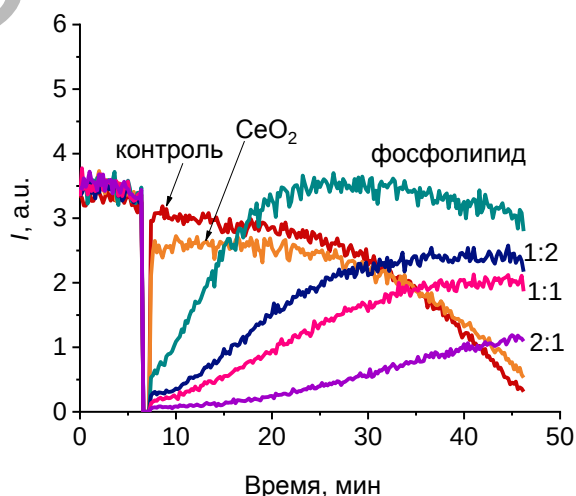


Рисунок 2 – Хемилюминограммы немодифицированного золь CeO_2 (0,35 мМ), индивидуального фосфатидилхолина (0,35 мМ) и золь CeO_2 , модифицированных фосфатидилхолином в мольных соотношениях

*CeO₂:фосфолипид – 1:1 (0,40 мМ:0,40 мМ), 1:2 (0,20 мМ:0,40 мМ)
и 2:1 (0,40 мМ:0,20 мМ) после добавления к системе АБАП/люминол.*

Добавление модифицированных золей CeO₂ к аналитической системе АБАП/люминол приводит к частичному подавлению свечения с последующим выходом интенсивности ХЛ на новый стационарный уровень. Это позволяет говорить о разнонаправленной редокс-активности модифицированных наночастиц CeO₂, обусловленной сочетанием антиоксидантных и прооксидантных свойств. Анализ хемилюминограмм золя CeO₂ без стабилизатора и индивидуального раствора фосфатидилхолина свидетельствует о том, что кинетика, наблюдаемая для модифицированных золей CeO₂, обусловлена в большей степени лигандом. На хемилюминограммах индивидуального фосфатидилхолина прооксидантному эффекту (выход ХЛ на новый стационарный уровень) предшествует область антиоксидантного действия (подавление ХЛ). Липиды и фосфолипиды обладают собственной антиоксидантной активностью. Вместе с тем, высокая чувствительность данных биомолекул к окислению приводит к тому, что зачастую они могут содержать в структуре определенное количество гидропероксидных групп. Наличие в структуре окисленных групп может обуславливать участие молекул фосфатидилхолина в свободнорадикальных реакциях и приводить к наблюдаемой прооксидантной активности наряду с антиоксидантной (рис. 1).

В зависимости от мольного соотношения между наночастицами CeO₂ и фосфатидилхолином (1:1, 1:2, 2:1) вид хемилюминесцентных кривых различается. Взаимодействие наночастиц CeO₂ с фосфолипидом приводит к усилению антиоксидантных свойств лиганда. Для количественной характеристики была рассчитана антиоксидантная емкость – площадь области подавления свечения, *S* (таблица).

Таблица – Антиоксидантная емкость золей CeO₂

Анализируемый образец		Концентрация, мМ	<i>S</i> , усл. ед.
CeO ₂		0.20	448±23
		0.40	575±31
Фосфатидилхолин		0.20	347±9
		0.40	753±57
CeO ₂ :фосфолипид	1:1	0.20/0.20	2760±190
	1:2	0.20/0.40	2090±102
	2:1	0.40/0.20	4150±208

Иммобилизация фосфолипида на поверхности наночастиц CeO₂ приводит к усилению его антиоксидантной активности практически на порядок (CeO₂:фосфатидилхолин 2:1).

Выводы. Получены золи CeO₂, функционализированные фосфатидилхолином в различных мольных соотношениях (1:1, 1:2, 2:1). Исследована антиоксидантная активность полученных наноматериалов по отношению к алкилпероксильным радикалам в присутствии люминола

хемилюминесцентным методом. Показано, что золи CeO_2 , функционализированные фосфатидилхолином, характеризуются разнонаправленной редокс-активностью, обусловленной сочетанием антиоксидантных и прооксидантных свойств. При этом редокс-активность модифицированных зольей CeO_2 в большей степени обусловлена лигандом – фосфатидилхолином. Найдено, что иммобилизация фосфолипида на поверхности наночастиц CeO_2 приводит к усилению его антиоксидантной активности. Данный эффект наиболее выражен в случае модифицированного золя состава CeO_2 :фосфатидилхолин 2:1.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев, А. В.. Определение антиоксидантов методом активированной хемилюминесценции с использованием 2,2'-азо-бис(2-амидинопропана) / А. В. Алексеев, Е. В. Проскурнина, Ю. А. Владимиров // Вестник Московского ун-та, сер: Химия. 2012. – Т. 53. – С. 187-193.
2. Insights on catalytic mechanism of CeO_2 as multiple nanozymes / Y. Ma, [et al] // Nano Research. – 2022. – V. 15. – №. 12. – P. 10328-10342.
3. Facile method for fabrication of surfactant-free concentrated CeO_2 sols / A. B. Shcherbakov, [et al] // Materials Research Express. – 2017. – V. 4. – P. 055008.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 24-25-00088.

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ЭФФЕКТ ОТДЕЛЬНОГО И СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРИРОДНЫХ ИНГИБИТОРОВ ЛИПОКСИГЕНАЗ И БЕТУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ *IN VITRO*

Терпинская Т.И., Янченко Т.Л., Рубинская М.А., Полукошко Е.Ф.

*Государственное научное учреждение «Институт физиологии
НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. К настоящему времени из природных источников выделен широкий ряд биологически активных веществ, нацеленных на биохимические пути, играющие важную роль в выживаемости и пролиферации клеток. Такие вещества рассматриваются в качестве основы для противоопухолевых препаратов, так как злокачественные клетки характеризуются повышенной экспрессией ферментов и транскрипционных факторов, обеспечивающих устойчивость к антипролиферативным и проапоптотическим сигналам. В частности, для опухолей характерна повышенная активность липоксигеназ, которые включены в механизмы поддержания ассоциированного с опухолью воспаления и играют роль в повышении выживаемости, размножении и метастазировании опухолевых клеток [4]. Исходя из этого, ингибиторы липоксигеназ могут быть эффективными противоопухолевыми соединениями. Среди природных ингибиторов липоксигеназ – нордигидрогуаретовая кислота (НДГК), байкалеин, зилеутон.

К природным соединениям с противоопухолевой активностью также относятся бетулин и бетулиновая кислота – пентациклические тритерпеноиды, механизмы противоопухолевого действия которых связаны с индукцией активных форм кислорода, повышением соотношения проапоптотических белков к антиапоптотическим, повышением экспрессии p53, каспаз и ряда других белков, способствующих клеточной гибели [2].

Тот факт, что природные ингибиторы липоксигеназ и бетулиновая кислота нацелены на разные молекулярные мишени, позволяет предполагать, что совместное применение этих соединений может привести к усилению противоопухолевого эффекта.

Цель работы – изучить противоопухолевый эффект природных ингибиторов липоксигеназ и бетулиновой кислоты при их отдельном и совместном применении в опытах *in vitro*.

Материалы и методы исследования.

Исследование проведено на клетках Hela (рак шейки матки человека), предоставленной РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь.

Исследуемые препараты: НДГК, байкалеин, зилеутон (все Sigma), бетулиновая кислота (Glenthams Life Sciences).

Проведение экспериментов: клетки Hela высевали в лунки культуральных планшетов в среде ДМЕМ (Sigma) с 10% эмбриональной телячьей сывороткой (LT Biotech) и гентамицином (РУП Белмедпрепараты). Через сутки вносили исследуемые препараты, помещали планшеты в CO₂-инкубатор при 37 °C и 5% CO₂. Через 48 ч проводили МТТ-тест, на основе которого делали вывод об ингибирующей активности препаратов.

Результаты и обсуждение.

НДГК в концентрации 3 и 5 мкМ, байкалеин в концентрации 0,2 мкМ и зилеутон в концентрации 2 мкМ не оказали статистически значимого эффекта на рост клеток Hela, хотя вызывали слабую тенденцию к ингибированию роста, подавляя его на 4 – 9%. При совместном применении с 60 мкМ бетулиновой кислоты слабую тенденцию к усилению действия последней вызывали только НДГК в концентрации 5 мкМ и зилеутон в концентрации 2 мкМ – подавление клеточного роста было на 6 и 17% значительнее, чем при действии только бетулиновой кислоты (данные не показаны).

В концентрации 30 и 50 мкМ НДГК оказывала на клетки Hela дозозависимый ингибирующий эффект, подавляя клеточный рост на 19 и 26% (рисунок 1). Байкалеин в концентрации 2 мкМ и зилеутон в концентрации 20 мкМ также ингибировали рост Hela на 25 и 32%. Бетулиновая кислота в концентрации 60 мкМ подавляла рост клеток на 37%. При совместном действии бетулиновой кислоты и НДГК ингибирующий эффект был более выражен, чем при действии только НДГК. При концентрации НДГК 30 мкМ наблюдалась тенденция к усилению ингибирующего эффекта, а при концентрации 50 мкМ – статистически значимое усиление эффекта по сравнению с действием только бетулиновой кислоты (подавление роста на 24 и 41% значительнее, чем при действии только бетулиновой кислоты).

При совместном применении зилеутона или байкалеина с бетулиновой кислотой наблюдалась тенденция к усилению ингибирующего эффекта по сравнению с действием каждого из препаратов по отдельности, не достигшая статистической значимости.

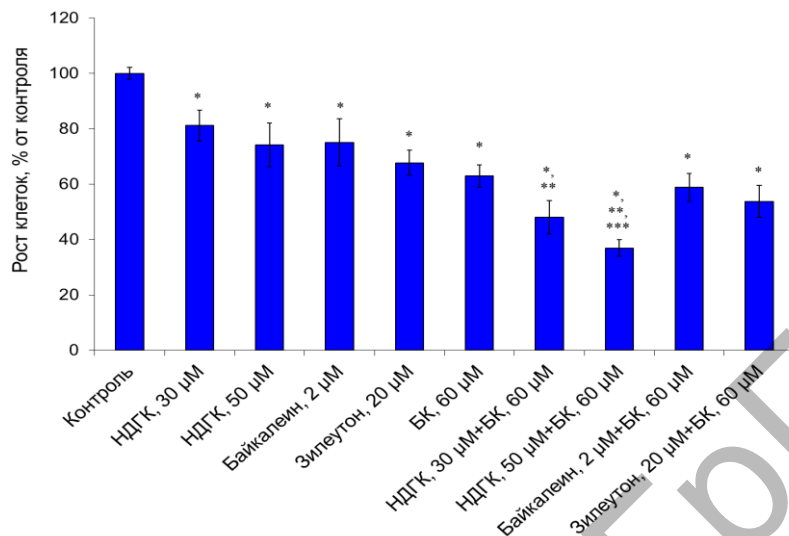


Рисунок 2 - Эффект нордигидрогуаретовой кислоты (НДГА, 30 и 50 μM), байкалеина (2 μM), зилеутона (20 μM), бетулиновой кислоты (60 μM) на рост клеток Hela; МТТ-тест. * $P < 0,05$ при сравнении с контролем; ** $p < 0,05$ при сравнении с ингибиторами липоксигеназ; *** $p < 0,05$ при сравнении с бетулиновой кислотой (тест Манна – Уитни)

Таким образом, наиболее выраженный противоопухолевый эффект в отношении клеток Hela наблюдался при сочетанном применении бетулиновой и нордигидрогуаретовой кислоты.

Известно, что в клетках млекопитающих присутствует несколько изоформ липоксигеназ (у человека – 6, у мышей – 7) [1]. Наиболее изученные изоформы – 5-, 12- и 15-липоксигеназы. Нордигидрогуаретовая кислота – ингибитор липоксигеназ, ингибирующий 5-липоксигеназу (ИК50 = 100 μM), а также 12- и 15- липоксигеназы (ИК50 = 30 μM в обоих случаях). Байкалеин ингибирует 12-липоксигеназу (ИК50 = 120 нM) [https://www.sigmaldrich.com], зилеутон – 5-липоксигеназу (ИК50 = 3,7 μM) [3].

Исходя из наших данных, бетулиновая кислота наиболее мощно действует при одновременном ингибировании 5-, 12- и 15-липоксигеназ. Ингибирование только 12- или только 5-липоксигеназы менее эффективно. Одним из возможных объяснений может быть то, что пути с участием всех трех изоформ липоксигеназ используются клеткой для выживания в присутствии бетулиновой кислоты. Поэтому ингибирование липоксигеназного пути будет способствовать усилению противоопухолевого эффекта бетулиновой кислоты.

Выводы:

- 1) Бетулиновая кислота подавляет рост клеток Hela *in vitro*.
- 2) Природные ингибиторы липоксигеназ нордигидрогуаретовая кислота, байкалеин и зилеутон оказывают зависимое от концентрации ингибирующее действие на рост клеток Hela.

3) Совместное применение бетулиновой кислоты с ингибиторами липоксигеназ способствует усилению ингибирующего эффекта, который наиболее выражен при сочетанном использовании бетулиновой и нордигидрогуаретовой кислоты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kuhn, H. Mammalian lipoxygenases and their biological relevance / H. Kuhn, S. Banthiya, K. van Leyen // *Biochim Biophys Acta*. – 2015. – Vol. 1851, № 4. – P. 308–30.
2. Recent Advances Regarding the Molecular Mechanisms of Triterpenic Acids: A Review (Part II) / Mioc, M. [et al] // *Int J Mol Sci*. - 2022 – Vol. 23, № 16:8896. – Mode of access: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36012159/>. – Date of access: 26.03.2024.
3. Singh, P. Pooja. N-1, C-3 substituted indoles as 5-LOX inhibitors--in vitro enzyme immunoassay, mass spectral and molecular docking investigations / P. Singh, Pooja // *Bioorg Med Chem Lett*. – 2013. – Vol. 23, № 5. – P. 1433-7.
4. Терпинская, Т.И. Роль циклооксигеназ и липоксигеназ в канцерогенезе / Т.И.Терпинская // *Новости медико-биологических наук*. – 2018. – Т.18, № 2. – С. 113-122.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ ЗИДОВУДИН (AZT), AZT И МЕЛАСОН (МЕЛАТОНИН), AZT И ГЕПТРАЛ (SAME) НА УРОВЕНЬ ГЛУТАМАТА В НЕКОТОРЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Филина Н.И.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Сегодня клинические и экспериментальные исследования последовательно демонстрируют возникновение митохондриальной дисфункции и усиление окислительного стресса после лечения нуклеозидным ингибитором обратной транскриптазы зидовудин (AZT), что в конечном итоге приводит к повреждению нейронов [5]. Способность S-аденозил-L-метионина и мелатонина действовать как нейропротекторы открывает новые возможности для изучения этих молекул, поскольку они могут быть потенциальным средством лечения патологий, связанных с приемом антиретровирусных препаратов [3,2]. На сегодняшний день имеются скудные и противоречивые данные об изменении глутаматергической нейротрансмиссии под воздействием AZT [1].

Целью данной работы являлось установить возможные изменения содержания глутаминовой аминокислоты (Глу) в стволе, стриатуме и гипоталамусе головного мозга крыс при воздействии лекарственного средства зидовудин (AZT) и в комбинации последнего с препаратами «Меласон» (мелатонин) и «Гептрал» (SAdMe).

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 28-ми особях белых беспородных крыс-самцов массой 200-240 г, содержащихся на стандартном рационе вивария без ограничения доступа к воде. Крысы были разделены на 4 группы: контрольную и три опытные по 7 особей в каждой группе. Все препараты вводили внутривентрикулярно (в/ж) через зонд в суспензии на 0,9% растворе натрия хлорида. Животные 1-й группы получали AZT в дозе 100 мг/кг/сутки 21 сутки («AZT»); особи 2-й группы на фоне AZT получали SAME в дозе 100 мг/кг/сутки, начиная с 8-го дня применения AZT («AZT+ SAME»). Животным 3-й группы на фоне AZT вводили мелатонин в дозе 3 мг/кг/сутки, начиная с 8-го дня применения AZT («AZT+MT»). Контрольные животные получали в/ж эквивалентное количество 0,9 % раствора натрия хлорида. За 12 часов до забоя животных лишали пищи с сохранением воды в качестве источника питья.

Все манипуляции выполнены в соответствии с Хельсинкской Декларацией о гуманном обращении с животными.

Определение свободных аминокислот проводили с помощью обращеннофазной ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией с о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой и детектированием по флуоресценции.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0 с применением t-критерия Стьюдента для независимых выборок после контроля нормальности распределения с помощью критерия Колмагорова-Смирнова. Все показатели выражали в виде среднего и стандартной ошибки среднего. Достоверно значимыми различия между группами считали при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Анализ результатов исследования показал, что во всех исследуемых отделах наблюдается тенденция к снижению концентрации глутамата в группе «AZT» по сравнению с контролем. В стриатуме снижение составило 12%, $p < 0,05$. Отметим достоверное в сравнении с контролем падение уровня возбуждающих аминокислот (Глу+Асп) на фоне незначительного роста тормозных (ГАМК+Гли) у особей той же опытной группы данного отдела.

Многочисленные данные связывают дисфункции митохондриального энергообеспечения и возникающий в результате окислительный стресс с избыточным высвобождением глутамата [4]. Несмотря на доказанную митохондриальную токсичность AZT, эффект избыточного накопления Глу не наблюдался. В дополнение отметим, что применение SAME и мелатонина на фоне воздействия зидовудина привело к еще более значительному снижению концентрации нейромедиатора. В стриатуме падение содержания Глу в сравнении с контролем на 15% и 16% ($p < 0,05$) в группах «AZT+MT» и «AZT+ SAME» соответственно.

В гипоталамусе уменьшение содержания Глу 29% ($p < 0,05$) в группе «AZT+MT» относительно контрольной группы. При этом в той же опытной группе выявлено снижение концентрации глутамата на 40 % ($p < 0,05$) и увеличение содержания ГАМК на 58% ($p < 0,05$) в сравнении с контролем.

Последнее может свидетельствовать об усилении декарбоксилирования глутамата. Параллельно возросшей в 2 раза концентрацией глицина отметим падение уровня возбуждающих аминокислот ($p < 0,05$) и рост тормозных ($p < 0,05$) в указанной выше опытной группе в сравнении с контролем.

В стволе в группе «AZT+MT» при снижении уровня Глу падает концентрация глутамата на 29 % ($p < 0,05$) и увеличивается содержание ГАМК на 26% ($p < 0,05$) в сравнении с контролем.

Выводы. Применение AZT, AZT и мелатонина, AZT и SAME не приводило к избыточному накоплению глутамата в исследуемых отделах головного мозга крыс, а наоборот показала тенденцию к его снижению. В опытных группах показано изменение функционирования цикла глутамата-глутамата-ГАМК, что, вероятно, связано с изменением уровней ферментов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Eck, H. P. T4+ cell numbers are correlated with plasma glutamate and cystine levels: association of hyperglutamataemia with immunodeficiency in diseases with different aetiologies / H. P. Eck [et al.] // Int. Immunol. – 1992. – Vol. 4, № 1. – P. 7-13.
2. Zhang, Y. S-adenosylmethionine improves cognitive impairment in D-galactose-induced brain aging by inhibiting oxidative stress and neuroinflammation / Yawen Zhang [et al.] // J. Chem. Neuroanat. – 2023. – Vol. 128. – P. 102232.
3. Melhuish Beaupre, L. M. Melatonin's neuroprotective role in mitochondria and its potential as a biomarker in aging, cognition and psychiatric disorders / Lindsay M. Melhuish Beaupre, Gregory M. Brown, Vanessa F. Gonçalves, James L. Kennedy // Transl. psychiatry. – 2021. – Vol. 11, № 1. – P. 339.
4. Nicholls, D. Mitochondria and neuronal survival / D Nicholls, S. Budd // Physiol. rev. – 2000. – Vol. 80, № 1. – P. 315-360.60.
5. Shah, A. Neurotoxicity in the post-HAART Era: caution for the antiretroviral therapeutics / Ankit Shah, Mohitkumar R. Gangwani, Nitish S. // Neurotox. Res. – 2016. – Vol. 30, № 4. – P. 677-697.

СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ МЕТИОНИНА И ЕГО АНТИМЕТАБОЛИТА ЭТИОНИНА

Шейбак В.М.¹, Павлюковец А.Ю.¹, Дорошенко Е.М.¹, Селезень Ж.Н.²

¹Гродненский государственный медицинский университет

²УЗ “Городская клиническая больница скорой медицинской помощи,
Гродно”, г. Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Метионин - незаменимая аминокислота, необходимая для нормального роста и развития млекопитающих. В организме метионин используется в качестве субстрата для синтеза белка, кроме того, активированная молекула метионина (S-аденозилметионин) необходима для осуществления реакции трансметилирования, а производные метионина,

образующиеся в результате реакции транссульфирования, участвуют в формировании неферментативного фонда антиоксидантов.

Этионин – это природное соединение растительного происхождения, а также синтезируемое некоторыми микроорганизмами, которое является S-этиловым аналогом метионина и его антиметаболитом. Этионин – высокотоксичный карциноген, оказывающий негативные эффекты на печень, почки, поджелудочную железу и другие органы, а также подавляющий рост некоторых микроорганизмов [1]. Включаясь в белковую молекулу, этионин снижает специфическую активность белка либо инактивирует его [2]. Он также препятствует встраиванию некоторых аминокислот в белковую молекулу и влияет на энергетический обмен клеток [3]. На органном уровне (опыты *in vivo*) поступление этионина в организм вызывает жировое перерождение печени, острый панкреатит, развитие карциномы печени [4].

Несмотря на то, что эффекты этионина на организм широко изучены в доступной литературе отсутствуют подробные данные о эффектах метионина на биохимические показатели плазмы крови при поступлении в организм его антиметаболита этионина.

Целью исследования явился анализ биохимических показателей, а также спектра свободных аминокислот в плазме крови крыс после курсового внутрижелудочного введения этионина и метионина.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проведен на беспородных крысах-самках массой 120-140г. Животные были разделены на 3 группы: 1- контроль внутрижелудочно в течение 10 дней вводили эквивалентное количество физиологического раствора; 2- этионин внутрижелудочно в общей дозе 375 мг/кг течение 10 дней; 3- этионин в общей дозе 375 мг/кг и метионин внутрижелудочно в общей дозе 343 мг/кг течение 10 дней. Декапитацию животных осуществляли через 24 ч после последнего введения препаратов. Все опыты проведены с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». В образцах плазмы крови определяли свободные аминокислоты и их азотсодержащие производные методом обращеннофазной ВЭЖХ с о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой, с изократическим элюированием и детектированием по флуоресценции (231/445 нм). Все определения проводили на хроматографической системе Agilent 1100, прием и обработку данных – с помощью программы Agilent ChemStation A10.01. Математическая обработка полученных значений, данных проведена с помощью программы Statistica 10.0.

Результаты и обсуждение. В результате исследования показано, что внутрижелудочное курсовое введение этионина (в общей дозе 375 мг/кг) в повышало плазме крови уровень общего билирубина с $3 \pm 0,05$ мкмоль/л до $9,7 \pm 1,25$ мкмоль/л и снижало – холестерина с $1,8 \pm 0,09$ ммоль/л до $1,1 \pm 0,09$ ммоль/л. Известно, что введение этионина приводит к развитию ожирения печени, что возможно является результатом ингибирования синтеза белков, участвующих в транспорте липидов из печени в кровь, которое может приводить к снижению концентрации холестерина в плазме крови [1]. При совместном введении этионина (в общей дозе 375 мг/кг) и метионина

(в общей дозе 343 мг/кг) в плазме крови повышался уровень общего билирубина с $3 \pm 0,05$ мкмоль/л до $8,6 \pm 1,56$ мкмоль/л и глюкозы с $4,9 \pm 1,4$ мкмоль/л до $8,5 \pm 0,3$ мкмоль/л, при одновременном снижении активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) с $25 \pm 2,6$ Ед/л до $16,2 \pm 1,17$ Ед/л. Снижение уровня АЛТ в плазме крови, вероятно является следствием снижения количества гепатоцитов, аналогично ситуации развивающейся при тяжёлых поражениях печени – например, на терминальной стадии цирроза.

Внутрижелудочное курсовое введение этионина (в общей дозе 375 мг/кг) так и совместное введение его с метионином приводит к повышению общего количества протеиногенных аминокислот (с 3891 ± 581 мкмоль/л в контроле до 6251 ± 585 мкмоль/л и 6079 ± 529 мкмоль/л соответственно) как незаменимых (с 1242 ± 234 мкмоль/л в контроле до 2298 ± 271 мкмоль/л и 2129 ± 195 мкмоль/л соответственно), так и заменимых (с 2649 ± 349 мкмоль/л в контроле до 3953 ± 327 мкмоль/л и 3884 ± 259 мкмоль/л соответственно), увеличивало соотношение заменимые/незаменимые аминокислоты (с $8,3 \pm 0,19$ в контроле до $9,7 \pm 0,31$ и $10 \pm 0,4$ соответственно). Среди индивидуальных показателей свободных аминокислот увеличивались уровни заменимых аминокислот глутамата (в 1,5 раза), аспарагина (в 1,5 раза), серина (в 2,3 и 2 раза соответственно), глутамина (в 1,5 и 1,6 раза соответственно) и глицина (в 1,5 и 1,6 раза соответственно); незаменимых аминокислот треонина (в 1,9 и 1,7 раза соответственно) и лизина (в 2,7 и 2,5 раза соответственно); азотсодержащих метаболитов аминокислот α -аминоадипиновой кислоты (в 2,3 и 1,9 раза соответственно), 3-метилгистидина (в 1,6 и 1,4 раза соответственно), фосфоэтанолamina (в 5 и 4,5 раза соответственно), 1-метилгистидина (в 2,9 и 3,2 раза соответственно), цитруллина (в 1,4 раза), α -аминомасляной кислоты (в 8 раз), цистатионина (в 2,9 и 2,4 раза соответственно), гидроксизина (в 2,1 и 1,8 раза соответственно) и гидроксипролина (в 1,7 раза).

Выводы

1. Внутрижелудочное курсовое введение метионина совместно с его антиметаболитом этионином, также, как и при введении этионина одного приводит к развитию гипераминацидемии.

2. Спектра свободных аминокислот в плазме крови как при введении этионина, так и при введении антиметаболита с метионином одинаковое.

3. Этионин и его совместное введение с метионином в равных молярных количествах повышает плазме крови уровень общего билирубина, что свидетельствует нарушении функции печени.

4. При совместном введении этионина и метионина в плазме крови повышался уровень глюкозы при одновременном снижении активности аланинаминотрансферазы, что отсутствовало в группе животных, получавших только этионин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Response of sinusoidal mouse liver cells to choline-deficient ethionine-supplemented diet / E. Ueberham [et al.] // Comp. Hepatol. – 2010. – Vol. 9. – Art. 8. – doi: 10.1186/1476-5926-9-8.

2. Ethionine-mediated reduction of S-adenosylmethionine is responsible for the neural tube defects in the developing mouse embryo-mediated m6A modification and is involved in neural tube defects via modulating Wnt/ β catenin signaling pathway / L. Zhang [et al.] // Epigenetics Chromatin. – 2021. – Vol. 14, №1. – Art. 52. – doi:10.1186/s13072-021-00426-3.

3. Ethionine Suppresses Mitochondria Autophagy and Induces Apoptosis via Activation of Reactive Oxygen Species in Neural Tube Defects / L. Zhang [et al.] // Front. Neurol. – 2020. – Vol. 11. – Art. 242. – doi:10.3389/fneur.2020.00242.

4. Ethionine toxicity in vitro: the correlation of data from rat hepatocyte suspensions and monolayers with in vivo observations / C. J. Waterfield [et al.] // Arch. Toxicol. – 1998. – Vol. 72, № 9. – P. 588-596. – doi: 10.1007/s002040050547.

ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНЫЙ ВИРТУАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ АФФМННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ИЗВОДНОГО ОЛЕИЛАМИНА С БЕЛКАМИ МУХ *LUCILIA SERICATA/CUPRINA*

Яковец П.С., Фалетров Я.В.

*УО «Белорусский государственный университет»,
Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. Поиск новых лекарственных соединений остается актуальной задачей. Одним из подходов на начальных стадиях является дизайн соединений с использованием молекулярного докинга. Нами получен (Z)-7-нитро-N-(октадек-9-ен-1-ил)бензо[с][1, 2, 5]оксадиазол-4-амин (NBD-олеиламин), содержащий флуорофорную NBD-группу и липидный фрагмент олеиламина. Мухи *Lucilia sericata* и *Lucilia cuprina*, как и *Drosophila melanogaster*, могут использоваться для начального изучения биопроцессов, аналогичных человеческим [1, 2, 3].

Цель. Провести первичную *in silico* оценку взаимодействия NBD-олеиламина со всеми доступными структурами белков мух *L. Sericata* и *L. Cuprina* для поиска молекулярной мишени данного соединения.

Материалы и методы исследования. Для молекулярного докинга использовали AutoDock Vina 1.1.2 и BIOVIA Discovery Studio v16.1.0.15350. Для автоматизации организации, запуска расчетов и анализа полученных результатов использовали оригинальную программу-помощник FYTdock [4]. В качестве лиганда выбрана структура NBD-олеиламина. Для создания библиотеки структур белков из базы UniProt и AlphaFold были выбраны все доступные структуры белков мух *L. Sericata* и *L. Cuprina* (15000 структур). В обсуждение принимали результаты для полученных модельных комплексов белок-соединение с величинами энергии связывания ($E_{св}$) не более $-9,0$ ккал/моль. Процедура поиска областей сходства между белковыми последовательностями для мух и человека выполнялась с помощью интернет-ресурса NCBI BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Результаты и обсуждение. По результатам компьютерного моделирования были выявлены наиболее афинные взаимодействия со структурами белков, содержащими N-концевой домен глюкозо-метанол-холинноксидоредуктазы из *L. Cuprina* (коды UniProt – A0A0L0C407, A0A0L0C404, A0A0L0C6C6, A0A0L0C6C2, расположены в порядке убывания по $E_{св}$) с энергиями связывания от -9,9 до -9,4 ккал/моль (рисунок 1).

По результатам исследования белковых последовательностей человека с данной белковой последовательностью с помощью BLAST было выявлено его (код UniProt – A0A0L0C407) сходство с человеческой холиндегидрогеназой (NCBI ID последовательности – NP_060867.2) с E-value равным $4e^{-83}$ и процентом идентичности 34,15%. Отметим, что холиндегидрогеназа человека представляет интерес из-за своей связи с различными патологиями, включая мужское бесплодие [5], гомоцистеинурию [6] и рак [7, 8]. Также внимание уделяется бактериальной холиндегидрогеназе, так как этот фермент играет важную роль в способности бактерий расти в гиперосмотических средах, например, очагах заражения человека [9]. Следовательно, такие ферменты представляют собой потенциальные мишени новых лекарственных веществ.

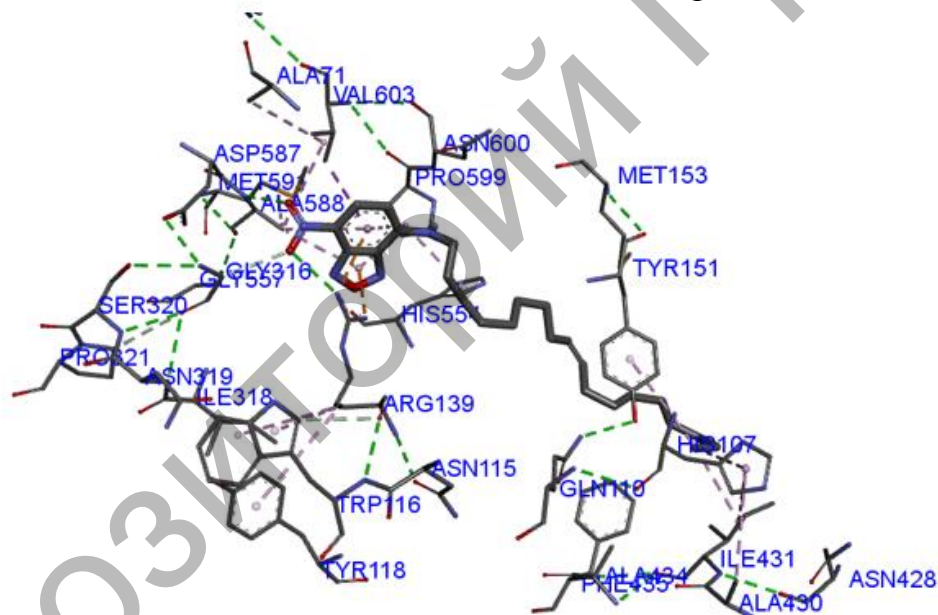


Рисунок 1 – Рассчитанное положение NBD-олеиламина вблизи активного центра белка, содержащего N-концевой домен глюкозо-метанол-холинноксидоредуктазы из *L. Cuprina* (код UniProt – A0A0L0C407)

Также один из лучших результатов получен для взаимодействия NBD-олеиламина со структурой белок-цистеин N-пальмитоилтрансферазы Rasp (коды UniProt – A0A0L0BTC0) из *L. Cuprina*; $E_{св}$ = -9,8 ккал/моль.

По данным BLAST, последовательность Rasp (код UniProt – A0A0L0BTC0) была схожа с белок-цистеин N-пальмитоилтрансферазой Hhat (Hedgehog ацилтрансферазой) из *Homo sapiens* (NCBI ID последовательности – XP_047280779.1) с E-value равным $3e^{-32}$ и процентом идентичности 28.37%. Сигнальный путь Hedgehog участвует в формировании и прогрессировании

различных типов рака [10-12] и Hhat рассматривается как новая мишень для ингибирования этого пути.

Выводы. По результатам исследования взаимодействия NBD-олеиламина с 15000 структур белков мух *L. Sericata* и *L. Cuprina* были выявлены аффинные взаимодействия со структурами белков двух типов: содержащих N-концевой домен глюкозо-метанол-холинноксидоредуктазы и белок-цистеин N-пальмитоилтрансферазы Rasp, которые схожи по последовательностям с человеческими холиндегидрогеназой и Hhat, связанные с различными патологиями. Полученные *in silico* данные показывают перспективность изучения NBD-олеиламина как потенциального регулятора работы данных ферментов и его потенциального использования в разработке новых противораковых и средств мужской контрацепции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tolwinski, N. S. Introduction: Drosophila-A Model System for Developmental Biology / N. S. Tolwinski // J Dev Biol. – 2017. – Vol. 5, № 3. – P. 9.
2. Sze, S.-H. A de novo transcriptome assembly of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) with predicted alternative splices, single nucleotide polymorphisms and transcript expression estimates / S.-H. Sze [et al.] // Insect Molecular Biology – 2012. – Vol. 21, № 2. – P. 205–221.
3. Collatz, K.-G. 21 - Insect Models for the Study of Aging. In *Handbook of Models for Human Aging* / K.-G. Collatz. – Burlington: Academic Press, 2006. – P. 241-252.
4. Faletrov, Y. V. Application of docking-based inverse high throughput virtual screening to found phytochemical covalent inhibitors of SARS-CoV-2 main protease, NSP12 and NSP16 / Y. V. Faletrov [et al.] // Research Square. – 2022. DOI:10.21203/rs.3.rs-1456627/v1. (preprint).
5. Johnson, A. R. Deletion of murine choline dehydrogenase results in diminished sperm motility / A. R. Johnson [et al.] // The FASEB Journal. – 2010. – Vol. 24, № 8. – P. 2752–2761.
6. Kumar, J. Single nucleotide polymorphisms in homocysteine metabolism pathway genes: association of CHDH A119C and MTHFR C677T with hyperhomocysteinemia / J. Kumar [et al.] // Circ Cardiovasc Genet. – 2009. – Vol. 2, № 6. – P. 599-606.
7. Wang, Z. The prognostic biomarkers HOXB13, IL17BR, and CHDH are regulated by estrogen in breast cancer / Z. Wang [et al.] // Clin Cancer Res. – 2007. – Vol. 13, № 21. – P. 6327-6334.
8. Xu, X. (2008), Choline metabolism and risk of breast cancer in a population-based study / X. Xu [et al.] // The FASEB Journal. – Vol. 22. – P. 2045-2052.
9. Fan, F. Cloning, sequence analysis, and purification of choline oxidase from *Arthrobacter globiformis*: a bacterial enzyme involved in osmotic stress tolerance / F. Fan, M. Ghanem, G. Gadda // Archives of Biochemistry and Biophysics. – 2004. – Vol. 421, № 1. – P. 149-158.

10. Srinath, S. Sonic hedgehog in oral squamous cell carcinoma: An immunohistochemical study / S. Srinath, A. R. Mysorekar, V. Mysorekar // J Oral Maxillofac Pathol. – 2016. – Vol. 20, № 3. – P. 377-383.
11. Petrova, E. Hedgehog acyltransferase as a target in pancreatic ductal adenocarcinoma / E. Petrova, A. Matevossian, M. Resh // Oncogene. – 2015. – Vol. 34. – P. 263-268.
12. Matevossian, A. Hedgehog Acyltransferase as a target in estrogen receptor positive, HER2 amplified, and tamoxifen resistant breast cancer cells / A. Matevossian, M. D. Resh // Mol Cancer. – 2015. – Vol. 14. – P. 72.

СЕКЦИЯ 2. КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ДЕКОМПЕНСАЦИИ У ЛИЦ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

¹Байда А.В., ²Степанова Ю.И., ¹Алехнович Л.И., ¹Кузнецова Н.Б.,
¹Михалюк Р.А.

¹*Институт повышения квалификации и переподготовки кадров
здравоохранения УО «Белорусский государственный медицинский
университет»*

²*НИИ экспериментальной и клинической медицины УО «Белорусский
государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. Высокая медико-социальная значимость проблемы метаболического синдрома (МС) определяется большим количеством ежегодно выявляемых пациентов пожилого возраста с одновременным наличием абдоминального ожирения, эндокринопатий различного генеза, и в том числе сахарного диабета (СД). У тучных пожилых людей с дислипидемией и низкой толерантностью к глюкозе имеется повышенный риск развития МС, сопровождающегося дисфункцией эндотелия, и ведущего к формированию сосудистой кардиологической и церебральной патологии [4].

До сих пор в научных кругах идет дискуссия, посвященная поиску новых биохимических маркеров мультифакториальной метаболической декомпенсации и выявлению их взаимосвязей с уже известными факторами у лиц старших возрастных групп. Следовательно, весьма актуальным является проведение исследований, посвященных изучению изменений углеводно-липидного метаболизма, ассоциированного с нарушением гемоваскулярного гомеостаза, в том числе с эндотелиальной дисфункцией и снижением антиоксидантной активности у пациентов старших возрастных групп.

Цель исследования – установить биохимические маркеры метаболической декомпенсации у лиц пожилого возраста с целью улучшения диагностики метаболического синдрома у пожилых людей.

Материалы и методы исследования. Обследовано 129 лиц старше 65 лет. Сформированы следующие группы исследования: основная группа состояла из двух подгрупп: подгруппа 1-я – 61 пациент с избыточной массой тела, не имеющих эндокринных заболеваний и СД 2 типа (средний возраст $73,8 \pm 9,1$ года; 28 мужчин и 33 женщины), 2-я подгруппа – 43 пациента с избыточной массой тела и СД 2 типа (средний возраст $71,5 \pm 6,3$ года; 19 мужчин и 24 женщины). Группу сравнения составили 25 лиц пожилого возраста с нормальной массой тела без эндокринных заболеваний и СД 2 типа (средний возраст $67,8 \pm 10,4$ года; 14 мужчин и 11 женщин).

Набор пациентов в исследование осуществлялся в отделениях терапевтического профиля ГУЗ «Минский областной клинический госпиталь инвалидов ВОВ им. П.М. Машерова». Критериями включения пациентов в основную группу исследования являлись следующие: возраст старше 65 лет; клинически удовлетворительное общее состояние; ясное сознание; способность к адекватному и продуктивному контакту; отсутствие выраженных когнитивных нарушений; добровольное информированное согласие на проведение клинической и лабораторной диагностики. Критериями исключения явились тяжелая степень онкологической патологии и выраженные когнитивные нарушения, исключающие возможность коммуникации, невозможность самостоятельного обслуживания.

Взятие крови у пациентов осуществляли утром натощак путем пункции локтевой вены в количестве 5 мл при помощи вакутайнеров. Концентрацию инсулина, сосудистого эндотелиального фактора роста (СЭФР), белка, связывающего жирные кислоты, 3 типа (БСЖК3) определяли с помощью иммуноферментного анализа. Общую антиоксидантную активность сыворотки крови (ОАА), содержание глюкозы, общего холестерина (ОХ) оценивали спектрофотометрическим методом. Для комплексной оценки состояния углеводного обмена в качестве маркера инсулинорезистентности рассчитывали индекс НОМА-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance).

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью программы Statistica v10.0. Проверку числовых значений на нормальность распределения проводили с помощью критерия Шапиро-Уилка. При распределении, отличном от нормального, данные представляли в виде медианы (Me) и интервала между 25 и 75 перцентилями (Me (25%-75%)). Для анализа различий в двух группах по количественному параметру использовали U-критерий Манна-Уитни для независимых подгрупп, критерий Вилкоксона для зависимых подгрупп. Статистически значимыми являлись различия при $p < 0,05$ независимо от метода применяемого анализа.

Результаты и обсуждение. У пациентов двух подгрупп основной группы были зарегистрированы следующие заболевания в процентном соотношении: мочекаменная болезнь (1,2% и 1,1%), хронический гастрит и/или гастродуоденит (32,9% и 35,4%), хронический тонзиллит (15,4% и 13,7%), хронический синусит (12,7% и 10,9%), желчекаменная болезнь (1,6% и 1,3%), соответственно, что не носило достоверной межгрупповой разницы. Преобладающей патологией в обеих группах наблюдения были хроническая сердечная недостаточность (ХСН) и артериальная гипертензия (АГ), пациенты были сопоставимы по возрастному и гендерному составу, массе тела ($p > 0,05$).

У пациентов с СД наблюдалась гипергликемия на уровне 7,8 (6,7-10,5) ммоль/л в сравнении с данными контрольной группы 5,7 (4,9;6,5) ммоль/л ($p = 0,036$), содержание инсулина и индекс НОМА-IR составили соответственно 11,1 (7,63- 15,7) мкЕд/мл и 3,8 (2,5-5,7) ед., что значительно превышало соответствующие нормальные значения ($p = 0,001$ и $p = 0,001$ соответственно) и подгруппы пациентов без СД ($p_1 = 0,001$ и $p_1 = 0,001$ соответственно). Установлена значимая разница между уровнем общего холестерина у

пациентов 2-й подгруппы в сравнении с данными как группы сравнения, так и 1-й подгрупп – превышение составило 1,15 ($p=0,001$) и 1,0 раза ($p_1=0,012$).

У пациентов с СД 2 типа выявлена резко выраженная экспрессия маркеров эндотелиальной дисфункции: уровень СЭФР превышал таковой в группе сравнения в 5,8 раза ($p=0,001$), в 1-й подгруппе – в 4,2 раза ($p_1=0,011$); уровень БСЖКЗ также был значимо выше данных группы сравнения в 3,7 раза ($p=0,001$). В группе без СД значение БСЖКЗ также отличалось от такового в группе сравнения, превышение составило 2,3 раза ($p=0,001$). Для оценки статуса системы антиоксидантной защиты в организме обследованных пациентов в качестве интегрального показателя определяли параметр ОАА сыворотки крови. У пациентов основной группы получены неоднозначные результаты. Так, у пациентов без эндокринной патологии степень антиоксидантной защиты не отличалась от нормального уровня, медиана показателя ОАА составила 1,12 (1,01-1,43) мкмоль/л, что не отличалось от контрольного значения 1,28 (0,92-1,54) мкмоль/л. В то же время степень антиоксидантной защиты при СД упала в 1,8 раза в сравнении с уровнем группы сравнения ($p=0,012$), что также было ниже значения в 1-й подгруппе ($p_1=0,031$).

Известно, что адресность передачи сигналов СЭФР и БСЖКЗ имеет важное значение в патогенезе сосудистых заболеваний, в том числе при хроническом нарушении мозгового кровообращения и ХСН, причем степень повреждения эндотелия оказывает влияние на течение и прогноз заболевания [1,3]. Кроме того, эндотелиальная дисфункция, дислипидемия, инсулинорезистентность сопровождаются оксидативным стрессом, играющим важную роль в старении и развитии возраст-ассоциированных заболеваний [2]. Нами показано, что дисбаланс между про- и антиоксидантными процессами ассоциирован с развитием мультифакториальной метаболической декомпенсации в организме пожилых пациентов с избыточной массой тела и СД 2 типа.

Таким образом, у лиц пожилого возраста с избыточной массой тела на фоне СД 2 типа выявлено нарушение состояния липидного и углеводного метаболизма с развитием гиперхолестеринемии, гипергликемии, инсулинорезистентности. Кроме того, установлено снижение уровня антиоксидантной защиты и значительное повышение экспрессии маркеров дисфункции эндотелия, в то время как у пациентов основной группы без эндокринной патологии сохранялся нормальный уровень ОАА и концентрации СЭФР в сыворотке крови.

Выводы. У пациентов пожилого возраста с избыточной массой тела и сахарным диабетом 2 типа выявлена гиперэкспрессия сосудистого эндотелиального фактора роста и белка, связывающего жирные кислоты 3 типа на фоне гиперхолестеринемии, инсулинорезистентности и снижения антиоксидантной защиты, что свидетельствует о развитии метаболической декомпенсации, играющей важную роль в формировании метаболического синдрома у людей старших возрастных групп.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гончар, И. А. Биохимические предикторы и маркеры острого инфаркта мозга. – Минск: БелМАПО. – 2013. – 512 с.
2. Breitenbach, M. Introduction to Oxidative Stress in Biomedical and Biological Research / M. Breitenbach // Biomolecules. – 2015. – Vol.5, № 2. – P. 1169–1177.
3. Goel, H. Heart-type fatty acid-binding protein: an overlooked cardiac biomarker / H. Goel // Ann Med. – 2020. – Vol. 52(8). – P. 444–461.
4. Mathew, H. Metabolic health and weight: understanding metabolically unhealthy normal weight or metabolically healthy obese patients / H. Mathew // Metabolism. – 2016. – Vol. 65. – P. 73–80.

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Белевич Е.И.¹, Романчик А.М.¹, Прохорова В.И.¹, Таганович А.Д.²,
Ковганко Н.Н.²

¹Государственное учреждение «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова», аг. Лесной;

²УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Актуальность. Рак молочной железы (РМЖ) является одной из самых актуальных проблем в современной клинической онкологии, так как данная патология занимает лидирующие позиции в структуре заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований у женщин во многих странах мира. В Республике Беларусь по данным Белорусского канцер-регистра РМЖ занимает первое место по заболеваемости злокачественными новообразованиями у женщин (22,3%) со средним приростом за 10 лет в 26,2%. В то же время в структуре смертности от злокачественных новообразований РМЖ занимает второе место, обуславливая 15,8% смертей женщин Республики Беларусь, что свидетельствует о актуальности проблемы по улучшению результатов его диагностики и лечения [1].

Установлено, что содержание нейтрофилов в периферической крови и характер инфильтрации опухоли этими клетками могут иметь диагностическое значение при злокачественных новообразованиях различной локализации. Высокий уровень циркулирующих нейтрофилов или высокое соотношение нейтрофилов и других форм лейкоцитов ассоциируется с неблагоприятным течением онкологического заболевания [2], в том числе РМЖ [3].

Цель работы – определить диагностическую значимость измерения в крови пациенток, страдающих раком молочной железы, биохимических показателей нейтрофилов: концентрации миелопероксидазы и эластазы, а также способности клеток к дегрануляции с образованием NET-ловушек.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужила цельная кровь 60 пациенток с РМЖ и 25 клинически здоровых женщин без онкологической патологии на момент обследования и в анамнезе, сопоставимые с основной группой по сопутствующим заболеваниям и возрасту.

Для определения способности нейтрофильных лейкоцитов образовывать внеклеточные ловушки использовали специфический биомаркер этого процесса – уровень гиперцитруллинированного гистона H3 (citH3), который является важным этапом в формировании NETs. Определение уровня citH3 в плазме крови пациенток основной и контрольной групп осуществляли с использованием иммуноферментного анализа (Citrullinated Histone H3 ELISA Kit, Cayman Chemical, Ann Arbor, Michigan, США).

Дополнительно анализировали уровень внеклеточной двухцепочечной ДНК. Для этого нейтрофилы (1×10^6 клеток/мл) инкубировали с гелем HBSS (контроль) и затем стимулировали форбол-12-миристат-13-ацетатом (ФМА) (1×10^{-7} моль/л) в течение 4 часов при 37°C. Двойные нити ДНК количественно определяли с помощью флуоресценции с использованием набора для анализа двухцепочечной ДНК Quant-iT PicoGreen в соответствии с рекомендациями производителя. Показания снимали на устройстве для считывания микропланшетов (Bio-Rad Lab).

Активность миелопероксидазы нейтрофилов (2×10^6 клеток/мл) анализировали через реакцию образования хлорноватистой кислоты, которая затем реагировала с таурином с образованием хлорамина таурина. Хлорамин таурина после взаимодействия с 5-тио-2-нитробензойной кислотой (ТНБ) образовывал бесцветный продукт – 5,5'-дитио-бис (2-нитробензойную кислоту). Одна единица активности МПО определялась как количество фермента, который гидролизует субстрат и образует таурин-хлорамин для потребления 1,0 мкмоль ТНБ в минуту при 25°C. Определение проводили путем измерения оптической плотности образца при 460 нм с использованием устройства для считывания микропланшетов (Bio-Rad Lab).

Активность нейтрофильной эластазы анализировали после обработки суспензии нейтрофилов (2×10^6 клеток/мл) N-формилметионин-лейцилфенилаланином (fMLP; 1×10^{-7} моль/л, 100 мкл) в течение 30 минут при 37°C. Через 30 минут измеряли оптическую плотность образовавшегося п-нитроанилина при 405 нм с использованием устройства для считывания микропланшетов (Bio-Rad Lab).

О диагностической ценности анализируемых показателей судили на основании расчета диагностической чувствительности (ДЧ), диагностической специфичности (ДС), предсказательной ценности положительного (ПЦПР) и отрицательного результатов (ПЦОР) и диагностической эффективности (ДЭ) теста.

Результаты и обсуждение. Выявлены значимые различия ($p < 0,05$) между группой пациентов и группой здоровых людей в отношении уровня гиперцитруллинированного гистона citH3 (таблица 1).

Таблица 1 – Уровень показателей в крови пациентов с РМЖ и здоровых людей

Показатель	Группа здоровых людей	Пациентки с РМЖ	p
Цитруллированный гистон H3 (citH3), нг/мл	0,326 [0,281; 0,371]	0,746 [0,361; 0,859]	0,037
Внеклеточная ДНК, нг/мл	147,1 [111,3; 168,2]	193,7 [163,6; 223,5]	0,022
Активность миелопероксидазы, мU/мл	3,9 [1,5; 5,5]	7,1 [2,9; 9,3]	0,008
Активность нейтрофильной эластазы, мU/мл	2,7 [1,1; 3,9]	4,9 [2,8; 6,3]	0,012

Дополнительным критерием, подтверждающим увеличенную способность нейтрофилов у пациентов с РМЖ к формированию NET-ловушек, является уровень внеклеточной ДНК, который оказался выше в сравнении с группой здоровых лиц. Анализ активности секреторных ферментов нейтрофилов – миелопероксидазы и нейтрофильной эластазы также показал статистически значимое увеличение в случае пациентов с РМЖ в сравнении со здоровыми людьми. Результаты определения диагностической информативности анализируемых показателей показали их перспективность использования в клинической практике (таблица 2).

Таблица 2 – Диагностическая информативность показателей при РМЖ

Показатель	ПЗ	ДЧ	ДС	ПЦПР	ПЦОР	ДЭ
Цитруллированный гистон H3 (citH3), нг/мл	0,573	73,2	79,7	45,4	90,1	76,2
Внеклеточная ДНК, нг/мл	0,171	63,7	69,9	35,4	87,6	66,3
Активность миелопероксидазы, мU/мл	4,9	57,3	72,3	35,9	87,3	69,1
Активность нейтрофильной эластазы, мU/мл	3,5	82,1	85,3	57,8	93,2	83,7

Примечание: ПЗ – пороговое значение; ДЧ, ДС, ДЭ – диагностические чувствительность, специфичность и эффективность, соответственно; ПЦПР и ПЦОР – прогностическая ценность положительного и отрицательного результата, соответственно.

Выводы: биохимические маркеры нейтрофилов обладают высокой диагностической информативностью при РМЖ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рак в Беларуси: цифры и факты. Анализ данных Белорусского канцер-регистра за 2010-2019 гг. / А. Е. Океанов [и др.]; под ред. С. Л. Полякова. – Минск: РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова, 2020. – 298 с.
2. Hedrick, C. C., Neutrophils in cancer: heterogeneous and multifaceted / C.C. Hedrick, I. Malanchi // Nat. Rev. Immunol. 2022. – Vol. 22, № 3 – P. 173–187.
3. Xiong, S. Neutrophils in cancer carcinogenesis and metastasis /S. Xiong, L. Dong, L. Cheng //J. Hematol. Oncol. 2021. – Vol. 14, № 1 – P. 173–195.

ИНТЕРЛЕЙКИНЫ ИЛ-6 И ИЛ-8 В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ

Валинская П.С., Рябцева Т.В., Мурашко Д.И.

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. Системный склероз (системная склеродермия) – это иммуноопосредованное ревматическое заболевание, которое характеризуется фиброзом кожи и внутренних органов, а также васкулопатией [2].

Распространенность системного склероза составляет примерно 17,6 случая на 100 000 населения, а уровень заболеваемости – 1,4 на 100 000 человеко-лет. Уровень смертности от SSC, связанный с заболеванием, составляет примерно 55%, при этом ведущими причинами смерти являются легочные осложнения, такие как интерстициальная болезнь легких (ILD), за которой следует легочная артериальная гипертензия (ЛАГ) [2].

Наиболее распространенными формами системного склероза являются:

- Ограниченный системный склероз. При ограниченном системном склерозе (синдром CREST: кальциноз кожи, синдром Рейно, нарушение моторики пищевода, склеродактилия, телеангиэктазии) у пациентов развивается уплотнение кожи на лице и дистальное локтей и коленей, а также может наблюдаться гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь. Этот тип характеризуется медленным прогрессированием и часто осложняется легочной гипертензией.
- Генерализованный системный склероз (с диффузным поражением кожи). При генерализованном системном склерозе с диффузным поражением кожи у пациентов часто наблюдаются как синдром Рейно, так и желудочно-кишечные осложнения. Этот тип обычно быстро развивается. Основными осложнениями являются интерстициальные заболевания легких и склеродермический почечный криз.

Ввиду разработки современных методов диагностики и лечения, прогноз течения этого заболевания существенно увеличился, различия в пятилетней выживаемости пациентов с ограниченной (лимитированной) и диффузной формами заболевания различаются. Так, при ограниченной форме она достигает 90%, а при диффузной – не превышает 60% [5].

Вместе с тем системная склеродермия зачастую диагностируется на стадии выраженных клинических проявлений заболевания. Показано, что трудности диагностики связаны в первую очередь с тем, что синдром Рейно – маркер системной склеродермии, который встречается у 90-95% пациентов – длительно может протекать изолированно, предшествуя развитию других клинических проявлений болезни, особенно при лимитированной форме. При этом в литературе имеются данные о случаях трансформации лимитированной формы в системную [6].

На сегодняшний день лабораторные параметры, позволяющие дифференцировать системную и лимитированную форму склеродермии, не нашли широкого применения в клинической практике. В литературе можно встретить

сведения об отсутствии в плазме крови большинства пациентов с лимитированной склеродермией специфических антипоизомеразных антител (Scl-70), характерных для диффузной формы. В то же время, в плазме крови около 12% пациентов с лимитированной формой склеродермии также присутствуют антинуклеарные антитела [7].

В основе патогенеза системного склероза лежит аутоиммунная воспалительная реакция, сопровождающаяся синтезом большого количества провоспалительных цитокинов. Центральную роль в развитии и распространении заболевания играют цитокины ИЛ-6 и ИЛ-8 [1, 4]. Однако данные о концентрации этих соединений в крови пациентов с диффузной и лимитированной формами неоднозначны. Так, показано, что в крови пациентов со склеродермией обеих форм отмечается повышенная концентрация ряда провоспалительных интерлейкинов, в том числе, ИЛ-6 и ИЛ-8, а в крови пациентов с лимитированной формой концентрация ИЛ-6 выше по сравнению с диффузной [3]. В то же время можно встретить работы, в которых отмечается отсутствие различий концентрации цитокинов в крови пациентов со склеродермией и здоровыми людьми [1].

Цель. Проанализировать концентрацию ИЛ-6 и ИЛ-8 в крови пациентов с диффузной и лимитированной формами склеродермии и оценить перспективы их определения в дифференцировании этих форм заболевания.

Материалы и методы. Концентрация ИЛ-6, ИЛ-8 в крови 10 пациентов с диффузной и 10 пациентов с лимитированной формой системной склеродермии определялась методом иммуноферментного анализа с помощью ИФА-набора Fine Test (КНР). В качестве группы сравнения проанализирована сыворотка крови 15 здоровых людей. Статистическая обработка осуществлялась с использованием программного пакета SPSS Statistics 23. Так как распределение значений в выборках отличалось от нормального, для сравнения значений показателей в выборках использовался непараметрический критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони на множественные сравнения. Критический уровень значимости принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждение. Концентрация обоих интерлейкинов в крови пациентов как с диффузной, так и с лимитированной формой склеродермии, были выше по сравнению со здоровыми людьми (таблица 1).

Таблица 1. – Концентрация ИЛ-6 и ИЛ-8 в крови пациентов с системной склеродермией

Показатель	Здоровые люди	Лимитированная склеродермия	Диффузная склеродермия
ИЛ-6, мкг/л	2,6 [0,7;4,7]	5,0* [3,2;11,5]	4,6* [3,2;14,0]
ИЛ-8, мкг/л	2,5 [0,4; 4,3]	7,2* [2,8;15,6]	25,7*# [9,7;19,6]

Примечание: * - различия между пациентами и здоровыми людьми; # - различия между диффузной и лимитированной формами склеродермии.

Концентрация ИЛ-8 в крови пациентов с лимитированной формой склеродермии выше, чем в контрольной группе. При диффузной форме концентрация этого интерлейкина была в 3,5 раза выше по сравнению с лимитированной формой и в 10 раз выше по сравнению со здоровыми людьми ($p < 0,01$)

Уровень ИЛ-6 в крови пациентов с обеими формами склеродермии был выше по сравнению со здоровыми людьми, но не отличался в зависимости от формы склеродермии.

Выводы. Концентрация ИЛ-8, но не ИЛ-6, существенно различается в крови пациентов в зависимости от формы склеродермии. Имеются перспективы оценки диагностических параметров измерения ИЛ-8, но не ИЛ-6, в крови пациентов с целью дифференцирования лимитированной и диффузной форм заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Balanescu, P. IL-17, IL-6 and IFN- γ in systemic sclerosis patients / P. Balanescu [et al.] // Romanian Journal Of Internal Medicine. – 2015. – Vol. 53, № 1. – P. 44-49.
2. Denton, C. Systemic sclerosis / C. Denton, D. Khanna // Lancet. – 2017. – Vol. 390. – P. 1685–1699.
3. Piroozmand, A. Serum interleukin-6 level and its association with pulmonary involvement in progressive systemic sclerosis; a case-control study. / A. Piroozmand [et al.] // Clin. Mol. Allergy – 2023. – Vol. 21, №7. – P. 1–7.
4. Santiago, M.G. AB0145 Enhanced il-8 production by monocytes in systemic sclerosis patients with pulmonary fibrosis / M.G. Santiago [et al.] // Annals of the Rheumatic Diseases. – 2014. – Vol. 72, №3. – P. 829–830.
5. Ананьева, Л. П. Основные формы системной склеродермии: особенности клиники и диагностики / Л. П. Ананьева // РМЖ. – 2013. – №6. – С. 322.
6. Галлямова, Ю. А. Ограниченная склеродермия: учеб.-метод. пособие / Ю.А. Галлямова – М.: ГБОУ ДПО РМАПО, 2015. – 43 с.
7. Моисеев, А. А. Современные методы диагностики ограниченной склеродермии (обзор). / А.А. Моисеев, С.Р. Утц // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2016. – Т. 12, № 3. – С. 481–484.

КИСЛОТНО-ОСНОВНОЕ СОСТОЯНИЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С МНОГООСКОЛЬЧАТЫМИ И СЕГМЕНТАРНЫМИ ПЕРЕЛОМАМИ ГОЛЕНИ В УСЛОВИЯХ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Ванькович П.Э.¹, Кезля О.П.¹, Селицкий А.В.¹, Юрага Т.М.²,
Хоровец А.И.²

¹Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

²НИИ экспериментальной и клинической медицины УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Республика Беларусь

Актуальность. Распространенность и тяжесть высокоэнергетических травм костей голени растет ежегодно, часто имея множественный и сочетанный

характер и приводя к длительной нетрудоспособности и/или инвалидизации взрослого населения, что обуславливает их высокую медико-социальную и экономическую значимость. В настоящее время лечение сложных диафизарных переломов костей голени остается сложной задачей, что обусловлено анатомически неоднородным распределением мягких тканей и отсутствием мышечной прослойки по передней поверхности голени, особенностями кровоснабжения, сопряженного с нарушением местного метаболизма, а также низкой эффективностью традиционных протоколов лечения.

Несмотря на применение современных хирургических технологий, в результате оперативного лечения сложных диафизарных переломов костей достаточно часто наблюдается развитие осложнений, таких как замедленная консолидация, формирование ложных суставов, несращение костных отломков. Следовательно, представляет большое научно-практическое значение разработка эффективных методов консервативного лечения сегментарных и многооскольчатых переломов костей голени в послеоперационном периоде.

Цель исследования – оценить кислотно-основное состояние (КОС) крови у пациентов со сложными закрытыми многооскольчатыми и сегментарными переломами голени в условиях метаболической терапии.

Материалы и методы исследования. Набор пациентов в исследование осуществлялся в травматолого-ортопедических отделениях Минской областной клинической больницы. Пациенты были разделены на 2 групп: группа сравнения – 45 чел. (13 женщин и 32 мужчины, средний возраст $39,89 \pm 12,39$ лет), которым в раннем послеоперационном периоде после хирургического лечения проводили традиционную консервативную терапию по протоколу; основная группа – 65 чел. (39 мужчин и 26 женщин, средний возраст $40,78 \pm 12,18$ лет), которым в раннем послеоперационном периоде на фоне традиционной терапии проводили курс метаболического лечения (сеансы гипербарической оксигенации (ГБО) по 55 мин при 1,0-1,8 АТА, № 10-15 и внутривенных инфузий цитофлавина №10-15).

Критериями включения пациентов в исследование были следующие: сложный закрытый сегментарный или многооскольчатый перелом костей голени, возраст более 16 лет, клинически удовлетворительное общее состояние; добровольное информированное согласие на проведение клинической и лабораторной диагностики, хирургического лечения.

Взятие крови для исследования проводили в 1-е сутки госпитализации до лечения, на 5-7 и 15 сутки госпитализации. С помощью газоанализатора ABL-800 BASIC («Radiometer», Дания) изучены показатели (КОС) венозной крови: pH – величина отрицательного десятичного логарифма молярной концентрации ионов H^+ ; парциальное давление CO_2 (p_vCO_2) – напряжение углекислого газа в крови; актуальные бикарбонатные ионы (HCO_3^-) – показатель, соответствующий концентрации гидрокарбонатов в крови, взятой без соприкосновения с воздухом при температуре $37^\circ C$; избыток (дефицит) оснований (ABE) – актуальная разница между фактической величиной буферных оснований и их нормальным значением, содержание лактата – конечный продукт анаэробного метаболизма глюкозы (гликолиза),

образующийся при замещении ионов водорода молочной кислоты на ионы Na^+/K^+ , является показателем кислородной задолженности тканей при патологических состояниях. Для проведения сравнительной оценки изучаемых показателей в 1-е сутки наблюдения до лечения использовали литературные данные по референтным значениям показателей КОС венозной крови [2].

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью программы Statistica v10.0. Проверку числовых значений на нормальность распределения проводили с помощью критерия Шапиро-Уилка. При распределении, отличном от нормального, данные представляли в виде медианы (Me) и интервала между 25 и 75 перцентилями (Me (25%-75%)). Для анализа различий в двух группах по количественному параметру использовали U-критерий Манна-Уитни для независимых подгрупп, критерий Вилкоксона для зависимых подгрупп. Статистически значимыми являлись различия при $p < 0,05$ независимо от метода применяемого анализа.

Результаты и обсуждение. Пациенты двух групп наблюдения были сопоставимы по возрастному и гендерному составу, типу повреждения и хирургического вмешательства, сопутствующей патологии ($p > 0,05$).

У пациентов основной группы до лечения в 1-е сутки наблюдения выявлен субкомпенсированный метаболический ацидоз с уровнем pH венозной крови 7,31 (7,29; 7,33) ед. на фоне гиперлактатемии (уровень лактата достиг 2,7 (1,9; 4,0 ммоль/л) и снижения содержания гидрокарбонатных ионов до 22,0 (18,6; 23,8) ммоль/л, что отразилось на буферной емкости крови, уровень которой упал до -1,6 (-4,3; 0,4) ммоль/л. Кроме того зафиксировано состояние гиперкапнии, соответствующее уровню p_{vCO_2} 58,1 (47,7; 64,8) мм рт.ст. Аналогичные изменения КОС крови выявлены у пациентов второй группы исследования, что свидетельствует о сопоставимости сравниваемых групп по исходным уровням изучаемых показателей.

Известно, что процессы реминерализации костной ткани протекают при физиологическом уровне pH, тогда как сдвиг pH тканей в кислую сторону при продукции органических кислот, в том числе лактата, способствует растворению минеральных компонентов и выведению их из организма, что существенно нарушает восстановление поврежденных участков кости [3]. Следовательно, метаболический ацидоз, который наблюдается у пациентов с высокэнергетическими переломами костей голени, тормозит репаративную регенерацию, представляющую собой процесс восстановления костных тканей после травмы.

В процессе лечения под влиянием метаболической терапии наблюдалась нормализация кислотно-основного баланса внутренней среды организма за счет включения метаболической компенсации. Так, по сравнению с начальным уровнем до лечения pH и емкость буферных оснований повысились соответственно до 7,38 (7,35; 7,40) ед. ($p = 0,001$) и 0,35 (-1,5; 2,0) ммоль/л ($p = 0,021$), концентрация гидрокарбоната достигла 25,6 (23,0; 28,1) ммоль/л ($p = 0,011$), парциальное давление углекислоты снизилось до 43,6 (35,2; 46,8) мм рт.ст. ($p = 0,022$). У пациентов, получавших традиционное лечение, выявлена иная картина внутренней среды организма, отличная от данных группы

метаболической терапии. При рН 7,36 (7,33; 7,38) ед. сохранялся дефицит буферных оснований, субкомпенсация метаболического ацидоза произошла за счет респираторного компонента – у пациентов снизилось $p_v\text{CO}_2$ до 50,4 (42,5; 56,7) мм рт.ст. в сравнении с исходными данными.

Известно, что метаболический ацидоз способствует процессам перекисного окисления липидов и снижению активности антиоксидантной системы (АОС) [1], чем более выражен ацидоз раневого отделяемого, тем более длительно протекает процесс заживления [4]. Установлено, что ГБО повышает активность ферментов АОС у пациентов с острой травмой и хронической гнойной инфекцией, что обусловлено снижением гипоксии и восстановлением энергетических реакций в клетке [5].

Выводы. У пациентов с многооскольчатыми и сегментарными диафизарными переломами голени до лечения установлено нарушение показателей КОС крови. Проведение метаболической терапии, включающей курс ГБО и цитофлавина, привело к коррекции метаболического ацидоза и нормализации КОС, что свидетельствует о стимуляции репаративного остеогенеза при высокоэнергетической травме костей голени на фоне комплексной консервативной терапии в раннем послеоперационном периоде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Егорова, М. О. Газово-электролитный состав крови и информативность параметров его оценки/ М.О. Егорова// Справочник заведующего КДЛ. – 2017. – № 9. – С. 41–54.
2. Антиоксидантный статус крови при остром и хроническом нарушении мозгового кровообращения/ Ю.И. Степанова [и др.]// Мед. акад. журн. – 2014. – № 4. – С. 41–48.
3. Хисматуллина, З. Н. Факторы, оказывающие влияние на метаболизм костной ткани и приводящие к заболеваниям костной системы / \ З.Н. Хисматуллина // Вест. Казан. технологического университета. – 2015. – Т. 18, № 22. – С. 165–172.
4. Aksekili, M. A. The results of minimally invasive percutaneous plate osteosynthesis (MIPPO) in distal and diaphysealtibial fractures / M. A. Aksekili, I. Celik., A.K. Arslan // Acta. Orthop. Traumatol. Turc. – 2012. – Vol. 5 – P. 161–167.
5. Xu, X. X. A meta-analysis of external fixator versus intramedullary nails for open tibial fracture fixation/ X.X. Xu, L. Liu, W. Wu// J. of ortop. surgery and research. Ch. – 2014. – Vol. 1 – P.75–82.

АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ КОРТИЗОЛА В СЛЮНЕ ВО ВЗАИМОСВЯЗИ С ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫМ СТАТУСОМ ЖЕНЩИН ПОСЛЕ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Волковец Э.Н.¹, Грудницкая Е.Н.¹, Степанова Ю.И.², Юрага Т.М.²

¹*Институт повышения квалификации и переподготовки кадров
здравоохранения УО «Белорусский государственный медицинский
университет»,*

²*НИИ экспериментальной и клинической медицины УО «Белорусский
государственный медицинский университет», Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. В настоящее время в связи с неблагоприятной демографической ситуацией укрепление репродуктивного здоровья женщин является одним из приоритетных направлений современного здравоохранения. В структуре невынашивания, особенно на ранней стадии гестационного периода, одно из главных мест занимает неразвивающаяся беременность. Невозможный переход к ожидаемой стадии родительства является травмой, вызывающей изменения в психоэмоциональном состоянии женщины, что представляет угрозу развития депрессии и посттравматического стрессового расстройства [3].

Воздействие физическими факторами после прерывания беременности оказывает обезболивающее, утеротоническое, противовоспалительное действие и направлено на улучшение обменно-трофических и репаративных процессов. Представляется актуальным разработка комплекса физиолечения с использованием методик, обеспечивающих расслабление, усиление выработки эндорфинов и серотонина. Седативный эффект повышает стрессоустойчивость и способствует нормализации психоэмоционального состояния женщин.

Цель исследования – анализ содержания кортизола в слюне при различных методах прерывания неразвивающейся беременности во взаимосвязи с оценкой психоэмоционального статуса женщин.

Материалы и методы исследования. Обследовано 100 беременных репродуктивного возраста в отделениях Клинического родильного дома Минской области. Группу сравнения составили женщины в сроке беременности до 12 недель гестации без угрожающего аборта (средний возраст $34,5 \pm 7,0$ лет, $n=30$). Основную группу составили 70 пациенток, госпитализированных для прерывания неразвивающейся беременности в сроке до 12 недель гестации. В зависимости от метода прерывания выделены две подгруппы: первую составили женщины, которым выполнен медикаментозный аборт (подгруппа 1) ($33,0 \pm 10,4$ лет, $n=40$), во вторую включены женщины после хирургического аборта (подгруппа 2) ($34,0 \pm 8,3$ лет, $n=30$).

После прерывания беременности пациенткам в качестве ранней реабилитации проводили курс физиолечения: на низ живота низкочастотную магнитотерапию, магнитолазерную терапию и электротерапию 1 раз в день с

интервалом 15 минут, через 4 часа после комплексного воздействия проводился электросон в течение 20 минут. Процедуры выполнялись ежедневно 7 раз.

У женщин до и после реабилитации по валидированной шкале депрессии, тревоги и стресса (DASS-21) оценивали психоэмоциональное состояние и диагностировали трудности с расслаблением, нервное возбуждение и раздражительность. В 1-е и 8-е сутки после аборта определяли в слюне концентрацию свободного кортизола с помощью тест-наборов «Diametra» (Италия) иммуноферментным методом. Исследование кортизола в слюне является высокоинформативным показателем для оценки острого ответа организма на стресс, повторные исследования позволяют оценить базальный уровень гормональной секреции, его суточные колебания и изменения при стрессовой реактивности [5]. Кроме того метод неинвазивен, малозатратен и доступен для проведения в учреждениях здравоохранения на любом уровне

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью программы Statistica v10.0. Данные представляли в виде медианы и интервала между 25 и 75 процентилями – Me [25-75%]. Использовали U-критерий Манна-Уитни, критерий Вилкоксона, проводили корреляционный анализ по Спирмену с расчетом коэффициента корреляции (r). Статистически значимыми являлись результаты при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Пациентки двух подгрупп наблюдения были сопоставимы по возрасту, сопутствующей экстрагенитальной патологии ($p > 0,05$). Кортизол слюны представляет собой концентрацию свободной физиологически активной фракции гормона, циркулирующего в крови, и отражает гормональные изменения в организме человека, связанные с наличием острого и хронического стресса [2].

Выявлено, что после аборта у женщин в 1 подгруппе уровень кортизола в слюне достигал 12,2 [9,3; 15,7] нмоль/л, что значительно превышало в 2 раза нормальный уровень ($p = 0,001$) и в 1,5 раза уровень во 2 подгруппе ($p = 0,017$). Содержание кортизола в слюне женщин после хирургического прерывания беременности составило 8,3 [7,5; 12,2] нмоль/л, что также значительно отличалось от нормального уровня 6,1 [5,6; 7,0] нмоль/л. Полученные нами результаты согласуются с данными исследования психологического воздействия разных методов аборта, в результате которого было показано, что при ожидании медикаментозного аборта чувство тревоги у женщин возникает в 2 раза чаще и носит более скрытый субклинический характер (43,8%) по сравнению с хирургическим абортом (26,7%) [4].

Под влиянием реабилитации уровень кортизола в 1 подгруппе нормализовался и снизился в сравнении с исходным в 2,2 раза ($p = 0,014$), отсутствовала межгрупповая разница. Аналогичные изменения наблюдались во 2 подгруппе. С целью выявления ассоциаций между экспрессией кортизола в слюне и балльной оценкой стресса по шкале у пациенток после медицинского аборта проведен корреляционный анализ, результаты которого представлены на рисунках 1,2. Установлена значимая прямая взаимосвязь между содержанием кортизола в слюне и балльной оценкой уровня стресса у женщин в 1 подгруппе до лечения ($r = 0,65$, $p = 0,022$), в то же время после физиолечения, включающего

седацию, сила связи ослабевала ($r=0,42$, $p=0,031$), что представлено на рисунках 1 и 2. Выявленные ассоциации свидетельствуют о том, что определение кортизола в слюне является надежным маркером стрессовой реакции и эффективности ранней реабилитации у женщин с неразвивающейся беременностью после аборта.

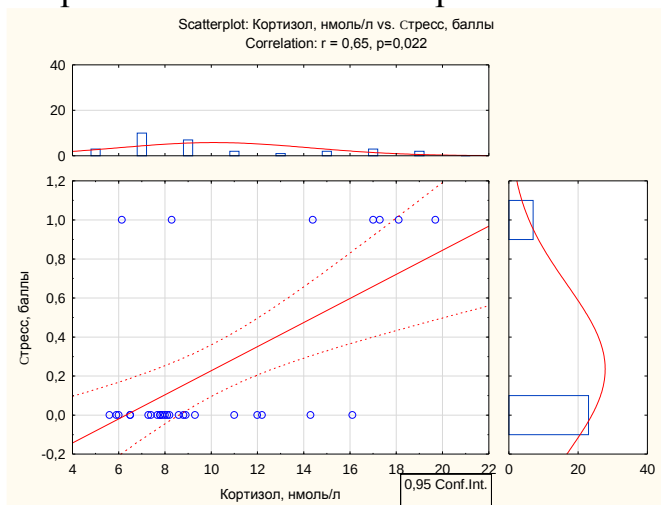


Рисунок 1 – Корреляционная зависимость между содержанием кортизола в слюне и балльной оценкой уровня стресса у женщин в подгруппе 1 до лечения

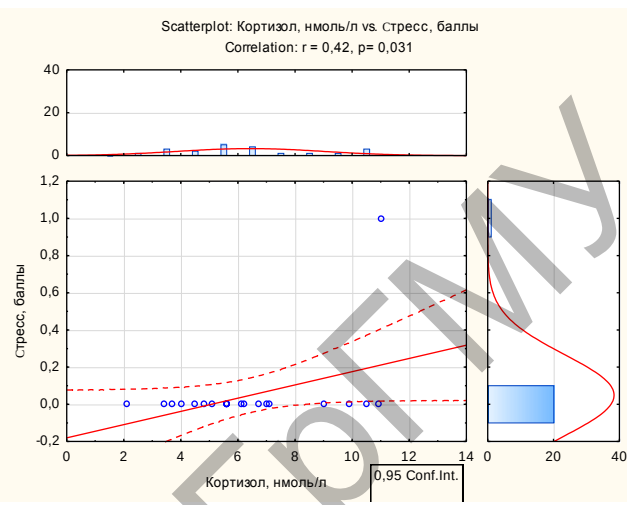


Рисунок 2 – Корреляционная зависимость между содержанием кортизола в слюне и балльной оценкой уровня стресса у женщин в подгруппе 1 после лечения

Выводы. Проведен сравнительный анализ содержания кортизола в слюне при различных методах прерывания неразвивающейся беременности во взаимосвязи с оценкой психоэмоционального статуса женщин. Установлено, что после медикаментозного аборта у женщин значительно повышался уровень кортизола в слюне в сравнении с нормальным значением и уровнем в подгруппе после хирургического прерывания беременности, однако проведенная реабилитация с седативным компонентом способствовала снижению уровня стресса на фоне нормализации содержания кортизола в слюне. Выявлены прямые ассоциативные взаимосвязи между кортизолом слюны и психоэмоциональным статусом женщин, что демонстрирует эффективность ранней реабилитации после прерывания беременности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аполихина, И. А Реабилитация в гинекологии с помощью аппаратной физиотерапии: Руководство для врачей / И.А. Аполихина, Н.В. Болотова, Ю.М. Райгородский. – М.: Практическая медицина, 2019. – 208 с.
2. Исследование свободного кортизола в слюне для оценки функции коры надпочечников / А.М. Лапшина [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2008. – № 54. – С.22-27.

3. Руководство по репродуктивной медицине / Б. Карр, Р. Блэкуэлл, Р. Азиз. Пер. с англ. под общей редакцией д.м.н., проф. И.В.Кузнецовой. – М: Практика, 2015. – 832 с.

4. Тютюнник, В. Л. Психэмоциональные расстройства при беременности. Необходимость их коррекции / В.Л. Тютюнник, О.И. Михайлова, Н.А. Чухарева // РМЖ. – 2009. - № 20. – С.1386.

5. Measuring cortisol in serum, urine and saliva – are our assays good enough? / N. El-Farhan Rees [et al.] // Ann. of Clin. Biochemistry. – 2017. – Vol. 54, № 3. – P.308–322.

МОЧЕВАЯ ЭКСКРЕЦИЯ ГИДРОКСИПРОЛИНА У ПАЦИЕНТОК ПОСЛЕ ПРЕРЫВАНИЯ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Волковец Э.Н.¹, Грудницкая Е.Н.¹, Юрага Т.М.²

¹*Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения УО «Белорусский государственный медицинский университет»,*

²*НИИ экспериментальной и клинической медицины УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. В современных социально-демографических условиях проблема аборта (самопроизвольного и искусственного) занимает особое место в связи с негативным влиянием на здоровье женщин. Депопуляция населения, обусловленная прогрессирующим снижением репродуктивного резерва, низким уровнем рождаемости и относительно высоким уровнем смертности, характерна для большинства европейских стран, в том числе и Республики Беларусь [3]. Нарушение целостности соединительнотканного компонента базального слоя эндометрия после прерывания беременности оказывает влияние на его восстановление. В физиологических условиях в строме матки содержится до 85% соединительной ткани, основным фибриллярным белком экстрацеллюлярного матрикса которой является коллаген, состоящий на 21% из гидроксипролина, играющего ключевую роль в стабильности коллагена [6].

Известно, что с целью реабилитации и предупреждения осложнений после аборта применяют комплексное воздействие физическими факторами, обладающими противовоспалительным, обезболивающим, утеротоническим эффектом [1]. Преимуществами данного метода лечения являются доступность, хорошая переносимость, неинвазивность, безопасность. Следовательно, весьма актуальным является разработка новых методов реабилитации, направленных на восстановление и сохранение качественного эндометрия для последующей беременности, предупреждение и снижение развития осложнений женщины после прерывания беременности.

Цель исследования – проведение сравнительного анализа мочевой экскреции гидроксипролина, отражающего изменение стабильности коллагена,

у женщин при разных методах прерывания неразвивающейся беременности с целью оценки эффективности воздействия физических факторов.

Материалы и методы исследования. Основную группу составили 70 пациенток, госпитализированных для прерывания неразвивающейся беременности в сроке до 12 недель гестации. В зависимости от метода прерывания выделены две подгруппы: первую составили женщины, которым выполнен медикаментозный аборт (подгруппа 1) ($33,0 \pm 10,4$ лет, $n=40$), во вторую включены женщины после хирургического аборта (подгруппа 2) ($34,0 \pm 8,3$ лет, $n=30$). Группу сравнения составили женщины в сроке беременности до 12 недель гестации без угрожающего аборта (средний возраст $34,5 \pm 7,0$ лет, $n=30$). После прерывания беременности пациенткам в качестве ранней реабилитации проводили курс физиолечения: низкочастотную магнитотерапию, магнитолазерную терапию и электротерапию. Процедуры проводились 1 раз в день с интервалом 15 минут, ежедневно в течение 7 дней.

В качестве маркера состояния соединительной ткани исследовали свободный гидроксипролин (СГП), маркера метаболизма мышечной ткани – креатинин. На 1-е и 8-е сутки после аборта определяли в утренней разовой порции мочи концентрацию креатинина с помощью тест-наборов «Витал-Диагностикс СПб» (РФ) спектрофотометрическим методом, свободного гидроксипролина (СГП) – с помощью тест-наборов «BT LAB» (Китай) иммуноферментным методом. Рассчитывали индекс СГП/креатинин в отн.ед.

Статистический анализ проводили с помощью программы Statistica v10.0. Данные представляли в виде медианы и интервала между 25 и 75 перцентилями (Me [25-75%]). Статистически значимыми являлись различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Пациентки подгрупп наблюдения были сопоставимы по возрасту, сопутствующей экстрагенитальной патологии ($p > 0,05$). В доступных литературных источниках приводятся результаты исследования содержания СГП в 24-часовой порции мочи [2]. Однако существует альтернатива изучению суточной мочевой экскреции – это анализ ее утренней порции, которая содержит около 25% всех экскретируемых метаболитов за сутки [4]. Данный метод позволяет исключить влияние преаналитических факторов, а также суточные колебания экскреции изучаемых веществ. Для повышения диагностической надежности исследования нами был рассчитан индекс СГП/креатинин, величина которого определяется по концентрации СГП, нормализованного к уровню креатинина в разовой порции мочи. Известно, что повышение содержания фракции свободного ГП в моче отражает процессы распада коллагена, что является прогностически значимым критерием, свидетельствующим о повреждении соединительной ткани [5].

Результаты исследования уровней СГП и креатинина мочи в виде индекса у пациенток исследуемых групп представлены в таблице.

До лечения у женщин двух подгрупп исследования наблюдалось значимое превышение индекса против аналогичных данных в группе сравнения, что свидетельствует о вовлечении соединительной ткани в процесс отторжения плодного яйца при неразвивающейся беременности и деградации коллагена. Кроме того, выявлена межгрупповая разница по данному

показателю – в подгруппе 2 индекс был выше в 1,4 раза ($p=0,023$), что свидетельствует о негативном влиянии хирургического метода прерывания беременности на состояние метаболизма соединительной ткани матки. Под влиянием физических лечебных факторов в подгруппе 1 уровень индекса нормализовался и значимо снизился по сравнению с исходными данными. В подгруппе 2 индекс также снизился в сравнение со значением в 1-е сутки, однако был выше уровня в группе сравнения и подгруппе 1 соответственно в 1,5 раза ($p=0,011$) и в 1,3 раза ($p=0,029$).

Таблица 1 – Уровень индекса СГП/креатинин мочи в разных группах исследования до и после лечения, Ме [25%;75%]

Индекс СГП/креатинин	Группа сравнения	p	Подгруппа 1 (медикаментозный аборт)	p	Подгруппа 2 (хирургический аборт)	p ₁
До лечения	0,031 [0,023; 0,036]	0,014	0,046 [0,042; 0,050]	0,001	0,063 [0,055; 0,068]	0,023
На 7-8 сутки лечения	0,031 [0,023; 0,036]	НЗ	0,037 [0,033; 0,042] p₂=0,025	0,011	0,047 [0,040; 0,056] p₂=0,034	0,029

Примечание. p – достоверность различий между данными группы сравнения и подгрупп исследования, p₁ – достоверность различий между данными подгрупп исследования в соответствующие сроки наблюдения, p₂ – достоверность внутригрупповых различий в подгруппах исследования до и после лечения, НЗ – различия не значимы

Установлено, что хирургический метод прерывания беременности является более травматичным, а также показана эффективность комплексного физиотерапевтического воздействия на восстановление соединительнотканного компонента эндометрия у пациенток после прерывания неразвивающейся беременности как медикаментозным, так и хирургическим методами.

Выводы. Проведен сравнительный анализ мочевой экскреции свободного гидроксипролина при различных методах прерывания неразвивающейся беременности. Установлено превышение индекса СГП/креатинин после медикаментозного аборта в 1,5 раза (0,046, $p=0,014$), после хирургического в 2 раза (0,063, $p=0,001$) в сравнении с показателями у женщин с нормально протекающей беременностью. Полученные данные демонстрируют более выраженное повреждение соединительной ткани после хирургического аборта. После проведения ранней реабилитации посредством физических факторов в подгруппе медикаментозного аборта установлено более выраженное снижение мочевой экскреции свободного гидроксипролина относительно как данных до лечения внутри подгруппы, так и данных подгруппы с хирургическим абортом.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Аполихина, И.А Реабилитация в гинекологии с помощью аппаратной физиотерапии: Руководство для врачей/ И.А. Аполихина, Н.В. Болотова, Ю.М. Райгородский. – М.: Практическая медицина, 2019. – 208 с.

2 Критерии диагностики синдрома дисплазии соединительной ткани и задержки полового развития у детей и подростков / Яворская М.В [и др.] // Урал. мед. журн. – 2017, № 8. – С. 111–117.

3 Профилактика осложнений после прерывания беременности в I триместре (обзор литературы)/ С.Л. Воскресенский [и др.]// Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2021. – № 4. – С.471–487.

4 Экспресс-анализ литогенных субстанций в разовой порции мочи, нормализованных по креатинину мочи: степень диагностической надежности/ Т.М. Юрага [и др.] // Урология. – 2023. – № 5. – С. 28–32.

5 Belostotsky, R. Catabolism of hydroxyproline in vertebrates: physiology, evolution, genetic diseases and new RNA. Approach for treatment/ R. Belostotsky, Y. Frishberg // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23, № 2. – P.1005.

6 Franzke, C.W. Collagenous transmembrane proteins: recent insights into biology and pathology/ C.W.Franzke, P.Bruckner, L.Bruckner-Tuderman // J. Biol. Chem. – 2005. – Vol.280, № 6. – P. 4005–8.

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛОМНОГО ПРОФИЛЯ АМИНОКИСЛОТНОГО ОБМЕНА У ЖЕНЩИН С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ

**Ганчар Е.П., Гутикова Л.В., Наумов А.В., Дорошенко Е.М.,
Смирнов В.Ю.**

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Преэклампсия (ПЭ) – специфичный для беременности синдром, возникающий после 20-й недели беременности, который проявляется артериальной гипертензией в сочетании с протеинурией, нередко отеками и полиорганной недостаточностью [1]. Современные тенденции в изучении ПЭ характеризуются привлечением внимания к анализу многофакторных причин развития этого грозного осложнения беременности. Несмотря на изучение множества патофизиологических механизмов, точного способа прогнозирования ПЭ не существует. Метаболомные исследования позволяют быстро контролировать состав низкомолекулярных соединений, не прибегая к более детальному анализу. Ряд исследований, использующих анализ метаболома, показали, что данный подход имеет большой потенциал для понимания патофизиологии ПЭ и разработки прогностических и диагностических биомаркеров.

Цель. Анализ метаболомного профиля аминокислотного обмена у женщин с ПЭ.

Материалы и методы. Проведено проспективное исследование методом «случай-контроль». Объектом исследования были две группы: основная группа, состоящая из 24 беременных с ПЭ, диагностированной на основе клинических и функциональных методов исследования, и группа сравнения, состоящая из 21

беременной без ПЭ, подтвержденной результатами клинического обследования. Группы были сопоставимы по сроку беременности при взятии венозной крови для анализа.

Определение концентрации аминокислот, их производных и метаболитов проводили в отраслевой лаборатории молекулярной медицины УО «Гродненский государственный медицинский университет» на хроматографической системе HPLC Agilent 1200. Определялась концентрация цистеина (Cys), гомоцистеина (Hcy), цистеинил-глицина (CysGly), γ -глутамилцистеина (γ GluCys), цистеиновой кислоты (CA), фосфосерина (PSer), цистеинсульфината (CSA), аспартата (Asp), глутатиона (GSH), гомоцистеата (HCA), глутамата (Glu), аспарагина (Asn), серина (Ser), α -аминоадипиновой кислоты (α AAA), глутамина (Gln), гистидина (His), треонина (Thr), 1-метилгистидина (1MHis), 3-метилгистидина (3MHis), глицина (Gly), фосфоэтаноламина (PEA), цитруллина (Citr), аргинина (Arg), ансерина (Ans), аланина (Ala), β -аланина (β Ala), карнозина (Car), таурина (Tau), асимметричного диметиларгинина (ADMA), симметричного диметиларгинина (SDMA), α -аминомасляной кислоты (α ABA), β -аминомасляной кислоты (β ABA), γ -аминомасляной кислоты (GABA), тирозина (Tyr), этаноламина (EA), валина (Val), метионина (Met), цистатионина (Ctn), триптофана (Trp), фенилаланина (Phe), изолейцина (Ile), лейцина (Leu), лизина (Lys), орнитина (Orn). Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием пакета программ Statistica 10.0. Значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Средний возраст беременных, включенных в исследование, составил в основной группе – 31,4 [28-33,5] год, в контрольной – 29,5 [27-31] ($p > 0,05$). У 20 (83,33%) пациенток основной группы диагностирована умеренная ПЭ, у 4 (16,67%) – тяжелая ПЭ. При изучении акушерского и гинекологического анамнеза не было выявлено статистически значимых различий между группами ($p > 0,05$). Однако стоит отметить, что у пациентов основной группы отмечено статистически значимо больше случаев заболеваний сердечно-сосудистой системы ($p < 0,05$).

После проведения статистического анализа было выявлено, что у пациенток с ПЭ концентрации 17 аминокислот значимо отличались от контрольной группы: гомоцистеина (Hcy), цистеиновой кислоты (CA), аспартата (Asp), глутамата (Glu), серина (Ser), глицина (Gly), фосфоэтаноламина (PEA), карнозина (Car), аланина (Ala), асимметричного диметиларгинина (ADMA), α -аминомасляной кислоты (α ABA), тирозина (Tyr), метионина (Met), триптофана (Trp), фенилаланина (Phe), лизина (Lys), орнитина (Orn) – таблица.

При анализе полученных нами данных представляет интерес повышение концентрации симметричного диметиларгинина у женщин с ПЭ. Повышенные концентрации данной аминокислоты в плазме крови являются независимыми прогностическими факторами атеросклероза, сердечно-сосудистых осложнений и смертности от всех причин. Асимметричный диметиларгинин – токсичная, непротеиногенная аминокислота, образующаяся в результате

посттрансляционной модификации остатков аргинина преимущественно в гистонах.

Таблица 1 – Содержание свободных аминокислот, их производных и метаболитов в сравниваемых группах, мкмоль/л

Показатель	Основная группа, n=24	Контрольная группа n =24	Статистическая значимость различий
Hcy	10,408 [9,007-12,953] *	8,687 [6,722-9,51]	U =127,5, p = 0,004
CA	1,884 [1,712-2,798] *	1,694 [1,628-1,788]	U = 148,5, p= 0,017
Asp	185,249 [134,383-285,974] *	122,912 [114,651-137,453]	U = 111,5, p= 0,001
Glu	432,079 [362,83-606,429] *	252,123 [220,02-292,13]	U = 57,5, p= 0,000
Ser	302,829 [252,107-367,492] *	240,662 [229,485-270,875]	U = 126, p= 0,004
Gly	112,845 [94,813-166,485] *	80,315 [76,327-85,34]	U = 68, p= 0,000
PEA	0,4 [0,258-0,534] *	0,22 [0,108-0,31]	U = 100, p= 0,000
Car	0,48 [0,395-0,579]1 *	0,196 [0,16-0,405]	U = 89,5, p= 0,001
Ala	1133,454 [985,895-1435,754] *	1012,145 [943,709-1081,016]	U = 149,5, p= 0,019
ADMA	0,884 [0,625-1,248] *	0,608 [0,555-0,67]	U = 102,5, p= 0,000
α ABA	28,129 [20,574-44,799] *	44,693 [38,735-52,856]	U = 147,5, p= 0,016
Tyr	112,622 [103,65-135,228] *	95,605 [89,483-105,368]	U = 124,5, p= 0,003
Met	37,944 [30,125-49,478] *	47,618 [44,395-54,189]	U = 142,5, p=0,012
Trp	169,982 [142,601-183,213] *	197,597 [170,623-268,49]	U = 132,5, p= 0,006
Phe	209,743 [166,272-268,8599] *	158,814 [154,614-168,93]	U = 108,5, p= 0,001
Orn	87,113 [65,619-118,822] *	60,073 [48,186-61,444]	U = 79,5, p= 0,000
Lys	611,076 [434,33-719,784] *	471,491 [433,822-532,586]	U = 165,5, p= 0,048

Примечание: данные представлены в виде медианы, 25-й и 75%-й процентиля;

* – статистически значимые различия (U критерий Манна-Уитни, p<0,05).

Повышенный уровень циркулирующего в крови гомоцистеина является фактором риска эндотелиальной дисфункции, тромботических осложнений и развития сердечно-сосудистых заболеваний. Гомоцистеин способен нарушать синтез оксида азота (NO), простагличина и брадикинина, вызывая нарушение эндотелийзависимой вазодилатации, способствует активации факторов воспаления путем адгезии лейкоцитов на клетках эндотелия, оказывая влияние на метаболизм арахидоновой кислоты приводит к активации тромбоцитов и формированию тромбогенного статуса. Повышенный уровень гомоцистеина в плазме является причиной оксидативного стресса, в результате которого происходит повреждение эндотелия с истощением эндогенных запасов естественных антикоагулянтов и вазодилататоров. Таким образом, анализ метаболомного профиля при ПЭ дает более полное понимание механизмов, приводящих к возникновению осложнений как у матери, так и у плода. Метаболомный подход может также представлять потенциальный инструмент для мониторинга и профилактики ПЭ.

Выводы:

1. У пациентов с ПЭ выявлено статистически значимое повышение концентрации гомоцистеина ($p=0,004$), цистеиновой кислоты ($p=0,017$), аспартата ($p=0,001$), глутамата ($p=0,000$), серина ($p=0,004$), глицина ($p=0,000$), фосфоэтаноламина ($p=0,000$), карнозина ($p=0,001$), аланина ($p=0,019$), асимметричного диметиларгинина ($p=0,000$), тирозина ($p=0,003$), фенилаланина ($p=0,001$), лизина ($p=0,048$), орнитина ($p=0,000$) по сравнению с пациентами контрольной группы. В плазме венозной крови у пациентов с ПЭ статистически значимо ниже концентрация α -аминомасляной кислоты ($p=0,016$), метионина ($p=0,012$), триптофана ($p=0,006$).

2. Изучение особенностей метаболомного профиля свободных аминокислот у беременных с ПЭ позволит выявить прогностические биомаркеры с целью назначения своевременной профилактической терапии.

ЗНАЧИМОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИННОГО СТАТУСА У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ НА ПРЕГНАВИДАРНОМ ЭТАПЕ

Ганчар Е.П.¹, Борисевич И.С.²

¹УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
²УЗ «Гродненский областной клинический перинатальный центр»

Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Прегравидарная подготовка представляет собой комплекс диагностических и лечебно-профилактических мер, направленных на то, чтобы подготовить супружескую пару к успешному зачатию, вынашиванию беременности и рождению здорового ребенка [1]. Оценка факторов риска и коррекция выявленных отклонений на прегравидарном этапе – это лучший доказанный способ снизить акушерские и перинатальные осложнения, такие

как материнская и перинатальная смертность, заболеваемость матери и новорожденного, распространенность врожденных пороков развития и хромосомных аномалий у плода, частота самопроизвольных выкидышей и преждевременных родов, а также связанные с этим социальные и экономические последствия для общества.

Прегравидарный этап особенно важен для подготовки пациенток с привычным невынашиванием беременности. Диагностика и коррекция определенных метаболических нарушений на этом этапе могут способствовать благополучному исходу беременности [2]. Вмешательства, направленные на коррекцию индивидуального нутритивного статуса, являются наиболее безопасными способами повлиять на здоровье матери и ребенка. Важную роль играют витамины В₉ (фолиевая кислота), В₁₂ (цианокобаламин) и витамин D.

Согласно литературным данным, дефицит фолатов наблюдается у 90% женщин репродуктивного возраста, в том числе и в развитых странах [4]. Дефицит витамина В₉ может вызывать пороки развития плода. По данным ряда исследований, прием фолиевой кислоты до и во время беременности снижает риск развития дефектов нервной трубки, пороков сердца, пороков развития верхних конечностей, расщелины губы и неба, снижает риск преждевременных родов, рождения детей с низкой массой тела, аутизма. Кроме того, дефицит фолатов приводит к накоплению гомоцистеина, что, в свою очередь, вызывает усиление микротромбообразования и изменение микроциркуляции, что может привести к нарушению имплантации и прерыванию беременности. Наряду с публикациями о пользе приема фолиевой кислоты, появились данные о росте частоты аутизма среди детей, матери которых принимали фолиевую кислоту в больших терапевтических дозах.

Не менее важную роль играет витамин В₁₂. Он необходим для образования гемоглобина, эритроцитов, метаболизма белков, жиров, углеводов [5]. Недостаток этого витамина может привести к бесплодию и невынашиванию беременности.

Важным нутритивным элементом также является витамин D. Известна его роль в регуляции кальциево-фосфорного обмена и плотности костной ткани. В последние годы витамин D рассматривается с точки зрения стероидного гормона, участвующего во многих физиологических процессах организма. Витамин D играет важную роль в регуляции репродуктивной системы женщин. Рецепторы к витамину D обнаружены в овариальной ткани, эндометрии, маточных трубах, в *decidua* и плаценте [3].

Цель. Изучить содержание витаминов В₉, В₁₂, D у пациенток с привычным невынашиванием беременности на прегравидарном этапе.

Материалы и методы исследования. Проведен ретроспективный анализ 132 карт женщин с привычным невынашиванием беременности, у которых в осенний период на прегравидарном этапе исследовалось содержание витаминов В₉, В₁₂ в сыворотке крови методом хемилюминесцентного иммуноанализа на микрочастицах, а содержание витамина D – методом иммуноферментного анализа.

Референтные значения в сыворотке крови: для витамина B₉ – 3,1-20,5 нг/мл; для витамина B₁₂ – 187-883 пг/мл. Дефицит витамина D определяли как уровень 25(ОН)D в сыворотке крови менее 20 нг/мл, уровень 20-30 нг/мл расценивали как «недостаточность» витамина D, а оптимальный уровень 25(ОН)D составлял 30-80 нг/мл.

Статистическая обработка данных проводилась с применением программного пакета «Statistica 10.0», результаты представлены как Me [25%; 75%], где Me – медиана, а [25%, 75%] – 25-й и 75%-й процентиля.

Результаты и обсуждение. Средний возраст обследованных пациенток составил 32 [29,5-35] года. При оценке антропометрических показателей выявлено, что индекс массы тела у женщин составил 24,39 [21,38 – 28,06] кг/м². Анализ социального статуса показал, что 76 (57,6%) пациенток с привычным невынашиванием имели высшее образование, 56 (42,4%) – среднее специальное, 124 (93,9%) – состояли в зарегистрированном браке.

Гиперандрогения была диагностирована у 14,4% пациенток, антифосфолипидный синдром – у 9,1%, наследственная тромбофилия высокого риска – у 3,8%, аномалии развития матки – у 6,1%. У 108 (81,8%) женщин с привычным невынашиванием беременности наблюдалась различная экстрагенитальная патология. Заболевания сердечно-сосудистой системы выявлены у 35 (26,5%) пациенток, заболевания органов зрения у 32 (24,2%), заболевания эндокринной системы у 22 (16,7%), заболевания почек у 15 (11,4%), заболевания желудочно-кишечного тракта у 14 (10,6%), ожирение у 17 (12,9%).

Уровень витамина B₉ в сыворотке крови исследуемой группы составил 5,93 [4,62-9,21] нг/мл, у 13 (9,8%) пациенток выявлен уровень витамина B₉ ниже референтных значений. Таким образом, не получено высокой частоты дефицита фолатов в крови у обследованных пациенток. Полученные результаты можно объяснить тем, что Республика Беларусь – социально ориентированное государство с развитым сельским хозяйством, обеспечивающим население свежими овощами и фруктами в течение всего года.

При анализе содержания витамина B₁₂ выявлено, что у 129 (97,7%) пациенток уровень данного показателя был в пределах референтных значений – 344,75 [255,0-445,35] пг/мл, и только у 7 (5,3%) данный показатель был ниже.

При исследовании уровня 25(ОН)D в сыворотке крови получены следующие результаты. В среднем содержание 25(ОН)D в сыворотке крови у женщин с привычным невынашиванием беременности составило 22,53 [18,65-27,025] нг/мл, что относится к недостаточному уровню витамина D. При этом у 51 (38,64%) женщины был выявлен дефицит витамина D, у 61 (46,21%) – недостаточность витамина D. Оптимальный уровень витамина D в сыворотке крови выявлен лишь у 20 (15,15%) обследованных пациенток. Считается, что полученные результаты связаны с недостаточным уровнем инсоляции в Республике Беларусь большую часть года.

Выводы. У 38,64% женщин с привычным невынашиванием беременности на этапе прегравидарной подготовки имеется дефицит витамина

D, у 46,21% среднее содержание витамина D оценивается как недостаточное. В 9,8% случаев диагностирован дефицит фолиевой кислоты, в 5,3% случаев определен дефицит витамина B₁₂. Полученные данные подтверждают значимость приема витамина D на этапе подготовки к беременности у женщин с привычным невынашиванием, а определение стартовой концентрации витаминов в сыворотке крови позволяет обосновать пациентам необходимость приема данных препаратов, избежать полипрагмазии, персонифицировать прегравидарную подготовку и усилить мотивационную приверженность к терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Джобав, Э. М. Прегравидарная подготовка как скрининг и рутинная практика. Международный опыт и клинические рекомендации / Акушерство и гинекология. – 2016. – № 11. – С. 16–21. <http://dx.doi.org/10.18565/aig.2016.11.16-21>.
2. Доброхотова, Ю. Э. Комплексная прегравидарная подготовка – реальный путь улучшения перинатальных исходов / Ю.Э. Доброхотова, Л.С. Джогадзе // Проблемы репродукции. – 2019. – № 25 (6). – С.38–43.
3. Витамин D и репродуктивное здоровье женщин / С.Ю. Калинин, М.И. Жиленко, Д.А. Гусакова [и др.] // Проблемы репродукции. – 2016. – № 22 (4). – С. 28–36.
4. ВОЗ. Оценка фолатного статуса у различных групп населения по концентрации фолата в сыворотке крови и красных кровяных клетках. Информационная система данных о содержании витаминов и минералов в продуктах питания. Женева (ВОЗ), 2012. http://www.who.int/iris/bitstream/10665/75584/4/WHO_NMNH_NHD_EPG_12.1_rus.pdf.
5. Ушкалова, Е. А. Новые подходы к диагностике и лечению B12-дефицитных состояний / Е.А. Ушкалова, С.К. Зырянов, К.Э. Затолочина // Профилактическая медицина. – 2021. – № 24 (3). – С.59–66. <https://doi.org/10.17116/profmed20212403159>.

АНТИОКСИДАНТНЫЙ ПРОФИЛЬ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ ОСТРОМ КОРОНАРНОМ СИНДРОМЕ

Данилова Т.В.¹, Дмитриева Д.С.¹, Баранов А.П.¹, Проскурнина Е.В.²

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва, Российская Федерация

Актуальность. Окислительный стресс – это нарушение баланса между содержанием свободных радикалов и антиоксидантной системой организма в пользу первых. У человека окислительный стресс является важным звеном

патогенеза многих серьезных заболеваний, в том числе и болезней сердечно-сосудистой системы. Острый коронарный синдром (ОКС) без подъема сегмента ST объединяет такие клинические состояния как инфаркт миокарда и нестабильная стенокардия. Для выбора оптимальной тактики лечения требуется проведение дифференциальной диагностики, в этом могут быть полезны маркеры воспаления и оксидативного стресса [3]. Изучение антиоксидантных профилей плазмы крови поможет разработке новых подходов сопутствующей антиоксидантной терапии ОКС [4, 5].

Цель. Оценка антиоксидантного профиля плазмы крови пациентов с острым коронарным синдромом.

Материалы и методы исследования. В исследование были включены 42 пациента (средний возраст $61,5 \pm 10,8$ года). Критерии включения: пациенты старше 18 лет, диагноз ОКС с подъемом ST или ОКС без подъема ST, ОКС с подъемом ST длительностью не более 24 часов, ОКС без подъема ST (нестабильная стенокардия или инфаркт миокарда) с давностью клинических проявлений не более 48 часов и наличием ишемии по данным электрокардиограммы. Критерии исключения: пациенты до 18 лет, наличие острых инфекционных процессов, злокачественных новообразований в поздних стадиях, аутоиммунные заболевания.

Все пациенты были разделены на три группы: с входным диагнозом ОКС с подъемом ST ($n=10$, средний возраст $57,8 \pm 7,9$ года), с диагнозом ОКС без подъема ST ($n=12$, средний возраст $61,9 \pm 13,7$ года), с верифицированной ишемической болезнью сердца (ИБС): стабильной стенокардией II-III функциональных классов ($n=20$, средний возраст $62,7 \pm 8,1$ года).

Измерения хемилюминесценции проводили с помощью хемилуминометра Lum-1200 (ДИСофт, Россия) при 37°C . Антиоксидантные профили водорастворимой фракции плазмы оценивали с помощью люминол-зависимой хемилюминесценции по методике [1]. Раствор люминола 1 мМ (Sigma, США) и 2,2'-азо-бис(2-амидинопропана) дигидрохлорида (АБАП; Fluka, Германия) концентрации 50 ммоль/л готовили путем растворения навесок в фосфатном буферном растворе (100 мМ KH_2PO_4 , pH 7,4, Sigma, США). Образцы плазмы хранили при -20° и непосредственно перед анализом разбавляли в 10 раз дистиллированной водой. Общий объем кюветы составлял 1,000 мл. Смесь АБАП и люминола (конечные концентрации 2,5 мМ и 2 мкМ соответственно) добавляли в буферный раствор (pH 7,4) при 37°C . Хемилюминесценцию регистрировали до достижения стационарного уровня (I_0), далее добавляли аликвоту разбавленной плазмы крови. Регистрацию выполняли до достижения нового стационарного уровня (I) (рисунок 1).

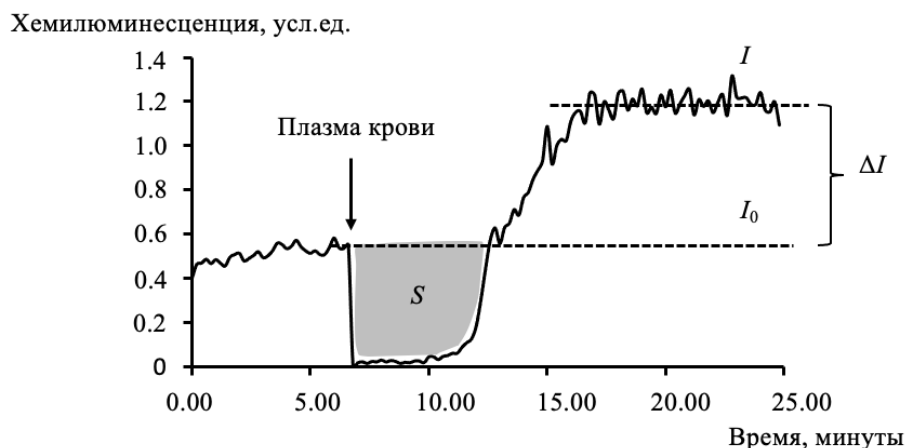


Рисунок 1 – Антиоксидантный профиль плазмы крови пациента с ОКС с подъемом сегмента ST, стрелка указывает момент добавления образца

По хемилюминограммам были определены два параметра: площадь под кривой хемилюминесценции (S), отражающая емкость сильных антиоксидантов, прежде всего мочевой кислоты («уратная» емкость) и разность между конечным и начальным стационарными уровнями хемилюминесценции (ΔI), отражающая уровень меркаптоальбумина («альбуминовая» емкость). Референсные интервалы для здоровых доноров (от 18 до 65 лет, $n = 110$) были определены ранее, усл.ед.: S [195–405], ΔI [1,2–2,2].

Размер групп ранее не определяли. Для статистического анализа использовали программу STATISTICA для Windows v.10.0 (StatSoft Inc., США). Данные представлены в виде $\bar{x} \pm SD$ ($\bar{x}$ – среднее арифметическое, SD – среднееквадратичное отклонение). Сравнительный анализ двух независимых групп проводили с использованием параметрического t -критерия.

Результаты и обсуждение. Качественно антиоксидантный профиль плазмы крови пациентов с ИБС и ОКС соответствовал антиоксидантному профилю плазмы крови здоровых доноров (рис. 1). Количественно «уратная» емкость (S) находилась в пределах референсного интервала для всех трех подгрупп. Параметр ΔI характеризует уровень тиоловых групп альбумина (меркаптоальбумина) и, косвенно, состояние системы глутатиона. Уменьшение ΔI соответствует состоянию «тиолового» окислительного стресса, который был выражен во всех трех подгруппах. Снижение тиоловой фракции антиоксидантного профиля в группе ИБС по сравнению с группами ОКС было статистически незначимым. Параметры антиоксидантного профиля приведены в таблице.

Таблица — Описательная статистика параметров антиоксидантного профиля плазмы крови по подгруппам

Группы	S	ΔI
	$\bar{x}$ (SD)	$\bar{x}$ (SD)
ИБС: стабильная стенокардия II – III ФК ($n = 20$)	279 (46)	0,87 (0,39)
ОКС без подъема ST ($n = 12$)	304 (68)	0,76 (0,37)
ОКС с подъемом ST ($n = 10$)	297 (64)	0,75 (0,26)

В данной работе была оценена емкость только водорастворимых антиоксидантов, но не жирорастворимой части, которая реагирует на перекисное окисление липидов, в то время как по данным литературы, большая часть исследований посвящена именно жирорастворимому антиоксидантному звену. Показано, что у пациентов с ИБС и ОКС были значительно повышены уровни малонового диальдегида, снижены концентрации витамина С, восстановленного глутатиона, активность глутатионпероксидазы эритроцитов и общая антиоксидантная способность плазмы по сравнению со здоровыми индивидуумами. Статистически значимой разницы данных в группах ИБС и ОКС не было [2].

Выводы. «Уратная» фракция антиоксидантного профиля находилась в пределах нормы как для пациентов с ИБС, так и для пациентов с ОКС, однако «тиоловая» фракция антиоксидантного профиля была снижена во всех трех группах. Предположительно, эти изменения вызваны хронической. Таким образом, можно сделать вывод, что при ИБС и ОКС может быть полезной антиоксидантная терапия, направленная на восстановление «тиолового» баланса и уменьшение окислительного стресса при этих состояниях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Созарукова, М. М. Изменения в кинетике хемилюминесценции плазмы как мера системного окислительного стресса в организме человека / М.М. Созарукова [и др.]// Биофизика. – 2016. – Т. 61, №2. – С.337–344.
2. Bastani, A. Oxidant and antioxidant status in coronary artery disease / A. Bastani // Biomed Rep. – 2018. – Vol. 9, № 4. – P.327–332.
3. Centurión, O. A. Serum biomarkers and source of inflammation in acute coronary syndromes and percutaneous coronary interventions / O.A. Centurión // Cardiovasc. Revasc. Med. – 2016. – Vol. 17, N 2. – P.119–128.
4. Rymer, J. A. Failure to launch: targeting inflammation in acute coronary syndromes / J.A. Rymer // JACC Basic Transl. Sci. – 2017. – Vol. 2, N 4. – P. 484–497.
5. Wang, H. Immune and inflammation in acute coronary syndrome: molecular mechanisms and therapeutic implications [WEB resource] / H. Wang // J. Immunol. Res. 2020. – Vol. 2020. – e4904217.

ВЛИЯНИЕ КИНЕЗОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА ПСИХОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ КАРДИОХИРУРГИЧЕСКОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Девина Е.А., Ванда А.С., Малькевич Л.А.

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. Острый коронарный синдром сопровождается не только тяжелой симптоматикой ишемии миокарда, сердечной недостаточностью, но и развитием тревожно-депрессивных расстройств, которые снижают качество жизни и повышают вероятность неблагоприятного исхода заболевания.

Полагают, что один из механизмов, лежащий в основе возникновения депрессивно-подобного состояния связан с нейротрофическим фактором мозга BDNF [1]. Также существуют убедительные доказательства того, что постоянная физическая активность может способствовать улучшению настроения и когнитивных функций мозга.

Во-первых, BDNF действует и как нейромодулятор, и как трансмисмиттер, оказывая значительное влияние на мембранный потенциал покоя, нейрональную возбудимость, синаптическую передачу. Последние исследования показали, что физическая активность заметно увеличивает экспрессию гена BDNF в головном мозге, что может привести к улучшению настроения и памяти, зависящих от физических упражнений [5]. Во-вторых, BDNF усиливает действие возбуждающих глутаматергических синапсов и ослабляет ингибирующие ГАМК-ергические синапсы. Он также может модулировать активность различных рецепторов нейротрансмисмиттеров. В-третьих, дофамин, норадреналин и серотонин являются основными моноаминовыми нейротрансмисмиттерами, которые, как известно, тоже модулируются физическими упражнениями. В свою очередь, система серотонина (5-гидрокситроптофана) взаимодействует с путем BDNF, образуя петлю положительной обратной связи. Вопросы, связанные с психологическими проблемами и личностными особенностями, являются не менее острыми [3]. Логично предположить, что сердечно-сосудистое заболевание ведет к психологической дезадаптации. Ведь хроническое физическое нездоровье и снижение функциональных возможностей создают для пациента ситуацию постоянного стресса, с которым он не может справиться. Кроме того, поражение коронарных сосудов нередко сочетается с цереброваскулярной патологией, непосредственно влияющей на функционирование головного мозга [4]. Нарушения психо-эмоциональной сферы отрицательно сказываются на личностной и социально-трудовой адаптации пациентов кардиохирургического профиля [2]. Это обуславливает необходимость проведения реабилитационных мероприятий по предупреждению, выявлению и коррекции депрессивно-подобного поведения.

Цель. Изучить влияние кинезотерапевтических средств на психологическое состояние пациентов после кардиохирургического вмешательства.

Материалы и методы исследования. Исследование проводили на стационарном этапе медицинской реабилитации (МР) в отделении для пациентов с заболеваниями сердца и сосудов. Оценивали состояние 45 пациентов (из них 60% мужчин и 40% женщин) в возрасте $57,6 \pm 16,6$ лет с диагнозом ишемическая болезнь сердца (ИБС), острый инфаркт миокарда (ОИМ) после аортокоронарного шунтирования (АКШ) – 25 человек, стентирования коронарных артерий (ЧКВ) – 14, протезирования клапанов сердца – 6.

Определялся риск оценки суицида по шкале (Modified SAD PERSONS Score), проводились психодиагностические тесты: Шкала депрессии

Гамильтона, Шкала депрессии Бека, Шкала Гамильтона для оценки тревоги, Питсбургский опросник на определение индекса качества сна. Функциональный класс (ФК) определялся по тесту шестиминутной ходьбы (ТШХ). Тип реакции на нагрузку определяли по данным (частота сердечных сокращений (ЧСС), величина артериального давления (АД), полученным во время теста. Изменения показателей частоты дыхательных движений (ЧДД), уровня насыщения гемоглобина кислородом (SpO₂) являлись в сочетании с ранее перечисленными, критерием оценки адекватной величины физической нагрузки (ФН). На основании полученных данных составляли индивидуальные программы реабилитации, включающие дозированную ходьбу (с учетом реакции ССС и ДС на ТШХ), комплексы ЛФК при кардиопатологии, дыхательные упражнения, тренировку на тренажерах (вело- и циклических для верхних конечностей), оздоровительную ходьбу без учета времени.

Результаты и обсуждение. Следует отметить, что у 37,8 % пациентов риск оценки суицида не был выявлен (0-1балл), у 62,2% пациентов отмечался низкий риск суицида от 2 до 4 баллов. Операция на сердце является стрессовым фактором для человека. У 80% пациентов имели место различные нарушения психическо-эмоциональной сферы, связанные с болезнью и усугубляющиеся перенесенной кардиохирургической операцией. В клинической картине у пациентов преобладали жалобы, указывающие на психо-эмоциональную лабильность (колебания между эйфорическим и депрессивным настроением, физической болью и облегчением, нарушение сна, плаксивость, агрессивность), особенно, в возрастной группе старше 60 лет. Регулярная физическая нагрузка у 86% кардиохирургических пациентов способствовала стабилизации гемодинамических показателей, прежде всего АД. В начале курса МР значения АД сразу после дозированной ходьбы составляли 140/90 мм.рт.ст, к окончанию стационарного этапа МР показатель снижался и находился в пределах нормы – 120/80 мм.рт.ст. Менее информативным, по нашему мнению, явился показатель ЧСС и его динамика в процессе двигательной активности, т.к. пациенты получали в качестве лекарственной терапии β-адреноблокаторы.

Важным показателем состояния дыхательной и сердечно-сосудистой системы, определяющим процентное содержание в артериальной крови гемоглобина, насыщенного кислородом, является сатурация. Овладение навыком структурированного дыхания, позволило пациентам сохранять SpO₂ в процессе выполнения дозированной циклической физической нагрузки (ходьба, велотренировка) на уровне 96,5 %, в то время как в первые дни SpO₂ снижалась на 5% от исходного в покое, составив 93%. В результате проведенного лечения различия по показателям депрессии (шкалы Бека и Гамильтона) и тревоги (шкала Гамильтона) были статистически значимы ($p < 0,001$). Скорость редукции тревожной симптоматики, была несколько выше у мужчин в возрасте $45 \pm 4,5$ ($p < 0,05$). Количество жалоб на снижение интереса к жизни, нарушение сна, беспокойства и ожидания ухудшения состояния, плаксивости также имели тенденцию к уменьшению. К моменту выписки из стационара, все пациенты отмечали улучшение настроения и нормализацию сна. Это, по нашему мнению,

объясняется позитивным влиянием физической активности на настроение и купирование состояния тревоги и агрессии. В экспериментальных исследованиях было установлено, что при мышечных нагрузках экспрессируется белок иризин (FNDC5). Повышение уровня иризина в крови, в свою очередь ведёт к повышению экспрессии ряда нейропротекторных генов в клетках головного мозга (сигнальный путь с участием иризина (PGC-1 α /FNDC5/Irisin)), в частности – повышается экспрессия мозгового нейротрофического фактора (BDNF), который принимает участие в подавлении депрессивно-подобного состояния.

Таким образом, у большинства пациентов «психо-эмоциональный кризис», спровоцированный болезнью и операцией, преодолевается уже в раннем реабилитационном периоде под действием дозированной физической активности.

Заключение. Проведенное исследование показывает, что включение на раннем этапе реабилитации кинезиотерапевтических средств по индивидуально составленной схеме значительно улучшает психоэмоциональное состояние и стабилизирует гемодинамические показатели пациентов после кардиохирургических вмешательств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kishi, T. Brain-Derived Neurotrophic Factor and Major Depressive Disorder: Evidence from Meta-Analyses / T. Kishi [et al.] // *Frontiers in Psychiatry*. – 2018. – Vol. 8. – P. 1–5.
2. Крючкова, О. Н. Особенности психологической реабилитации больных, перенесших острый коронарный синдром / О.Н. Крючкова и др.// *Крымский терапевтический журнал*. – 2016. – №4 (31). С. –8.
3. Омельченко, А. В. Проведение медицинской реабилитации пациентам с заболеваниями системы кровообращения / А.В. Омельченко, И.А Урванцева, С.И. Мамедова // *Здравоохранение Югры: опыт и инновации*. – 2018. – №1. – С.57–60.
4. Протасов, Е. А. Кардиореабилитация сегодня: возможности и трудности / / Е.А. Протасов, А.А. Великанов // *Российский семейный врач*. – 2019. –Т. 23. –№1. – С. 17–26.
5. Walsh, E. I. Towards an understanding of the physical activity-BDNF-cognition triumvirate: A review of associations and dosage / E.I. Walsh [et al.] // *Ageing Research Reviews*. – 2020. – Vol. 60. – P. 1–12.

ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ НА ЧАСТОТУ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ ИНГАЛЯЦИОННЫМИ АЛЛЕРГЕНАМИ ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ РИНИТЕ, БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ И ИХ СОЧЕТАНИИ

Клещенко П.В.¹, Ляликов С.А.¹, Котова Е.В.², Маркевич Н. Б.²,
Токерь О. А.², Гриневич Т. Н.¹, Гутько А. Г.¹

¹УО «Гродненский государственный медицинский университет»,

²УЗ «Гродненская университетская клиника», Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Аллергический ринит и бронхиальная астма представляют собой глобальную проблему общественного здоровья и здравоохранения в связи с их широкой распространенностью и существенным снижением качества жизни пациентов [1]. Многочисленные эпидемиологические исследования показывают неуклонный рост уровня заболеваемости бронхиальной астмой (БА) и аллергическим ринитом (АР) во всем мире, в частности в Республике Беларусь.

Цель. Оценка влияния возраста на характер сенсibilизации к ингаляционным аллергенам у жителей Гродненской области, страдающих аллергическим ринитом, бронхиальной астмой и сочетанием этих заболеваний.

Методы исследования. Кожные пробы основаны на выявлении специфической чувствительности организма к данному аллергену путем введения его через кожу. При этом оценивают величину и характер развивающейся воспалительной реакции. С помощью качественных кожных проб определяют наличие или отсутствие чувствительности к данному аллергену.

По результатам кожных скарификационных проб с бытовыми, эпидермальными, пылевыми аллергенами проанализировали профили сенсibilизации 237 пациентов (97 женщин 140 мужчин), страдающих АР (101 пациент), БА (89 пациентов) и АР+БА (57 пациентов) в возрасте от 18 до 72 лет.

Учет результатов тестирования осуществляли через 15 минут при условии достоверности контрольных проб. Возникновении папулы менее 3 мм в диаметре оценивали, как слабоположительный результат (+), от 3 до 5 мм – положительный (++) , от 5 до 10 мм – резко положительный (+++), более 10 мм – гиперэргическая реакция (++++).

Для кожных проб были использованы следующие категории аллергенов: бытовые (домашняя и библиотечная пыль); эпидермальные (перо подушки, шерсть кошки, собаки, морской свинки, кролика, перхоть лошади, человеческий волос); пылевые с учетом класса растения, а именно злаки (лисохвост райграс, тимopheевка, мятлик, полевица, ржа посевная, костер, кукуруза), деревья и кустарники (орешник, береза висячая, ольха, ясень, каштан

конский), травы и сорняки (пырей ползучий, полынь, амброзия, одуванчик, подсолнечник, лебеда).

Результаты и их обсуждение. Корреляционный анализ связей между возрастом обследуемого и полуколичественной оценкой (1, 2, 3 или 4 плюса) результата кожного тестирования позволил установить, что с возрастом интенсивность ответа уменьшается далеко не на все аллергены.

Высоко статистически значимо отрицательно ассоциирован с возрастом размер папул после введения экстрактов пыльцы злаков. Исключением был ответ только на пыльцу кукурузы. Из бытовых и эпидермальных достоверно отрицательно коррелирует с возрастом реакция на аллергены домашней пыли и пера подушки, а также пыльцы пырея ползучего из категории трав/сорняков. Имеется тенденция к достоверности связи между возрастом и величиной папулы после введения экстрактов пыльцы ясеня, ольхи и амброзии, причем ответ на пыльцу ясеня с возрастом увеличивался.

Выводы. Таким образом, у пациентов с хроническими аллергическими заболеваниями дыхательных путей выраженность кожной реакции на скарификационные пробы с большинством респираторных аллергенов не зависит от возраста, достоверно ниже интенсивность ответа только к аллергенам пыльцы злаков (костер, райграс, тимopheевка, лисохвост, мятлик, полевица, ржа посевная), некоторым бытовым и эпидермальным аллергенам (домашняя пыль, перо подушки) и пыльце пырея ползучего.

ЛИТЕРАТУРА

1. О механизмах взаимосвязи аллергического ринита и бронхиальной астмы и особенности лечения (обзор литературы) / Г. А. Гаджимирзаев, Р. Г. Гаджимирзаева, Э. Г. Гамзатова [и др.] // Российская оториноларингология. – 2017. – № 5(90). – С. 88-96.

ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА ПРИ ОЖИРЕНИИ

Колоцей В.Н.¹, Климович И.И.¹, Ковалевский П.И.², Юркевич С.В.²,
Разводовский Ю.Е.³

¹УО «Гродненский государственный медицинский университет»,

²УЗ «Гродненская клиническая больница скорой медицинской помощи»,

³Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие
«Институт биохимии биологически активных соединений НАН
Беларуси», Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Последние десятилетия отмечаются неуклонным ростом ожирения среди населения всего мира. Наряду с ожирением увеличиваются и заболевания, патогенетически связанные с ним. К большому сожалению, от болезней, связанных с ожирением, в мире ежегодно погибают более 2,5 млн. человек [1]. Клиницистам давно известно более тяжелое течение и развитие осложнений острого панкреатита (ОП) у лиц с избыточной массой тела. а

ожирение является достаточно надежным признаком тяжести течения ОП [2]. Однако, несмотря на многочисленные исследования, полученные данные в определенной мере противоречивы, что обусловлено полиэтиологией развития и многогранностью этиопатогенеза ОП [2]. В любом случае приходится констатировать факт, что точные механизмы взаимосвязи ожирения и развития ОП до сих пор не выяснены.

Цель. Оценить роль ожирения в развитии тяжести проявления ОП и роль лабораторных и инструментальных методов исследования.

Материал и методы исследования. Нами ретроспективно изучены основные клинические, лабораторные и инструментальные методы исследования, которые применялись с целью диагностики и в процессе лечения у 41 пациентов ОП, которые находились на лечении в хирургическом отделении БСМП г. Гродно в 2022-2023 гг. Мужчин было 18 (43,9%), женщин 23 (56,1%). Возраст пациентов от 21 до 72 лет, средний возраст составил 38,9 лет. Ожирение имело место у 7(17,1%) пациентов у которых индекс массы тела (ИМТ) был $> 25 \text{ кг/м}^2$. Учитывались основные клинические симптомы ОП, из лабораторных показателей при поступлении и в процессе лечения определяли общий анализ крови, мочи, биохимический анализ крови – уровни общего белка, билирубина, глюкозы, активности АсАТ и АлАТ, содержание мочевины, креатинина, С-реактивного белка, активности ферментов поджелудочной железы (амилазы и липазы) в сыворотке крови. Инструментальные методы включали: УЗИ органов гепатопанкреатодуоденальной зоны, которые выполняли всем 41(100%) пациентам с ОП, фиброгастродуоденоскопия (ФГДС) произведена 37 (90,2%), компьютерная томография (КТ) выполнена у 10 (24,4%) пациентов с острым деструктивным панкреатитом (ОДП), магниторезонансная томография (МРТ) у 11 (26,8%), лапароскопия – у 13 (31,7%) пациентов.

Результаты и обсуждение. Клинически ОП практически всегда проявлялся интенсивной болью в эпимезогастральной области. Иррадиация боли в спину и поясничную область больше слева отмечена нами у 15(36,6%) пациента, опоясывающий характер боли отмечен у 13 (31,7%). Рвота, не приносящая облегчения, отмечена у 11 (26,8%) пациентов. Вздутие живота и пальпируемый инфильтрат в эпимезогастральной области имели место у 18 (43,9%) пациентов. ОДП наблюдался у 8 (19,5%) пациентов, активность амилазы у которых составил $430 \pm 21,3 \text{ МЕ/л}$, а липазы $2022 \pm 30,1 \text{ МЕ/л}$. Оперированы 4 (9,7%) пациента. Активность амилазы у оперированных пациентов составил $662 \pm 41,3 \text{ МЕ/л}$, а липазы $2563 \pm 36,2 \text{ МЕ/л}$. Необходимо отметить, что осложнения отмечены в 35% случаев, у пациентов индекс массы тела (ИМТ) которых был $> 25 \text{ кг/м}^2$ в то время как у лиц без ожирения (ИМТ $< 25 \text{ кг/м}^2$) осложнения отмечались достоверно реже – в 9% случаев, а тяжелого ОП развивался чаще при ожирении и тяжесть его проявлялась в зависимости от степени ожирения. У одного пациента 47 лет ИМТ $> 30 \text{ кг/м}^2$, наблюдалось тяжелое течение ОП на фоне ЖКБ, холедохолитиаза и холангита развился острый деструктивный панкреатит, имели место тяжелые гнойные осложнения с развитием наружного неполного тонкокишечного свища, которого с

большими усилиями удалось спасти и выписать из стационара, койко-день составил 88 дней.

Ферментативный перитонит был у 9 (21,9%) пациентов, которым была выполнена лапароскопия, санация и дренирование брюшной полости. При этом выпот из брюшной полости брали на определение активности панкреатических ферментов, посев на микробиологические среды с определением характера микрофлоры и ее чувствительности к антибиотикам. Активность амилазы у этих пациентов составила $681 \pm 29,5$ МЕ/л, а липазы $532 \pm 219,1$ МЕ/л.

Остальные 28 (68,3%) пациентов получали консервативное лечение согласно протоколам лечения. Наиболее высокие значения активности сывороточной амилазы наблюдали в течение первых суток от начала заболевания, а активность липазы повышалась в более поздние сроки. Прямой зависимости между активностью амилазы и формой острого панкреатита не отмечалось. При панкреонекрозе и при развитии септических осложнений наблюдали значительный лейкоцитоз с выраженным сдвигом влево и появлением токсической зернистости нейтрофилов, также отмечались тромбоцитопения, уровень С-реактивного белка составлял $263 \pm 29,3$ мг/л. В биохимическом анализе крови наблюдались: гипопротейнемия за счет снижения альбуминов, диспротеинемия, гипергликемия. Выявлено, что наиболее постоянно при панкреонекрозе регистрировались повышенные активности аланиновой и аспарагиновой аминотрансфераз. При ОДП о выраженных изменениях водно-электролитного баланса свидетельствовали: гемоконцентрация, дефицит калия, натрия, кальция. При обширных формах панкреонекроза снижение концентрации кальция в плазме крови обусловлено его депонированием в очагах стеатонекроза в виде солей желчных кислот.

Выводы.

1. Риск развития ОП у лиц с ожирением наибольший при алкогольной и билиарнозависимой этиологии заболевания.
2. Ожирение вне зависимости от этиологии ОП позволяет предположить более тяжелое течение заболевания с развитием системных и местных осложнений.
3. При ожирении для диагностики ОП необходимо учитывать в комплексе клиническую картину заболевания и использовать лабораторные и инструментальные методы исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Колоцей, В. Н. Острый и хронический алкогольные панкреатиты: диагностика, лечение, профилактика / В. Н. Колоцей, И. И. Климович, В. П. Страпко // Актуальные медико-биологические проблемы алкогольной и других химических зависимостей. Сборник статей II Международной научно-практической конференции 7-8 октября 2021 г. г. Гродно, Республика Беларусь – С.47–50.
2. Колоцей, В.Н. Применение комплексного подхода в оценке диагностики и лечения острого панкреатита / В.Н. Колоцей, И.И. Климович, В.П. Страпко // Актуальные проблемы общей и клинической биохимии – 2023:

НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАК КРИТЕРИИ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ COVID-19

Коростелева М.М., Снегирева Т.Г.

*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Российский университет дружбы народов им.
Патриса Лумумбы», Москва, Российская Федерация*

Актуальность. Пандемия, вызванная SARS-CoV-2, стала серьезной проблемой общественного здравоохранения во всем мире. Результаты оценки ряда биохимических показателей, как правило, неспецифичны, но позволяют оценить тяжесть течения заболевания, клинические исходы и риски развития осложнений.

Цель: на основании анализа данных литературы определить возможность применения ряда биохимических показателей для оценки степени тяжести клинического течения и исходов COVID-19.

Материалы и методы исследования. Анализ данных литературы российских и зарубежных медицинских баз данных: Elibrary.ru, Pubmed.com по ключевым словам – COVID-19, биохимические маркеры, ранняя диагностика.

Результаты и обсуждение. С-реактивный белок (СРБ) связан с прогрессированием заболевания и является ранним индикатором тяжелого течения COVID-19 доорганическое поражение тканей. Визуализированных с помощью инструментальных и иных клинико-диагностических исследований [5]. У пациентов с COVID-19 повышенный уровень СРБ в сыворотке крови достоверно коррелирует с высоким риском венозной тромбоэмболии, острым нарушением кровоснабжения почек и летальным исходом. Ряд исследователей считает целесообразным оценку этого показателя в динамике на 3, 5 и 7 сутки госпитализации [2].

У большинства госпитализированных пациентов с COVID-19 наблюдалось повышение активности КК и ЛДГ в сыворотке крови, возможно, из-за вовлечения вирус-опосредованного системного воспаления, цитокинов или непосредственного повреждения миоцитов. При поступлении у пациентов с COVID-19, у которых впоследствии наблюдаются более тяжелые исходы активность КК повышена. Во время вирусно-бактериальных коинфекций уровень прокальцитонина возрастает.

Кроме того, повреждение миокарда, диагностируемое на основании повышения уровня тропонина I, является независимым предиктором смертности и негативных клинических исходов [4]. Повышение данного показателя на фоне инфицирования SARS-CoV-2 может быть обусловлено вирусным миокардитом, микроангиопатиями, цитокин-индуцированным повреждением миокарда, инфарктом миокарда II типа и острым коронарным

синдромом. Тяжелые случаи COVID-19 связаны с инфекционно-опосредованной коагулопатией и последующим гиперфибринолизом. Выявлена связь между повышением уровня Д-димера, лимфоцитопенией, нейтрофилией, лейкоцитозом и тромбоцитопенией с нарушением свертывающей функции, тяжелым течением заболевания и повышенной смертностью пациентов с COVID-19.

COVID-19 вызывает поражение канальцев почек, часто сопровождающегося изменениями показателей общего анализа мочи. У пациентов с COVID-19 также нарушена клубочковая фильтрация, о чем свидетельствует повышенный уровень креатинина и мочевины в крови. Электролитные нарушения, такие как гипонатриемия и гипокалиемия, дополнительно связаны с тяжестью заболевания у пациентов с COVID-19 [1].

COVID-19 изменяет и гематологические показатели: отмечаются отклонения от референтных значений концентрации эритроцитов, гемоглобина и гематокрита. У пациентов с тяжелым течением COVID-19 часто отмечается анемия, ухудшающая оксигенацию тканей, коррелирующая с продолжительностью госпитализации, неблагоприятными клиническими исходами и низкой выживаемостью. Анемия может быть вызвана гипопластическими процессами в костном мозге, индуцированным COVID-19, и побочными эффектами противовирусной терапии. *Pormohammad et al.* изучили лабораторные результаты, полученные у 2361 пациента с SARS-CoV2, при этом у 26% отмечена лейкопения, 13,3% лейкоцитоз и 62,5% лимфопения. У 91% и 81% из 2200 пациентов выявлено повышенное содержание тромбоцитов [3].

Выводы: изменения ряда биохимических показателей крови (КК, СРБ, ЛДГ, гематологические показатели) достоверно коррелируют со степенью тяжести течения инфекции и могут быть использованы в качестве предикторов клинических исходов и ранжирования пациентов по объему медицинских вмешательств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lippi, G. Electrolyte imbalances in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) / G. Lippi, A.M. South, B.M. Henry // *Ann Clin Biochem.* – 2020. – Vol. 57, № 3. – P. 262–265. doi: 10.1177/0004563220922255.
2. Mohamadian, M. COVID-19: Virology, biology and novel laboratory diagnosis. / M. Mohamadian [et. al.] // *J Gene Med.* – 2021. – Vol. 23, № 2. – P. e3303. doi: 10.1002/jgm.3303.
3. Pormohammad, A. Clinical characteristics, laboratory findings, radiographic signs and outcomes of 61,742 patients with confirmed COVID-19 infection: A systematic review and meta-analysis / A. Pormohammad [et. al.] // *Microb Pathog.* – 2020. – № 147. – P. 104390. doi: 10.1016/j.micpath.2020.104390.
4. Shah, P. Prognostic value of elevated cardiac troponin i in hospitalized Covid-19 patients / P. Shah [et. al.] // *Am J Cardiol.* – 2020. – Vol. 135. – P. 150-153. doi: 10.1016/j.amjcard.2020.08.041.

5. Tan, C. C-reactive protein correlates with computed tomographic findings and predicts severe COVID-19 early / C. Tan [et. al.] // J Med Virol. – 2020. – Vol. 92, № 7. – P. 856-862. doi: 10.1002/jmv.25871.

РОЛЬ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКЕ АДАПТАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА СПОРТСМЕНОВ

Короткова Т.Н.¹, Коростелева М.М.^{1,2}, Кобелькова И.В.^{1,3}

¹ *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»,*

² *Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы»;*

³ *Академия постдипломного образования Федеральное государственное бюджетное учреждение «ФНКЦ специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА», Москва, Российская Федерация*

Актуальность. Учет динамики ряда биохимических маркеров (гликемического и липидного профилей, гематологических показателей) свидетельствует о состоянии адаптационного потенциала, толерантности к физическим нагрузкам и о возможной реализации спортивной успешности.

Цель: на основании результатов собственных исследований, данных литературы определить специфические чувствительные биомаркеры, позволяющих выявить начальные стадии перетренированности или потенциальные преимущества в скоростно-силовых качествах.

Материалы и методы исследования: обследовано 25 баскетболистов-финалистов студенческой Лиги, мужского пола (возраст 20,9±1,8 года) в весенний период и 36 членов смешанной сборной команды РФ по академической гребле в период проведения сборов. Гематологические показатели оценивали с помощью автоматического гематологического анализатора LH750 Beckman Coulter (США). Исследование биохимических показателей в сыворотке крови проводилось с помощью автоматического биохимического анализатора Konelab 60i Thermo Fisher (Швеция).

Результаты и обсуждение. Изучение данных биохимического анализа крови баскетболистов показало, что у трети обследованных выявлено повышение высокочувствительного С-реактивного белка (СРБ), что можно связать с неблагоприятной эпидемиологической обстановкой и сезонным ростом заболеваемости острыми респираторными инфекциями. У 8% отмечено снижение концентрации глюкозы в крови, у 25% - хлоридов, что может ухудшать показатели спортивной результативности. Содержание ферритина в сыворотке было ниже нормы у 12% баскетболистов, что при нормальном уровне гемоглобина может свидетельствовать о латентном дефиците железа

и развитии предаанемического состояния. У 8% спортсменов концентрация мочевины незначительно превышала рекомендуемые значения.

Оценка биохимических показателей команды по академической гребле во время сборов и ежедневных тренировок выявила сходную тенденцию к гипогликемии: содержание глюкозы в крови как у мужчин ($n=18$, $3,56 \pm 0,34$ ммоль/л), так и у женщин ($n=18$, $3,54 \pm 0,35$ ммоль/л), было снижено. У спортсменов обоего пола отмечены изменения показателей липидного профиля: снижено содержание ХС-ЛПНП ($1,94 \pm 0,57$ ммоль/л у мужчин и $2,25 \pm 0,44$ ммоль/л у женщин) и ХС-ЛПВП в крови ($0,93 \pm 0,16$ ммоль/л у мужчин и $1,15 \pm 0,16$ ммоль/л у женщин, значения). Эти изменения могут свидетельствовать о недостаточном посттренировочном восстановлении и являться предикторами снижения показателей выносливости и спортивной результативности [1].

Анализ результатов гематологического исследования гребцов установил, что большинство показателей соответствовали референтным значениям, при этом концентрация гемоглобина, показатель гематокрита и СОЭ у мужчин были достоверно выше чем у женщин. Абсолютное содержание эозинофилов и относительное базофилов у спортсменов обоего пола, а у женщин – и абсолютного содержания базофилов, превышало референтные значения, а абсолютное содержание моноцитов приближалось к верхней границе нормы, что может косвенно свидетельствовать о нарушении баланса про- и противовоспалительных цитокинов под воздействием избыточных физических нагрузок. Также отмечено снижение среднего объема тромбоцитов и увеличение ширины распределения по объему, что свидетельствует об увеличении юных форм тромбоцитов, что можно связать с повышенной потребностью в железе, витамине В₁₂ и формированием латентных форм железодефицитных состояний.

Обмен железа играет важную роль в возможности адаптации спортсмена к повышающимся уровням нагрузки в процессе подготовки, то есть существует прямая связь между уровнем обеспеченности организма железом и физической работоспособностью и выносливостью. Внимания заслуживает сочетание таких факторов риска снижения уровня гемоглобина в крови спортсменов-юниоров, как высокие физические нагрузки и продолжающийся рост и развитие, а у девочек-подростков – начала менархе.

Уровни сывороточного железа ниже референтных значений установлены у 6 (17%) спортсменов, при этом у юношей дефицит железа встречался в 5 раз чаще, чем у девушек. Очевидно, это можно связать с крайне высокими физическими нагрузками в тренировочный период у мужчин – большинство обследованных тренировались три раза в день. Другой причиной является не оптимальный рацион питания в период сборов [2].

При этом, концентрация гемоглобина и содержание эритроцитов у подавляющего большинства обследованных соответствовали нормальным значениям и составили в среднем $145,5 \pm 9,5$ г/л у юношей и $128,8 \pm 8,4$ г/л у девушек и $4,63 \pm 0,32 \times 10^{12}$ /л и $4,23 \pm 0,27 \times 10^{12}$ /л, соответственно. Лишь у одной

спортсменки эти показатели были на уровне 102 г/л и $3,29 \times 10^{12}$ /л. При этом доля юношей с концентрацией гемоглобина более 150 г/л достигала 50 %.

Для более точной и ранней диагностики железодефицитных состояний у спортсменов необходимо проведение расширенного биохимического анализа крови с изучением уровней трансферрина и сывороточного ферритина как наиболее информативных показателей.

Мониторинг активности креатинкиназы (КК) во время тренировки и сравнение с исходными уровнями обеспечивает контроль состояния мышц. Активность креатинкиназы достигает пика примерно через 24 часа после физической нагрузки, а после тяжелых силовых тренировок может оставаться повышенным до 7 дней. Длительное повышение активности КК может свидетельствовать о недостаточном восстановлении. В дополнение к КК, высвобождаемый миоглобин, измеряемый в сыворотке крови, который является более быстрым и краткосрочным маркером повреждения мышц. Более специфические маркеры, включая тропонин I, активность некоторых ферментов скелетных мышц и показатели состояния системы антиоксидантной защиты также используют для отслеживания повреждения мышц во время тренировки [3].

Цитокины представляют сигнальные молекулы с многочисленными и разнонаправленными функциями, что затрудняет их применение в прямой оценке воспалительных изменений у спортсмена, однако, можно оценить степень выраженности воспалительной реакции по увеличению концентрации от исходных показателей провоспалительных цитокинов: IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-10, IL-8 и IL-12 [4].

Выбор временного промежутка в течение тренировочного цикла для проведения забора материала исследований биомаркеров имеет важное значение. Для поиска индивидуальных базовых диапазонов биохимических показателей целесообразно проводить отбор биологических проб в ключевые моменты тренировочного цикла, при изменении состояния здоровья, травмах, что позволит определить характер динамики изучаемых показателей.

Выводы. Поиск унифицированных специфических чувствительных биомаркеров, позволяющих выявить начальные стадии перетренированности или потенциальные преимущества в скоростно-силовых качествах, и их внедрение в практику медико-биологического сопровождения спортсменов может привести к повышению профессиональной результативности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коростелева, М. М. Результаты изучения некоторых антропометрических характеристик, фактического питания, пищевого статуса и суточных энерготрат спортсменов сборной по академической гребле / М.М. Коростелева [и др.] // Наука и спорт: современные тенденции. – 2021. – Т. 9, № 3. – С. 22–32.
2. Коростелева, М. М. Влияние пищевого поведения спортсмена, занимающегося академической греблей, на параметры его пищевого статуса /

М.М. Коростелева [и др.] // Наука и спорт: современные тенденции. – 2021. – Т. 9, № 4. – С. 6–18.

3. De Oliveira, DCX. Venous versus capillary sampling for total creatine kinase assay: Effects of a simulated football match / DSX. De Oliveira [et. al.] // PLoS One. – 2018; 13 (9) : e0204238. doi:10.1371/journal.pone.0204238

4. Khanferyan, R. Boxing Changes Chemokine Production by PBMC / R. Khanferyan // Journal of Allergy and Clinical Immunology. – 2021. – Vol. 147, № 2, AB1442.

ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТИЛПРЕДНИЗОЛОНА В ЛЕЧЕНИИ АУТОИММУННОЙ ОФТАЛЬМОПАТИИ

Кринец Ж.М.¹, Мартинкевич О.Н.²

¹ УО «Гродненский государственный медицинский университет»;

² УЗ «Гродненская университетская клиника, Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Аутоиммунная офтальмопатия (АИО) – прогрессирующее аутоиммунное воспаление мягких тканей орбиты с вторичным вовлечением в процесс глазного яблока [1]. Характерными признаками заболевания является наличие экзофтальма, пери- и ретробульбарного отека, ограничение подвижности глаз из-за вовлечения в процесс экстраокулярных мышц (ЭОМ) и ретробульбарной клетчатки (РК). Определение тактики лечения АИО является сложной задачей, так как отсутствуют единые подходы к ведению пациентов, применяются различные схемы кортикостероидной терапии.

Для правильного выбора лечения АИО необходима оценка активности заболевания по шкале CAS и определение степени тяжести согласно классификации NOSPECS. При средней и тяжелой степени тяжести и активной фазе ($CAS \geq 3/7-10$) с целью воздействия на иммунный воспалительный процесс в ЭОМ и РК широко используются глюкокортикоиды (ГК). Препаратом выбора является 6-метилпреднизолон, обладающий минимальной минерал-кортикоидной и мощной противовоспалительной активностью, противоотечным действием и, в отличие от других ГК, сбалансированными геномными и негеномными эффектами [2,3,4]. Как правило, пульс-терапия метилпреднизолоном относительно безопасна. Однако в литературе имеются сообщения о развитии острых сердечно-сосудистых заболеваний и негативном воздействии на печень.

Цель. Оценить частоту возникновения побочных реакций при проведении пульс-терапии метилпреднизолоном, применяемой в качестве терапии первой линии в лечении АИО.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 18 пациентов с АИО, находившихся на лечении в эндокринологическом отделении

и отделении микрохирургии глаза УЗ «Гродненская университетская клиника» в период с 2022 по февраль 2024г.

Проводилось комплексное офтальмологическое обследование пациентов, выполнялись в динамике клинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови (БАК) с определением глюкозы, билирубина, креатинина, аспартатаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ), гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП). Контролировалась масса тела, ЭКГ и артериальное давление (АД).

Результаты и их обсуждение. Среди пациентов было 16 женщин (88,9%) и 2 мужчин (11,1%) в возрасте от 34 до 68 лет (медиана – 49 лет) со средней степенью тяжести и активной фазой АИО ($CAS \geq 3/7-10$). Тиреостатическую терапию получали 15 человек, 3 исследуемых – после радикального лечения щитовидной железы (тиреоидэктомии). В лечении пациентов нами использовался режим пульс-терапии метилпреднизолоном: 500 мг 1 раз в неделю в течение 6 недель с последующим переходом на дозу 250 мг еженедельно в течение 6 недель (кумулятивная доза не превышала 4,5 г) [5]. Длительность заболевания пациентов составила от 14 месяцев до 3 лет. В первые сутки после введения ГК 3 пациента отмечали изжогу, 5 – гиперемию лица, 3 – бессонницу, 4 – тахикардию.

Постепенное повышение массы тела с 7 недели получаемого лечения определено у 6 пациентов, максимальная прибавка к 12 неделе составила 6 кг. При оценке АД отмечено повышение его на 4 инфузии (исходное – 120, полученное – 145 мм.рт.ст.) у 7 пациентов, что потребовало назначение гипотензивных препаратов или коррекция ранее назначенной дозы. На последующие введения метилпреднизолона АД не реагировало.

За период наблюдения у 4 пациентов было выявлено достоверно значимое повышение активности АлАТ и АсАТ после 4 и 5 инфузии метилпреднизолона (диапазон АсАТ 88-93 Ед/л). Однако трехкратного превышения верхней границы допустимых значений выявлено не было. При последующих проведениях БАК показатели АлАТ и АсАТ значимо не отличались на протяжении всего периода наблюдения. По уровню общего билирубина, креатинина, гамма-глутамилтранспептидазы повышения не диагностировано. Интересен тот факт, что изменения в БАК на фоне пульс-терапии метилпреднизолоном развились у пациентов, имеющих более длительный период заболевания АИО.

При анализе гликемии натошак ее повышение до 15 ммоль/л зафиксировано у 2 пациентов с сахарным диабетом 2 типа после пятого введения метилпреднизолона, что явилось необходимостью добавления инъекций инсулина короткого действия к получаемой терапии метформина. Результаты общего анализа крови и мочи были в пределах нормы.

Развитие офтальмогипертензии на 7 введении метилпреднизолона диагностировано у 2 пациентов. Цифры внутриглазного давления составили 28-30 мм.рт.ст. Пациентам была назначена гипотензивная терапия (ингибитор карбонгидразы – бринзоламид 1% по 2 капли 2 раза в день).

Выводы. В настоящее время определение схемы пульс-терапии для лечения АИО проводится коллегиально врачом-офтальмологом и врачом-эндокринологом с учетом степени тяжести и активности процесса, оценки общего состояния пациента и с обязательным расчетом кумулятивной дозы вводимого препарата.

Пульс-терапия метилпреднизолоном один раз в неделю относительно безопасна, хорошо переносится и позволяет сократить сроки пребывания пациентов в стационаре. Предлагаемая схема приводит к легким побочным эффектам, которые в основном проявляются гипергликемией и повышением активности печеночных ферментов, что диктует необходимость мониторинга лабораторных показателей крови. Осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы не отмечено. Необходимо контролировать внутриглазное давление и своевременно назначать гипотензивную терапию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бровкина, А. Ф. Классификация эндокринной офтальмопатии / А. Ф. Бровкина, А. С. Стоюхина // Пробл. эндокринологии. – 2006. – Т. 52, № 5. – С. 11–14.
2. Оценка эффективности пульс-терапии глюкокортикоидами у пациентов с эндокринной офтальмопатией в реальной клинической практике / В. В. Кулешова [и др.] // Мед. альманах. – 2020. – № 2 (63). – С. 70–74.
3. Corticosteroids for graves' ophthalmopathy: systematic review and meta-analysis / X. Tu [et al.] // Biomed Res Int. – 2018. – Vol. 2018. – P. 4845894.
4. The 2021 European Group on Graves' orbitopathy (EUGOGO) clinical practice guidelines for the medical management of Graves' orbitopathy / L. Bartalena [et al.] // Eur J Endocrinol. – 2021. – Vol. 185, № 4. – P. G43–G67.
5. Intravenous glucocorticoids for graves' orbitopathy: efficacy and morbidity / G. J. Kahaly [et al.] // J Clin Endocrinol Metab. – 2011. – Vol. 96, № 12. – P. 320–332.

УРОВЕНЬ АНТИМИТОХОНДРИАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ, ПОЛУЧАЮЩИХ АНТИРЕТРОВИРУСНУЮ ТЕРАПИЮ

Курбат М.Н.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Учитывая многостороннее вовлечение митохондрий в развитие лекарственного гепатита при антиретровирусной терапии (АРТ) чрезвычайно интересным, представляются данные по изменению концентрации антимитохондриальных антител при терапии ВИЧ-инфекции. Антимитохондриальные антитела (АМА) – гетерогенная группа аутоантител, направленных к различным белкам внутренней и внешней сторон митохондриальной мембраны. Существует девять типов антигенов

антимитохондриальных антител (M1-M9), из которых M2 и M9 являются наиболее клинически значимыми [3].

Подтип АМА-M2 направлен к эпитопам комплекса пируватдегидрогеназы. В пируватдегидрогеназный комплекс входят 3 фермента: пируватдекарбоксилаза (E1), дигидролипоилтрансацилаза (E2), дигидролипоилдегидрогеназа (E3) и коферменты: тиаминдифосфат, липоевая кислота, ФАД, НАД⁺ и КоА. Аутоантитела блокируют работу ферментных комплексов, присоединяясь к центрам связывания липоевой кислоты. Основной мишенью, против которого направлены 90% антител к митохондриям являются E2-субъединица пируватдегидрогеназного комплекса митохондрий. У здоровых людей антитела к митохондриям в крови в норме не выявляются вообще или выявляются в очень незначительных количествах [2].

Цель. Определить уровень АМА-M2 у ВИЧ-инфицированных пациентов, находящихся на различных схемах антиретровирусной терапии и оценить его эффективность в качестве раннего диагностического маркера лекарственного поражения печени (ЛПП).

Материалы и методы исследования. Объектом исследования были 164 пациента с диагнозом ВИЧ-инфекции, которые получали АРТ в соответствии с утвержденными клиническими протоколами. Критерии включения: верификация диагноза ВИЧ-инфекция (ИФА, иммуноблоттинг, ПЦР), наличие иммунологического (CD4) и вирусологического (вирусная нагрузка) мониторинга эффективности АРТ, добровольное с письменным информированным согласием участие пациентов, отсутствие перерывов в приеме антиретровирусных препаратов (при их назначении).

Уровень антимитохондриальных антител АМА-M2 в сыворотке крови проводили на иммуноферментном анализаторе «Sunrise» (Австрия) с применением диагностических наборов производства «DRG» (США), каталожный номер EIA-3604.

Результаты и обсуждение. В настоящее время известно, что при назначении антиретровирусных препаратов (АРП), в первую очередь нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (НИОТ), все чаще регистрируются ЛПП, развивающиеся по механизму митохондриальной цитопатии и стеатогепатита. Механизм митохондриальной токсичности обусловлен блокадой ферментов дыхательной цепи митохондрий. Митохондриальная цитопатия может быть следствием непосредственного ингибирования ферментов дыхательной цепи, а также опосредованного через снижение продукции АТФ. Свободные жирные кислоты перестают метаболизироваться, недостаток аэробного окисления приводит к накоплению лактата, свободных радикалов [1].

Высокий уровень АМА M2 в первую очередь свидетельствует о первичном билиарном циррозе печени. Невысокий уровень АМА M2 может выявляться у пациентов с хроническим гепатитом инфекционного генеза. АМА M2 также могут определяться у пациентов с системной красной волчанкой, ревматоидным артритом, синдромом Шегрена, склеродермией и тиреоидитом.

Возможно появление АМА М2 и при развитии лекарственного холестаза (около 5%), в редких случаях при внепеченочном холестазе [2].

При анализе специфических маркеров повреждения митохондрий у пациентов с ВИЧ-инфекцией обнаружено падение концентрации антимитохондриальных антител (АМАМ2) в сыворотке крови (рисунок 1)

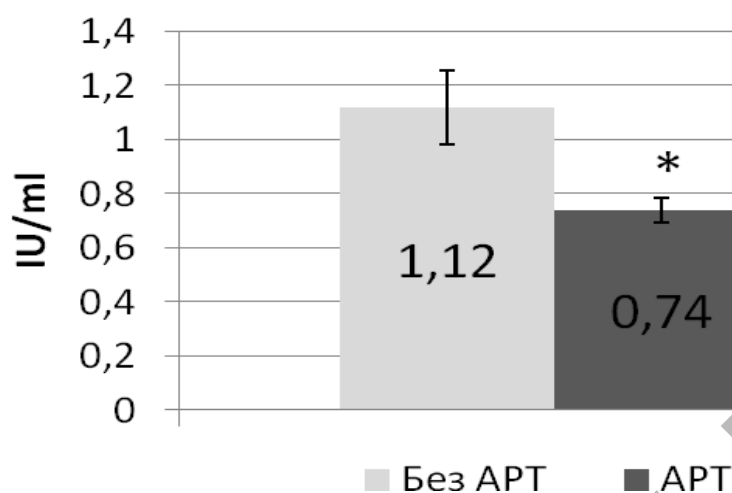


Рисунок 1 – Концентрация антимитохондриальных антител (АМА М2) в сыворотке крови ВИЧ-инфицированных пациентов

Обнаруженное в нашем исследовании снижение АМА М2 с $1,12 \pm 0,136$ до $0,74 \pm 0,044$ IU/ml в сыворотке крови ВИЧ-инфицированных пациентов, принимающих АРТ, в сравнении с ВИЧ-инфицированными, не получающими АРТ, свидетельствует об отсутствии прохолестатического эффекта АРТ, вызывающих ЛПП.

Примечательно, что в нашем наблюдении концентрация АМА-М2 снижалась у всех пациентов, находящихся на АРТ (2 и 3 группы), однако достоверные отличия регистрировались только между 1 и 3 группами (таблица 1), что вероятно, предполагало наличие цитолитического, а не холестатического варианта ЛПП (а вероятнее всего – даже смешанного) при проведении АРТ.

Таблица 1 – Уровень АМА-М2 (IE/мл) в сыворотке крови при АРТ

Показатель	Без АРТ	На АРТ	
		Нет гепатотоксичности	Есть гепатотоксичность
	Группа 1	Группа 2	Группа 3
АМА-М2	0,91 [0,75; 1,31]	0,71 [0,52; 0,76] ¹	0,71 [0,54; 0,99] ¹

Примечание – ¹ – $p < 0,05$ по критерию Мана-Уитни в сравнении с группой 1

Для повышения диагностической ценности показателей кроме интерпретации повышения индивидуальных показателей, рекомендуют рассчитывать отношения между ними.

На рисунке 2 представлена диаграмма изменения отношений между АсАТ, АлАТ, ГГТП и АМА-M2.

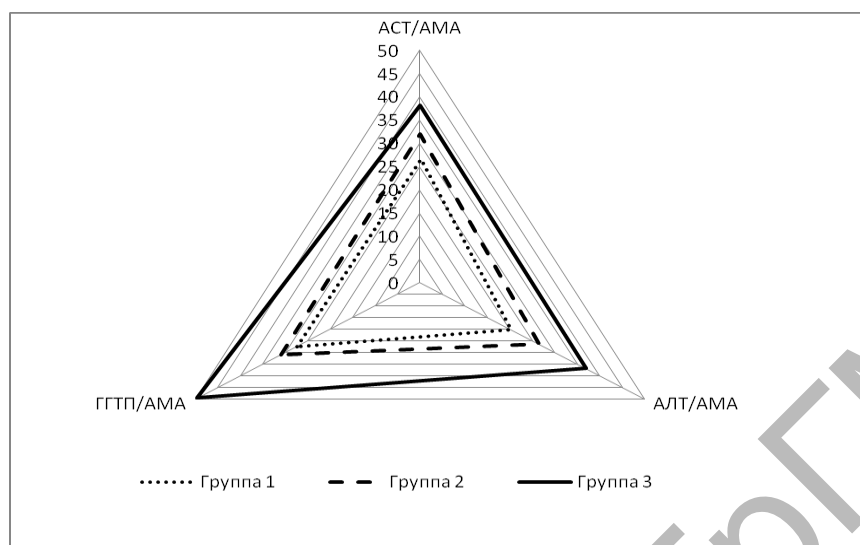


Рисунок 2 – Отношение между маркерными ферментами ЛПП и АМА-M2

Выводы. Уровень антимитохондриальных антител является перспективным показателем для диагностики лекарственного поражения печени, протекающего по смещенному (холестатический и гепатоцеллюлярному) механизму.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mitochondrio-nuclear translocation of AIF in apoptosis and necrosis / E. Daugas [et al.] // FASEB J. – 2000. – Vol. 14. – P. 729–739.
2. Teschke, R. Molecular Idiosyncratic Toxicology of Drugs in the Human Liver Compared with Animals: Basic Considerations / R.Teschke // Internal Journal of Molecular Science – 2023. – Vol. 243, №7. – P. 6663.
3. Zatonski, W.A. Liver cirrhosis mortality in Europe, with special attention to Central and Eastern Europe/ W.A. Zatonski [et al.] // Eur Addict Res. – 2010. – № 16. – P.193–201.

COVID-19 И АЛКОГОЛИЗМ: КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ АСПЕКТЫ

Лелевич С.В.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Введение. Вирус SARS-CoV-2, являясь нейротропным, проникает в центральную нервную систему трансваскулярно и транснайрально. Хроническое злоупотребление алкоголем приводит к увеличению

проницаемости ГЭБ, что способствует провоспалительному каскаду реакций, вызываемых вирусом. Алкоголь также оказывает прямое повреждающее действие на эндотелий сосудов, нарушая его антикоагулянтные свойства. В результате возникают условия для образования микротромбов в микроциркуляторном русле.

Под воздействием алкоголя происходит уменьшение количества Т-лимфоцитов в периферической крови, изменение соотношения между различными фракциями Т-лимфоцитов, торможение активации Т-клеток, снижение функции этих клеток и усиление механизмов апоптоза в них. Кроме того, наблюдается уменьшение количества В-лимфоцитов в периферической крови и изменение выработки иммуноглобулинов.

Этанол способен воздействовать на разных уровнях, затрагивая как врожденный (фагоцитоз, NK-клетки, систему комплемента), так и приобретенный иммунитет. В частности, активность NK-клеток контролируется следующими действиями алкоголя: вмешательство в коммуникацию NK-клеток с клеткой-мишенью, модификация синтеза и действия определенных цитокинов, изменение цитолитической активности, изменение сигнала трансдукции и прямое действие на нейроэндокринную систему [2]. Учитывая нередкие случаи заболеваемости COVID-19 пациентов, страдающих алкоголизмом, представилось интересным и важным проанализировать изменения лабораторных показателей крови при данных патологиях.

Цель. Проанализировать изменения лабораторных показателей крови у пациентов с COVID-19, осложненным алкоголизмом.

Материалы и методы исследования. Описательные.

Результаты и обсуждение. Изменения лабораторных показателей крови зависят от стадии инфекции. На стадии инкубации, во время которой вирус находится в носоглотке, клинические проявления минимальны или отсутствуют. На стадии генерализации, когда вирус распространяется по сосудистому руслу, взаимодействует с клетками, экспрессирующими ACE-2, и индуцирует иммунный ответ, клинические проявления сопровождаются лихорадкой. На стадии полиорганной недостаточности клинические проявления заключаются в нарушении функционирования органов с наиболее выраженным повреждением микрососудистого русла.

Изменения лабораторных показателей у пациентов с COVID-19 представлены в таблице 1.

COVID-19 увеличивает риск развития как венозной, так и артериальной тромбоэмболии из-за активации свертывания крови, вызванной сочетанием чрезмерного воспаления, активации тромбоцитов и эндотелиальной дисфункции. Наиболее распространенные изменения параметров гемостаза у пациентов, страдающих COVID-19, включают повышение уровня D-димеров, фибриногена и продуктов распада фибрина, рост протромбинового и активированного частичного тромбопластинового времени, увеличение концентрации фактора Виллебранда и фактора VIII, а также развитие тромбоцитопении (таблица 2).

Таблица 1 – Изменения лабораторных показателей у пациентов с COVID-19

I. Гематологические параметры	
Лейкоциты (количество)	Повышение
Нейтрофилы (количество)	Повышение
Лимфоциты (количество)	Снижение
Эозинофилы (количество)	Снижение
Тромбоциты (количество)	Снижение
Гемоглобин	Снижение
II. Биохимические параметры	
Альбумин	Снижение
Аланинаминотрансфераза	Повышение
Аспартатаминотрансфераза	Повышение
Общий билирубин	Повышение
Азот мочевины	Повышение
Креатинин	Повышение
Креатинкиназа	Повышение
Креатинкиназа-MB	Повышение
Лактатдегидрогеназа, лактат	Повышение
Миоглобин	Повышение
Сердечный тропонин I	Повышение
III. Параметры гемостаза	
Д-димер	Повышение
Протромбиновое время	Повышение
IV. Маркеры воспаления	
С-реактивный белок	Повышение
Ферритин сыворотки	Повышение
Прокальцитонин	Повышение
Интерлейкин-2R	Повышение
Интерлейкин-6	Повышение
Интерлейкин-8	Повышение
Интерлейкин-10	Повышение

Хронический алкоголизм часто сопровождается нарушениями водно-электролитного обмена, в частности, дефицитом K^+ и Mg^{2+} . Генез гипокалиемии и гипомагниемии при алкоголизме связан с замедлением аэробного гликолиза, потерей K^+ с мочой (при алкогольной полиурии), а также нарушением всасывания (при индуративном панкреатите). При существующем циррозе печени вторичный гиперальдостеронизм и ацидоз почечных канальцев приводят к гипокалиемии.

Таблица 2. – Изменение параметров гемостаза при COVID-19

Параметры	COVID-19
Д-димер	Повышение
Фибриноген	Повышение
Продукты деградации фибрина	Повышение
ПВ	Удлинение
АЧТВ	Удлинение
Тромбиновое время	Удлинение
Фибриноген	Повышение
Фактор VIII	Повышение
Тромбоциты	Снижение

Гипомагниемия может возникать одновременно с гипокалиемией или осложнять существующий дефицит K^+ . Изолированные нарушения гомеостаза K^+ , как правило, не приводят к вторичному нарушению гомеостаза Mg^{2+} , но первичный дисбаланс Mg^{2+} , особенно его дефицит, почти всегда приводит к вторичному дефициту K^+ . Это связано с неспособностью клетки поддерживать достаточно высокую внутриклеточную концентрацию K^+ при дефиците Mg^{2+} в результате повышенной клеточной проницаемости для ионов K^+ и блокады Na-K-АТФазы.

Инфекция COVID-19 в 10-20% случаев протекает с развитием двусторонней пневмонии, которая может сопровождаться острым респираторным дистресс-синдромом. Гипокалиемия и гипомагниемия на фоне алкогольной зависимости, в свою очередь, осложняют течение SARS-CoV-2, становясь причиной нарушений ритма, замедления атриовентрикулярной и внутрижелудочковой проводимости, снижения сухожильных рефлексов. Хроническая гипокалиемия приводит к дисфункции центральной нервной системы с развитием тревожно-депрессивного, ипохондрически-сенестопатического или астенического синдромов [1].

Выводы. Таким образом у пациентов с инфекцией COVID-19 и алкоголизмом отмечаются изменения концентрации ряда лабораторных показателей в крови. Это, в частности, касается параметров гемостаза и водно-электролитного обмена.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клещенко, П. В. Нарушения баланса при COVID-19 у пациентов с алкоголизмом/ П. В. Клещенко // Сборник материалов республиканской научно-практ. конф. студентов и молодых ученых, посв. 95-летию со дня рождения профессора Маслакова Д. А. / Гродно: ГрГМУ, 2022. – С. 379–380.
2. Сиволап, Ю. П. Пандемия COVID-19 и алкоголь: проблема, выходящая за пределы наркологии и психиатрии // Ю.П. Сиволап / Клинический разбор. – 2020. – № 2. – С.11–15.

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ СООТНОШЕНИЯ H_2S /ГОМОЦИСТЕИН В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ДЕТЕЙ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Лукша А.В.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. По данным авторов, одной из причин формирования артериальной гипертензии (АГ) предполагается участие внутриклеточных сигнальных молекул – газовых трансммиттеров [1, 2]. Недавно, наряду с NO и CO, к семейству газотрансммиттеров отнесен эндогенный сероводород (H_2S) [3]. Известно, что образование H_2S тесно связано с метаболизмом гомоцистеина (Hcy) [3]. Доказано, что уровень Hcy и H_2S взаимосвязаны друг с другом [3]. В работе J.J. Li [et al.] показано, что повышение уровня Hcy приводит к снижению продукции H_2S [4]. Принимая во внимание взаимодействие между Hcy и H_2S – соотношение H_2S /гомоцистеин может являться перспективным маркером сердечно-сосудистых заболеваний [5].

Цель исследования: определить особенности изменения соотношения H_2S /гомоцистеин в зависимости от степени прогрессирования эндотелиальной дисфункции у детей с артериальной гипертензией.

Материалы и методы исследования. Обследовано 111 детей в возрасте от 14 до 18 лет. Медиана возраста детей – 15,2 (14,0; 16,5) года. По результатам суточного мониторингирования артериального давления ($n=81$) были сформированы 2 группы: группа 1 ($n=51$) – дети с артериальной гипертензией (АГ), группа 2 ($n=30$) – дети с высоким нормальным артериальным давлением (ВНАД). Группа 3 включала 30 здоровых детей.

Для оценки вазомоторной функции эндотелия по эндотелий-зависимой вазодилатации (ЭЗВД) всем детям ($n=111$) проводилась неинвазивная функциональная проба с реактивной гиперемией с помощью аппаратно-программного комплекса «Импекард-М» («Интекард», Республика Беларусь) согласно инструкции по применению. В зависимости от степени нарушений эндотелий-зависимой вазодилатации (ЭЗВД), пациенты разделялись на группу с сохраненной ВФ эндотелия ($\Delta dz/dt > 12\%$), с умеренно выраженными ($12\% > \Delta dz/dt > -2\%$) и выраженными нарушениями ЭЗВД ($-2\% > \Delta dz/dt > -15\%$).

Содержание гомоцистеина определяли в плазме крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентной детекцией [6]. Уровень эндогенного сероводорода оценивали спектрофотометрическим методом, основанным на реакции между сульфид-анионом и кислым раствором реактива N, N-диметил-парафенилендиамина солянокислого [7]. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы Statistica 10.0.

Результаты исследования. Установили, что расчетное значение соотношения H_2S/Hcy у детей группы 1 равнялось 0,52 (0,35; 0,73), в группе 2 – 0,51 (0,30; 1,00), среди здоровых детей – 0,96 (0,70; 1,46). Выявлено, что у детей с АГ отмечается более низкое значение соотношения H_2S/Hcy по сравнению с группой здоровых детей ($p < 0,001$), что обусловлено наличием у них гипергомоцистеинемии и сниженного уровня H_2S . Статистически значимые различия получены и при сравнении группа 2 и группы 3 ($p = 0,001$). Группа 1 и 2 по соотношению H_2S/Hcy статистически не различалась ($p > 0,05$).

При анализе состояния ЭЗВД по результатам окклюзионной пробы, выявлено, что показатель вазомоторной функции эндотелия ($\Delta dz/dt$) в группе детей с АГ составил -7,2 (-9,9; -3,1) %, у детей с ВНАД – 5,5 (3,3; 7,4) %, и были достоверно ниже, чем у детей из группы сравнения – 19,6 (14,9; 26,1) % ($p < 0,001$, соответственно).

Учитывая степень выраженности нарушений ЭЗВД на 1-й минуте пробы с реактивной гиперемией, установлено, что в 78,4% детей с АГ регистрировались выраженные нарушения вазомоторной функции эндотелия, у 21,6% – умеренно выраженные. В зависимости от характера нарушений проанализированы особенности изменения соотношения H_2S/Hcy в зависимости от степени нарушений ЭЗВД в группе детей с АГ.

Соотношение H_2S/Hcy в группе детей с АГ с выраженными нарушениями ЭЗВД составило 0,48 (0,40; 0,68), с умеренно выраженными – 0,54 (0,34; 0,81), что статистически достоверно различалось ($p = 0,0004$).

С целью оценки взаимосвязи соотношения $H_2S/$ гомоцистеин с показателем вазомоторной функции эндотелия был проведен корреляционный анализ Спирмена (рисунок 1). Обнаружена прямая корреляционная взаимосвязь $\Delta dz/dt$ и соотношения H_2S/Hcy ($r = 0,424048$, $p = 0,000004$).

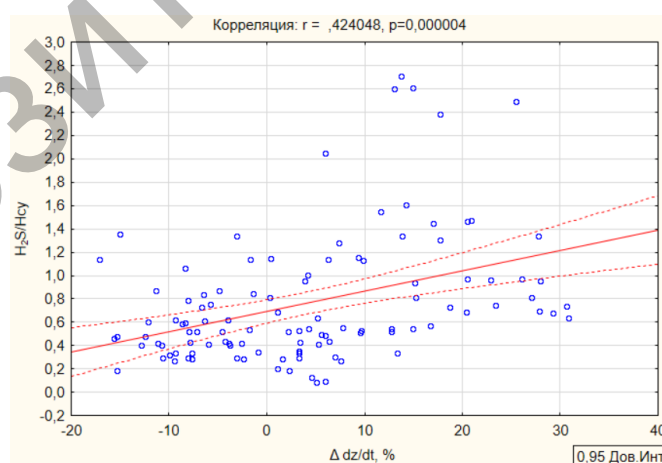


Рисунок 1 – Корреляционная связь между $\Delta dz/dt$ и соотношением H_2S/Hcy

Выводы. У детей с АГ по сравнению со здоровыми детьми наблюдается более низкое значение соотношения $H_2S/$ гомоцистеин.

Установлена прямая корреляционная взаимосвязь между показателем вазомоторной функции эндотелия сосудов и соотношением $H_2S/$ гомоцистеин в плазме крови.

При прогрессировании степени эндотелий-зависимой вазодилатации ($12\% > \Delta dz/dt > -15\%$) у детей с АГ отмечается снижение соотношения H_2S/Hcy .

Считаем, что соотношение H_2S /гомоцистеин может быть использовано как дополнительный критерий для оценки прогрессирования эндотелиальной дисфункции у детей с АГ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hydrogen sulfide and vascular regulation – An update / B. Lv [et al.] // J. Adv. Res. – 2020. – № 27. – P. 85–97.
2. Du, J. Endogenous H_2S is involved in the development of spontaneous hypertension / J. Du, H. Yan, C. Tang // Journal of Peking University. Health sciences. – 2003. – Vol. 35, № 1. – P. 102.
3. Наумов, А. В. Гомоцистеин. Медико-биологические проблемы / А. В. Наумов. – Минск: Проф. изд. – 2013. – 312 с.
4. Homocysteine triggers inflammatory responses in macrophages through inhibiting cse-h2s signaling via DNA hypermethylation of cse promoter / J. J. Li [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2015. – Vol. 16, № 12. – P. 12560–12577.
5. Yang, Q. Imbalance of Homocysteine and H_2S : Significance, Mechanisms, and Therapeutic Promise in Vascular Injury / Q. Yang, G. W. He // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2019. – P. 1–11.
6. Наумов, А. В. Определение гомоцистеина методом ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией в микрообъемах биологических жидкостей / А. В. Наумов, Е. М. Дорошенко // Аналитика РБ–2010: сб. тез. докладов республикан. науч. конф. по аналит. химии с междунар. участием. – Минск, 2010. – С. 138.
7. Norris, Eric J. The Liver as a Central Regulator of Hydrogen Sulfide / Eric J. Norris [et al.] // Shock. – 2011. – № 36.3. – P. 242–250.

ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА В КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА II ТИПА

Маглыш С.С., Хомбак В.А.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. В настоящее время известно около 40 видов коронавирусов, большинство из которых постоянно курсируют среди людей по всему миру и вызывают нетяжёлые острые респираторно-вирусные инфекции – **ОРВИ**. Они характеризуются поражением в основном верхних и средних отделов дыхательной системы – носа, глотки, гортани, трахеи и бронхов. Как правило, коронавирусные инфекции возникают, как и грипп, в зимне-весенний период из-за ослабления иммунитета и обострения хронических ЛОР-патологий в организме.

Долгое время считалось, что коронавирусы не опасны для людей, так как вызывают нетяжёлые респираторные инфекции. Кроме того, **во внешней среде** природные штаммы коронавирусов в большинстве погибают в течение нескольких часов. При благоприятных условиях эти вирусы могут прожить не более 2-х суток.

Однако это представление о коронавирусах изменилось после декабря 2019 года, когда стало известно о SARS-CoV-2 – новом виде коронавируса, впоследствии вызвавшем пандемию COVID-19 в 2019–2020 гг. Природный источник его неизвестен. Предположительно данный штамм является рекомбинантом, т. е. его генетический материал частично дополнен чужеродным геномом (возможно, летучей мыши, змеи или панголина). Он более патогенный и жизнестойкий. При комнатной температуре он может сохраняться до 7 дней в жидкой мокроте, до 4 суток в моче и фекалиях. При замораживании вирусы сохраняются до 3 недель [3].

Новый коронавирус SARS-CoV-2 попал в человеческую популяцию недавно и еще недостаточно изучен. А поскольку у людей к нему не было врождённого или приобретенного иммунитета, то восприимчивыми к заболеванию оказались почти все люди на планете. После перенесённого заболевания формируется стойкий гуморальный иммунитет, но только к тому штамму, которым переболел человек. Вирус COVID-19 постоянно изменяется вследствие мутаций, в результате чего регулярно появляются и исчезают его новые штаммы. Поэтому оказались возможны повторные заболевания, вызванные другими штаммами коронавирусов.

В отличие от **типичной коронавирусной инфекции, которая** приводит к развитию малозаметных симптомов по типу ОРВИ с поражением носовой полости и глотки, к повышению температура тела не более чем до 38°C, новая короновирусная инфекция проявляется гораздо тяжелее, а прогноз в 20 % случаев очень серьёзен вследствие развития острого респираторного синдрома, влияющего на дыхательную функцию. Наиболее распространёнными симптомами COVID–19 являются: увеличение температуры тела выше 38°C, лихорадка, повышенная потливость, потеря вкуса и обоняния, сухой кашель, тошнота, диарея и др.

Еще недавно считалось, что короновирусная инфекция наиболее опасна для пожилых людей, но новые штаммы вируса внесли свои коррективы в данные статистики. Вирус одинаково влияет на организм человека независимо от возраста. Однако у людей, ослабленных сопутствующими заболеваниями, возникает более тяжёлая **симптоматика с развитием дыхательной недостаточности**: появляется одышка, атипичный тип дыхания, нарастает слабость, могут возникать боли в груди при дыхании и кашле, боли в животе, тахикардия, губы и нос приобретают синюшный оттенок, возможно нарушение и спутанность сознания. В таких случаях требуется срочная госпитализация в отделение реанимации и интенсивной терапии, оснащённое аппаратами искусственной вентиляции лёгких.

Тяжесть заболевания COVID–19 зависит от дозы инфицирования (вирусной нагрузки) и сопутствующих заболеваний человека. Спрогнозировать

динамику этого заболевания пока довольно сложно. Но уже сейчас можно выделить группу риска. Пациенты, имеющие сахарный диабет (СД), проблемы с сердцем, давлением, патологии органов дыхания, поражение печени либо почек, относятся к группе риска. Разбалансировка метаболизма в организме и ухудшение уже имеющихся хронических заболеваний создают у них потенциально высокий риск осложнений при COVID-19.

Для предотвращения осложнений со стороны сопутствующих патологий у пациентов с COVID-19 требуется, помимо специфического лечения коронавирусной инфекции, проводить корректирующую терапию этих патологий [1]. Для повышения ее эффективности очень важно знать характер влияния COVID-19 на биохимические показатели крови, имеющие диагностическое значение для оценки сопутствующей патологии.

Пациенты с СД 2-го типа, как правило, имеют избыточную массу тела. Увеличение количества жировой ткани является следствием нарушения липидного обмена. А нарушение функции иммунной системы делает этих пациентов более уязвимыми для инфекции COVID-19. В этой связи представляло интерес определение показателей липидного обмена в крови пациентов с компенсированным и декомпенсированным СД II-го типа, инфицированных SARS-CoV-2.

Цель. Изучить показатели липидного обмена в крови пациентов с COVID-19, имеющих сопутствующую патологию – компенсированный и декомпенсированный СД II-го типа.

Материалы и методы исследования. В исследование было включено 104 пациента с СД II-го типа, сопоставимых по возрасту (от 48 до 58 лет) и стажу СД (8–9 лет) с диагнозом COVID-19, подтвержденным с помощью ПЦР, госпитализированных в стационар вследствие снижения насыщения крови кислородом ниже 95%. Анализ медицинской документации и сбор анамнеза позволили исключить у пациентов наличие других сопутствующих патологий, способных оказывать влияние на уровень исследуемых показателей, а также разделить пациентов на две группы: 1 группа – компенсированный СД; 2 группа – декомпенсированный СД [2]. У всех пациентов, включенных в исследование, в сыворотке крови была проведена оценка показателей глюкозы, холестерина, триацилглицеролов (ТАГ), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП). Для исследования использовались наборы реактивов ООО «Анализ Плюс» (Беларусь). Полученный экспериментальный материал обработан с помощью программы STATISTICA 10.0.

Результаты и обсуждение.

В сыворотке крови пациентов обеих групп был проведен анализ уровня глюкозы (1 группа – $6,28 \pm 1,31$ ммоль/л; 2 группа – $8,51 \pm 2,69$ ммоль/л, $p < 0,05$), который показал достоверные различия между группами, и подтвердил наличие декомпенсированного СД у пациентов 2 группы. В таблице 1 представлена сравнительная характеристика показателей липидного обмена в сыворотке крови у пациентов групп сравнения.

Таблица 1 – Показатели липидного обмена в сыворотке крови пациентов с COVID-19 и СД.

ПОКАЗАТЕЛИ	1 ГРУППА	2 ГРУППА
Холестерол, ммоль/л	$3,9 \pm 0,9$	$5,3 \pm 1,2^*$
Триацилглицеролы, ммоль/л	$1,76 \pm 0,67$	$5,44 \pm 2,31^*$
ЛПНП, г/л	$6,2 \pm 2,0$	$9,9 \pm 3,1^*$

Примечание: 1 группа – компенсированный СД; 2 группа – декомпенсированный СД.

* – $p < 0,05$.

При анализе данных табл. 1 установлено наличие достоверных отличий между группами по всем трем анализируемым показателям. Высокий уровень холестерина, триацилглицеролов и ЛПНП в сыворотке крови на фоне гипергликемии у пациентов с декомпенсированным СД 2-го типа коррелирует с более тяжелым течением инфекции COVID-19 в сравнении с группой 1. Это подтверждают более высокий процент повреждения легочной ткани и более низкое значение насыщения крови кислородом у пациентов 2-й группы [2].

Выводы. Таким образом, у пациентов с СД 2-го типа в стадии декомпенсации наличие инсулинорезистентности, сопровождающейся гипергликемией, приводит к резким изменениям показателей липидного обмена в крови и, приводит к более тяжелому течению инфекции COVID-19 с более высоким уровнем смертности в сравнении с группой пациентов, имеющих компенсированный СД 2-го типа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Всемирная организация здравоохранения. Лекарственная терапия при COVID-19. Вариативные рекомендации. – 2022. – 125 с.
3. Дорошкевич, И. П. Потенциальные маркеры метаболической ассоциированной жировой болезни печени у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и COVID-19 (post hoc анализ) / И. П. Дорошкевич и др. – т. 26, № 5. – 2023. – С. 592–600.
31. Руководство по инфекционным болезням / Под ред. Ю. В. Лобзина. – СПб, 2000. – Ч. 2. – С. 14–15.

ПОКАЗАТЕЛИ ПРО-/АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОВ С НАСЛЕДСТВЕННЫМ СФЕРОЦИТОЗОМ

¹Макеева К.С., ¹Новикова И.А., ¹Зубкова Ж.В., ²Мицура Е.Ф.

¹УО «Гомельский государственный медицинский университет»

²ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека»,

Гомель, Республика Беларусь

Актуальность. Про-/антиоксидантный баланс в организме определяется соотношением между прооксидантами, представленными активными формами кислорода (АФК), такими как супероксидный анион, пероксид водорода, гидроксильный радикал, синглетный кислород, оксид азота, и антиоксидан-

тами – ферментными (например, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза) и неферментными (глутатион, витамины С и Е, каротиноиды, флавоноиды и др.). Преобладание прооксидантов приводит к окислительному стрессу, который вызывает повреждение клеток, окисление белков, липидов и ДНК [4, 5]. Антиоксиданты, напротив, нейтрализуют АФК и защищают клетки от окислительных повреждений. Эритроциты особенно подвержены окислительному стрессу из-за их функции переноса кислорода.

Гемоглобин в эритроцитах подвергается процессам аутоокисления, в результате которых образуются АФК и окисленный гемоглобин (метгемоглобин). В нормальных зрелых эритроцитах АФК уравниваются и обезвреживаются антиоксидантными защитными системами, такими как глутатион [4, 5]. Однако при различных патологических состояниях, включая врожденные и приобретенные гемолитические анемии (талассемия, серповидно-клеточная анемия, врожденная дизэритропоэтическая анемия, дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, пароксизмальная ночная гемоглобинурия), про-/антиоксидантный баланс нарушается, что приводит к развитию окислительного стресса. Хотя этиология этих анемий различна, окислительный стресс опосредует ряд патологических проявлений, прежде всего гемолиз [4, 5]. Наследственный сфероцитоз – это генетическое нарушение, характеризующееся дефектами белков цитоскелета эритроцитов (спектрина, анкирина), что приводит к появлению сферических эритроцитов с пониженной деформируемостью и укороченным сроком жизни [3, 4]. Хроническая гемолитическая анемия является одним из основных клинических проявлений НС. В случае НС нарушение структуры цитоскелета эритроцитов делает их более восприимчивыми к окислительному повреждению. Кроме того, сами процессы окисления могут приводить к дополнительным дефектам белков цитоскелета, образуя порочный круг, усугубляющий клинические проявления заболевания [5].

Цель. Оценить состояние про-/антиоксидантной системы у детей с наследственным сфероцитозом.

Материалы и методы исследования. Обследовано 18 пациентов с наследственным сфероцитозом, поступивших в онкогематологическое отделение для детей ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» (ГУ «РНПЦ РМиЭЧ»). Возраст пациентов – от 2 до 16 лет (медиана – 6,5 лет, 9 мальчиков и 9 девочек). В контрольную группу вошли 38 практически здоровых детей, которые были сопоставимы с основной группой по полу и возрасту. Состояние про-/антиоксидантного баланса плазмы крови характеризовали по интенсивности люминолзависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ) с помощью флюориметра/спектрофотометра Cary Eclipse (Varian, USA) по методу Владимирова Ю. А. [1] в нашей модификации [3]. Оценивали способность плазмы крови подавлять ЛЗХЛ радикалообразующей смеси, которая включала трис-буфер (рН=8,8), раствор сернокислого закисного железа (25 ммоль/л), 0,1% раствор люминола и 3% раствор перекиси водорода. Регистрировали следующие параметры ЛЗХЛ: максимальную интенсивность свечения ($I_{\max}$) и светосумму

хемилюминесценции (S – площадь под кривой). Значения $I_{\max}$ отражают устойчивость равновесия между антиоксидантами и оксидантами и преимущественно характеризуют антиоксидантную активность биологического материала, а показатели светосуммы хемилюминесценции (S) в наибольшей степени зависят от количества оксидантов в исследуемом материале [2, 3]. Одновременная оценка двух показателей позволяет оценить совокупный результат взаимодействия веществ с прооксидантными и антиоксидантными свойствами в плазме крови на момент исследования. Результаты исследования представляли как степень подавления хемилюминесценции радикалообразующей смеси в присутствии плазмы крови и выражали в процентах.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программы «Statistica», v. 12.5 (Statsoft, США) с использованием непараметрических статистических критериев. Количественные параметры выражались в виде медианы (Me) и межквартильного размаха (25%; 75%). Для сравнения числовых данных в двух независимых группах применялся U -критерий Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Проведено сравнение показателей про/антиоксидантного статуса у пациентов с наследственным сфероцитозом и практически здоровых детей, результаты которого представлены в таблице.

Таблица. – Степень подавления интенсивности ЛЗХЛ плазмой пациентов и здоровых лиц

Показатель	Пациенты с наследственным сфероцитозом ($n=18$)	Практически здоровые лица ($n=38$)
$I_{\max}, \%$	42,3 (34,0; 45,0)*	50,7 (47,5; 57,1)
$S, \%$	35,7 (31,7; 42,5)*	48,7 (44,2; 56,2)

Примечание, * – $p < 0,05$ при сравнении показателей пациентов с НС и контрольной группы

Как видно из таблицы 1, плазма крови пациентов в меньшей мере подавляла ХЛ радикалообразующей смеси по показателю $I_{\max}$ по сравнению с группой здоровых детей ($p < 0,0001$). Значения светосуммы хемилюминесценции ($S, \%$) у обследованных пациентов были также ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,0001$). Учитывая, что степень подавления интенсивности вспышки хемилюминесценции отражает исходный уровень антиоксидантов в исследуемом материале, а значения светосуммы хемилюминесценции напрямую зависят от количества прооксидантов, указанные изменения свидетельствуют о наличии умеренно выраженного оксидативного стресса.

Выводы. У пациентов с наследственным сфероцитозом выявлено снижение антиоксидантного потенциала плазмы крови на фоне повышения содержания прооксидантов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров, Ю. А. Хемилюминесценция сыворотки крови в присутствии солей двухвалентного железа / Ю.А. Владимиров, Р.Р. Фархутдинов, М.Н. Молоденков // Вопросы медицинской химии. – 1976. – № XXII (2). – С. 216–223.
2. Мицура, Е. Ф. Оценка состояния про-/антиоксидантной системы у детей с наследственным сфероцитозом / Проблемы здоровья и экологии. Health and Ecology Issues // Е.Ф., Мицура, И.А. Новикова, Т.С. Петренко, К.С., Макеева, Л.И. Волкова. – 2021. – № 18 (1). – С. 55–61.
3. Петренко, Т. С. Методологические подходы к оценке хемилюминесценции плазмы крови / Петренко Т.С., Новикова И.А., Гомоляко А.В. // В сб. матер. междунар. науч.-практ. конф. «Современные проблемы радиационной медицины: от науки к практике; 2013, Гомель. – Гомель, Беларусь: РНПЦ РМиЭЧ, 2013. – С. 49–50.
4. Fibach, E. The role of oxidative stress in hemolytic anemia / E. Fibach, E. Rachmilewitz // Curr Mol. Med, – 2008 Nov, – Vol. 8(7) – P. 609–19.
5. Rocha, S. Linkage of typically cytosolic peroxidases to erythrocyte membrane - A possible mechanism of protection in Hereditary Spherocytosis / S. Rocha, P. Rocha-Pereira, E. Cleto, F. Ferreira, L. Belo, A. Santos-Silva // Biochim Biophys Acta Biomembr. – 2020 Mar 1, – Vol.1862 (3) – P.183172.

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ДЛЯ ПОСТАНОВКИ ДИАГНОЗА РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Махачей М.В., Шахаб С.Н.

*УО «Международный государственный экологический институт имени
А.Д. Сахарова» Белорусский государственный университет,
Минск, Республика Беларусь*

Повышенное внимание международной общественности к ревматологии связано с тем, что аутоиммунные заболевания представляют собой хроническую патологию, требующую постоянного дорогостоящего лечения. Возрастание числа случаев заболеваний среди лиц трудоспособного возраста - приводит к росту временной и стойкой нетрудоспособности у половины пациентов в течение первых 3-5 лет от начала болезни, а через 20 лет треть пациентов становятся полными инвалидами. Поэтому раннее выявление ревматоидного артрита у населения и своевременное начало терапии – являются чрезмерно актуальными вопросами в современном мире.

Терапия ревматологических заболеваний отличается особой сложностью вследствие мультифакторности причин развития заболеваний и неспецифичности их клинических проявлений.

Точная постановка диагноза в ревматологии становится все более возможной, поскольку в последние годы ревматология использует самые

актуальные открытия, инициирует внедрение высокотехнологичной медицинской помощи и консолидирует силы различных специальностей (ревматологов, ортопедов, кардиохирургов, реабилитологов, фармакологов и т.д.), чтобы открыть новые мишени патогенетической терапии и внедрить современные подходы фармакотерапии.

Патологический процесс при ревматоидном артрите (далее – РА) представляет собой системное аутоиммунное воспаление, которое с максимальной интенсивностью затрагивает синовиальную оболочку суставов. Возникает воспалительный процесс внутри сустава, при котором синовиальная оболочка утолщается и становится более плотной (паннус), а сам сустав припухает. По мере роста «панусса» начинается деформация суставного хряща, что в последствии приводит к ослаблению связок, сухожилий и мышц, а в самых запущенных случаях к лизису (растворению) головок костей. На этом фоне кости, формирующие сустав, начинают деформироваться и разрушаться. Эволюция РА включает несколько стадий: "преклиническая", которая трансформируется в "симптоматическую", завершающуюся формированием клинико-лабораторного симптомокомплекса, характерного для раннего, а затем развернутого РА [3].

Иммунная система человека вырабатывает антитела, которые борются с вирусами и бактериями, а также чужеродными веществами. При ревматоидном артрите происходит продуцирование антител против здоровых клеток и тканей организма. Их называют аутоантителами, и они обнаруживаются более, чем у 90% пациентов, страдающих РА. Аутоантитела могут быть направлены против фрагментов молекулы ДНК, фосфолипидов и т. д. Обнаружение и клиническое исследование в крови различных аутоантител имеет важное диагностическое значение для подтверждения аутоиммунных заболеваний, а также контроля за лечением и прогнозированию дальнейшего прогрессирования [1].

Наиболее характерными для диагностики РА являются антитела к цитруллинированным белкам (АЦБ). Это аутоантитела, которые распознают антигенные детерминанты аминокислоты цитруллина, образующейся в процессе посттрансляционной модификации белков, наиболее часто определяются антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) и антитела к модифицированному цитруллинированному виментину (anti-MCV) [4].

Антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) – аутоантитела, образующиеся иммунной системой против цитруллинового пептида. Цитруллин не относится к стандартным аминокислотам, включаемым в белки при их синтезе, а возникает в результате последующей модификации аминокислоты аргинина. АЦЦП антитела вырабатываются в синовиальной оболочке, а плазмоциты, секретирующие эти антитела, выделяются от пациентов с ревматоидным артритом. В суставах с ревматоидным артритом этот процесс значительно усилен, поэтому образуется больше цитруллина, меняется структура белка, что вызывает иммунный ответ против него. АЦЦП имеют высокую специфичность более 95% и

чувствительность 80% для ревматоидного артрита. Анализ назначается для подтверждения и дифференцировки диагноза РА [2,4].

Антитела к цитруллинированному виментину (anti-MCV) – это аутоантитела, направленные против собственного белка организма виментина. Виментин – это один из белков, который в большом количестве обнаруживаемый в синовиальной оболочке суставов. Антитела наиболее часто обнаруживаются в крови пациентов с РА и рассматриваются в качестве клинико-лабораторного маркера этого заболевания. Специфичность анализа на anti-MCV достигает 98 %. Это означает, что положительный результат исследования у пациента с клиническими признаками РА позволяет подтвердить диагноз. Специфичность исследования anti-MCV в отношении РА сопоставима со специфичностью исследования на АЦЦП и гораздо выше, чем у исследования на РФ (специфичность 70%). Благодаря этому преимуществу данный анализ был включен в новые диагностические критерии РА, наряду с ревматоидным фактором и иными лабораторными показателями [4,6].

Вместе с определением содержания АЦБ всем пациентам с подозрением на РА с целью диагностики заболевания назначают определение ревматоидного фактора (РФ) в крови. Ревматоидные факторы (РФ) - аутоантитела IgM, реже IgA и IgG изотипов, реагирующие с Fc-фрагментом IgG. Аутоантитела атакуют собственные ткани, ошибочно принимая их за чужеродные. Хотя природа РФ еще мало изучена, его присутствие является индикатором воспалительных и аутоиммунных процессов. Выявление высоких титров РФ в крови при наличии типичных клинических симптомов является значимым для подтверждения диагноза и оценки прогноза патологического процесса. Повышение уровня РФ можно обнаружить через 6-8 недель после появления клинических симптомов заболевания в 70-90% случаев. При этом отрицательный результат не исключает ревматоидный артрит. Положительные результаты определения IgM РФ и АЦЦП в сыворотке крови входят в число классификационных критериев РА. Определение содержания РФ в крови в высоких титрах служит для прогнозирования быстро прогрессирующего деструктивного поражения суставов и развития внесуставных проявлений при РА [5,7].

При подозрении на системное заболевание соединительной ткани в качестве первичного исследования так же необходимо определить в сыворотке пациента наличие антиядерных антител класса IgG (или антинуклеарных антител, S-ANA IgG).

Антитела к ядерным антигенам (ANA) – это гетерогенная группа аутоантител, направленных против компонентов собственных ядер. Исследование ANA используется в качестве скрининга аутоиммунных заболеваний у пациента с клиническими признаками аутоиммунного процесса (длительная лихорадка неясного генеза, суставной синдром, кожные высыпания, слабость и др.). Отрицательный результат исследования ANA не исключает наличия аутоиммунного заболевания. ANA выявляются у 3-5% здоровых людей [1].

Антитела к экстрагируемому ядерному антигену (ENA-скрин) – это гетерогенная группа аутоантител, взаимодействующих с различными белками,

относящимися к рибонуклеопротеинам. При обследовании пациентов с ревматоидным артритом, системной красной волчанкой и другими системными заболеваниями соединительной ткани были обнаружены антитела к ядерным рибонуклеопротеинам, что впоследствии дало название всей группе антител. Затем удалось выявить антитела и к цитоплазматическим рибонуклеопротеинам, но название, однако, осталось прежнее. ЕНА-скрин – это исследование, позволяющее выявить в сыворотке крови какие-либо антитела к цитоплазматическим и ядерным антигенам. Антитела к экстрагируемому ядерному антигену являются клинико-лабораторным маркером различных системных заболеваний соединительной ткани [1].

В последнее время в научном мире стала всё чаще появляться информация про Анти-CarP и Анти-PAD антитела, которые так же отнесут к диагностическим маркерам аутоиммунных заболеваний [8].

Антитела против CarP (карбамилированного белка) были впервые описаны Shi et. al. в 2011 году, они определяются у АЦЦП-положительных (30-40%) и АЦЦП-отрицательных (10-15%) пациентов. По сравнению с АЦЦП, анти-CarP антитела демонстрируют более низкую чувствительность и специфичность, однако при их наличии, независимо от статуса АЦЦП, наблюдается более быстрое рентгенологическое прогрессирование РА. Также, как АЦЦП и РФ, анти-CarP антитела могут определяться за годы до начала РА, при этом комбинация аутоантител АЦЦП, РФ и анти-CarP тесно связана с РА. Было показано, что альфа-1-антитрипсин (А1АТ) является мишенью для антител против CarP у пациентов с РА, и было продемонстрировано, что карбамилированный А1АТ выявляется в пораженных суставах у пациентов с РА [8].

Анти-PAD антитела – антитела, направленные на протеин-аргинин деиминазы (PAD), – фермента, который катализирует превращение пептидиларгинина в пептидилцитруллин (посттрансляционная модификация, известная как цитруллирование). Совокупное понимание роли белков PAD в патогенезе РА и возможности блокирования их активности в качестве новой стратегии лечения привлекает к ним все большее внимание – PAD2, PAD3, PAD4 были идентифицированы как аутоантигены при РА [8].

Наиболее охарактеризованы антитела против PAD4:

- они, как правило, связаны с наличием АЦЦП, согласно данным мета-анализа, их совокупная чувствительность при РА составляет 38% при специфичности 96%.

- антитела против PAD4 были обнаружены так же у АЦЦП-отрицательных пациентов, что указывает на их диагностическую ценность при серонегативных вариантах (РФ- и АЦЦП-) РА; также была показана их связь с эрозивным и тяжелым вариантом заболевания;

- подобно АЦЦП и РФ, антитела к PAD4 могут предшествовать началу заболевания и обнаруживаются на доклинической фазе у части пациентов с РА, однако точное время появления этих антител, их эволюция по мере прогрессирования заболевания, а также потенциальное влияние лечения на уровни антител всё еще требуют систематических исследований.

Недавно описанные при РА анти-PAD2 антитела, в отличие от антител против PAD4 или PAD3/4 XR, характерны для генетически и клинически отличного подтипа РА с менее тяжёлым исходным воспалением суставов, более медленным прогрессированием и менее частым поражением лёгких (ИЗЛ) [8].

Ещё одним методом при дифференциальной диагностике РА и составлении прогноза возможных осложнений является генетический анализ типирования HLA-B27. Антиген HLA-B27 – это специфический белок, который обнаруживается на поверхности иммунных клеток и относится к белкам главного комплекса гистосовместимости человека. Нарушение иммунных реакций, связанных с наличием некоторых аллелей является фактором, приводящим к развитию воспалительных реакций [7].

Обнаружение антигена HLA-B27 связано с повышенным риском развития заболеваний из группы серонегативных спондилоартритов. Так, этот антиген может быть выявлен у 90-95 % пациентов с анкилозирующим спондилоартритом (болезнь Бехтерева), 75 % пациентов с РА (синдром Рейтера). Наличие антигена HLA-B27 у пациентов с другими заболеваниями суставов (подагра, ревматоидный артрит, септический артрит) не превышает 7-8 %. Исходя из вышеперечисленного, выявление антигена HLA-B27 имеет большое диагностическое значение в клинике ревматологических болезней. Определение антигена HLA-B27 проводят для прогнозирования осложнений РА. Наличие HLA-B27 связано с трехкратным увеличением риска атланто-аксиального подвывиха [10].

Помимо аутоантител, подробно описанных в данной обзорной статье, с целью первичной дифференциальной диагностики РА и оценки активности воспаления всем пациентам обязательно делают общий (клинический) анализ крови развернутый и исследование уровня С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови количественным методом. Для пациентов с РА характерно преобладание полиморфно-ядерных нейтрофилов (до 85%), повышение уровня общего белка (30-60 мг/л), увеличение уровня глюкозы (1,0-2,0 ммоль/л) [3,9].

СРБ – острофазовый белок сыворотки крови, который относится к наиболее чувствительным лабораторным биомаркерам воспаления, инфекции и тканевого повреждения. СРБ является более стабильным и воспроизводимым биомаркером воспаления, чем СОЭ. СОЭ – высокочувствительный, но неспецифичный и нестабильный маркер системного воспаления, значение которого может существенно повышаться при анемии, гиперхолестеринемии, беременности, различного рода воспалительных реакциях в организме. Повышение СОЭ и концентрации СРБ отражает локальный и системный воспалительный процесс при РА. Эти показатели, входят в число классификационных критериев РА и являются компонентами индексов активности РА [3].

Таким образом, в многочисленных исследованиях было показано, что появление/повышение уровня аутоантител и иных лабораторных биомаркеров воспаления могут предшествовать развитию РА за много лет до появления клинических симптомов. Однако не существует единого предиктора, который обеспечивал бы достаточную прогностическую ценность: точно оценить, у кого

разовьется РА, и когда может произойти переход в РА. Это важно, так как понимание ожидаемого времени развития будущего РА помогает консультировать людей, планировать клинические исследования, в которых ожидаемая частота событий для перехода к РА необходима для планирования оптимального дизайна исследования. Например (гипотетически), выявление у субъекта А того, что аутоантитело X, цитокин Y и статус гликозилирования Z являются аномальными, может помочь определить, сколько времени пройдет до развития РА, а также определить конкретную мишень (например цитокин Y) для профилактики и, возможно, превентивной терапии. Поэтому дальнейшее изучение методов лабораторной диагностики и дальше остаётся чрезвычайно актуальным вопросом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Актуальные проблемы общей и клинической биохимии – 2023 : материалы республиканской научно-практической конференции, 26 мая 2023 г., г. Гродно, Республика Беларусь / ГрГМУ; отв. ред. В. В. Лелевич. – Гродно: ГрГМУ, 2023. – С. 371-374.
2. Клиническое значение антител к циклическому цитруллированному пептиду при раннем ревматоидном артрите / Лапин С.В [и др.] // Медицинская Иммунология. – 2004. – Т. 6, №1-2. – С. 57-66.
3. Клинические рекомендации "Ревматоидный артрит" [Электронный ресурс] / Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/250_2. – Дата доступа: 27.03.2024.
4. Лапин, С. В. Антитела к цитруллированным антигенам / С. В. Лапин, А. А. Тотолян // Лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний. Журнал "Terra Medica nova". – 2007. – № 3. – С. 15.
5. Москалев, А. В. Аутоиммунные заболевания, диагностика и лечение / А. В. Москалев, А. С. Рудой. – М. : Медицина, 2020. – С. 100-105.
6. Яременко, О.Б. Диагностика ревматоидного артрита на ранних стадиях / О.Б. Яременко, А.М. Микитенко // Кафедра госпитальной терапии № 1 Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца, г. Киев.
7. Etiology and Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis / Gary S. Firestein [et. al.] // J of Kelley and Firestein's textbook of rheumatology. – 2017. – V.2 – P. 1115-1116.
8. Precision medicine in the care of rheumatoid arthritis: Focus on prediction and prevention of future clinically-apparent disease / M. Mahler [et. al.] // J of Autoimmunity Reviews. – 2020. – Vol. 19, № 5. – Article 102506.
9. Rheumatoid arthritis / JS Smolen [et.al.] // J of Nat Rev Dis Primers. – 2018. – V.4. – Article 18001.
10. Seo, B.Y., Flow cytometric human leukocyte antigen-B27 typing with stored samples for batch testing / B.Y. Seo, DI. Won // J of Ann Lab Med. – 2013. – Vol. 33, № 3. – P.174-183.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ОСТРОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА В УСЛОВИЯХ БОЛЬНИЦЫ СКОРОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ

Парфёнова Н.Н.

*УЗ «Могилёвская городская больница скорой медицинской помощи»,
Могилев, Республика Беларусь*

Актуальность. Острый коронарный синдром (ОКС) представляет собой обострение стабильного течения ишемической болезни сердца и клинически проявляется формированием инфаркта миокарда, развитием нестабильной стенокардии или внезапной смерти. В диагностике инфаркта миокарда ведущее значение имеют – клиническая картина, электрокардиограмма и лабораторная диагностика.

Цель: оценка информативности биохимических маркеров при развитии инфаркта миокарда.

Материалы и методы исследования. Материалом послужили клинические данные 62 пациентов кардиологического отделения УЗ «МГБ СПМ» с диагнозом при поступлении: острый коронарный синдром. Методами исследования явились: биохимический, статистический, метод изучения и анализа медицинской документации.

Результаты и обсуждение. Могилёвская городская больница скорой медицинской помощи является одним из старейших лечебных учреждений не только Могилёва, но и всей Беларуси, она была открыта в 1802 году. На базе учреждения функционирует кардиологическое отделение для пациентов с инфарктом миокарда. Отделение рассчитано на 66 коек, из которых 6 является койками палаты интенсивной терапии.

Необходимые диагностические тесты относительно поступивших пациентов с подозрением на острый инфаркт миокарда выполняются в условиях приемного отделения. Наиболее ранним маркером инфаркта миокарда является миоглобин крови. Миоглобин это гемсодержащий хромопротеид, представляющий собой легкую цепь миозина. Основной функцией которого, является транспорт кислорода в скелетных мышцах и миокарде. Миоглобин один из первых маркеров инфаркта миокарда, начало его увеличения в крови можно определить уже через 2-3 часа, своего максимума концентрация достигает к 6-12 часам после начала приступа. Уровень миоглобина в крови напрямую зависит от площади повреждения миокарда и может повышаться в 4-10 раз. Максимум активности наблюдается через 6-12 часов после начала приступа, возвращение к норме у пациентов с инфарктом миокарда отмечается на 2-3 сутки. Если у пациентов, перенесших инфаркт миокарда, отмечается повторное повышение уровня миоглобина в крови, то это может свидетельствовать о расширении зоны ишемии миокарда или образовании новых некротических очагов.

Наиболее часто в клинической практике УЗ «МГБ СМП» используют определение уровня тропонина в крови. Тропонин представляет собой кардиоспецифичный белок миофибрилл кардиомиоцитов. Тропониновый комплекс входит в состав сократительной системы миокардиоцита и представлен тремя белками: тропонином Т (связывает тропомиозин), тропонином С (ответственный за связывания кальция), тропонином I (ингибирует предыдущие процессы). Тропонин Т и тропонин I существуют в специфичных для миокарда изоформах, что обуславливает их абсолютную кардиоспецифичность. Тропонин Т в сердечной мышце по аминокислотному составу и иммунным свойствам отличается от тропонина Т скелетных мышц. Его норма в крови здорового человека, даже после интенсивной физической нагрузки, по данным исследований, не превышает 0,5 нг/мл. Количественное определение тропонина у пациентов с подозрением на инфаркт миокарда проводится в клинической лаборатории УЗ «МГБ СМП» на экспресс-анализаторе Nano-Checker 710 N с помощью тест-полосок методом горизонтальной иммунохроматографии. Биологическим материалом может выступать цельная кровь, сыворотка или плазма крови.

Повышение уровня тропонина Т наблюдается уже через 3-4 часа после начала приступа, причем в первый день это зависит от кровотока в зоне инфаркта. Максимальная концентрации тропонина Т отмечается через 12-18 часов, при крупноочаговом инфаркте в течение 5-7 дней наблюдается «плато», что объясняет наличие длительного «диагностического окна». Нормализация уровня тропонина приходится на 7-20 сутки. Для адекватной диагностики необходимо 2-3-х кратное определение уровня тропонина Т в течение первых 12 часов. Диагностическое значение на ранних этапах развития инфаркта миокарда имеет выполнение общего анализа крови с подсчетом лейкоцитарной формулы. В общем анализе крови характерным является подъем уровня лейкоцитов. Объясняется это резорбцией некротических масс и развитием асептического воспаления в зоне некроза, так называемый резорбционно-некротический синдром.

При мелкоочаговом инфаркте миокарда лейкоцитоз, как правило, наблюдается спустя 3-4 часа с момента приступа, максимального уровня достигает на 2-5-е сутки, нормализация уровня лейкоцитов приходится на 7-9 сутки. В случае крупноочагового инфаркта миокарда уровень лейкоцитов возрастает на 3-4-й, возможно даже в течение первых 12-ти часов после начала приступа. Максимально зарегистрированный уровень лейкоцитов у пациентов кардиологического отделения с диагнозом инфаркт миокарда составлял $15 \times 10^9 / \text{л}$ и определяется к концу первой недели. Лейкоцитарная формула при остром инфаркте миокарда также имеет свои особенности – у большинства пациентов в первые сутки отмечается полное исчезновение эозинофилов. Также кроме повышения уровня лейкоцитов можно отметить повышение СОЭ. Основным фактором, определяющим повышение СОЭ у пациентов с острым инфарктом миокарда, является изменение белкового состава крови: увеличение содержания в плазме крупнодисперсных белков (фибриногена, иммуноглобулинов и парапротеинов), а также уменьшение

содержания альбуминов. Необходимо отметить так называемый феномен «ножниц» между лейкоцитозом и уровнем СОЭ: к концу 1-ой – началу 2-ой недели лейкоцитоз снижается, а СОЭ растет.

При инфаркте миокарда распространенным является опеределение активности ферментов и изоферментов в сыворотке крови – АсАТ, АлАТ, ЛДГ, КК, а также КК-МВ. Основными причинами их повышения является деструкция миокардиомиоцитов, повышение проницаемости мембран клеток сердца, печени и других паренхиматозных органов (чему способствует гипоксия тканей). Повышение активности АсАТ в сыворотке крови наблюдается через 6-8 часов от начала приступа, своего максимума оно достигает через 24-36 часов и снижается до нормы на 5-6 сутки. При мелкоочаговом инфаркте миокарда повышение активности ЛДГ наблюдается через 8-10 часов, к концу 1-2-х суток наблюдается максимальный уровень и ЛДГ остается увеличенной около недели. В случае крупноочагового инфаркта миокарда наблюдается повышение активности ЛДГ в 2 раза и более, такой уровень сохраняется до 2-х недель.

В диагностический минимум при подозрении на острый инфаркт миокарда входит и определение в сыворотке крови активности креатинкиназы МВ (СК-МВ). Это одна из изоформ фермента креатинкиназы, участвующего в энергетическом обмене клеток. Креатинкиназа состоит из двух единиц М и В, комбинации этих субъединиц образуют изоформы СК-ВВ, СК-ММ (преобладают в мышечной и нервной ткани) и СК-МВ (находится практически исключительно в сердечной мышце). Тем самым увеличение активности СК-МВ служит в качестве специфического индикатора повреждения миокарда. Повышение активности, как КК, так и КК-МВ наблюдается уже через 2-4 часа с момента начала острого инфаркта миокарда. Максимальной активности КК наблюдается через 24-36 часов, возвращение к норме на 3-6-е сутки. КК-МВ своего максимума достигает через 12-18 часов, к норме возвращается уже на 2-3-е сутки. Вероятность инфаркта миокарда повышается, если кроме повышения активности ферментов, учитывать их соотношение: КК-МВ/общая КК увеличивается в 13 раз, КК/АсАТ – в 5 раз и КК/ЛДГ – в 6 раз.

Выводы. Таким образом, повышение активности миокардиальных ферментов и концентрации белков в крови при остром инфаркте миокарда является переходящим явлением и имеет свои закономерности, которые должны быть четко соотнесены с конкретным маркером и временем, прошедшим с момента появления первых симптомов до момента лабораторной диагностики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Камышников, В. С. Клиническая лабораторная диагностика соматических заболеваний / В. С. Камышников. – Минск: Адукацыя і выхаванне, 2014. – 464 с.;
2. Староверов, И. И. Евразийские клинические рекомендации по диагностике и лечению острого коронарного синдрома с подъемом сегмента ST (ОКСПST) / И.И. Староверов, Р.М. Шахнович, М.Ю. Гиляров, А.Л. Комаров,

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С РАННИМИ СТАДИЯМИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО НА ОСНОВЕ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

Таганович А.Д.¹, Ковганко Н.Н.¹, Рутковская Ж.А.¹, Готько О.В.²,
Прохорова В.И.²

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск;

²Государственное учреждение «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова», аг. Лесной, Республика Беларусь

Актуальность. Рак легкого находится на первом месте по смертности от онкологических заболеваний [1]. Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) составляет около 85% всех случаев рака легкого, который на основании гистологического исследования чаще всего является или плоскоклеточным раком (ПКРЛ) или аденокарциномой (АК) [1].

Даже после хирургического удаления опухоли у пациентов развиваются рецидивы, обусловленные скрытыми метастазами. У пациентов с I и II стадиями ПКРЛ частота таких рецидивов колеблется от 25 до 30% [2]. Поэтому поиск предикторов развития рецидива опухоли у них представляет чрезвычайную важность. Тем более, что лабораторных биохимических критериев, претендующих на роль таких предикторов, нет.

Цель работы: изучить возможность использования предложенных нами ранее прогностических маркеров для оценки вероятности рецидива в течение первого года после резекции опухоли у пациентов с I-II стадиями ПКРЛ.

Материалы и методы. В исследовании участвовало 57 пациентов (32 мужчины и 25 женщин), поступивших в клинику ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» в период 2021-2022гг., у которых впервые диагностирован ПКРЛ I или II стадии. Все испытуемые дали письменное добровольное согласие на участие в исследовании. Проведение исследования было одобрено решением Комитета по биомедицинской этике учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» (протокол заседания № 2 от 04.10.2021г.). Рецидив опухоли диагностировался на основании данных клинического обследования, включающих результаты компьютерной томографии через 6 и 12 месяцев после окончания лечения, а также результаты гистологического обследования.

Уровень показателей крови измеряли до начала лечения и через 3 недели, 3 и 6 месяцев после операции, соответственно. В образцах сыворотки крови определяли концентрацию SCC электрохемилюминесцентным методом на автоматическом анализаторе Cobas e411 (Roche Diagnostics GmbH, Германия) с использованием оригинальных наборов Elecsys SCC, Roche. Концентрацию рецепторов CXCR2 и CD44v6 в клетках лейкоцитарного ряда и

плотность их расположения в мембране клетки определяли, используя проточный цитофлуориметр Navios (Beckman Coulter, США).

Оценку интегральной диагностической информативности лабораторных тестов проводили с помощью метода построения характеристических ROC-кривых с последующим вычислением площади под ROC-кривой (AUC). О диагностической ценности анализируемых показателей судили на основании расчета диагностической чувствительности (ДЧ), диагностической специфичности (ДС), предсказательной ценности положительного (ПЦПР) и отрицательного результатов (ПЦОР) и диагностической эффективности (ДЭ) теста.

Комбинированная модель для прогнозирования вероятности развития рецидива ПКРЛ представляла результат регрессионного уравнения (Y), включающего концентрацию антигена SCC в сыворотке крови (X1), долю лимфоцитов с рецептором CXCR2 (X2) и долю моноцитов с рецептором CD44v6 (X3) в популяциях этих клеток крови [3]:

$$Y = \frac{\exp(-0,492 + 0,306 \times X1 + 0,759 \times X2 + 0,917 \times X3)}{1 + \exp(-0,492 + 0,306 \times X1 + 0,759 \times X2 + 0,917 \times X3)}$$

При всех видах статистического анализа критическое значение уровня значимости принимали как равное 5%.

Результаты и обсуждение. Диагностическая эффективность (ДЭ) прогнозирования вероятности развития рецидива по результатам определения разницы уровня каждого из показателей в отдельности в период 3 недели – 3 месяца после операции составляет 68,4-77,2%. Расчет комбинированной модели в указанные сроки повышает эффективность прогноза до 84,2%. Это значит, что если результат комбинированной модели, рассчитанной на основе разницы уровня превышает 0,085, то в 58,8% случаев (ПЦПР) у пациента действительно высокая вероятность рецидива опухоли, в то время как при значении уравнения $\leq 0,085$ у 95% пациентов (ПЦОР) будет правильно предсказано отсутствие рецидива (таблица 1).

Таблица 1. – Диагностическая информативность определения разницы уровня SCC, CXCR2, % в лимфоцитах, CD44v6, % в моноцитах и комбинированной модели в различные периоды наблюдения после лечения для прогнозирования развития послеоперационного рецидива при ПКРЛ

Показатель	ПЗ	ДЧ	ДС	ПЦПР	ПЦОР	AUC	ДЭ
3 недели-3 месяца после лечения							
SCC, нг/мл	0,16	75,0	77,8	47,4	92,1	0,702	77,2
CXCR2, %, лимфоциты	2,82	66,7	68,9	36,4	88,6	0,641	68,4
CD44v6, %, моноциты;	0,38	58,3	73,3	36,8	86,8	0,683	70,2
Комбинированная модель	0,085	83,3	84,4	58,8	95,0	0,799	84,2

3-6 месяцев после лечения

SCC, нг/мл	0,32	83,3	82,2	55,6	94,9	0,793	82,5
CXCR2, %, лимфоциты	4,20	75,0	71,1	40,9	91,4	0,692	71,9
CD44v6, %, моноциты;	0,58	66,7	75,6	42,1	89,5	0,708	73,7
Комбинированная модель	0,119	91,7	91,1	73,3	97,6	0,866	91,2

3 недели-6 месяцев после лечения

SCC; нг/мл	0,47	91,7	88,9	68,8	97,6	0,831	89,5
CXCR2, %, лимфоциты	7,05	83,3	86,7	62,5	95,1	0,815	86,0
CD44v6, %, моноциты;	1,01	75,0	84,4	56,3	92,7	0,794	82,5
Комбинированная модель	0,195	100	95,6	85,7	100,0	0,928	96,5

Разница результатов определения каждого из показателей в период 3-6 месяцев после лечения демонстрирует диагностическую эффективность предсказания рецидива от 71,9 до 82,5%. Диагностическая эффективность результата расчета комбинированной модели в указанные сроки составляет 91,2%. При этом ПЦПР составляет 73,3% и ПЦОР – 97,6% для ПЗ – 0,119. Большая разница уровня показателей в период 3 недели-6 месяцев после оперативного лечения по сравнению с изменением уровня этих показателей в период 3-6 месяцев имеет более высокую прогностическую информативность. В период 3 недели-6 месяцев изменение их уровня позволяет предсказывать развитие рецидива в течение года после проведенного лечения с ДЭ 86-89,5%, а результатов расчета комбинированной модели – 96,5%.

Выводы. В результате измерения разницы значения комбинированной модели, включающей уровень SCC, долю лимфоцитов с рецептором CXCR2 и долю моноцитов с рецептором CD44v6 в популяциях этих клеток крови через 3 недели и 6 месяцев после операции, можно прогнозировать вероятность рецидива опухоли у пациентов с I-II стадиями ПКРЛ с эффективностью 96,5% (ДЧ – 100%, ДС – 95,6% при ПЗ 0,195).

ЛИТЕРАТУРА

1. Siegel, R. L. Cancer statistics / R.L. Siegel, K.D. Miller, N.S. Wagle, et al. // CA Cancer J Clin. 2023. – Vol. 73, № 1. – P. 17–48.
2. Moskalenko, Y. Prognostic factors for recurrence in patients with surgically resected non-small cell lung cancer / Y. Moskalenko, O. Smorodskaya, V. Deineka, et al. // Contemp. Oncol. (Pozn). – 2022. – Vol. 26, № 3 – P. 239–246.
3. Tahanovich, A. D. Determination of the Risk of Tumor Progression in Patients with Early Stages of Adenocarcinoma and Squamous Cell Lung Carcinoma Based on Laboratory Parameters / A.D. Tahanovich, N.N. Kauhanka, V.I. Prohorova, et al. // Biochem. Moscow Suppl. Ser. B. – 2022. – Vol. 16. – P. 154–163.

КРИТИЧЕСКИЕ ЗНАЧЕНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ПРАКТИКЕ КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Шилейко И.Д.^{1,2}, Колядко Н.Н.¹, Алехнович Л.И.²

¹УЗ «Национальная антидопинговая лаборатория»;

²УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Актуальность. Проблема критических значений (КЗ) лабораторных показателей обсуждается медицинским сообществом многих стран мира. В настоящее время система КЗ, будучи весьма значимой для обеспечения безопасности пациента, получила международное признание и входит в число требований при аккредитации медицинских лабораторий, поэтому разработка перечней КЗ лабораторных показателей и совершенствование процедуры отчетности о них является актуальным направлением деятельности клиничко-диагностических лабораторий (КДЛ). Первостепенная задача – это формирование перечней КЗ лабораторных показателей в каждой организации здравоохранения (ОЗ), что предполагает тесное взаимодействие специалистов клинической лабораторной диагностики и врачей-клиницистов. Единый перечень КЗ, применимый для всех организаций системы здравоохранения, разработать невозможно, поскольку выбор анализов, по которым можно получить КЗ, напрямую зависит от профиля медицинского учреждения, вида оказываемой помощи, категории пациентов и ряда других факторов.

Работа с КЗ должна гарантировать, что ни один пациент не пострадает в результате несвоевременного лечения опасного для жизни состояния, которое было выявлено в ходе лабораторного исследования. В Государственном стандарте Республики Беларусь СТБ ISO 15189-2015 «Медицинские лаборатории. Требования к качеству и компетентности» указано, что результаты исследования, выходящие за предел установленного критического или «тревожного» интервала, должны сообщаться клиническому персоналу незамедлительно. При этом все предпринятые действия, включая информацию о передаче КЗ, должны быть зарегистрированы.

Цель. На основе анализа данных анкетирования оценить работу с критическими значениями лабораторных показателей в организациях здравоохранения Республики Беларусь.

Материалы и методы исследования. Исследование проводилось методом онлайн-анкетирования. В опросе участвовали 278 КДЛ организаций здравоохранения Республики Беларусь: 38,5% общего числа респондентов были представлены КДЛ городских больниц и поликлиник, 32,4% – центральных районных больниц, 20,8% – учреждений здравоохранения областного уровня, 6,6% – республиканских научно-практических центров и 1,8% – амбулаторий врача общей практики. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программы Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение. Результаты исследования показали, что среди участвовавших в опросе КДЛ утвержденный перечень КЗ имеется в 89% случаев, а документация, устанавливающая порядок и сроки уведомления о критических значениях, только у 53,5% респондентов. Перечень документов в различных ОЗ включает как приказы по учреждению, так и инструкции, алгоритмы либо стандартные операционные процедуры, регламентирующие работу с КЗ.

Анализ сроков передачи информации о критических значениях лабораторных показателей лечебному персоналу показал, что только у 57% респондентов установлено незамедлительное уведомление при выявлении КЗ лабораторного показателя. В других случаях установлены сроки передачи в течение 35 мин (24% опрошенных), а также до 1 часа (8%), до 2-х и до 12-ти часов (по 0,5% соответственно) или в течение рабочего дня (6%). У 3% из числа опрошенных сроки уведомления о КЗ вообще не установлены. Следует отметить, что при угрозе жизни пациента такой срок информирования клиницистов, как 12 часов и более, не приемлем. Это обстоятельство подчеркивает, что не все специалисты КДЛ понимают суть термина «критическое значение» и важность своевременной передачи сведений о таких показателях. Среди способов сообщения лечебному персоналу информации о полученном КЗ основным является уведомление по телефону – 85% респондентов используют такой способ передачи. Остальные передают сведения о КЗ либо на бумажном носителе непосредственно под роспись, либо посредством электронной информационной системы. В 1,1% случаев участники опроса отметили, что способ информирования о КЗ у них не установлен.

В соответствии с СТБ ISO 15189-2015 при работе с КЗ рекомендуется регистрировать все предпринятые действия, включая информацию о передаче критических значений. Тем не менее, 19,5% респондентов процесс передачи сведений о КЗ не документируют вообще, что в дальнейшем не дает возможность установить, когда, кому и какая информация о КЗ была передана.

Анализ перечней КЗ, разработанных в КДЛ, позволил выделить наиболее значимые лабораторные показатели. Лидирующие позиции занимают гематологические и биохимические: гемоглобин (включен в перечень КЗ у 91% респондентов), глюкоза (90%), лейкоциты (88%), тромбоциты (79%), мочевины (61%), креатинин (60%), калий (58%), билирубин (54%), аминотрансферазы (49%), альфа-амилаза (39%), натрий (37%) и тропонин (37%). В числе показателей гемостаза респонденты отметили международное нормализованное отношение в 45% случаев, фибриноген, активированное частичное тромбопластиновое время и Д-димеры в 40%, 37% и 31% случаев соответственно. Гораздо реже в перечнях КЗ встречались такие лабораторные анализы, как лактатдегидрогеназа, общий белок, хлориды, магний и альбумин.

Определение показателей кислотно-основного состояния и газового состава крови (рН, рСО₂, рО₂), равно как и прокальцитонина, являющегося критерием диагностики сепсиса, относится к категории неотложных методов анализа, поэтому актуально в первую очередь для врачей реанимационных отделений, функционирующих в составе больничных учреждений. Поскольку в

опросе принимали участие КДЛ не только стационаров, но и амбулаторных организаций, где такие исследования не выполняются, доля данных показателей в общей структуре КЗ оказалась невелика и составила 7,5%.

Следует отметить, что в отдельных КДЛ к критическим отнесены лабораторные показатели, которые таковыми не являются. Речь идет, например, о положительном результате тестов на ВИЧ, вирусные гепатиты В и С, сифилис, о выявлении гонококков, а также фекального кальпротектина или скрытой крови в кале. В то же время ни один из респондентов не включил в список КЗ выявление малярийного плазмодия, который является возбудителем достаточно серьезного заболевания – малярии, нередко протекающей злокачественно с развитием серьезных осложнений.

Выводы. Полученные в ходе проведенного исследования данные позволяют заключить, что работа в части установления КЗ лабораторных показателей в ряде организаций здравоохранения ведется не в полной мере. Тому свидетельство отсутствие в отдельных КДЛ перечня КЗ, а также установленного порядка их регистрации и сроков уведомления.

Таким образом, специалистам КДЛ следует обратить особое внимание на состояние работы с КЗ лабораторных показателей в каждой конкретной ОЗ. Ключевым аспектом улучшения деятельности в данном направлении является формирование документации, включающей перечень лабораторных тестов с указанием величин критических значений, который должен регулярно пересматриваться совместно с врачами-клиницистами; порядок передачи информации о КЗ клиническому персоналу с указанием способов и сроков; список лиц, ответственных за передачу и получение информации; алгоритм действий, которые должны быть предприняты в случае невозможности связаться с сотрудниками клинического подразделения; процедуру документирования сведений о передаче КЗ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волчков, В. А. Персонификация управления критическими значениями лабораторных показателей неотложных состояний пациентов многопрофильного стационара / В.А. Волчков, А.С. Пушкин, С.А. Рукавишникова // Анестезиология и реаниматология. – 2019. – № 5. – С. 69-74.

2. Деривативное электронное издание на основе печатного аналога: Расшифровка клинических лабораторных анализов / К. Хиггинс ; пер. с англ. ; под. ред. проф. В.Л. Эмануэля. – М. : Лаборатория знаний, 2016. – 589 с.

3. Камышников, В. С. Организационно-методическое и лабораторное обеспечение диагностики неотложных состояний, технологии экспресс-анализа : учеб.-метод. пособие / В.С. Камышников. – Минск: БелМАПО, 2022. – 55 с.

4. Медицинские лаборатории. Требования к качеству и компетенции : СТБ ISO 15189-2015. – Взамен СТБ ISO 15189-2009 ; введ. РБ 14.12.15. – Минск : Госстандарт, 2016. – 46 с.

5. Плеханова, О. С. Критические значения: терминология, перечень анализов, выбор пороговых значений и их влияние на исходы. Обзор

ФИЛОСОФСКИЕ АСПЕКТЫ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ: ЭМПИРИЧЕСКИЕ ФЕНОМЕНЫ ТРАНСЛЯЦИОННЫМИ МЕТОДАМИ IVD В ФОРМИРОВАНИИ ПАРАДИГМЫ «МЕДИЦИНЫ 5П»

Яковлева А.В., Залеский М.Г., Эмануэль В.Л.

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет имени академика И. П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Санкт-Петербург, Российская Федерация*

Актуальность. Подготовка специалиста, владеющего основами клинического мышления и компетенциями рационального применения разнообразных физико-химических технологий для диагностики, мониторинга и оценки эффективности широкого спектра современных медицинских технологий, включая фармакотерапию, требует не менее 8-10 лет и наличие технических ресурсов. История формирования этого вида медицинской деятельности свидетельствует о всестороннем признании необходимости дальнейшего развития IVD для уменьшения рисков все более интервенционных видов медицинской помощи. Однако, разрешение противоречий популяционного масштаба, свидетельствующих о галопирующем расширении «болезней цивилизации», позволит реализовать смену парадигмы системы здравоохранения на рентабельную профилактику заболеваний. Поиски применения познаний клинической биохимии в реализации такой стратегии развития практического здравоохранения являются актуальной задачей междисциплинарной направленности: научных, образовательных и производственных коллективов.

Указанная методология познания и практической реализации продемонстрирована на примере подхода к метафилактике уролитиаза – социально-значимого заболевания с характерным рецидивирующим течением, несмотря на достижения фармакотерапии и широкого применения литотрипсии [3].

Цель: изучение трансляционных возможностей современных методов клинической биохимии в анализе состава и свойств биоматериалов для оценки саногенетических и патогенетических процессов *in vivo*.

Материалы и методы исследования. Представлены обобщенные результаты многоцентровых исследований биофизических свойств мочи случайной выборки около 10 тысяч пациентов с различной соматической патологией: уролитиаз, сердечно-сосудистые, респираторные заболевания.

Используемые аналитические методы включали биохимические исследования состава мочи, в том числе ИФА, для измерения концентрации уромодулина, биофизические технологии: измерение размеров частиц в моче проводились методом динамического светорассеивания [7], а их заряда – измерением Z-потенциала [2].

Результаты и обсуждение. Описанный феномен *Sedimentum lateritium*, известный с XVI века, на основе сформированной лабораторной модели регистрации фазового перехода «золь-криогель», различие в распределении альбумина в капле высыхающей мочи (тест-система «Литос», приказ МЗ РФ № 804н от 13.10.2017г.) у пациентов с уролитиазом трактуются биофизическими различиями изоформ UMD, возникающих при нарушениях апикального пострансляционного процессинга его олиго-полимерных изоформ [4]. В «непрофильной» когорте лиц кардиологического и пульмонологического профилей, описанный фазовый переход «золь-гель» выявлен с частотой 21-31% соответственно [5]. Выдвинута гипотеза о коморбидности, обусловленной воздействием ксенобиотиков и повреждением внутриклеточного метаболизма с деструкцией базальной мембраны и выходом мономерных изоформ UMD в интерстиций почек, что инициирует воспаление с последующим фиброзом и повышением внутривисцерального давления, снижающего СКФ, т.е. развитие ХБП [1,6]. Описанная биофизическая технология может рассматриваться как скрининговый метод доклинической верификации каскада метаболических последствий по «кардио-гепатorenальному» континууму, формирующему коморбидность заболеваний в популяции.

Выводы. Трансляционная миссия лабораторной медицины, применяя высокотехнологичные информативные методы диагностики, позволяет существенно расширить принципы «Медицины 5П», выступая основой для смены парадигмы медицинской индустрии: о переходе от «помощи пациентам» к реализации именно «здоровоохранительной» функции, основанной на доклинической диагностике и/или диагностике, опережающей скорость развития патологических процессов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болотова, Е. Хроническая обструктивная болезнь легких как фактор развития дисфункции почек / Е. Болотова, В. Являнская, А. Дудникова // Врач. – 2018. – 3. – С. 22–26.
2. Верлов Н. А. Уромодулин: связь олигомерных форм и функции / Н. А. Верлов, С. Б. Ланда, В. В. Егоров [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2021. – Т. 65. – № 1. – С. 133–140.
3. Залеский, М. Г. Холодовая проба мочи – новый маркер патологических процессов в почках / М.Г. Залеский // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – 9. – С. 99–100.
4. Залеский, М. Г. Эффект *Sedimentum Lateritium* является маркером патологических процессов в почках / М.Г. Залеский // Лаборатория ЛПУ. – 2018. – 13. – С. 43–46.

5. Патент № 2402769 Российская Федерация, МПК G01N 33/48 (2006.01). Способ формирования группы риска с заболеваниями почек: № 2009115611/14: заявл. 27.04.09: опубл. 27.10.2010.

6. Смирнов, А. В. Системный подход к анализу кардиоренальных взаимоотношений как первый шаг на пути к нефрологии формата П4 / А. В. Смирнов // Нефрология. – 2011. – Т. 15. – № 2. – С. 11–19.

7. Эмануэль, В. Л. Исследование олигомерных форм белка Тамма-Хорсфалла у здоровых людей и больных мочекаменной болезнью методом динамического светорассеяния / В. Л. Эмануэль, С. Б. Ланда, М. Измайлов // Актуальные вопросы биологической физики и химии. – 2016. – Т. 1. – № 2. – С. 189–194.

СЕКЦИЯ 3.

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ПРЕПОДАВАНИЯ ОБЩЕЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ В ВУЗАХ

БИОХИМИЯ ПО YOUTUBE: ОБЗОР АНГЛОЯЗЫЧНЫХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ПОРТАЛОВ

Виницкая А.Г.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Преподавание фундаментальных дисциплин в медицинских вузах нельзя представить без применения современных информационно-коммуникационных технологий [1-3]. Портал YouTube все чаще все чаще используется не только полезный дидактический инструмент [3], но и как помощник для самостоятельного изучения разных дисциплин [1-2]. Одной из причин популярности YouTube стала возможность просматривать видеоролики на любой странице в сети Интернет. Помимо развлекательного контента, YouTube предоставляет свободный доступ к информации, выкладываемой ведущими университетами мира [3]. Этот бесплатный источник информации прост и удобен. Большим его преимуществом является организация взаимодействия между преподавателем и обучающимися за пределами учебной аудитории, возможность поиска информации практически ко всем темам занятий по предмету [1, 2]. Использование различных каналов поступления информации (слухового и зрительного) способствует формированию навыков и развитию умений восприятия речи на слух и стимулирует устно-речевое общение. Особенно это важно для иностранных студентов, обучающихся медицинским предметам в белорусских вузах на английском языке. Возможности портала, включенные в аудиторную и внеаудиторную деятельность, могут повысить качество обучения [3].

Мы проанализировали несколько англоязычных видеоблогов YouTube, посвященных биохимии и позволяющих разработать учебно-методическое сопровождение изучения биохимии иностранными учащимися.

Американский видеоблог **Dirty Medicine** (<https://www.youtube.com/c/DirtyMedicine>) предлагает к просмотру 289 коротких видео (до 20 мин) и имеет более 653 тыс. подписчиков. Согласно описанию канала, его целью является распространение свободных знаний в разных областях биологии, для слушателей, обучающихся в медицинских школах. Раздел видеоблога **Biochemistry&Genetics** охватывает актуальные темы, включенные в программу белорусских вузов: «Окислительное фосфорилирование», «Гликолиз», «Глюконеогенез», «Транспорт липидов», и некоторые другие. Ряд видеообзоров рекомендуется к просмотру студентам – медикам, поскольку содержат описание метаболических нарушений при

некоторых заболеваниях («Лизосомные болезни», «Нарушения синтеза гема», «Гликогенозы» «Наследственные дислипидемии»).

Универсальный online образовательный видеоблог **Andrey K (@AKLECTURES)**, имеет 780 тыс. подписчиков и более 2 тыс. видео с 57 млн. просмотрам. Канал был создан в 2012 году в Медицинской Школе Университета Буффало (University at Buffalo School of Medicine and Biomedical Sciences) (г. Буффало, штат Нью-Йорк, США). Помимо видеороликов по биологии и биохимии видеоблогер Андрю Хэнок предлагает просмотр тематических фильмов по различным разделам физики, неорганической и органической химии, биохимии, микробиологии, физиологии. Длительность видеороликов по биохимии варьирует от 10 до 16 минут и их тематика совпадает с программой обучения биохимии в белорусских вузах как медицинской, так и биологической направленности. Автор роликов, математик по образованию, достаточно доходчиво объясняет такие сложные темы, как «*кинетика ферментативных реакций*», «*реципрокная регуляция гликолиза и глюконеогенеза*». Привлекает внимание использование записей на белой доске, сопровождаемое объяснением на американском английском. Рекомендация просмотра коротких видео во время самостоятельной подготовки студентов к занятиям по биохимии повышает их мотивацию и качество обучения предмета. С другой стороны видеоролики AK Lectures, полезны преподавателям, поскольку обеспечивают повышение уровня владения английским языком. Данный канал можно порекомендовать к использованию при обучении иностранных студентов основам неорганической и органической химии, а также ряда тем нормальной и патологической физиологии.

Видеоблог австралийского врача и популяризатора медицинской науки **Armando Hasudungan (@armandohasudungan)**, 2,5 млн. подписчиков, 558 видео) предлагает серии анимированных лекций по отдельным областям эндокринологии, неврологии, физиологии, фармакологию и биохимии. Автор – любитель создания медицинских диаграмм, изображаемых на белом фоне и сопровождаемых закадровым голосом. Содержание некоторых видео актуально не только для студентов-второкурсников, изучающих фундаментальную биохимию, но и может быть рекомендовано для просмотра старшекурсникам и преподавателям медицинских вузов и врачам.

Khan Academy English (<https://www.khanacademy.org/>) – некоммерческая образовательная организация, созданная в 2008 году выпускником Массачусетского института технологии и Гарварда Салманом Ханом. В настоящее время подписчиками академии являются более 8,34 млн. человек. Сайт академии предоставляет доступ к коллекции из более чем 4200 бесплатных микролекций по математике, истории, здравоохранению и медицине, финансам, физике, химии, биологии, и другим дисциплинам. Для медицинских специальностей больше подходит разделы Biology и Medicine. И хотя данный сайт больше подходит для обучения студентам основам патологической физиологии, несомненным плюсом являются элементы клинической биохимии, освещаемые в видео по темам «*arteriosclerosis-arteriolosclerosis-and-atherosclerosis*», «*diabetes*» и некоторым другим.

Индийский видеоблог **Shomu's Biology** представляет собой бесплатный онлайн канал, предлагающий слушателям обзоры лекций из различных областей биологии, включая молекулярную биологию, зоологию, биохимию животных и растений (<https://www.youtube.com/user/TheFunsuman/videos>). Самостоятельный раздел видеоблога **Shomu's Biology Biochemistry** содержит лекции по фундаментальной биохимии углеводов, нуклеиновых кислот, липидов, аминокислот и может быть рекомендован для обучения студентов из Индии.

Выводы. Обучающие видеоблоги в YouTube могут быть использованы преподавателями, как полезный дидактический материал в объяснении сложных тем [3]. Рассмотренные видеоблоги также могут быть рекомендованы для самостоятельного просмотра студентами в качестве дополнительного источника информации. Использование YouTube, как и других новых информационных технологий, в обучении медицинским наукам, несомненно, несет в себе огромный педагогический потенциал, являясь одним из средств, превращающих обучение в живой творческий процесс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дятлов, С.А. Интернет-технологии и дистанционное образование/ С.А.Дятлов, А.В. Толстопятенко //Информационное общество. – 2000. – №. 5. – С. 29.
2. Ежова, Ю. В. YouTube как обучающий ресурс (иностранный язык, неязыковой вуз) / Ю. В. Ежова, М. В. Пац // Международный журнал гуманитарных и естественных наук. – 2020. – Т. 7-2 . – С. 36-39.
3. Реброва. И. Ю. YouTube как средство и инструмент реализации педагогических технологий в онлайн-обучении / И. Ю. Реброва, Ю. В. Стоянова. – Современное образование: научные подходы, опыт, проблемы. 2020. – С.186.

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕЙТИНГОВОЙ СИСТЕМЫ В ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ЗНАНИЙ СТУДЕНТОВ ЛЕЧЕБНОГО ФАКУЛЬТЕТА УО «ГОМГМУ» ПРИ ИЗУЧЕНИИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

**Громыко М.В., Мышковец Н.С., Коваль А. Н., Логвинович О.С.,
Литвинчук А.В.**

*УО «Гомельский государственный медицинский университет»,
Гомель, Республика Беларусь*

Актуальность. Вопрос определения мотивации студентов медицинских вузов является актуальным, как с точки зрения организации образовательного процесса, так и для подготовки специалистов высокого уровня, обладающих всеми необходимыми теоретическими и практическими компетенциями. Правильная мотивация при изучении теоретических дисциплин, в том числе и биологической химии, для студентов первого и второго курсов может

выступать инструментом более эффективной подготовки, при формировании клинического мышления. Высокий уровень мотивации обеспечивает большую вовлечённость студентов и, следовательно, повышение качества образования [1, 2]. Выделяют основные мотивационные факторы, которые могут влиять на интерес студентов к обучению: возможность получить аттестационную отметку без прохождения экзамена (автомат), личный интерес к обучению, стремление к лидерству, личность преподавателя [2].

В настоящее время многие ВУЗы внедряют в практику в дополнение к традиционной форме контроля качества обучения рейтинговую систему оценивания знаний. Рейтинговая система позволяет комплексно оценивать знания студентов по изучаемой дисциплине, практические умения и навыки, а также формируемые у них компетенции [1].

С 2021 года на кафедре биологической химии «Гомельского государственного медицинского университета» коллективом преподавателей разработана и действует рейтинговая система, позволяющая студентам получить итоговую оценку по дисциплине «Биологическая химия» на основании результатов текущего контроля, показателей учебной и учебно-исследовательской работы без дополнительного опроса на экзамене.

Основная задача применяемой рейтинговой системы – повышение мотивации студентов для успешного изучения студентами теоретических фундаментальных основ биологической химии и приобретение ими практических умений и навыков необходимых будущим врачам, а также для приобщения студентов к мировым научным достижениям и формирования научного мировоззрения, необходимого в профессиональной деятельности будущих врачей. Для оценки творческого и научного потенциала студентов в рейтинговую систему оценки знаний был добавлен бонусный балл [3].

Цель. Оценить эффективность внедрения в образовательный процесс на кафедре биологической химии УО «Гомельский государственный медицинский университет» рейтинговой системы контроля знаний студентов, обучающихся по специальности 1-79 01 01 «Лечебное дело». Проанализировать динамику абсолютной (4-10 баллов) и качественной успеваемости (7-10 баллов), а также показатели среднего балла по результатам курсового экзамена по дисциплине «Биологическая химия» до и после введения рейтинговой системы.

Материалы и методы исследования. В качестве метода исследования был выбран сравнительный анализ показателей экзамена по биологической химии студентов лечебного факультета УО «Гомельский государственный медицинский университет» до внедрения в образовательный процесс (2018/2019 учебный год) и после использования (2022/2023 учебный год) рейтинговой системы контроля знаний студентов. При этом показатели 2020/2021 и 2021/2022 учебных годов не вошли в анализируемые данные, поскольку не являются достоверно информативными, что связано со сложной эпидемиологической обстановкой, кроме того, в 2020/2021 учебном году были введены элементы дистанционного обучения.

Для оценки эффективности использования на кафедре биологической химии рейтинговой системы, мы предлагаем рассмотреть следующие

показатели текущей аттестации: средний балл, абсолютную и качественную успеваемость.

Результаты. Итоговая оценка по дисциплине «Биологическая химия» на основании результатов текущего контроля без дополнительного опроса на экзамене выставляется согласно методике расчёта рейтинговой оценки.

Методика расчета рейтинговой оценки показателя учебной и учебно-исследовательской работы студента по биологической химии для студентов, обучающихся по специальности лечебное дело:

$$R = R_k * 0,5 + R_t * 0,3 + R_m * 0,2 + B$$

R – показатель учебной и учебно-исследовательской работы студента по дисциплине биологическая химия.

R_k – рейтинговая оценка за работу в семестрах. Рассчитывается на основании оценок, полученных студентами на итоговых занятиях в течении года (три – за осенний семестр и два – за весенний). $R_k = (K_1 + K_2 + K_3 + K_4 + K_5) / 5$

R_t – рассчитывается на основании оценок, полученных студентами на итоговом компьютерном тестировании в конце осеннего и весеннего семестров. $R_t = (T_1 + T_2) / 2$

R_m – оценка знаний метаболических путей и реакций.

B – бонусный балл. Добавляется к рейтинговой оценке студентов, которые занимались научно-исследовательской работой на кафедре (участие в научных конференциях; выступление с докладом на заседаниях студенческого научного кружка (СНК); участие в подготовке докладов на СНК по материалам статей, опубликованных в зарубежных научных журналах).

Аналитический анализ успеваемости показал, что средний балл в 2022-2023 учебном году вырос на 0,7 балла по сравнению с 2018-2019 (6,4 балла и 7,1 балл, соответственно), абсолютная успеваемость повысилась с 95% до 96%, качественная успеваемость выросла на 19% (50% и 69%, соответственно).

Повышение качественной успеваемости, возможно, связано с повышением мотивации студентов. Стремясь получить аттестационную отметку без прохождения экзамена (автоматом), студенты стараются лучше подготовиться к текущим итоговым занятиям, к тестовому контролю и достичь высоких результатов. Это помогает им развивать самодисциплину, ответственность и стремление к самосовершенствованию.

Повышение среднего балла и абсолютной успеваемости мы связываем с тем, что результаты индивидуального рейтинга учитываются на экзамене при выставлении итогового экзаменационного балла, что способствует созданию благоприятной и предсказуемой атмосферы на экзамене, снижая экзаменационную стрессовую нагрузку.

Выводы.

Внедрение рейтинговой системы стимулирует студентов к более глубокому и систематическому изучению дисциплины «Биологическая химия», способствует улучшению эффективности и повышению качества образовательного процесса по таким показателям как средний балл, абсолютная

и качественная успеваемость, обеспечивая освоение обучающимися общих и профессиональных компетенций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонова, Н. Н. Использование балльно-рейтинговой системы оценивания как средства мотивации студентов к учению / Н. Н. Антонова, Л. В. Банникова //Мир науки, культуры, образования. – 2016. – №. 5 (60). – С. 8-11.

2. Влияние рейтинговой системы оценки успеваемости на мотивацию студентов к обучению / А. А. Арзуманов [и др.] //Современные наукоемкие технологии. – 2020. – №. 6-1. – С. 118-121.

3. Опыт вовлечения студентов в изучение мировых научных достижений в области биохимии / О. С. Логвинович, [и др.] // Актуальные проблемы медицины : Сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции с международным участием: в 5 томах, Гомель, 21–22 ноября 2019 года / Гомельский государственный медицинский университет. Том 1. – Гомель: Учреждение образования "Гомельский государственный медицинский университет", 2019. – С. 21-23.

АЛГОРИТМ ЭФФЕКТИВНОГО ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ТЕСТОВЫХ ЗАДАНИЙ ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ В ФОРМАТ GIFT С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРОГРАММНОГО ЯЗЫКА PYTHON И ТЕКСТОВОГО РЕДАКТОРА NOTEPAD++

Коваль А.Н.

*УО «Гомельский государственный медицинский университет»,
Гомель, Республика Беларусь*

Актуальность. Тестирование имеет важное значение для оценки уровня знаний студентов при изучении биологической химии как в очной, так и заочной форме (в виде дистанционного обучения). В большинстве вузов Беларуси, в том числе и в нашем медицинском университете для создания электронных учебно-методических комплексов (ЭУМК) [4] используется LMS Moodle [1].

Самый популярный формат тестовых заданий в LMS Moodle – GIFT (General Import Format Template). Алгоритм преобразования тестовых заданий в текстовый формат GIFT был описан автором ранее [5]. Однако вопрос добавления указателей правильных и неправильных вопросов не был раскрыт.

Цель. Разработать алгоритм преобразования тестовых заданий из формата текстового редактора в формат GIFT, автоматизировав процесс добавления указателей правильных вопросов.

Материалы и методы исследования. Текстовый редактор Notepad++ (ver.8.6.2) [7], язык Python (ver. 3.11.2) [2], интерактивный редактор программного кода для языка Python Pyzo (ver. 4.12.7) [3]. Исходным текстом служил сборник тестовых заданий по биологической химии [6].

Результаты и обсуждение.

Добавление указателей правильных вопросов путем замены “~” на “=” вручную может снизить скорость работы преподавателя и увеличить риск ошибок, поэтому для этой цели был написан небольшой программный код на языке программирования Python. Для работы этой программы требуется соответствующий словарь, преобразованный из таблицы правильных вопросов учебного пособия (см. таблицу 1). Этот шаг легко осуществить с помощью последовательных действий, предварительно записанных в макросе текстового редактора Notepad++.

Таблица 1. Правильные ответы к тесту по теме «Введение в биохимию. Химия белка»

№ п/п	Правильный ответ	№ п/п	Правильный ответ	№ п/п	Правильный ответ	№ п/п	Правильный ответ
1	в	11	в	21	а	31	г
2	д	12	г	22	в	32	б
3	б	13	б	23	г	33	а
4	б	14	д	24	д	34	в
5	г	15	а	25	а	35	б
6	а	16	в	26	г	36	д
7	в	17	г	27	в	37	б
8	а	18	б	28	в	38	д
9	д	19	д	29	б	39	г
10	б	20	б	30	д		

После этого сгенерированный Python-словарь можно вставить в текст программы, дав ему имя `correct_answers`.

```
#Правильные ответы для тестов 1. Введение в биохимию. Химия белка  
correct_answers = {1:3, 2:5, 3:2, 4:2, 5:4, 6:1, 7:3, 8:1, 9:5, 10:2, 11:3, 12:4,  
13:2, 14:5, 15:1, 16:3, 17:4, 18:2, 19:5, 20:2, 21:1, 22:3, 23:4, 24:5, 25:1, 26:4,  
27:3, 28:3, 29:2, 30:5, 31:4, 32:2, 33:1, 34:3, 35:2, 36:5, 37:2, 38:5, 39:4}
```

```
# Чтение файла
```

```
with open('input.txt','r', encoding='UTF-8') as f:  
    lines = f.readlines()
```

```
# Обработка строк
```

```
for i in range(len(lines)):
```

```
    if lines[i].startswith("//"):
```

```
        question_number = int(lines[i].split(".")[0].replace("//", ""))
```

```
        correct_answer = correct_answers.get(question_number)
```

```
        lines[i + 2 + correct_answer] = lines[i + 2 +  
correct_answer].replace("~", "=")
```

```
# Запись изменений обратно в файл
with open('output.txt','w', encoding='UTF-8') as f:
    f.writelines(lines)
```

После запуска программы происходит поиск строки с началом вопроса, которому предшествует комментарий, начинающийся с двойного слэша (//), затем программа ищет строку, соответствующую номеру правильного ответа и заменяет знак “~” на “=”. Корректность преобразования можно оценить с применением XML-файла подсветки синтаксиса [8]. Готовые тестовые задания импортируются в банк вопросов с помощью команды «Импорт», выбрав опцию «Формат GIFT», после чего при отсутствии ошибок можно создавать элементы «Тест» в соответствующих разделах ЭУМК.

Выводы.

1. Использование предложенного алгоритма преобразования тестовых заданий в формат GIFT, а также применение языка Python и текстового редактора Notepad++ обеспечивает автоматизацию процесса преобразования заданий, что ускоряет работу и снижает вероятность ошибок. Полученный при этом файл в формате GIFT может быть легко импортирован в различные системы управления обучением.

2. Подход к преобразованию тестовых заданий с использованием указанных инструментов демонстрирует эффективное сочетание автоматизации и ручной работы для оптимизации процесса подготовки образовательных материалов.

ЛИТЕРАТУРА

1. LMS Moodle – Режим доступа: <https://moodle.org/>. – Дата доступа: 19.01.2024.
2. Python – Режим доступа: <https://www.python.org/>. – Дата доступа: 29.03.2004.
3. Pyzo: the Interactive Editor for Python / Режим доступа: <https://pyzo.org/>. – Дата доступа: 20.03.2024.
4. Биологическая химия : электронный учебно-методический комплекс по дисциплине «Биологическая химия» для студентов 2 курса учреждений высшего образования, обучающихся по специальности 1-79 01 01 «Лечебное дело» [Электронный ресурс] / ГомГМУ, Лечебный факультет, Кафедра биологической химии ; сост.: И.А.Никитина, А.Н.Коваль, М.В.Громыко, М.Е.Мазаник, Л.П.Скрыпникова, Н.С.Мышковец, Д.О.Цымбал. – Гомель : ГомГМУ, 2022. – Режим доступа: <http://dl.gsmu.by/course/view.php?id=81>. – Дата доступа: 19.01.2024
5. Коваль А.Н. Эффективный алгоритм преобразования тестовых заданий в формат GIFT с использованием регулярных выражений в текстовом редакторе Notepad++ / А.Н. Коваль // Экологическое образование и устойчивое развитие. Состояние, цели, проблемы и перспективы: материалы международной научно-методической конференции, 29 февраля - 1 марта 2024 г., г. Минск, Республика Беларусь: электронный сборник / Междунар. гос. экол.

ин-т им. А.Д. Сахарова Бел. гос. ун-та. – М.: МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ, 2024. – С. 382-385.

6. Сборник тестовых заданий по биологической химии : учеб.-метод. пособие для студентов 2 курса всех фак-тов учреждений высш. мед. образования / И. А. Никитина [и др.]. – Гомель : ГомГМУ, 2023. – 262 с. – Режим доступа: <https://elib.gsmu.by/handle/GomSMU/13804> – Дата доступа: 20.05.2023.

7. Текстовый редактор Notepad++ (notepad-plus-plus.org). – Режим доступа: notepad-plus-plus.org – Дата доступа: 20.01.2024.

8. Файл синтаксиса подсветки текста в формате GIFT. – Режим доступа: https://github.com/notepad-plus-plus/userDefinedLanguages/blob/master/UDLs/GIFT-Format_byMatthewKuznia.xml. – Дата доступа: 20.03.2024.

АЛГОРИТМ ОЦЕНКИ РЕЗУЛЬТАТОВ ТЕСТОВЫХ ЗАДАНИЙ ПО ДИСЦИПЛИНЕ «БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ»

**Коневалова Н.Ю., Телепнева Е.Ю., Тихон Т.В., Марцинкевич А.Ф.,
Буянова С.В., Мешко А.А., Пыко К.В.**

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

Актуальность. Приоритетной задачей на кафедре общей и клинической биохимии с курсом ФПК и ПК является повышение качества образовательного процесса. Информационные технологии позволяют более эффективно организовать текущий и итоговый контроль знаний, посредством использования автоматизированного компьютерного тестирования. Компьютерные тесты в качестве инструмента педагогической диагностики применяются на кафедре с 2015 г. В течение этого времени велась постоянная работа по совершенствованию их содержания, целям тестирования, соответствия современному состоянию науки и требованиям учебной дисциплины. Однако, чтобы тест адекватно оценивал знания обучающегося, он должен быть надежен и валиден.

Цель. Разработать алгоритм оценки надежности и валидности тестовых заданий, используемых для контроля знаний по дисциплине «Биологическая химия».

Материалы и методы исследования. Для определения надежности и валидности ответов на тест проанализированы результаты 145 студентов 2 курса ФПИГ с английским языком обучения, полностью завершивших тест «Introduction to biochemistry», который состоял из 15 уникальных вопросов.

Данные результатов тестирования «Introduction to biochemistry» получены путем запроса к Web Service API системы Moodle. Первоначально получен список студентов, зачисленных на курс, а затем извлекались результаты прохождения теста.

Результаты и обсуждение. Оценка надежности тестов проводится различными методами. Мы использовали метод расщепления теста, который удобен в практическом применении, так как ограничивается однократным тестированием. Для оценки надежности результаты тестирования разделили на две части: в одну включили данные студентов по четным, а в другую – по нечетным заданиям, считая при этом, что получены сходные по содержанию части теста.

Для выяснения распределения результатов прохождения теста, выраженных в десятибалльной оценке, построили гистограмму плотности распределения оценок:

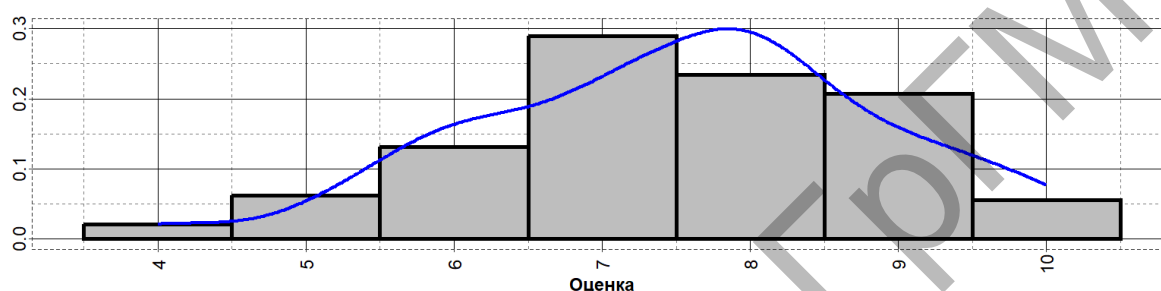


Рисунок 1 - Гистограмма плотности распределения оценок

Средняя оценка испытуемых располагается в диапазоне от 6,5 до 7,5 баллов, а форма гистограммы указывает на нормальное распределение результатов прохождения теста.

Для определения способности тестового вопроса отличать сильных обучающихся от слабых использован статистический показатель «Сложность теста», который рассчитывается как доля правильных ответов на вопрос.

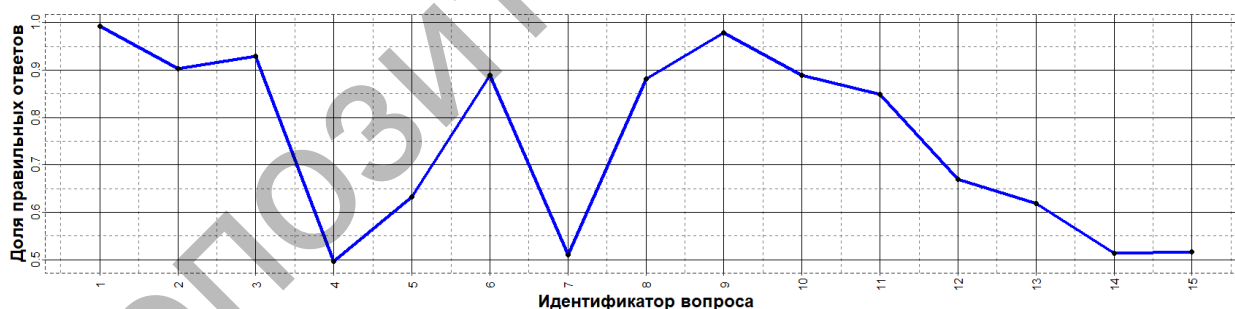


Рисунок 2 - Сложность вопросов (желательное значение: $0.30 \geq P \geq 0.90$)

На рисунке 2 видно, что на первый и девятый вопрос в 100% случаев студенты отвечают правильно, то есть эти вопросы слишком легкие, а такого быть не должно. Слишком сложных вопросов у нас нет, потому что 50% студентов ответили на вопросы правильно.

Для оценки взаимосвязи между успеваемостью студентов и сложностью заданий нами использована вероятностная модель Раша для определения вероятности того, что студенты смогут ответить на определенный набор тестовых заданий. Модель Раша предполагает, что студенты с высоким

уровнем подготовки отвечают на сложные вопросы лучше, а студенты с низким уровнем подготовки отвечают плохо даже на простые вопросы. С помощью этого метода построены графики, проанализировав которые, определили вероятность правильного ответа от условных знаний. Чем больше график смещен вправо, тем более сложный вопрос.

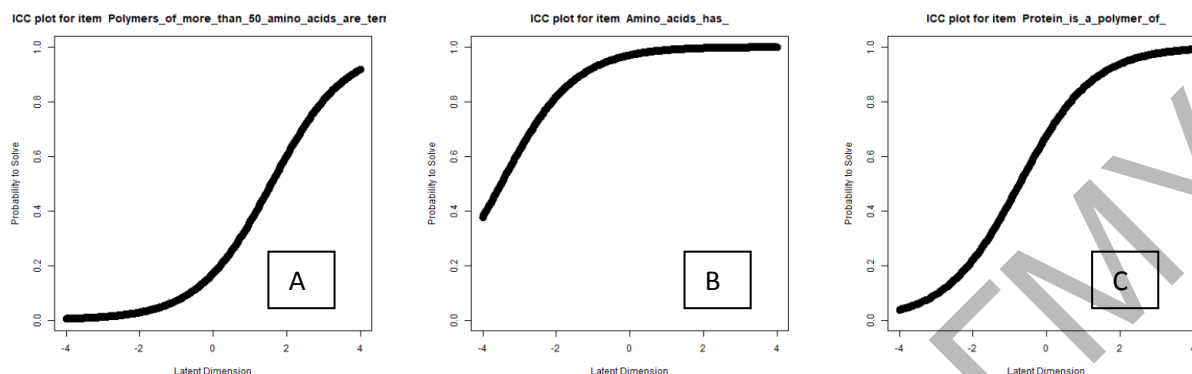


Рисунок 3 - Вероятностная модель Раша. А) вопрос средней сложности; В) легкий вопрос; С) сложный вопрос

Согласно результатам визуальной оценки проведенного тестирования 3 из 15 вопросов были отнесены к излишне легким, а 4 - к чрезмерно сложным.

Другим ключевым критерием оценки качества методов является валидность. Валидность проверяется сравнением результатов тестирования испытуемого с экспертными – независимыми от этих результатов оценками уровня усвоения им материала другими методами: устным опросом, традиционной контрольной работой, экзаменом или сопоставлением этих результатов с оценками текущей успеваемости.

Для определения валидности разработанного теста провели корреляционный анализ по формуле Пирсона между результатами теста и с оценками текущей успеваемости. Рассчитанный коэффициент валидности $r=0,83$ позволят сделать вывод о том, что разработанный тест является достаточно валидным.

На основании результатов исследования были пересмотрены и исправлены задания с низким или высоким уровнем трудности и низким показателем эффективности дискриминации. Апробация пересмотренных тестовых вопросов проведена в сентябре 2023 года, в результате чего была показана положительная динамика по всем ключевым показателям надежности и валидности.

Выводы.

Предложенный нами алгоритм статистической обработки тестовых заданий в системе дистанционного обучения Moodle достаточно удобно использовать для анализа тестовых вопросов из банка данных и теста в целом. Поэтому данный алгоритм будет использоваться нами и в дальнейшем для оценки качества тестов по биологической химии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аляхнович, Н. С. Инновационные методы контроля знаний и компетенций студентов в условиях управляемой самостоятельной работы с

использованием системы дистанционного обучения MOODLE / Н. С. Аляхнович, В. В. Янченко. // Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №5. – С. 108-113.

2. Дроздов, В. И. Исследование качества тестов с использованием модели Раша / В. И. Дроздов, Бойцова Е. А., Ю. М. Новиков // Вестник БГТУ. – 2010. – Том 6, №4. – С. 59-64.

3. Коневалова, Н. Ю. Оценивание результатов обучения / Н. Ю. Коневалова, И. В. Городецкая, А. В. Гайдукова. – Методические рекомендации для профессорского – преподавательского состава. – Витебск 2021. – 13 с.

4. Мороз, Л. С. Методы определения надежности и валидности текстов для контроля знаний / Л. С. Мороз. – Труды БГТУ. Сер. VI, Физико-математические науки и информатика. - Минск : БГТУ, 2010. – Вып. XVIII. – С. 176-179.

РЕАЛИЗАЦИЯ АДАПТИВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В LMS MOODLE С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ MICROSOFT ACCESS

Копыцкий А.В., Хильманович В.Н., Зданович Е.С.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Образовательный процесс в современном вузе уже не представляется без использования информационно-коммуникационных технологий (ИКТ). Компьютеры, компьютерные сети, интернет, собственные гаджеты так или иначе задействуются в ходе внеаудиторной, и, зачастую, в аудиторной деятельности участников образовательного процесса. Преподавательский состав вуза использует информационно-коммуникационные технологии для создания, редактирования, поиска дидактических материалов, организации доступа к ним обучающихся, контроля их успеваемости. Последние, в свою очередь, используют ИКТ для подготовки к занятиям, самостоятельного поиска дополнительных дидактических материалов, прохождения текущего контроля, выполнения тестов. Кроме того, ИКТ обеспечивают удобные каналы связи между всеми участниками учебного процесса (системы обмена сообщениями, форумы, видео- и аудиоконференции), облегчают управление образованием на уровне кафедр, факультетов, и вуза в целом.

С момента начала внедрения ИКТ в высшее образование актуальным стал вопрос организации хранения дидактических и программно-нормативных материалов по учебным дисциплинам, решением которого стало появление электронных учебно-методических комплексов. В их эволюции можно условно выделить 3 этапа: ЭУМК без использования сетевых технологий, ЭУМК с их частичным использованием, ЭУМК с полным размещением в сети Интернет. В свою очередь, последний (современный этап) можно разделить на 2: «классические» ЭУМК (например, LMS Moodle, Google Класс) и адаптивные

ЭУМК (например, Adaptive LMS+, learnetic). Последние предусматривают адаптацию процесса обучения под студента: подбор персонализированного образовательного контента, динамическая обратная связь (положительная – усложнение новой порции материала при успешном усвоении предыдущей; отрицательная – её снижение). Для перехода на адаптивные ЭУМК необходимо решение ряда вопросов:

- покупки лицензий (существующие решения являются коммерческими),
- обучение преподавателей работе с ними (опыт работы с «классическими» ЭУМК показывает, что для их уверенного усвоения большей частью преподавателей вуза требуется 5-10 лет),
- необходимость создания преподавателями бóльшего количества дидактических материалов для обеспечения адаптивности,
- обеспечение согласованности с нормативно-правовой базой образования (например, с положениями об использовании ЭУМК в вузах, с законодательными актами о хранении персональных данных).

Поэтому актуальным на сегодняшний день является внедрение в «классические» ЭУМК (например, на базе LMS Moodle) элементов адаптивности. Это необходимо для тестирования новых возможностей, проверки технических решений, выявления технических и методологических проблем и путей их решения. Так как в самом LMS Moodle адаптивные элементы развиты слабо, то необходимо использование внешних программных решений для их усиления.

Цель. Цель нашей работы состоит в описании способов создания адаптивных элементов и их связывание с LMS Moodle.

Материалы и методы исследования. Для достижения поставленной цели необходимо решение ряда задач:

- создание базы данных (БД) для хранения ссылок на дидактические материалы;
- создание БД для хранения информации об обучающихся;
- программная реализация алгоритмов, обеспечивающих подбор учебного материала под конкретного обучающегося под конкретное занятие;
- создание индивидуальных заданий, готовых для портирования в LMS Moodle.

Для решения поставленных задач и создания рабочего прототипа, реализующего адаптивные элементы в образовательном процессе, нами использовалась система управления базами данных (СУБД) Microsoft Access. Для генерации индивидуальных заданий нами использовалась ранее описанная программа-генератор шаблонных тестовых задач, написанная на языке R [1].

Результаты и обсуждение. При помощи Microsoft Access нами были созданы 2 БД. Первая БД «Студенты» хранит данные о студентах: об успехах в освоении данной дисциплины, о предпочитаемых типах восприятия информации. Вторая БД, «Материалы», предназначена для хранения ссылок на учебные материалы и состоит из 3 таблиц данных: «Теория», «Практика», «Контроль».

В таблице данных «Теория» записи могут быть упорядочены по полю «Тип теории», для возможных значений которого («Лекция», «Статья», «Учебник») предусмотрены дополнительные разновидности. Так, лекция может быть печатной, аудио- и видеолекцией; статья может быть практической, научной и исторической; тип «Учебник» в свою очередь подразумевает отнесение записи или к пособию, или к учебно-методическому пособию, или к учебнику.

Таблица данных «Практика» позволяет упорядочить материалы для практической деятельности обучающихся. Важным полем-классификатором данной таблицы является поле «Тип деятельности», которое предусматривает выбор одного из 3 возможных значений: «Практическая», «Лабораторная», «Тренажёрная». Для указанных типов возможны дополнительные вариации: так, материалы для практической и тренажёрной деятельности могут быть как для аудиторной, так и внеаудиторной работы, а лабораторные работы могут быть экспериментальными, проверочными и виртуальными (с использованием симуляционного оборудования).

В таблице данных «Контроль» содержатся материалы для организации контроля знаний, умений и навыков (ЗУН) обучающихся. Дидактические материалы упорядочиваются в этой таблице по полю «Тип контроля», в котором предусмотрены 3 типа: «Самоконтроль», «Текущий контроль» и «Промежуточный контроль». Как и в перечисленных выше таблицах для каждого типа присутствуют дополнительные разновидности: промежуточный контроль предусматривает одну из 3 форм: зачёт, дифференцированный зачёт, экзамен; текущий контроль может быть самостоятельной работой, контрольной работой, тестированием.

Особенностью всех перечисленных таблиц данных является то, что практически для всех дидактических материалов (за исключением материалов для промежуточной аттестации) определены 2 важных поля: «Время» и «Сложность». Поле «Время» содержит примерное время (в минутах), которое будет потрачено обучающимся на усвоение теоретической информации либо на выполнение практической или лабораторной работы. Поле «Сложность» в баллах (от 1 до 10) задаёт сложность данного материала для среднего обучающегося. Данные поля позволяют осуществлять подбор образовательного контента для конкретной темы, таким образом, чтобы суммарное время на работу обучающегося с комбинацией дидактических материалов не превышало заданного порога (определённого, например, учебным планом или учебной программой), а средняя сложность этих материалов соответствовала бы уровню ЗУН обучающегося. Наличие уровней сложности позволяет реализовать сценарии положительной и отрицательной обратной связи при подборе дидактических материалов для конкретного обучающегося за счёт отслеживания его успехов в усвоении дисциплины на данном этапе обучения. Таким образом можно говорить, что подобное сочетание БД позволяет создавать динамические индивидуальные образовательные траектории, адаптируя учебный материал под конкретного обучающегося.

В контексте описанной модели LMS Moodle используется как среда для хранения дидактических материалов, модуль тестирования данной среды используется для организации контроля ЗУН обучающихся, электронный журнал LMS Moodle позволяет отслеживать их успехи в обучении и определять время, затрачиваемое на работу с конкретным материалом.

Выводы. Описанное в данной работе сочетание LMS Moodle и MS Access позволяет реализовывать элементы адаптивного обучения в ЭУМК, обеспечивая таким образом формирование динамических индивидуальных образовательных траекторий обучающихся.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (№ гос. регистрации Г23-047).

ЛИТЕРАТУРА

1. Копыцкий, А. В. Применение программы-генератора тестовых заданий по прикладной статистике для студентов медицинских вузов / А. В. Копыцкий // Вес. БДПУ. Сер. 3, Фізіка. Матэматыка. Біялогія. Геаграфія. – 2021. – № 4. – С. 39-45.

ТРАДИЦИОННЫЕ И ИННОВАЦИОННЫЕ МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

Леднёва И.О.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Повышение качества и эффективности учебного процесса является одной из главных задач высшей школы в целях подготовки конкурентноспособных специалистов на рынке труда. В решении этой задачи важное место принадлежит не только процессу обучения, но и контролю знаний, осуществляемому как в течение всего срока обучения, так и в период экзаменационных сессий [14].

Контроль – это совокупность действий, позволяющих выявить качественно-количественные характеристики процесса обучения, оценить степень усвоения студентами материала учебной программы. Опыт высших учебных заведений стран СНГ и белорусских вузов свидетельствует о том, что возможны различные модификации систем и средств диагностирования. Контроль знаний студентов открывает большие возможности для совершенствования процесса обучения, поскольку проверка как действенное средство борьбы за прочные и осознанные знания студентов позволяет лучше изучить студентов, их индивидуальные особенности [12].

Контроль и оценка знаний обучающихся является одной из ключевых задач любой образовательной системы. Педагогические измерения в условиях применения государственных образовательных стандартов включаются в систему мониторинга предметных достижений с целью анализа функционирования педагогической системы и повышения эффективности ее

управления [17]. Опыт высших учебных заведений стран СНГ и белорусских вузов свидетельствует о том, что возможны различные модификации систем и средств диагностирования. Они должны быть направлены на дифференциацию уровня знаний студентов с целью формирования личностных и поведенческих навыков.

Существуют различные толкования педагогической категории «контроль». В широком смысле под «контролем» понимают контроль всей учебной деятельности, выявление результатов учебного процесса и его эффективности. В узком смысле под «контролем» понимают выявление и измерение результатов учебной деятельности студентов, а также оценивание их знаний, умений и навыков [16]. Наиболее часто используется «узкое» толкование понятия «контроль учебной деятельности».

Согласно инновационной модели развития образования в системе контроля знаний должны присутствовать составляющие, которые позволяют оценить объём знаний, практические умения и навыки, а также мышление обучающегося. Задача контроля состоит в том, чтобы соотнести уровень подготовленности студентов с требованиями будущей профессии, что позволит определять степень готовности студентов к выполнению профессиональных обязанностей, прогнозировать их успешность [3]. Контроль – это совокупность действий, позволяющих выявить качественно-количественные характеристики процесса обучения, оценить степень овладения студентами материала учебной программы.

Различают два типа контроля:

1. педагогический контроль – контроль со стороны преподавателей,
2. самоконтроль самих студентов [15].

Студенты должны понимать функции педагогического контроля. Только в этом случае между учащимися и педагогом будет не отчуждение и недоверие, а сотрудничество и содействие совершенствованию учебного процесса [15].

К организации контроля учебно-познавательной деятельности студентов предъявляются некоторые педагогические требования: индивидуальный характер, систематичность, регулярность, всесторонность, объективность, разнообразие форм контроля и дифференцированный подход.

Достаточно полно и качественно оценивать знания и умения студентов позволяет использование разнообразных видов и форм контроля [5]. В высшем учебном заведении основными видами контроля за учебной деятельностью студентов являются **текущий, промежуточный и итоговый контроль**. Основанием для выделения этих видов контроля является специфика дидактических задач на разных этапах обучения: текущий контроль проводят в процессе усвоения нового учебного материала; рубежный контроль применяют для проверки усвоения значительного объема изученного материала (темы, раздела); с помощью итогового контроля выявляют степень овладения учебным материалом по дисциплине (на экзаменах, приеме курсового проекта, защите дипломного проекта) [20]. Таким образом, все эти виды контроля в какой-то степени повторяют логику учебного процесса.

Предварительный контроль – это диагностика исходного уровня знаний. Он позволяет с первых дней обучения индивидуализировать образовательный процесс и отслеживать динамику результатов обучения каждого учащегося.

Текущий контроль – это диагностика знаний студентов на каждом практическом занятии. Это вид контроля оценивает степень усвоения учебного материала конкретной темы, регулярность и систематичность учебной деятельности студентов. Текущий контроль является одним из основных видов проверки знаний, умений и навыков учащихся. Ведущая задача текущего контроля – регулярное управление учебной деятельностью учащихся и ее корректировка, что позволяет получить непрерывную информацию о ходе и качестве усвоения учебного материала и на основе этого оперативно вносить изменения в учебный процесс [20]. Другими важными задачами текущего контроля являются стимуляция регулярной учебной деятельности; определение уровня овладения учащимися умениями самостоятельной работы, создание условий для их формирования.

Внедряемый в настоящее время компетентностный подход к обучению, приводит к смещению центра тяжести в обучении с лекционных занятий на практические, которые становятся ведущими [5]. Соответственно, возрастает роль текущего контроля на практических занятиях. Функции текущего контроля должны быть существенно расширены: акценты должны быть смещены с оценочной функции на обучающую. При этом в ходе выполнения контрольных заданий в большей мере делается упор на повторение и закрепление, совершенствование приобретенных ранее знаний путем их уточнения и дополнения, обобщения студентами пройденного материала, использование знаний в практической деятельности. Кроме того, контроль должен способствовать формированию умений и навыков рационально организовывать учебную деятельность, самостоятельно овладевать знаниями.

Рубежный (промежуточный) контроль – это диагностика знаний студентов по крупным модулям (разделам) учебной дисциплины. Он позволяет оценить целостность и прочность усвоения учебного материала большого объема. С помощью рубежного контроля обобщается и усваивается целый раздел (тема), выявляются логические взаимосвязи с другими разделами, другими предметами и от учащихся требуется большая самостоятельная конструктивная деятельность [20]. Основными формами промежуточного контроля являются письменные контрольные работы, компьютерное тестирование, проверка расчетно-графических заданий, решение ситуационных задач и другие. Такой контроль проводят обычно несколько раз в семестр [20]. Рубежный контроль охватывает учащихся всей группы и его проведение запланировано в календарно-тематических планах работы преподавателей.

Итоговый контроль – это диагностика результатов образовательного процесса по всей учебной дисциплине. Итоговый контроль осуществляется на переводных и семестровых экзаменах, государственных экзаменах, защите дипломного проекта. Итоговый контроль позволяет судить об общих достижениях учащихся. При подготовке к нему происходит более углубленное

обобщение и систематизация изученного материала, что позволяет знания и умения поднять на новый уровень. При систематизации и обобщении знаний и умений учащихся проявляется в большей степени и развивающий эффект обучения, поскольку на этом этапе особенно интенсивно формируются интеллектуальные умения и навыки [20]. Устная форма экзамена позволяет преподавателю оценить объем знаний студента, а студенту продемонстрировать усвоенные знания и умение ими оперировать, а также выявить допущенные неточности и ошибки. Итоговый контроль характеризует не только уровень знаний и умений студентов, но и качество работы преподавателей, организацию образовательного процесса на кафедре.

Формы реализации и методы контроля могут быть разными, и вместе они образуют четкую продуманную систему контроля, которая позволяет управлять качеством подготовки будущего специалиста, своевременно вносить поправки в образовательный процесс [15].

Успех контроля во многом зависит от правильного выбора содержания, методов и форм контроля, то есть от того, что нужно контролировать, как контролировать и в какой форме контролировать [15].

Использование разнообразных видов и форм контроля в учебной деятельности способствует точному и качественному оцениванию знаний студентов [11, 12]. Можно выделить пять основных взаимосвязанных функций контроля знаний студентов:

- **диагностическая функция:** выявляет уровень знаний, умений, навыков студентов; позволяет получить информацию об ошибках, недочетах и пробелах в знаниях и умениях учащихся. Результаты диагностических проверок помогают выбрать наиболее интенсивную методику обучения, а также уточнить направление дальнейшего совершенствования содержания методов и средств обучения;
- **обучающая функция:** контроль осуществляется в целях активизации работы по усвоению учебного материала. В процессе проверки учащиеся проверяют, закрепляют и систематизируют изученный материал. Они не только воспроизводят изученный учебный материал, но и применяют знания и умения в новой ситуации;
- **воспитательная функция:** наличие системы контроля дисциплинирует, организует и направляет деятельность студентов, способствует ответственному отношению к занятиям, побуждает студента к развитию своих способностей, то есть к личностному и профессиональному росту;
- **развивающая функция:** в процессе контроля развиваются речь, память, внимание, воображение, мышление студентов, формируется творческое отношение к предмету и стремление развить свои способности;
- **мотивирующая функция:** контроль поощряет образовательную деятельность студентов и стимулирует ее продолжение [2, 16, 20].

В учебно-воспитательном процессе все функции контроля тесно взаимосвязаны. Вместе с тем, та или иная функция в разной степени

проявляется в различных формах контроля [7]. Так, на семинарском занятии в ходе текущего контроля проявляется обучающая функция: высказываются различные суждения, задаются вопросы, обсуждаются ошибки. Одновременно текущий контроль выполняет диагностическую, воспитательную, развивающую и мотивирующую функции. Зачеты, экзамены, тестирование выполняют преимущественно диагностическую функцию контроля.

Методы контроля – это способы деятельности преподавателя и студентов, в ходе которых выявляются усвоение учебного материала и овладение студентами требуемыми знаниями, умениями и навыками. В высших учебных заведениях основными методами контроля знаний, умений и навыков студентов являются: устный опрос, письменный контроль, компьютерное тестирование (рисунок 1).



Рисунок 1 – Методы контроля знаний

Общее значение этих методов заключается в том, чтобы наилучшим образом обеспечить своевременную и всестороннюю обратную связь между студентами и преподавателями, на основании которой определяется, как студенты воспринимают и усваивают учебный материал.

Устный опрос – наиболее распространенный метод контроля знаний студентов. При устном контроле устанавливается непосредственный контакт между преподавателем и студентом, в процессе которого преподаватель получает широкие возможности для изучения степени усвоения студентами учебного материала. Устный опрос – метод контроля, позволяющий не только опрашивать и контролировать знания учащихся, но и сразу же поправлять, повторять и закреплять знания. Устный опрос требует от преподавателя

предварительной подготовки: тщательного отбора содержания, всестороннего продумывания вопросов, задач и примеров, которые будут предложены, путей активизации деятельности всех студентов группы в процессе проверки. При проведении контроля имеет важное значение создание обстановки раскрепощенности мышления, стимулирования активности студентов и их самостоятельности. Студент не должен бояться ошибиться, а сами ошибки должны быть исправлены без каких-либо последствий для студента [5]. В необходимых случаях целесообразно задавать наводящие вопросы, которые должны развивать логическое мышление студента. Недостатки устного контроля: оставляет часть учащихся пассивными; не исключает давление авторитета преподавателя; требует много времени.

Устный опрос как контроль знаний студентов осуществляется в виде **фронтальной и индивидуальной** проверки. Фронтальный контроль протекает в форме беседы учителя со всеми учащимися, которые со своих мест отвечают на его вопросы. Эта форма проверки используется для выяснения готовности группы к изучению нового материала; определения сформированности понятий; поэтапной или окончательной проверки изученного учебного материала; при подготовке к выполнению лабораторных работ [2]. Достоинства фронтального контроля: за короткое время проверяется состояние знаний студентов всей группы; высокая активность учащихся; высокий темп работы, который может варьироваться в зависимости от трудности задания и готовности учащихся. К недостаткам относят его поверхностный характер и невозможность уделять больше внимания каждому. Таким образом, при фронтальном контроле трудности связаны со сложностью фиксации внимания на работе всех учащихся и, следовательно, возможной недостаточной объективностью оценки их ответов. По этой причине индивидуальный контроль целесообразно сочетать с фронтальным: учащиеся получают задание дополнить, исправить ответ своего товарища.

Письменный опрос более лояльный, чем устный, так как дает время сосредоточиться, учащийся свободен в выборе алгоритма действий, нет давления авторитета преподавателя. Поэтому письменный опрос считается более объективным, он охватывает всех учащихся, обеспечивает всестороннюю, глубокую проверку знаний, умений и навыков. Недостатки письменного контроля: у преподавателя меньше возможности вариации заданий, тратится время на проверку письменных ответов.

Цели контроля определяют выбор методов, при этом следует учитывать, что названные методы могут применяться во всех видах контроля. Необходимо помнить, что только комплексное их применение позволяет регулярно и объективно выявлять динамику формирования системы знаний и умений студентов.

В целях повышения качества знаний обучающихся необходимо совершенствовать формы и методов контроля. Помимо традиционных методов можно выделить инновационные методы контроля знаний [13,18]. Нетрадиционные формы контроля ориентированы на личностный подход в обучении. Они позволяют активизировать познавательные способности

учащихся, определить результативность каждого этапа обучения и учебного процесса в целом. Эффективность проявляется в творческом подходе и многообразии форм. К инновационным формам контроля относятся тестирование, рейтинговая система оценивания, проект, портфолио, исследовательская работа, квест, кроссворд и другие [18].

Одной из форм контроля знаний студентов выступает популярная рейтинговая система контроля [9]. Рейтинг – это шкала достижений студентов по данному предмету, которая традиционно переводится в баллы. Преимущества рейтинговой системы контроля знаний заключаются в том, что она позволяет осуществлять постоянную связь с обучающимися, создаёт условия для своевременной корректировки процесса обучения, повышает мотивацию студентов к систематической самостоятельной учебной и научной работе в течение всего периода обучения, создает условия для организации непрерывного мониторинга за работой студентов, осуществления постоянного контроля за успеваемостью самими студентами и преподавателями [6,19]. Рейтинговая система предусматривает проведение текущего, рубежного и итогового контроля. Рейтингование студентов на основе результатов текущего контроля позволяет более дифференцированно подходить к итоговому контролю. Так, по результатам текущего контроля может быть предоставлена возможность лучшим студентам получения зачета («зачет-автомат») или сдачи экзамена без выполнения процедуры опроса [5].

С развитием информационных технологий широкую популярность приобрели тесты [8]. Этот метод оценки знаний широко используется в дистанционных системах образования, например в Moodle.

Тест может проводиться для оценки:

- уровня знаний в начале обучения (входящий тест);
- усвоения знаний в течение обучения (тренировочный тест);
- знаний, умений и навыков после изучения темы, раздела (тематический/промежуточный тест);
- умений и навыков в конце обучения (итоговый тест).

От других методов педагогической диагностики тесты отличаются тем, что позволяют проверить знания студентов по широкому спектру вопросов изучаемой дисциплины, существенно сокращают затраты времени на проверку результата, исключают субъективизм преподавателя, как в процессе контроля, так и в процессе оценки [10]. Перечисленные и некоторые другие характеристики тестов, безусловно, свидетельствуют о целесообразности их использования в учебном процессе. Главная отличительная черта теста – объективность и качество оценивания результатов, которые достигаются за счет стандартизации процедуры тестирования, а также стандартизации и проверки показателей качества заданий и тестов в целом [8]. Необходимо отметить, что использование тестов исключает возможность возникновения конфликтов из-за несогласия с оценкой. У тестирования как средства контроля есть не только преимущества, но и недостатки, к которым следует отнести невозможность контроля за правильностью речи студентов; невозможность учета психофизиологического состояния учащихся на момент контроля;

случайность выбора правильного варианта ответа [4]. Несмотря на перечисленные недостатки, использование в учебном процессе тестового и рейтингового контроля знаний позволяет повысить объективность, надежность и эффективность контроля.

Еще одним примером инновационной формы контроля знаний является портфолио. Портфолио, как инновационная форма контроля, в отличие от традиционного подхода, который разделяет преподавание, учение и оценивание, органически интегрирует эти три составляющие процесса обучения [13]. Портфолио является формой непрерывного анализа знаний в процессе образования, который смещает акценты от жестких факторов традиционной оценки к гибким условиям оценки альтернативной. При всех положительных сторонах портфолио как метод контроля имеет ряд недостатков. Во-первых, внедрение данной формы требует большой систематической работы преподавателей и студентов, формированию их готовности одобрить и принять эту инновацию. Во-вторых, портфолио требует больше времени для реализации, чем традиционная система оценки. В-третьих, отсутствует четкая ориентация в оценке, высокий уровень ее субъективности [13]. Но вместе с тем портфолио дает новый толчок к развитию способов оценки знаний, показывает возможные направления обновления традиционной системы обучения.

В качестве способа текущего контроля усвоения новой информации возможно применение рефлексивной практики непосредственно после онлайн-лекции [1]. Кроме стимулирования запоминания учебного материала, это ещё и действенная тренировка коммуникативных способностей студентов, которая помогает перевести теоретические аспекты лекции в практические знания. Авторы этого метода предлагают использовать короткое групповое обсуждение лекции непосредственно после ее окончания в онлайн-режиме. Для этого каждому студенту по списку или в ином порядке предлагается задать лектору один или больше вопросов по пройденному материалу. Представленный вид работы позволяет конкретизировать большинство моментов, которые могли остаться незамеченными, актуализирует теоретическую информацию для тех студентов, которые не были заинтересованы изначально, заставляет слушать и конспектировать лекцию более тщательно [1]. Положительным моментом данного вида диагностики является то, что преподаватель, участвуя в рефлексивной дискуссии, имеет возможность выявить и повторно объяснить наиболее сложные для восприятия учащихся вопросы лекции или занятия. Недостатком этого метода является невозможность использования его в качестве единственного и окончательного способа оценки знаний.

Таким образом, можно отметить, что:

- Контроль является особой и необходимой частью процесса подготовки специалистов любого профиля.
- Контроль учебной деятельности студентов представляет собой педагогическую систему, характеризующуюся тесной взаимосвязью составляющих ее элементов, принципами организации и конкретными функциями.

- Специфика системы «контроль» в том, что она должна обеспечить контроль реализации как конечных (по специальности в целом), так и промежуточных (по темам, курсам обучения) целей образовательного процесса.

- Деятельность системы «контроль» обеспечивается единством целей, содержания и средств контроля.

- При организации контроля учебной деятельности студентов необходимо учитывать современные тенденции образовательного процесса.

Традиционные и инновационные методы контроля знаний весьма разнообразны. Каждый метод контроля имеет свои достоинства и недостатки, область применения. Ни один из них не может быть единственным, способным диагностировать все аспекты процесса обучения. Только правильное и педагогически целесообразное сочетание всех типов контроля способствует повышению качества учебно-воспитательного процесса. Правильно организованный контроль знаний и умений служит как целям проверки, так и целям обучения. Система педагогического контроля должна быть открытой и понятной студентам, доступной для обсуждения и корректировки. Результаты оценки знаний и действий студентов должны стать объектом их собственных интересов, служить для них постоянным и надежным показателем успешности обучения и продвижения к поставленной цели – избранной профессии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аляхнович, Н.С. Инновационные методы контроля знаний и компетенций студентов в условиях управляемой самостоятельной работы с использованием системы дистанционной системы Moodle / Н.С. Аляхнович, В.В. Янченко // Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №5. – С. 108-113.

2. Антипина, И. О. Механизмы независимой оценки качества образования // Инновационные проекты и программы в образовании. – 2015. – № 4. – С.12-15.

3. Баздерова Т.А., Баздеров Г.А. Контроль знаний – важное звено в системе управления качеством образования // Инновации в технологиях и образовании: сб. ст. V Международной научно-практической конференции «Инновации в технологиях и образовании», 2015 г.: в 5ч. / Филиал КузГТУ в г. Белово. Белово: Изд-во филиала КузГТУ в г. Белово. - С. 71-73.

4. Байтукаева, А.М. Лингводидактическое тестирование как инструмент педагогического мониторинга / А.М. Байтукаева // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. – 2011. – № 3. – Т. 24. – С. 225-230.

5. Гельман В.Я. Совершенствование форм контроля успеваемости в вузе // Современное образование. 2019. № 2. С. 52-57. DOI: 10.25136/2409-8736.2019.2.28364 URL:https://nbpublish.com/library_read_article.php?id=28364

6. Забелин Н. Н., Рогачевский А. А.. Модульно-рейтинговая система оценки знаний. – Гродно: ГГАУ, 2007. – 23 с.

7. Ильина И.Ю. Организация контроля знаний студентов как важнейший элемент учебного процесса // Современные гуманитарные исследования. – 2011. – №2. – С. 165-166.
8. Качан, Е.С. Тестирование как одна из форм контроля при обучении РКИ / Е.С. Качан // Материалы XXI Международной научно-практической конференции. – Минск, 2021. – С. 207-209.
9. Леднева, И.О. Формы контроля знаний как эффективный инструмент управления учебным процессом / И.О. Леднева // Современные тенденции образовательного процесса в медицинском университете: сборник материалов научно-практической конференции с международным участием. – Гродно, 2020. – С.103-106.
10. Леднева, И.О. О применении компьютерного тестирования при изучении биохимии / И.О. Леднева, А.Г. Виноцкая, Н.Э. Петушок // Современные тенденции образовательного процесса в медицинском университете: сборник материалов научно-практической конференции с международным участием. – Гродно, 2020. – С.97-100.
11. Леднева, И.О., Лелевич В.В., Виноцкая А.Г. Организация контроля знаний студентов при изучении биохимии в медицинском университете / И.О. Леднева, В.В.Лелевич, А.Г. Виноцкая // Высшая школа. – 2021. – Т. 145, № 5. – С. 14-17.
12. Маматова О.Г. Формы контроля знаний студентов педагогических вузов // Молодой ученый. – 2012. – № 8. – С. 353-355.
13. Матросова, Е. А. Актуальные формы контроля в профессиональной подготовке студента колледжа / Е. А. Матросова // Молодой ученый. – 2018. – № 1 (187). – С. 136-138. – URL: <https://moluch.ru/archive/187/47431/>
14. Милевич А.С. К вопросу о современных технологиях контроля знаний студентов // Современные проблемы науки и образования. – 2009. – № 6 (часть 1) – С. 61-64.
15. Педагогика в медицине: учебное пособие для студентов высших медицинских учебных заведений / Н.В.Кудрявая, Е.М.Уколова, Н.Б.Смирнова, Е.А.Волошина, К.В.Зорин; под ред. Н.В.Кудрявой. – М.: Издательский центр “Академия”, 2006. – 320 с.
16. Сиденко А.С., Новикова Т.Г. Эксперимент в образовании //М.: АПК и ПРО. – 2002.
17. Соловьева Ж.В., Адамчик А.А. Рейтинговая система как современное средство контроля знаний студентов // Международный журнал экспериментального образования. – 2015. – № 4. – С. 232-234;
18. Стаценко, О.Г. Традиционные и инновационные методы контроля знаний / Вестник Иркутского университета, выпуск 25. – С. 157-159.
19. Тарасенко О.В., Демиденко Ж. А. Балльно-рейтинговая система оценивания знаний студентов в условиях аграрного вуза // Молодой ученый. – 2014. – №1. – С. 579-581.
20. Щанкина, Н.А. Контроль и его функции в учебном процессе / Н.А. щанкина // УчМет. [Электронный ресурс]. – Режим доступа – URL: [https://www.uchmet.ru/library/material/14625/93731/\(датаобращения:04.01.2021\)](https://www.uchmet.ru/library/material/14625/93731/(датаобращения:04.01.2021)).

ПРАКТИКООРИЕНТИРОВАННЫЙ ПОДХОД В ПРЕПОДАВАНИИ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ

Лелевич С.В., Минзар В.С.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Введение. Клиническая биохимия изучает изменения биохимических процессов в организме человека при патологических состояниях, а также разрабатывает методы обнаружения этих изменений в целях диагностики и прогноза патологических состояний и заболеваний. Являясь неотъемлемой частью современной биологии и медицины, она дает материальную основу для понимания функциональной деятельности органов и тканей, особенностей обмена веществ, который объединяет отдельные части организма в одно целое и обеспечивает поддержание гомеостаза [1].

Достижения биологической химии имеют большое значение для выяснения механизмов патологических процессов, вызванных различными патогенными агентами или возникающих в результате генетических дефектов. В этой связи биохимические методы исследования нашли широкое применение в клинической и экспериментальной медицине – как для изучения патогенеза патологических процессов, так и для дифференциальной диагностики и оценки эффективности применяемой терапии.

Клиническая биохимия позволяет использовать на практике фундаментальные знания в области биохимии человека. Применение новых лекарственных средств и новых методов лечения, проведение сложных хирургических вмешательств и реанимационных мероприятий требуют постоянного биохимического контроля. Клинико-биохимические данные и сведения о лечении необходимы для оценки результатов анализа, позволяющей выявлять возможную токсичность лекарственных препаратов, особенно при испытаниях новых лекарственных средств. Следовательно, задача клинической биохимии состоит в обеспечении биохимической информацией, необходимой для лечения пациентов.

Цель. Проанализировать практикоориентированность при преподавании клинической биохимии в Гродненском государственном медицинском университете.

Материалы и методы исследования. Описательные.

Результаты и обсуждение. Преподавание клинической биохимии в учреждении образования «Гродненский государственный медицинский университет» осуществляется на кафедре клинической лабораторной диагностики и иммунологии. Кафедра расположена на базах учебного корпуса университета, учреждения здравоохранения «Гродненская университетская клиника», а также учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи г. Гродно».

Кафедра располагает 14-ю кабинетами общей площадью 338,8 кв.м. Для обеспечения образовательного процесса имеется табличный фонд, атласы и

наглядные пособия, слайды, мазки, обучающие фильмы по темам занятий, мультимедийные презентации. На кафедре имеется 20 компьютеров (с учетом компьютерного класса), 4 ноутбука, 1 сканер, 3 мультимедийных проектора, интерактивная доска, 3 принтера.

Для проведения практических занятий по клинической биохимии на кафедре имеется следующая лабораторная аппаратура: анализатор мочи UriSed Mini, фотометры SOLAR 2111, термостаты, центрифуги, блок подготовки проб. В достаточном количестве имеется лабораторная посуда и инструментарий, регулярно закупается необходимое количество лабораторных реагентов.

В 2024 году при поддержке лаборатории INVITRO на кафедре организована симуляционная лаборатория для проведения клинко-биохимических исследований. Обучающиеся получили возможность непосредственного участия в преаналитическом этапе, выполнения клинко-биохимических исследований на современном лабораторном оборудовании, овладения навыками интерпретации полученных результатов. Для этого на базе симуляционной лаборатории имеется анализатор электролитов и pH крови EasyLyte (MEDICA), средства пробоподготовки, необходимый лабораторный инструментарий и посуда (рисунок).



Рисунок – Симуляционная лаборатория на базе кафедры клинической лабораторной диагностики и иммунологии ГрГМУ

Каждое занятие по клинической биохимии, помимо опроса и разбора теоретических вопросов по теме, включает обязательную практическую часть. В ходе ее студенты выполняют определение биохимических показателей в биологических материалах, знакомятся с их выполнением на современном лабораторном оборудовании кафедры, а также клинко-диагностических лабораторий учреждений здравоохранения.

Помимо студентов Гродненского государственного медицинского университета практикоориентированный подход в преподавании клинической биохимии активно используется при работе с врачами-интернами, клиническими ординаторами, слушателями курсов повышения квалификации на кафедре, а также врачами Гродненской университетской клиники.

Выводы. Кафедра клинической лабораторной диагностики и иммунологии Гродненского государственного медицинского университета активно использует практикоориентированный подход в образовательном процессе при преподавании клинической биохимии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич, С. В. Клиническая биохимия / С.В. Лелевич // – Санкт-Петербург : ЛАНЬ, 2020. – 303 с.

МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ПРЕПОДАВАНИЯ РАЗДЕЛА «БИОХИМИЯ ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ» В ДИСЦИПЛИНЕ «БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ» НА МЕДИКО-ПСИХОЛОГИЧЕСКОМ ФАКУЛЬТЕТЕ

Маглыш С.С., Лелевич В.В.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

В современном мировом сообществе наблюдается обострение межгосударственных и внутригосударственных отношений, что несомненно отражается и на межличностных отношениях. Возникающие конфликтные ситуации создают социально-психологическую напряженность в человеческом обществе на разных уровнях его организации. Большой негативный вклад в психологическую нагрузку на людей разных континентов, независимо от уровня их социального развития, расовой и национальной принадлежности, внесла пандемия, вызванная коронавирусом COVID–19. Все вышеперечисленные факторы сказываются на психическом здоровье людей и, как следствие, повышают потребность в услугах высококвалифицированных врачей психологов, психотерапевтов, психиатров. В нашей стране подготовка специалистов такого профиля осуществляется на медико-психологическом факультете УО «Гродненский государственный медицинский университет». Это единственный вуз, который в настоящее время осуществляет подготовку студентов по специальности 1–79 01 05 «Медико-психологическое дело» с

присвоением квалификации врач-психиатр-нарколог, врач-психотерапевт, врач-невролог после прохождения интернатуры.

На втором курсе обучения студенты медико-психологического факультета изучают дисциплину *«Биологическая химия»*. Успешное освоение теоретической части данной дисциплины осуществляется на базе знаний, полученных студентами ранее при изучении таких учебных дисциплин как медицинская биология и общая генетика, цитология, гистология, эмбриология, общая и биоорганическая химия.

Преподавание дисциплины *«Биологическая химия»* на медико-психологическом факультете осуществляется кафедрой биологической химии на основе образовательного стандарта по специальности 1-79 01 05 *«Медико-психологическое дело»*, утвержденного и введенного в действие постановлением Министерства образования Республики Беларусь от 26.01.2022 № 14; учебного плана по специальности 1-79 01 05 *«Медико-психологическое дело»*, утвержденного ректором УО «Гродненский государственный медицинский университет» (от 02.06.2021, № 46) и учебной программы, составленной на базе типовой учебной программы для специальности 1-79 01 05 *«Медико-психологическое дело»* (составители: зав. кафедрой биологической химии ГрГМУ Лелевич В.В., доцент данной кафедры Петушок Н.Э.).

Согласно данной программе на изучение дисциплины *«Биологическая химия»* по специальности 1-79 01 05 *«Медико-психологическое дело»* отведено 216 академических часов (122 часа – аудиторных, из них лекций – 32 часа, лабораторных занятий – 90 часов). Формой аттестации в 3-ем семестре является зачет, а в 4-ом семестре – экзамен.

Заключительной частью данной программы является раздел *«Биохимия органов и тканей»*, на изучение, которого отводится 6 лекционных часов и 10 часов лабораторных занятий. Данный раздел включает следующие темы: *«Биохимия крови»*, *«Биохимия печени»*, *«Водно-солевой обмен»*, *«Биохимия почек и мочи»*, *«Биохимия мышц и соединительной ткани»*.

Переоценить его роль в подготовке будущих специалистов невозможно, так как его изучение позволяет студентам увидеть специфику метаболизма в отдельных органах и тканях организма человека. Полученные знания и умения необходимы для последующего более глубокого понимания и усвоения содержания таких учебных дисциплин, как *«Нормальная физиология»*, *«Патологическая физиология»*, *«Фармакология»* и ряда других специальных дисциплин. Кроме того, знание биохимических особенностей органов и тканей позволит в практической деятельности правильно трактовать результаты биохимических анализов пациентов и использовать их при постановке диагноза.

При преподавании раздела *«Биохимия органов и тканей»* сотрудники кафедры биологической химии кроме лекций и лабораторных занятий используют такие методы обучения, как тестирование, проблемное обучение в виде решения ситуационных задач и заданий, консультации, научно-исследовательскую работу в студенческом научном обществе при кафедре.

Для методического обеспечения учебного процесса по разделу *«Биохимия органов и тканей»* на лабораторных занятиях в практикум, разработанный сотрудниками кафедры [1], включены работы по определению таких биохимических показателей, как гемоглобин, кальций, общий, прямой и непрямой билирубин в крови, белок, глюкоза и кровяные пигменты в моче. Отдельным структурным компонентом практикума является *«Словарь основных терминов общей биохимии»*, в котором студенты могут найти краткие определения терминов, используемых при изучении отдельных тем раздела *«Биохимия органов и тканей»*.

В помощь студентам при подготовке к лабораторным занятиям разработаны методические рекомендации [2], в которых содержатся вопросы по теоретической и практической части каждой темы данного раздела, а также приводится перечень литературных источников, где можно найти материал по указанным вопросам.

Таким образом, используя практикум и методические рекомендации, студенты получают всю необходимую информацию для подготовки к лабораторным занятиям по темам раздела *«Биохимия органов и тканей»*.

После завершения изучения данного раздела биологической химии проводится тестирование и контрольное занятие для определения уровня усвоения материала. Однако, метод тестирования не позволяет оценить у студентов степень понимания и способность оперирования полученными знаниями.

Существенную помощь в выявлении уровня усвоения этих знаний, на наш взгляд, может оказывать внедрение ситуационных задач и заданий в учебный процесс по изучению раздела *«Биохимия органов и тканей»*. Для этой цели на кафедре разработано учебное пособие *«Биологическая химия: сборник задач и заданий»* [3]. В нем приведены примеры решения ситуационных задач и выполнения заданий, а также содержатся комплексы задач и заданий для самостоятельной работы по темам данного раздела. После проведения тестирования студентам предлагаются задача и задание, выполнение которых потребует актуализации знаний в конкретной ситуации. Полученные результаты учитываются при выставлении оценки по результатам тестирования. Мы считаем, что применение ситуационных задач и заданий в учебном процессе при изучении раздела *«Биохимия органов и тканей»* позволит реализовать компетентностный подход в образовании на медико-психологическом факультете и повысить уровень практико-ориентированной подготовки студентов.

Важную роль для практико-ориентированной подготовки студентов по разделу *«Биохимия органов и тканей»* играет их участие в научно-исследовательской работе. На кафедре проводятся эксперименты по изучению влияния алкогольной интоксикации на метаболизм в разных органах и тканях крыс, в которых студенты принимают непосредственное участие как на этапе проведения модели, так и при определении биохимических показателей. Полученные результаты докладываются на заседаниях СНО, а также оформляются в виде публикаций на разных конференциях.

Таким образом, методическое обеспечение преподавания раздела «Биохимия органов и тканей» при изучении дисциплины «Биологическая химия», разработанное на кафедре биологической химии, поможет будущим специалистам медико-психологического профиля получить не только фундаментальные биохимические знания, но и приобрести специальные знания для понимания специфики биохимических процессов, протекающих в разных органах и тканях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич, В. В. Биологическая химия: практикум для студентов, обучающихся по специальности 1-79 01 05 «Медико-психологическое дело» / В. В. Лелевич, С. С. Маглыш. – 3-е изд. – Гродно: ГрГМУ, 2022. – 148 с.
2. Лелевич, В. В. Биологическая химия: методические рекомендации для студентов, обучающихся по специальности «Медико-психологическое дело» / В. В. Лелевич, С. С. Маглыш. – Гродно: ГрГМУ, 2023. – 49 с.
3. Маглыш, С. С. Биологическая химия: сборник задач и заданий / С. С. Маглыш, В. В. Лелевич. – Минск: Выш. шк., 2019. – 204 с.

Научное издание

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ
ОБЩЕЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ – 2024**

*Материалы
республиканской научно-практической конференции*

24 мая 2024 года

Ответственный за выпуск С. Б. Вольф

Компьютерная верстка С. В. Петрушиной, А. А. Хартанович
Корректura А. Г. Веницкая

Подписано в печать 24.05.2024
Тираж 9 экз. Заказ 66.

Издатель и полиграфическое исполнение
Учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет»
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013.
Ул. Горького, 80, 230009, Гродно

ISBN 978-985-595-890-2



9 789855 958902

Репозиторий ГрГМУ