



ГРОДНЕНСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ



КАФЕДРА
БИОЛОГИЧЕСКОЙ
ХИМИИ



КАФЕДРА КЛИНИЧЕСКОЙ
ЛАБОРАТОРНОЙ
ДИАГНОСТИКИ
И ИММУНОЛОГИИ

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ОБЩЕЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ – 2025

Материалы республиканской
научно-практической конференции
с международным участием,
посвященной 100-летию со дня рождения
академика Ю.М. Островского

27 июня 2025 г.



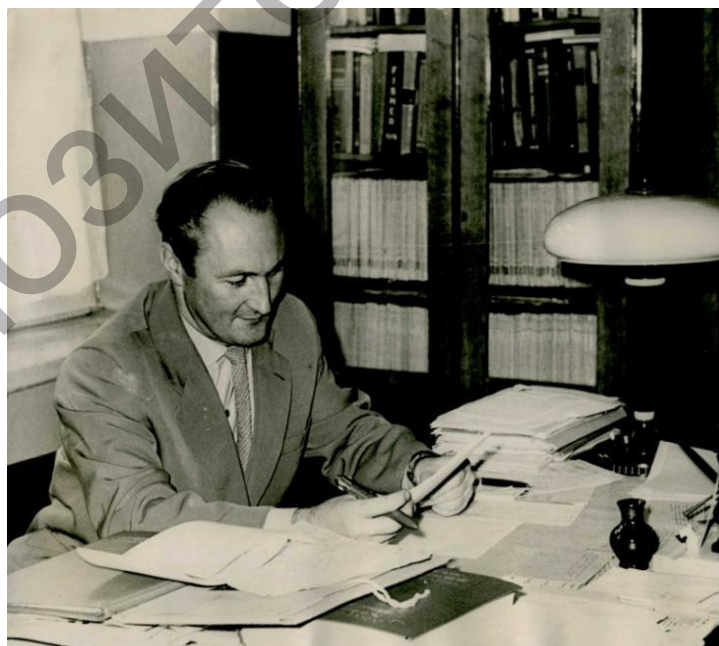
Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ
ОБЩЕЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ – 2025**

*Материалы республиканской
научно-практической конференции с международным
участием, посвященной 100-летию
со дня рождения академика Ю.М. Островского*

27 июня 2025 года



Гродно
ГрГМУ
2025

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

Рекомендовано Редакционно-издательским советом ГрГМУ (протокол № 8 от 30.04.2025 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;
доцент каф. биологической химии, канд. биол. наук,
доц. А. Г. Виницкая.

Рецензенты: зав. каф. фармакологии имени проф. М. В. Кораблева, д-р биол. наук, доц. В.И. Козловский;
зав. каф. общей и биоорганической химии, канд. хим. наук,
доц. В. В. Болтromeюк.

Актуальные проблемы общей и клинической биохимии – 2025 :
А 43 сб. материалов республиканской научно-практической конференции с международным участием, посвящённой 100-летию со дня рождения академика Ю.М. Островского (27 июня 2025 г.) [Электронный ресурс] / отв. ред. В. В. Лелевич. – Гродно : ГрГМУ, 2025. – Электрон. текст. дан. (объем Мб). – 1 эл. опт. диск (CD-ROM).

ISBN 978-985-36-0001-8.

В материалах республиканской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы общей и клинической биохимии – 2025» обсуждается широкий круг вопросов в области фундаментальной и клинической биохимии, а также преподавания этих дисциплин в медицинских вузах. Представлены воспоминания учеников об академике Ю.М. Островском, первого заведующего кафедрой биологической химии ГГМИ и директора Института биохимии АН БССР.

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 978-985-36-0001-8

© ГрГМУ, 2025

СОДЕРЖАНИЕ

Раздел 1. К 100-ЛЕТИЮ АКАДЕМИКА Ю.М. ОСТРОВСКОГО 13

Ю.М. ОСТРОВСКИЙ – ПЕРВЫЙ ЗАВЕДУЮЩИЙ КАФЕДРОЙ
БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ ГРОДНЕНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
МЕДИЦИНСКОГО ИНСТИТУТА

Лелевич В.В. 13

РОЛЬ Ю.М. ОСТРОВСКОГО В ИЗУЧЕНИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ РОЛИ
ВИТАМИНОВ

Лелевич В.В. 16

АКАДЕМИК Ю.М. ОСТРОВСКИЙ И МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ КОНЦЕПЦИЯ
ГЕНЕЗА АЛКОГОЛИЗМА

Лелевич В.В. 19

ИНСТИТУТ БИОХИМИИ НАН БЕЛАРУСИ: ГОДЫ СТАНОВЛЕНИЯ
(1985-1991) ПОД РУКОВОДСТВОМ АКАДЕМИКА Ю.М. ОСТРОВСКОГО

Дорошенко Е.М. 22

РОЛЬ Ю.М. ОСТРОВСКОГО В ПОДГОТОВКЕ БИОХИМИЧЕСКИХ
НАУЧНЫХ КАДРОВ

Маглыш С.С. 25

ДВА РАЗГОВОРА С Ю.М. ОСТРОВСКИМ

Шейбак В.М. 30

Раздел 2. ОБЗОРЫ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ 33

ОБЩНОСТЬ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ МЕХАНИЗМОВ АЛКОГОЛЬНОЙ И
МОРФИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Лелевич С.В., Лелевич В.В. 33

ОБЗОР ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЕЙ ОПИЙНОЙ
ИНТОКСИКАЦИИ

Виницкая А.Г., Лелевич В.В. 42

СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ, БИОГЕННЫЕ АМИНЫ И
РОДСТВЕННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПРИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ КРОВООБРАЩЕНИЯ И
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА

Дорошенко Е.М. 48

АЛКОГОЛЬ И КИШЕЧНИК: НАЧАЛЬНЫЕ СТАДИИ ПАТОГЕНЕЗА
АЛКОГОЛИЗМА

Шейбак В.М., Николаева И.В. 57

АДЪЮВАНТНЫЕ СТРАТЕГИИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ	
<i>Артюх Т. В., Сидорович Е.А., Карпова Е.В., Топальский Д.В.</i>	66
ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КАЛЕНДУЛЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ КИШЕЧНИКА ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ	
<i>Белоус Е.М., Цыбулькина П.С.</i>	74
РОЛЬ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА ПРИ РАДИАЦИОННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ	
<i>Белоус Е.М., Абрамович А.С., Станевка А.А.</i>	78
РОЛЬ ПИРУВАТА И ЛАКТАТА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ	
<i>Виницкая А.Г.</i>	86
БИОМАРКЕРЫ В ДИАГНОСТИКЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	
<i>Волчкевич О.М.</i>	92
МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОПУХОЛЕВОЙ КЛЕТКИ И ПУТИ ИХ МОДУЛЯЦИИ	
<i>Гусаковская Э. В., Павлючук А. Ю., Семенюк С-М. С.</i>	98
НАНОТОКСИКОЛОГИЯ: МЕХАНИЗМЫ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК И НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА, КОБАЛЬТА И СЕРЕБРА	
<i>Заводник И.Б., Коваленя Т.А., Лапина Е.А., Ильич Т.В., Савко А.И., Ануфрик С.С., Анучин С.Н., Заводник Л.Б., Климович И.И.</i>	102
МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ НАРУШЕНИЙ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА И ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ	
<i>Кузьменко А.Т., Батуревич Л.В., Алехнович Л.И., Инаишвили М.</i>	105
МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АЛКОГОЛЬНОЙ МИОПАТИИ	
<i>Лелевич В.В., Лихван Д.С.</i>	113
МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ОЗОНА НА ОРГАНИЗМ	
<i>Меленец М.А., Зинчук В.В., Волошко П.Э.</i>	116
КОНЦЕПЦИЯ «D ₃ + 12 ВИТАМИНОВ»: ОТ ОСНОВАТЕЛЕЙ СОВЕТСКОЙ ВИТАМИНОЛОГИИ К ПЕРСПЕКТИВАМ БУДУЩЕГО	
<i>Мойсеёнок А.Г., Коденцова В.М.</i>	120
БЕЛОРУССКИЕ КОРНИ ОРЕНБУРГСКОЙ ХИМИЧЕСКОЙ И БИОХИМИЧЕСКОЙ ШКОЛЫ	
<i>Павлова М.М., Лебедева Е.Н., Карнаухова И.В.</i>	123
ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛУТАТИОНА И ФЕРМЕНТОВ ЕГО МЕТАБОЛИЗМА ПРИ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ	
<i>Петушок Н.Э.</i>	127

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ
ВЕЩЕСТВ, СОДЕРЖАЩИХСЯ В ПРОДУКТАХ ПЧЕЛОВОДСТВА

Семененя И.Н., Переверзев В.А. 133

ЭНДОГЕННЫЙ СЕРОВОДОРОД: ЕГО РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ
ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ (ОБЗОР)

Семененя И.Н., Переверзев В.А. 139

РОЛЬ БИОХИМИЧЕСКОГО СКРИНИНГА В ПРЕНАТАЛЬНОЙ
ДИАГНОСТИКЕ ХРОМОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

*Соколова О.В., Горчакова О.В., Болондзь М.Е., Добрук Е.Е.,
Бизунова О.П. 145*

ОРГАНИЗАЦИЯ КОМБИНИРОВАННОГО СКРИНИНГА I ТРИМЕСТРА
БЕРЕМЕННОСТИ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

*Соколова О.В., Горчакова О.В., Болондзь М.Е., Добрук Е.Е.,
Бизунова О.П. 148*

НЕДОНОШЕННЫЕ ДЕТИ И СЕРОТОНИН ПУПОВИННОЙ КРОВИ

Шейбак Л.Н., Протасевич Т.С., Гаманович О.В., Каткова Е.В. 152

НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПРОТИВОВИРУСНОГО ЭФФЕКТА ЦИНКА

Шейбак В.М., Горецкая М.В. 155

ЦИНК: ФУНКЦИИ, МЕТАБОЛИЗМ, ПОТРЕБНОСТЬ И ВЛИЯНИЕ НА
КИШЕЧНИК

Шейбак В.М., Горецкая М.В., Николаева И.В. 162

ХРОНИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ ПОЧЕК – ПРОМОУТЕР «БОЛЕЗНЕЙ
ЦИВИЛИЗАЦИИ»: РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА ПАТОХИМИЧЕСКИХ
ПРОЦЕССОВ БИОФИЗИЧЕСКИМИ ТЕХНОЛОГИЯМИ

Яковлева А.В., Слейман М., Дюсупова К., Везо О.С., Эмануэль В.Л. 170

NEONATAL THROMBOCYTOPENIA: AN OVERVIEW OF
PATHOPHYSIOLOGY, DIAGNOSTICS AND CURRENT MANAGEMENT

*Pratasevich T.S., Weragala Dulanya Suhansi, Perera Sheneli Dewmini,
Jayakody Sanjula Gihan. 179*

Раздел 3. ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ 187

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГАЗОВОГО СОСТАВА КРОВИ
ВЫСОКОКВАЛИФИЦИРОВАННЫХ СПОРТСМЕНОВ В УСЛОВИЯХ
СРЕДНЕГОРЬЯ

Акулич Н. В. 187

БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СПЕЦИФИЧЕСКОГО И
НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА ОЗЕМПИКА

Александрович В.Д., Маглыш С.С. 190

СРАВНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ Д-ДИМЕРОВ В РАЗЛИЧНЫХ АНАЛИТИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ <i>Алехнович Л.И., Степанова Ю.И., Кузьменко А.Т., Батуревич Л.В., Державец Л.А.</i>	193
ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ ФРАГМЕНТОВ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА МЫШЕЙ <i>Белоус Е.М., Логвинович О.С.</i>	196
УРОВНИ ТРИПТОФАНА И БИОГЕННЫХ АМИНОВ В БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ТРИПТОФАНА И ЕЁ КОРРЕКЦИИ <i>Блашко Т.Р., Дорошенко Е.М.</i>	200
ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ ПУЛА АМИНОКИСЛОТ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ СУБТОТАЛЬНОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ОМЕГА-3 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ <i>Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Дорошенко Е.М., Смирнов В.Ю., Малыхина А.В.</i>	203
ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ КОМПОЗИЦИЙ «ТРИТАРГ» И «ТИТАЦИН» НА ПУЛ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В СТРИАТУМЕ КРЫС НА ФОНЕ ПАИ-4 ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ 14 СУТОК <i>Гуща В.К., Лелевич С.В.</i>	205
ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРО- И НАНОФОРМ КУРКУМИНА И КВЕРЦЕТИНА В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ <i>Диковицкая К. Д., Шутова Т.Г., Потапович А.И.</i>	208
ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ МОДЕЛЕЙ СТРЕССА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ <i>Дробышевская А.А.</i>	211
ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ХИНОНСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ <i>Жуковская К. Г., Костюк В. А.</i>	214
МЕХАНИЗМ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ COVID-19 <i>Зарецкая Д.О., Маглыш С.С.</i>	217
ЭКСПРЕССИЯ Р-ГЛИКОПРОТЕИНА В ЛИМФОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ СОЛЕЙ ЛИТИЯ В ТОКСИЧЕСКИХ ДОЗАХ IN VITRO <i>Зубрицкая Г.П., Слобожанина Е.И.</i>	220
ИДЕНТИФИКАЦИЯ И РОЛЬ ГУАНИНОВЫХ КВАДРУПЛЕКСОВ В РЕГУЛЯЦИИ БИОЭНЕРГЕТИКИ, АПОПТОЗА И ФЕРРОПТОЗА В МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК <i>KLUYVEROMYCES LACTIS</i>	

<i>Коваль А. Н., Алексейко Л. Н., Логвинович О. С., Сергеенко С. М., Мышковец Н.С., Гринкевич М. В., Власенко А. О.</i>	223
ИНГИБИТОРЫ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ НА ОСНОВЕ ФТОРЗАМЕЩЕННЫХ 3-АРИЛ-5-КАРБОКСАМИД-2-ИЗОКАЗОЛИНОВ <i>Ковганко Н.Н., Пархач М.Е., Борисевич С.Н., Глинник С.В., Принькова Т.Ю., Латушко Т.В., Галюк Е.Н.</i>	226
ВЛИЯНИЕ ПРОЛИНСОДЕРЖАЩИХ ДИПЕПТИДОВ НА ПОВЕДЕНИЕ «CLIMBING» ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ ICR <i>Кравченко Е.В., Ольгомец Л.М., Саванец О.Н., Бизунок Н.А., Дубовик Б.В., Зильберман Р.Д.</i>	229
ДИСКРИМИНАЦИЯ ПАРАМЕТРОВ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕЙРОМЕДИАТОРНОЙ СИСТЕМЫ СРЕДНЕГО МОЗГА И ГИПОТАЛАМУСА КРЫС ПРИ ОТМЕНЕ СОВМЕСТНОГО ВВЕДЕНИЯ ЭТАНОЛА И МОРФИНА <i>Лелевич С.В.</i>	235
ЭТИЛОВЫЙ СПИРТ И МЫШЦЫ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АЛКОГОЛЬНОЙ МИОПАТИИ <i>Лелевич С.В., Кучерявая А.С.</i>	238
ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННОЙ ХИМИОТЕРАПИИ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС С ЛИМФОСАРКОМОЙ ПЛИССА <i>Маглыш С.С., Хомбак В.А.</i>	241
ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ГЕМОЛИЗА И ИЗМЕНЕНИЕ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ КОНТАКТА С ПОЛИСУЛЬФОНОМ В УСЛОВИЯХ СТЕНДОВОГО ЭКСПЕРИМЕНТА <i>Макаревич Д.А., Рябцева Т.В., Дусь Д.Д., Королик А.К., Очковский В.А., Занемонец Е.А.</i>	244
СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ МИКРОБНО-ТКАНЕВОГО КОМПЛЕКСА ТОНКОГО КИШЕЧНИКА И ПРИСТЕНОЧНАЯ МИКРОФЛОРА КИШЕЧНИКА ПОСЛЕ КУРСОВОГО ВВЕДЕНИЯ ЦИНКА ДИАСПАРТАТА <i>Николаева И.В., Шейбак В.М., Смирнов В.Ю.</i>	248
СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ ТКАНИ ПЕЧЕНИ ЖИВОТНЫХ, ПОЛУЧАВШИХ ЭТИОНИН И ИНФЕЗОЛ40 <i>Павлюковец А.Ю., Шейбак В.М., Смирнов В.Ю.</i>	251
СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О БИОЛОГИЧЕСКОЙ РОЛИ микроРНК <i>Повжик В. А., Завадский Н. А., Леднева И.О.</i>	254
ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЦИТОПЛАЗМЕ КЛЕТОК СПЕРМАТОГЕННОГО ЭПИТЕЛИЯ СЕМЕННИКОВ КРЫС В РАННЕМ	

ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА <i>S.MARCESCENS</i>	
<i>Поплавская Е.А.</i>	257
ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ СВОБОДНОГО И НАНОКВЕРЦЕТИНА ПРИ ИНИЦИИРОВАНИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В КЕРАТИНОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА	
<i>Потапович А. И., Костюк Т.В., Шутова Т.Г., Костюк В.А.</i>	260
АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА	
<i>Рабковская Е.М., Победимова В.Д., Черненко Д.К., Зинчук В.В.</i>	263
ВЛИЯНИЕ НА РИТМИЧЕСКУЮ СТРУКТУРУ ПРИНУДИТЕЛЬНОГО ПЛАВАНИЯ КРЫС WISTAR АНАЛОГОВ С-КОНЦЕВОГО ФРАГМЕНТА АРГИНИН-ВАЗОПРЕССИНА	
<i>Саванец О.Н., Кравченко Е.В., Ольгомец Л.М., Бородина К.В., Грибовская О.В., Зильберман Р.Д.</i>	268
ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ПУЛА СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ В СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЕ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ АМИНОКИСЛОТНОЙ КОМПОЗИЦИИ ТИТАЦИН НА ФОНЕ ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ	
<i>Семенчук А.К., Калинин З.Р.</i>	271
СЕРОСОДЕРЖАЩИЕ АМИНОКИСЛОТЫ И ИХ МЕТАБОЛИТЫ МИОКАРДА КРЫС ПРИ НАЗНАЧЕНИИ АМИНОКИСЛОТНОЙ КОМПОЗИЦИИ ТИТАЦИН НА ФОНЕ ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ	
<i>Семенчук А.К.</i>	273
РОТЕОМ ЧЕЛОВЕКА: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ	
<i>Сетдарова Н., Леднёва И.О.</i>	276
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К МОДЕЛИРОВАНИЮ СТРЕССА В УСЛОВИЯХ IN VIVO ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ	
<i>Сидорова Ю.С., Петров Н.А., Маркова Ю.М., Соколов И.Е., Кочеткова А.А.</i>	279
АНКСИОЛИТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ТРИПЕПТИДА 745-В-40 У МЫШЕЙ ICR	
<i>Сикита Д.В., Кравченко Е.В., Саванец О.Н., Куваева З.И., Каранкевич Е.Г., Найденов В.Э., Гуринович Е.В., Зильберман Р.Д.</i>	282
ВЛИЯНИЕ ТЕТРАПЕПТИДА НА ЭКСТРАПОЛЯЦИОННОЕ ПОВЕДЕНИЕ КРЫС WISTAR, ПОДВЕРГШИХСЯ 72-ЧАСОВОЙ ДЕПРИВАЦИИ ПАРАДОКСАЛЬНОЙ ФАЗЫ СНА	
<i>Степанова Е.В., Бизунок Н.А., Кравченко Е.В., Саванец О.Н., Грибовская О.В., Бородина К.В., Сикита Д.В., Зильберман Р.Д.</i>	285

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА НА
ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ

Тарасова Е. Е., Шкель А. А...... 288

ВЛИЯНИЕ СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ МЕТФОРМИНА И
БЕТУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ ИЛИ ЕЕ ПРОИЗВОДНОГО НА РОСТ
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК *IN VITRO*

*Терпинская Т.И., Янченко Т.Л., Рубинская М.А., Полукошко Е.Ф.,
Пивень Ю.*..... 291

ВЛИЯНИЕ СОЛЮБИЛИЗАТОРОВ НА РАСТВОРИМОСТЬ И
ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭТАНОЛАМИДОВ
ПАЛЬМИТИНОВОЙ И СТЕАРИНОВОЙ КИСЛОТ

Терпинская Т.И., Михальчук А.Л. 294

СПОСОБЫ УСИЛЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ
ГЛИЦИРРЕТОВОЙ КИСЛОТЫ

Терпинская Т.И., Маркевич К.В. 297

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ С
ЦИКЛОДЕКСТРИНАМИ

Халецкая Е.И., Ильич Т.В...... 301

РОЛЬ ТАУ-БЕЛКОВ В ГЕНЕЗЕ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Царик Е.А., Леднёва И.О...... 304

ЭФФЕКТЫ ПЛАЗМЫ, ОБОГАЩЁННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ

Раздел 4. КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ..... 310

ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС У ПОЖИЛЫХ МУЖЧИН С ИЗБЫТОЧНОЙ
МАССОЙ ТЕЛА

*Байда А.В., Степанова Ю.И., Михалюк Р.А., Алехнович Л.И.,
Капустина Е.В.* 310

МЕТАБОЛОМНЫЙ ПРОФИЛЬ АМИНОКИСЛОТНОГО ОБМЕНА:
НОВЫЙ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ ЗАДЕРЖКИ РОСТА ПЛОДА

*Ганчар Е.П., Гутикова Л.В., Наумов А.В., Дорошенко Е.М.,
Смирнов В.Ю.* 315

РОЛЬ ТРОМБОФИЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В РАЗВИТИИ
АКУШЕРСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ЖЕНЩИН С ОТЯГОЩЁННЫМ
АНАМНЕЗОМ

Ганчар Е.П., Зверко В.Л., Добрук Е.Е., Иоскевич А.А...... 318

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ НА УРОВЕНЬ
ИНТЕРФЕРОНА–ГАММА В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ

Гриневич Т.Н., Кот М.О., Анисим Р.А., Юркевич Л.А. 321

ОЦЕНКА УРОВНЯ БИЛИРУБИНА КРОВИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ <i>Гриневич Т.Н., Кот М.О.</i>	324
РОЛЬ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ ТЕСТИРОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ТУБЕРКУЛЕЗОМ И КОМОРБИДНОЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ <i>Климук Д.А., Калечиц О.М., Глинская Т.Н., Шпаковская Н.С., Бобрукевич Е.Л., Белько А.Ф.</i>	327
КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОЯВЛЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО ПАНКРЕАТИТА У ЛИЦ СРЕДНЕГО ВОЗРАСТА <i>Колоцей В.Н., Климович И.И., Страпко В.П., Артюх Д.И., Юркевич С.В.</i>	330
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ СЕЛЕНА В ЛЕЧЕНИИ АУТОИММУННОЙ ОФТАЛЬМОПАТИИ <i>Кринец Ж.М., Наумов А.В., Каленик Р.П.</i>	333
ОЦЕНКА МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ И НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ПНЕВМОНИЙ <i>Леднёва И.О., Стойлик Н.И.</i>	336
БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СПЕРМОПЛАЗМЫ ПРИ ИДИОПАТИЧЕСКОМ БЕСПЛОДИИ..... <i>Маркович А.О., Батуревич Л., Алехнович Л.И., Кузьменко А.Т., Инаишвили М., Анашкевич Н.Ю., Ниткина С.П.</i>	338
ОСОБЕННОСТИ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С РН-НЕГАТИВНЫМИ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ <i>Мартинков В.Н., Новик Д.К., Силин А.Е., Ярец Ю.И.</i>	342
АНАЛИЗ КОМПОНЕНТОВ ЗАЩИТНОГО ПРОФИЛЯ ГРУДНОГО МОЛОКА ЖЕНЩИН г. ОРЕНБУРГА <i>Мачнева И.В., Карнаухова И.В., Лебедева Е.Н.</i>	345
УРОВНИ СЫВОРОТОЧНОГО ЖЕЛЕЗА И ФЕРРИТИНА У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ <i>Мицура В.М.</i>	348
КОНЦЕНТРАЦИЯ ГОМОЦИСТЕИНА У ДЕТЕЙ С ПАТОЛОГИЕЙ СУСТАВОВ <i>Мысливец М.Г., Парамонова Н.С., Наумов А.В.</i>	350
КОНЦЕНТРАЦИЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ПНЕВМОНИЕЙ <i>Парфёнова И.В.</i>	352
СОДЕРЖАНИЕ ГЕМОГЛОБИНА В РЕТИКУЛОЦИТАХ У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ	

<i>Протасевич Т.С., Денисик Н.И., Дехтярук М.В.</i>	<i>354</i>
КИСЛОРОДСВЯЗУЮЩИЕ СВОЙСТВА КРОВИ ПРИ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЕ	
<i>Романчук В.В., Зинчук В.В., Каленик Р.П.</i>	<i>356</i>
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ИСХОДА ПОСЛЕ ПОЛУЧЕННОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ	
<i>Рутковская Ж.А., Мурашко Д.И., Решетов К.Д., Возьмитель Л.Г.</i>	<i>359</i>
ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ IL-10 ПРИ СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИИ	
<i>Рябцева Т.В., Улосевич Д.С., Рутковская Ж.А., Апанасович В.Г.</i>	<i>362</i>
КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ДЕТЕЙ ШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА С МИКОПЛАЗМЕННОЙ ПНЕВМОНИЕЙ	
<i>Сорокопыт З.В.</i>	<i>365</i>
МАРКЕРЫ МЕТАБОЛИЗМА КОСТНОЙ ТКАНИ У ДЕТЕЙ РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП	
<i>Степанова Ю.И., Юрага Т.М., Хоровец А.И., Соловей О.М., Насибяни Н.В.</i>	<i>368</i>
ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СЫВОРОТОЧНОГО БИОМАРКЁРА KREBS VON DEN LUNGEN-6 ПРИ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЛЁГКИХ	
<i>Суркова Л.К., Иванова А.Л., Будник О.А., Богуш Л.С., Давидовская Е.И.</i>	<i>371</i>
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ФАКТОРОВ РОСТА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И СЛЕЗЕ У ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИОННЫМИ КЕРАТИТАМИ И ЯЗВАМИ РОГОВИЦЫ	
<i>Урбан О.С., Ситник Г.В., Степанова Ю.И., Лебедева П.А., Хоровец А.И.</i>	<i>374</i>
CHRONIC KIDNEY DISEASE AND BLOOD SERUM BIOCHEMICAL MARKERS IN HEMODIALYSIS PATIENTS	
<i>Devina E.A., Kubeko A.V., Yamasaki Y.L.</i>	<i>377</i>
Раздел 5. СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ПРЕПОДАВАНИЯ ОБЩЕЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ В ВУЗАХ.....	380
ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ РЕЙТИНГОВОЙ СИСТЕМЫ ОЦЕНКИ ЗНАНИЙ ПО БИОХИМИИ НА ФАКУЛЬТЕТЕ ИНОСТРАННЫХ УЧАЩИХСЯ ГРОДНЕНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА	
<i>Виницкая А.Г., Петушок Н.Э.</i>	<i>380</i>
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ПРИ ИЗУЧЕНИИ БИОХИМИИ	

<i>Громыко М.В., Мышковец Н.С., Логвинович О.С, Литвинчук А.В.</i>	<i>382</i>
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ТЕСТИРОВАНИЯ СТУДЕНТОВ ЛЕЧЕБНОГО ФАКУЛЬТЕТА И ФАКУЛЬТЕТА ИНОСТРАННЫХ СТУДЕНТОВ ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ В СИСТЕМЕ MOODLE	
<i>Коваль А.Н., Логвинович О.С., Литвинчук А.В., Мышковец Н.С., Скрынникова Л.П., Сергеенко С.М.</i>	<i>386</i>
ХИМИЧЕСКОЕ МЫШЛЕНИЕ КАК КОМПОНЕНТ ФОРМИРОВАНИЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО МЫШЛЕНИЯ ВРАЧА	
<i>Лебедева Е.Н., Карнаухова И.В.</i>	<i>389</i>
ОБЪЕКТИВНЫЙ СТРУКТУРИРОВАННЫЙ КЛИНИЧЕСКИЙ ЭКЗАМЕН КАК ЭЛЕМЕНТ ИТОГОВОЙ АТТЕСТАЦИИ ПО КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ	
<i>Лелевич С.В., Лелевич В.В.</i>	<i>392</i>
СТУДЕНЧЕСКАЯ ОЛИМПИАДА ПО КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ – ЭФФЕКТИВНЫЙ СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ	
<i>Лелевич С.В.</i>	<i>395</i>
О ПОВЫШЕНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАБОТЫ СО СЛАБОУСПЕВАЮЩИМИ СТУДЕНТАМИ	
<i>Масловская А.А.</i>	<i>396</i>
ПРЕПОДАВАНИЕ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ В ПОДГОТОВКЕ ВРАЧА ЛЕЧЕБНОГО ПРОФИЛЯ	
<i>Новикова И.А., Макеева К.С., Зубкова Ж.В., Барсукова Е.А.</i>	<i>399</i>

Раздел 1. К 100-ЛЕТИЮ АКАДЕМИКА Ю.М. ОСТРОВСКОГО

Ю.М. ОСТРОВСКИЙ – ПЕРВЫЙ ЗАВЕДУЮЩИЙ КАФЕДРОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ ГРОДНЕНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО ИНСТИТУТА

Лелевич В.В.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

В 2025 г. исполняется 100 лет со дня рождения выдающегося белорусского биохимика доктора медицинских наук, профессора, академика академии наук БССР, заслуженного деятеля науки БССР Юрия Михайловича Островского. С его именем тесно связано организация и становление кафедры биологической химии во вновь организованном Гродненском государственном медицинском институте (ГГМИ).

Юрий Михайлович выпускник Минского медицинского института (1950 г.), в течение шести лет работал в Полоцкой санитарно-эпидемиологической станции, где начал заниматься биохимическими исследованиями по изучению обмена тиамина у лиц, страдающих туберкулезом. Это предопределило его дальнейшую профессиональную деятельность и в 1956 г. он был приглашен на должность ассистента кафедры биохимии Витебского медицинского института. Здесь ярко проявились его личностные особенности как грамотного педагога, активного ученого и хорошего организатора. В 1958 г. Юрий Михайлович защитил кандидатскую диссертацию «Обмен тиамина у туберкулезных больных при медикаментозном лечении». В том же 1958 г. в г. Гродно был создан медицинский институт, начали организовываться новые кафедры, что подразумевало привлечение преподавательских кадров. В начале 1959 г. заведующим кафедрой биохимии был рекомендован Ю.М. Островский. С этого времени начался Гродненский период его профессиональной деятельности.

Создание новой кафедры подразумевало огромную подготовительную работу по целому ряду различных направлений – укомплектование кадрами, создание минимальной материально-технической базы, методическое обеспечение учебного процесса и еще целый ряд других организационных моментов. Юрий Михайлович успешно и эффективно решал эти сложные задачи. В июле – августе 1959 г. на должность ассистентов кафедры биологической химии были зачислены Н.К. Лукашик (г. Витебск), А.Г. Мажуль (г. Минск), А.И. Балаклеевский (г. Москва) [1]. В 1960 г. преподавательский состав кафедры дополнили А.Н. Рузумович (г. Минск) и Г.А. Доста (г. Гродно).

Полноценный учебный процесс и интенсивная научно-исследовательская работа на кафедре началась с осени 1959 г. Юрия Михайлович уделял большое внимание не только учебному процессу, но и научным исследованиям. Все

преподаватели кафедры активно занимались научной работой, привлекая к ней студентов-кружковцев. Научной тематикой кафедры была избрана экспериментальная витаминология – изучение каталитического действия витаминов и межвитаминных взаимоотношений. Создание комфортной творческой атмосферы, внутрикафедральное содружество, комплексирование при выполнении научных тем позволили в достаточно короткие сроки выполнить и защитить кандидатские диссертации целому ряду преподавателей кафедры [2]. Первыми в этом ряду были – А.Н. Разумович «Отношение обмена тиамин к реакциям окисления и фосфорилирования в митохондриях» (1963 г.); Н.К. Лукашик «Отношение тиамин к начальным реакциям углеводного обмена» (1964 г.); А.И. Балаклеевский «Связь обмена тиамин с холинергическими процессами в организме» (1965г.); Г.А. Доста «Некоторые данные к биохимической и клинко-биохимической характеристике глюкозо-6-фосфатазы» (1966 г.). Сам Юрий Михайлович обобщил многочисленные экспериментальные данные в докторскую диссертацию «Обменные сдвиги при различной обеспеченности организма тиамин», которую успешно защитил в 1965 г.

Таким образом, за короткий срок на кафедре сформировался квалифицированный эффективный научный коллектив, который позволил открыть проблемную витаминологическую лабораторию. Полученные результаты широко докладывались на всесоюзных и международных симпозиумах, печатались в престижных научных журналах. Все это позволило провести в г. Гродно всесоюзный симпозиум по тиамину в 1966г, куда съехались ведущие ученые из многих научных учреждений Советского Союза. Можно сказать, что этот форум стал наглядным примером подтверждения высокого научного статуса коллектива кафедры биологической химии возглавляемого Ю.М. Островским. Как показала дальнейшая история данный симпозиум стал первым в ряду последующих, получивших название Гродненских.

Начиная с 1964 г. коллектив кафедры стали пополнять выпускники Гродненского медицинского института – Ф.С. Ларин, Б.П. Комарова, Э.А. Галицкий, А.Г. Мойсеенок, В.В. Виноградов, К.А. Мандрик. Они активно включились в научный процесс и в короткие сроки выполнили и защитили кандидатские диссертации. Расширение численности сотрудников кафедры и витаминологической лаборатории, разносторонность научных направлений требовала дальнейших структурных преобразований. Поэтому в 1969 г. Президиумом Академии наук БССР было принято решение об открытии в г. Гродно академического научного учреждения, которое получило название Отдел регуляции обмена веществ (ОРОВ).

Юрий Михайлович до 1975 г. осуществлял руководство кафедрой и ОРОВ одновременно. Постановлением Президиума Академии наук СССР были утверждены два научных направления работы ОРОВ:

1. Изучение молекулярных механизмов действия тиаминдифосфата и роли витаминов в регуляции обмена веществ;

2. Разработка научных основ применения синтетических антиметаболитов витаминов и естественных антивитаминовых факторов в медицине и ветеринарии [1].

При наличии выраженных лидерских качеств и организаторского таланта Юрий Михайлович был плодотворно-пишущим ученым. С начала 70-х годов прошлого века регулярно печатались его монографии, которые обобщали богатый экспериментальный материал – «Тиамин: избранные главы по биохимии витамина В₁» (1971 г.); «Механизмы межвитаминных взаимоотношений (тиамин, пиридоксин, пантотеновая и никотиновая кислоты)» (1973 г.); «Антивитамины в экспериментальной и лечебной практике» (1973 г.); «Кокарбоксилаза и другие тиаминфосфаты» (1974 г.); «Активные центры и группировки в молекуле тиамина» (1975 г.).

Юрий Михайлович уделял большое внимание подготовке и воспитанию научной смены, что нашло свое отражение в организации и кураторстве научного студенческого кружка на кафедре. Он был организован в 1960 году и отличался достаточно интенсивной деятельностью. В 1961 году на 1-й студенческой научной конференции института от кафедры биохимии было представлено 7 докладов, авторами которых были Б.П. Комарова, Ф.С. Ларин, Н.С. Непочалович, Л.В. Бурцева, С.Н. Карпуть, Л.Н. Дворянинович. В дальнейшем все они свяжут свою профессиональную деятельность с наукой [2].

В начале 70-х годов прошлого века Юрий Михайлович стал больше внимания уделять работе ОРОВ. Было спланировано и в 1975г. построено новое здание, что позволило расширить штат сотрудников, открыть новые лаборатории. В июне 1975 г. он оставляет заведование кафедрой биохимии ГГМИ и полностью переходит на работу в ОРОВ. Там в полной мере раскрылись черты Юрия Михайловича как крупного ученого и прекрасного организатора.

Благодаря ему г. Гродно стал признанным в Советском Союзе и зарубежном биохимическим научным центром. На традиционные Гродненские симпозиумы по различным биохимическим направлениям съезжались известные советские биохимики, ученые других стран. Сформировались прочные научные связи ОРОВ, а в дальнейшем Института Биохимии АН БССР, с такими учреждениями, как Институт питания АМН СССР, Московский государственный университет, Первый Московский медицинский институт, Институт биомедицинской химии, Институт биохимии АН Украины. Юрий Михайлович является создателем и руководителем Гродненской биохимической школы, в которой было подготовлено более 20 докторов и 80 кандидатов наук. Это имеет огромное значение в обеспечении высших учебных заведений г. Гродно и Республики Беларусь высококвалифицированными преподавательскими кадрами.

Прошло 50 лет с того времени, как Юрий Михайлович перестал заведовать кафедрой биологической химии ГГМИ. Но тот мощный толчок, который он придал коллективу кафедры в учебной и научной работе,

проявляется и в наше время, помогает успешно решать многие текущие и стратегические задачи, стоящие перед нами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич В.В. Кафедре биохимии ГрГМУ 60 лет – прошлое и настоящее / В.В. Лелевич // Журнал ГрГМУ. – 2019. – № 2. – С. 234-239.
2. Мойсеенок А.Г. У истоков Гродненской научной биохимической школы / А.Г. Мойсеенок // Журнал ГрГМУ. – 2019. – № 3. – С. 340-347.

РОЛЬ Ю.М. ОСТРОВСКОГО В ИЗУЧЕНИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ РОЛИ ВИТАМИНОВ

Лелевич В.В.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

В памяти многих ученых советского и постсоветского периодов Юрий Михайлович Островский остается видным биохимиком – витаминологом со всесоюзной и международной известностью. Сейчас трудно сказать, что предопределило его интерес к изучению витаминов, но работая врачом в санитарно-эпидемиологической станции, он начал исследования по обмену тиамина у пациентов, страдающих от туберкулеза. В 1958 г. им была успешно защищена кандидатская диссертация «Обмен тиамина у туберкулезных больных при медикаментозном лечении». Возглавив кафедру биохимии в Гродненском государственном медицинском институте (ГГМИ), Юрий Михайлович сохранил и расширил научные исследования по механизмам каталитического действия витаминов и межвитаминным взаимоотношениям [1].

В начале усилия были сконцентрированы преимущественно на расшифровке биохимических аспектов действия тиамина и его некоферментных функций. Достаточно быстро это научное направление принесло видимые достижения. В короткий период были защищены ряд кандидатских диссертаций – А.Н. Разумович «Отношение обмена тиамина к реакциям окисления и фосфорилирования в митохондриях» (1963г.); Н.К. Лукашик «Отношение тиамина к начальным реакциям углеводного обмена» (1964г.); А.И. Балаклеевский «Связь обмена тиамина с холинергическими процессами в организме и отношение тиамина к основным компонентам холинергической системы» (1965г.). Сам Юрий Михайлович обобщил обширный экспериментальный материал и в 1965г. защитил докторскую диссертацию «Обменные сдвиги при различной обеспеченности организма тиамином» [1].

Полученные научные результаты активно печатались в ведущих научных журналах СССР, докладывались на научных форумах в стране и за рубежом. Это указывало на то, что в Гродно формируется мощный научный центр по биохимии витаминов. Подтверждением этому явилось проведение в ГГМИ

всесоюзного симпозиума по тиамину (1966 г.). Дальнейшим этапом в формировании данного научного направления явилась организация на базе кафедры биологической химии и ЦНИЛ ГГМИ проблемной витаминологической лаборатории (1967 г.) [2].

Спектр научных исследований стал расширяться включая метаболическую активность пиридоксина, пантотеновой кислоты и межвитаминных взаимоотношений. Все это логично привело к подготовке и изданию ряда монографий. Первой в их ряду была монография «Тиамин: избранные главы по биохимии витамина В₁» (1971 г.), в котором обобщен большой экспериментальный материал по тиаминологии. Вскоре была опубликована следующая монография - «Антивитамины в экспериментальной и лечебной практике» (1973 г.), где освещалось новое направление в витаминологии. Антивитамины к тому времени были известны относительно недавно, сведения о них были представлены в виде разрозненных сообщений. Данная книга Ю.М. Островского являлась первой попыткой такого обобщения. Автор рассматривал антивитамины в широком плане и относил к ним самые различные факторы, начиная с природных соединений, антагонизирующих с витаминами и кончая большой группой искусственно полученных химических соединений. Среди последних имеется немало известных лечебных препаратов (сульфаниламиды, дикумарол, метотрексат и др.), широко применяемых в медицине и ветеринарии без учета их антивитаминого действия. В соответствующих главах монографии представлена краткая характеристика отдельных витаминов и подробно рассматриваются все имеющиеся к тому времени данные о механизмах действия, перспективах возможного использования в биохимических исследованиях и лечебного применения соответствующих антивитаминов. В книге также рассмотрены теоретические основы действия антивитаминов и принципы их рационального использования в эксперименте, медицинской и ветеринарной практике.

В 1974 г. под общей редакцией Ю.М. Островского была издана монография «Кокарбоксилаза и другие тиаминфосфаты», в которой были обобщены данные о фосфорилированных производных тиамина. Представлена информация о различных тиаминфосфатах – биосинтез, распад, функции в обмене веществ, свойства связанных с ними ферментов, роль в обмене углеводов, липидов, белков, макроэргических соединений. Впервые были приведены данные по сравнительной оценке метаболической и лечебной эффективности тиаминмонофосфата и тиаминдифосфата (кокарбоксилаза) в экспериментальных и клинических условиях. Важное теоретическое и прикладное значение имели новые данные о том, что тиаминфосфаты могут связываться в миокарде, минуя этапы, которые проходит нефосфорилированный витамин, поступающий в сердце. Выраженной метаболической активностью обладает тиаминмонофосфат, однако механизм такого эффекта не совсем понятен.

При изначальной склонности Юрия Михайловича к изучению метаболической активности тиамина его сотрудники занимались исследованием других витаминов – пиридоксина, пантотеновой и никотиновой

кислот. Поэтому впоследствии вполне логично возник вопрос о взаимодействии витаминов друг с другом в такой сложной биологической системе как человеческий организм.

Ю.М. Островским были определены основные направления, по которым должны вестись исследования в этой области. В результате были выявлены несколько механизмов межвитаминных взаимодействий, имеющих важное прикладное значение. К ним следует отнести взаимодействие витаминов друг с другом на путях их ассимиляции тканями или на этапах выведения из организма. При сочетанном применении меченого тиамин с другими витаминами происходит резкое снижение выведение метки с мочой, но отмечаются разные эффекты на депонирование метки в тканях. Установлено, что синергизм между тиамином и никотиновой кислотой частично реализуется через участие тиамина в реакциях биосинтеза самой никотиновой кислоты. Еще одним механизмом взаимодействия витаминов на их коферментном уровне является ингибирующий эффект тиаминадифосфата на рекомбинацию пиридоксальфосфата с трансаминазами. Также было установлено, что из некоторых витаминов образуются метаболиты, антагонизирующие с другими витаминами. Весь этот обширный экспериментальный материал был обобщен и представлен Юрием Михайловичем в монографии «Механизмы межвитаминных взаимоотношений» (1973 г.).

Результатом многолетних исследований Ю.М. Островского в области витаминологии явилось подготовка справочного руководства «*Экспериментальная витаминология*» (1979 г.) под его редакцией. Данное издание является справочной книгой для витаминологов, в которой приведены выверенные и апробированные методы изучения обмена витаминов в различных биохимических объектах. Каждая из глав написана признанным в этой области специалистом. Для всех витаминов даются общие характеристики, сведения по превращениям и транспорту витаминов в организме, его содержанию в тканях. Более подробно освещены методы изучения обеспеченности организма тем или иным витамином, обсуждаются как прямые, так и косвенные подходы для решения поставленных задач. В описании отдельных методов помимо чисто технических сведений дается анализ их приложимости в конкретных ситуациях с учетом специфичности, надежности, достоинств и недостатков каждого метода. Данное руководство нашло широкий отклик и востребованность у специалистов различного профиля, занимающихся изучением витаминов.

В Гродно традиционно приводились всесоюзные научные симпозиумы по различным направлениям витаминологии – 1972 г. (2-й симпозиум по тиамину), 1977 г. (по пантотеновой кислоте), 1978 г. (по пентозофосфатному пути), 1983 г. (по авитаминозам).

В рамках витаминологического направления было защищено несколько докторских и более 40 кандидатских диссертаций.

Таким образом, Юрий Михайлович Островский внес значительный вклад в формирование и развитие отечественной витаминологии, его достижения имеют важное фундаментальное и прикладное значение и в наше время.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич В.В. Ю.М. Островский – яркий ученый, мудрый педагог, талантливый организатор / В.В. Лелевич // Биохимия и молекулярная биология : сборник статей посвященный 95-летию академика Ю.М. Островского – Минск, ИВЦ «Минфина», 2020. – Вып.4. – С. 8-13.
2. Лелевич В.В. История создания и развития кафедры биохимии ГрГМУ / В.В. Лелевич // Актуальные проблемы биохимии. – мат. научно-практич. конф. – Гродно: ГрГМУ, 2019. – С. 14-17.

АКАДЕМИК Ю.М. ОСТРОВСКИЙ И МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ КОНЦЕПЦИЯ ГЕНЕЗА АЛКОГОЛИЗМА

Лелевич В.В.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

К середине 70-х годов прошлого столетия Ю.М. Островский был широко известным ученым в области витаминологии. Его научные интересы распространялись на изучение метаболической активности тиамина, пиридоксина, пантотеновой и никотиновой кислот, механизмов межвитаминных взаимоотношений. В это время в круг актуальных для него научных проблем попадает алкоголизм. Возможно, что это было обусловлено достаточно распространённой алкоголизацией населения, нарастанием медико-социальных последствий данного явления.

Для изучения весьма сложного и многогранного заболевания, коим является алкогольная зависимость, Юрий Михайлович избрал необычный экспериментальный подход. Лабораторных животных (крыс) стали тестировать на потребление растворов этанола в условиях свободного выбора между алкоголем и водой. В результате различного характера потребления жидкости выделяли две группы крыс – предпочитающих воду (ПВ) и предпочитающих этанол (ПЭ). Естественно, что у таких животных нет никаких «социальных» мотиваций потреблять этанол. Сведения об особенностях обмена веществ у таких животных позволили бы прояснить вопрос о существовании биологических (врожденных или приобретенных) факторов, склонных к потреблению алкоголя. Поэтому в лабораториях отдела регуляции обмена веществ (ОРОВ) АН БССР начали проводить скрининг метаболических путей отдельных классов органических соединений при феномене алкогольной мотивации.

Первая журнальная статья по данной проблеме была опубликована в журнале «Весці АН БССР. Сер. біял. навук» в 1976 году. Интегральная оценка выявленных метаболических различий между ПВ и ПЭ животными позволила Юрию Михайловичу сформировать свою метаболическую концепцию генеза алкоголизма [1]. Она основывалась на предположении, что сам этанол, его производные и другие двухуглеродные соединения вступают в организме в сложные (синергизм, конкуренция, образование необходимых метаболитов)

взаимоотношения и взаимодействия, формирующие в конечном итоге состояние метаболического статуса, к которому организм стремится (комфорт) или которого избегает (дискомфорт). Биохимический, молекулярный характер рассматриваемого явления в качестве производных частных может включать в себя известные подходы по всей проблеме различных исследователей, из которых каждый придает решающее значение какому-либо одному фактору или их многообразным комбинациям. Данная концепция была доложена и обсуждена на всесоюзном симпозиуме «Биохимия алкоголизма», который состоялся в Гродно в 1980 году. Проверка правильности выдвинутой концепции была продолжена в лабораториях ОРОВ АН БССР и на кафедре биохимии Гродненского медицинского института.

Важным, постоянно обнаруживающим отличием ПЭ животных являлся более низкий уровень эндогенного этанола в их тканях, более активное потребление ацетата в биосинтезе липидов, отклонения уровней отдельных свободных аминокислот; активности ферментов метаболизма глюкозы от таковых у ПВ животных. Поскольку между уровнем эндогенного этанола в крови и характером предпочтения также была выявлена выраженная связь (Садовник М.Н., Сатановская В.И., 1979), часть последующих наблюдений началась с проверки возможности коррекции ранее обнаруженных метаболических различий с помощью умеренной (нормальной) для ПЭ и принудительной для ПВ животных алкоголизации. В результате приёма этанола ранее наблюдаемые между группами различия в обмене глюкозы, липидов, уровней отдельных аминокислот исчезали, подтверждая активное участие этанола в формировании определенного метаболического фона.

Логическим итогом этих исследований явились 4 защищенных кандидатских диссертаций: Сатановская В.И. «Состояние альдегиддегидрогеназ печени и мозга крыс при предпочтении этанола и алкогольной интоксикации» (Минск, 1981); Островский С.Ю. «Особенности обмена аминокислот у животных с различной алкогольной мотивацией» (Минск, 1982); Селевич М.И. «Особенности метаболизма липидов у крыс, предпочтительно потребляющих воду или этанол» (Ленинград, 1983); Лелевич В.В. «Особенности начальных реакций гликолиза в печени крыс с различной алкогольной мотивацией» (Минск, 1984). Полученные в этих исследованиях результаты были обобщены в ряде монографий: Островский Ю.М. и др. «Этанол и обмен веществ» (1982 г.); Островский Ю.М. и др. «Биологический компонент в генезе алкоголизма» (1986 г.); Островский Ю.М. и др. «Метаболические предпосылки и последствия потребления алкоголя» (1988 г.). Весь представленный в них материал свидетельствует о существовании значительных различий в обмене веществ у крыс с различной алкогольной мотивацией.

Неоднородность сравниваемых групп животных захватывает широкий круг биохимических показателей, при этом ПЭ особи отличается от ПВ по снижению уровню эндогенного этанола, более высокой активности ферментов катаболизма алкоголя и ацетальдегида, более интенсивному использованию ацетата в различных реакциях. Значительную роль в организации обмена веществ ПЭ крыс играет характер субстратов,

используемых для энергетических целей, что нашло отражение в особом замедленном типе функционирования начальных этапов гликолиза, накоплении заменимых аминокислот в печени, относительной недостаточности инсулина. Этанол у ПЭ животных легче ассимилируется, является лучшим энергоресурсом или предшественником каких-то эндогенных регуляторов, чем собственно и определяется характер их питьевого поведения.

В соответствии с выдвинутой концепцией патогенеза алкоголизма как проявления специфической метаболической зависимости все профилактические и лечебные мероприятия при этом заболевании должны быть направлены на нормализацию систем, ответственных за синтез, катаболизм и практическое использование эндогенных ацетальдегида, этанола, их ближайших метаболических производных и предшественников. В тоже время отмечалось, что феномен предпочтения этанола у животных не является полной аналогией зависимости от алкоголя у человека. Более того, по некоторым параметрам ПВ животные ближе к типу обмена веществ, характерным для лиц с алкогольной зависимостью.

Следующим логическим этапом разработки и доказательства метаболической концепции генеза алкоголизма явилось перенесение исследования на человеческую популяцию. В связи с этим в 1989г. на базе Института биохимии был открыт Гродненский филиал Всесоюзного центра проблем наркологии МЗ СССР, где продолжились клинические исследования. Однако, в связи с распадом Советского Союза данный филиал был закрыт, а в декабре 1991г. Юрий Михайлович Островский ушел из жизни. В дальнейшем системных исследований по подтверждению ключевых моментов метаболической концепции генеза алкоголизма не проводилось.

В последующем в экспериментальную практику были внедрены другие модели алкоголизации – острая и хроническая алкогольная интоксикация, алкогольный абстинентный синдром. Начали изучаться метаболические эффекты противоалкогольных препаратов, наиболее часто используемых в клинической практике; предприняты первые попытки метаболической коррекции алкогольной интоксикации как в эксперименте, так и у пациентов с алкогольной зависимостью алкоголизмом. Это отразилось в защите второй волны кандидатских диссертаций по данному направлению.

Таким образом, выдвинутая Ю.М. Островским метаболическая концепция генеза алкоголизма инициировала изучение данной проблемы с позиции нового методологического подхода. Её ключевые моменты не получили объективного научного доказательства, но это привело к формированию мощного научного направления по изучению медико-биологических проблем алкогольной мотивации, алкогольной интоксикации и зависимости, которое плодотворно функционирует до настоящего времени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Островский Ю.М. Метаболическая концепция генеза алкоголизма / Ю.М. Островский // Биохимия алкоголизма. – мат. всесоюзн. симпозиума. – Минск, Наука и техника: 1980. – С. 106-107.

2. Лелевич В.В. Научное направление по изучению алкоголизма в Институте биохимии НАН Беларуси / В.В. Лелевич // Биологически активные вещества природного происхождения в регуляции процессов жизнедеятельности – сб. статей межд. науч.-практ. конф. – Минск, 2021. – С. 69-73.

ИНСТИТУТ БИОХИМИИ НАН БЕЛАРУСИ: ГОДЫ СТАНОВЛЕНИЯ (1985-1991) ПОД РУКОВОДСТВОМ АКАДЕМИКА Ю.М. ОСТРОВСКОГО

Дорошенко Е.М.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Отдел регуляции обмена веществ был преобразован в Институт биохимии в 1985 году. Это было не только формальное изменение статуса, но ряд серьёзных преобразований в его деятельности. Прежде всего, расширился круг научных проблем, над которыми работали ученые Института. Выход за рамки прежнего названия означал, что круг интересов и компетенций детища Ю.М. Островского вышел за рамки исследований регуляции метаболизма и млекопитающих, но основной сферой деятельности по-прежнему осталась биохимия животных и человека, с уклоном в медицинские аспекты рассматриваемых проблем.

То начало, вокруг которого вырос Институт – тиамин и его производные, ферментативные процессы с их участием – продолжали развиваться, однако появилось новое направление исследований – биохимия алкоголизма. Биохимия этанола и ацетальдегида давно интересовала Ю.М. Островского, так как обмен этих молекул имел связь с тиамином: одна из основных реакций с участием тиамина – декарбоксилирование пировиноградной кислоты – может приводить к образованию ацетальдегида в качестве основного продукта (у дрожжей) или побочного (у животных и человека). Такой ацетальдегид – эндогенный – является естественным предшественником эндогенного этанола, и возникла гипотеза о роли эндогенного этанола в генезе алкогольной зависимости у человека. Очень скоро это направление стало конкурировать с традиционными направлениями исследований в Институте.

Автору довелось начинать карьеру биохимика в лаборатории биохимии спиртов и альдегидов, которая была создана Ю.М. Островским и состояла из специалистов-биохимиков и не только (например, будущий профессор С.М. Зиматкин) разного профиля и интересов, которые принесли свой опыт и методологию, а также молодого поколения исследователей, не обремененных шаблонами и стереотипами. Новыми для Института стали нейрохимические исследования, проводившиеся в этой лаборатории (исследования медиаторных систем, рецепторов).

Другим направлением, которое начало развиваться в конце 80-х годов, была коррекция метаболического дисбаланса при различной патологии у человека. Слово «метабономика» еще не было на слуху, однако метаболический дисбаланс оценивается с помощью анализа метаболических пулов веществ, в данном случае – пула свободных аминокислот и родственных соединений, поэтому то, что делалось в этом направлении – являлось исследованием метаболома. Для этого Ю.М. Островским было создано специальное подразделение – отдел инструментального обеспечения, который занимался созданием сложных аналитических методов определения. Эти методы были доступны всем лабораториям и сотрудникам Института, а затем – и ученым гродненских вузов. Уникальное оборудование обслуживал штат высококвалифицированных инженеров, благодаря чему научные приборы продолжали работать, и позднее, уже в 90-е годы, практически без закупок оборудования, запасных частей и даже расходников, возможности Института практически не пострадали: экспериментальная активность не уменьшилась.

Исследования, в которых определяли скорость синтеза белка, были прообразом анализа экспрессии генов и расширяли возможности методов биохимии традиционного плана. Исследования биохимии стресса также способствовали выходу за пределы принятых представлений о механизмах действия биологически активных веществ. Химическая лаборатория, имевшая возможности выполнять органические синтезы, лаборатории биохимической фармакологии, биофизики – возникли как ответ на вопросы, которые возникали при работе над основным направлением деятельности института – биохимией водорастворимых витаминов.

Хотя изначально деятельность Института была подчинена фундаментальным проблемам биохимии, увеличилось также количество и прикладных исследований. Так, рядом с лабораторией энзимологии – самым «фундаменталистским» подразделением – была создана группа биотехнологии. Хоздоговорные темы имелись практически во всех лабораториях. Впоследствии опыт выполнения прикладных исследований помог Институту жить в 90-е годы и сохранить человеческий интеллектуальный потенциал.

Тесное сотрудничество Института биохимии и кафедр ГрГМУ в конце 80-х – начале 90-х годов успешно развивалось. Институт биохимии явился базой для биохимических исследований многих ученых-клиницистов, и в трудах сотрудников Института биохимии появились разделы с клиническими исследованиями: многие из них имели медицинское образование.

Руководство Институту у Ю.М. Островского сочетало два подхода: постановку сотрудникам очень конкретных задач (проверить эффект субстанции X в дозе Y в ситуации Z) и предоставление сотруднику широко сформулированной проблемы и полной свободы в выборе способов её решения. Разумеется, Ю.М. Островский мог войти в лабораторию в любой момент и побеседовать с сотрудником. Такие беседы требовали от последнего полной осведомленности в последних публикациях, четкого понимания сделанного и плана следующих действий. Даже в тщательно продуманном эксперименте

Ю.М. Островский мог с ходу увидеть методологические изъяны и слабые места и помочь исследователю разобраться в сделанном.

Несмотря на повышение статуса учреждения, Ю.М. Островский продолжал пользоваться тем же рабочим кабинетом с вывеской «загадчыв лабараторыи», в котором и была сконцентрирована вся научная деятельность. Кабинет директора он использовал только для официальных встреч, а также для приема экзаменов – вступительных в аспирантуру, кандидатского минимума.

Ю.М. Островский уделял большое внимание созданию условий, чтобы каждый исследователь мог поддерживать свой уровень: обеспечение литературой, включая иностранные («валютные») журналы, школы и семинары, на которые была возможность поехать, возможность изучать английский язык и практиковаться в нем (возможность выезжать за рубеж только появлялась). Исследователи, которые направляли тезисы докладов за рубеж, должны были сделать краткое сообщение на «биохимическом понедельник» на языке конференции (с таким же обсуждением). «Биохимические понедельники» получили известность и за пределами Института. Бывали случаи, когда преподаватели медицинского института (нынешний ГрГМУ) делали доклад на «биохимическом понедельник» специально для того, чтобы получить дозу бескомпромиссной критики, после которой уже не испытывали страха, например, на защите своих диссертаций.

Конец 80-х годов – время, когда устоялась инфраструктура Института, были отлажены все процессы (виварий, склад, библиотека). Однако, это было время, когда биохимик еще очень многое из нужного для своей работы должен был делать сам. Перекристаллизация солей, перегонка растворителей, отладка приборов – это всё входило в курс начинающего биохимика. Несмотря на то, что в лабораториях было достаточно лаборантов для рутинных операций, молодой исследователь должен был сам готовить все реактивы, мыть посуду, чтобы каждую получаемую цифру он мог «подержать в руках». Шеф, как его все называли, считал, что только так приобретает уверенность в своих заключениях и выводах, вырабатывается правильное представление о степени доверия к научным результатам.

Многие лаборанты без отрыва от работы получали высшее образование в БГУ и на только что открывшемся биофаке ГрГУ. К получению диплома они часто имели серьёзный задел для кандидатской диссертации. Одна из лабораторий Института к началу 90-х столкнулась с проблемой: она практически осталась без лаборантов, так как лаборанты стали кандидатами наук.

К этому же периоду относится начало внедрения сложных математических методов обработки данных в биохимических исследованиях. В рамках отдела инструментального обеспечения была создана группа, обслуживающая большую ЭВМ и обеспечивающая техническую помощь сотрудникам. Это были первые шаги к компьютеризации. Ю.М. Островский побуждал исследователей активнее пользоваться математической обработкой данных (факторный, кластерный, дискриминантный анализ), а также знать возможности и ограничения этих методов. Требовалось не только обнаружить

связь между показателями, но и предложить биохимическое объяснение для такой связи.

Новым явлением в жизни Института был конкурс идей, проведенный в самом начале 90-х годов. Ю.М. Островский сам участвовал в конкурсе с концепцией роли эндогенного этанола в генезисе алкоголизма. Предполагалось, что такой конкурс в будущем станет формой отбора наиболее перспективных научных направлений.

Время, когда Ю.М. Островский руководил Институтом биохимии – время больших перемен. Менялась и методология науки, и способы работы в ней, и вся жизнь вокруг. Ю.М. Островский видел черты будущей биохимии порой лучше, чем существенно более молодые сотрудники, которые, например, предсказывали скорую кончину бумажных журналов, традиционных конференций, вытеснение традиционных биохимических методов исследования методами молекулярной биологии и генетики – всё это актуально до сих пор. Огромный поток информации и легкий доступ к ней не заменят её критического анализа, самый широкий кругозор – практических навыков биохимического эксперимента – то, чему учил своих сотрудников академик Островский.

РОЛЬ Ю.М. ОСТРОВСКОГО В ПОДГОТОВКЕ БИОХИМИЧЕСКИХ НАУЧНЫХ КАДРОВ

Маглыш С.С.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

После окончания учебы на биолого-химическом факультете ГрГУ им. Я. Купалы я получила рекомендацию в аспирантуру и обратилась к академику Островскому Юрию Михайловичу с просьбой о приеме в Отдел регуляции обмена веществ АН БССР. Он сказал, что сможет принять меня только через год, когда будет сдан в эксплуатацию корпус будущего Института биохимии. Юрий Михайлович сдержал свое слово, и через год я была принята на работу в должности старшего лаборанта, позже я поступила в аспирантуру. В Институте биохимии я проработала тринадцать лет. Это были лучшие творческие годы в моей жизни. За это время я закончила аспирантуру, защитила кандидатскую диссертацию и выросла до должности старшего научного сотрудника. Все это стало возможно благодаря тем условиям, которые были созданы Островским Ю.М. в институте для развития биохимической науки и роста молодых научных кадров. В то время Гродно был главным центром биохимических исследований в Беларуси.

Благодаря авторитету Юрия Михайловича, Институт биохимии имел хорошее бюджетное финансирование, располагал самым современным научным оборудованием и возможностью получать любые реактивы для научных исследований из любой страны. В нашем распоряжении были

двулучевые спектрофотометры с термостатируемыми кюветами, ультрацентрифуги, «холодные» комнаты для работы с ферментами, аминокислотный анализатор, радиационная лаборатория для работы с изотопами, имелся собственный виварий, который обеспечивал потребности сотрудников в подопытных животных. Но все это не имело бы значения без генератора научных идей, каковым являлся Юрий Михайлович, без увлеченных людей, преданных науке и реализующих эти идеи в научных экспериментах. Руководителями лабораторий были ученики и единомышленники Юрия Михайловича – Воскобоев Александр Иванович, Мойсеенок Андрей Георгиевич, Виноградов Владимир Викторович, Ларин Федор Семенович, Требухина Раиса Васильевна и др. Юрий Михайлович умел подбирать кадры. В лабораториях работали лучшие выпускники разных вузов нашей страны. Например, в нашей лаборатории, которой руководил канд. биол. наук Горбач Зенон Владиславович, работали выпускники медицинского института – Бородинский Александр Николаевич, Золотухина Светлана Филаретовна, БГУ – Денисенко Валентин Александрович, сельскохозяйственного института – Кубышин Валерий Львович, Коноваленко Ольга Владимировна (фото 1).



Фото 1. Женская половина нашей лаборатории.

Слева направо: Коноваленко О.В., Маглыш С.С., Золотухина С.Ф.

Несмотря на разный профиль образования у всех молодых сотрудников было общее качество – исследовательский энтузиазм. Для нас не было такого понятия как нормированный рабочий день. Мы могли работать и по вечерам, и

в выходные, и в праздничные дни, если это требовалось для исследований. Отличительной особенностью отношений сотрудников была взаимопомощь и взаимовыручка, мы могли в любой ситуации рассчитывать на поддержку коллег, как по работе, так и по жизни. И этот благоприятный психологический климат в коллективе способствовал его плодотворной работе.

Большой заслугой Островского Ю.М. считаю то, что он создавал оптимальные условия не только для научной работы аспирантов и докторантов, но и для подготовки к сдаче кандидатского минимума по иностранному языку, для оформления полученных научных результатов в виде диссертации.

В институте был собственный лингафонный кабинет, в котором Кирюхина Людмила Григорьевна регулярно проводила занятия с аспирантами по английскому языку. Благодаря этим занятиям мы имели высокий уровень подготовки. Например, я на отлично сдала кандидатский минимум по английскому языку, хотя ранее не имела специальной языковой подготовки, а экзаменатор даже отметил мое хорошее произношение.

Для написания диссертации аспиранту или соискателю в полное распоряжение предоставлялась комната в институтской гостинице на четвертом этаже, где он в течение трех месяцев мог находиться как днем, так и ночью. Это давало возможность защищать диссертации в срок. Институт биохимии в то время был своего рода «инкубатором» со всеми условиями для «выращивания» кандидатов и докторов наук. И все это было благодаря уникальным организаторским способностям и таланту руководителя Островского Ю.М.

Хочется вспомнить замечательные научные традиции, которые были в Институте биохимии, инициатором и идейным вдохновителем которых был Юрий Михайлович.

Во-первых, это научные «понедельники», когда утром каждый понедельник в актовом зале собирались все сотрудники института и могли послушать результаты исследований как опытных, так и молодых ученых. Была уникальная возможность внутренней апробации своих исследований, с целью получить полезные советы и замечания коллег. Юрий Михайлович активно участвовал в обсуждении самых разных направлений исследований, благодаря своей эрудиции, но, задавая вопросы или комментируя выступление, он никогда не пытался подчеркнуть некомпетентность докладчика. Он умел организовать дискуссию по обсуждаемой проблеме так, что замечания носили доброжелательный характер и скорее были похожи на подсказки и советы по улучшению подачи или интерпретации представленных научных данных.

Во-вторых, каждые два года в Институте биохимии проводились Всесоюзные биохимические симпозиумы, куда съезжались светила биохимии с разных республик Советского союза и зарубежных стран, потому что Юрия Михайловича знали и уважали не только в Советском союзе, но и за рубежом. У молодых ученых была уникальная возможность доложить результаты своих исследований, узнать, чем занимаются биохимики в других республиках. Особой изюминкой симпозиумов были вечера знакомств в день открытия симпозиума, где ученые могли пообщаться в неформальной обстановке, завязать творческие связи для совместных исследований. Кроме того, любой

сотрудник института имел возможность поехать на научную конференцию в другой город или другую республику, если он послал на эту конференцию свои материалы. Я, будучи еще старшим лаборантом, смогла поехать на Всесоюзный биохимический съезд в Ленинград, открытие которого проходило в Мариининском театре. Председательствовал на съезде великий биохимик того времени академик Северин Е.С. Мы туда отправились целым вагоном. Жили в гостинице «Октябрьская» на Невском проспекте. Эта поездка произвела на меня огромное впечатление. И это все было возможно благодаря способности Островского Ю.М. найти финансирование для таких поездок.

Кроме занятия наукой у нас хватало энергии и на так называемую общественную деятельность. В Институте биохимии была собственная настенная газета, где могли реализоваться как художественные, так и писательские таланты наших сотрудников. Она пользовалась большой популярностью, потому что в ней публиковались дружеские шаржи, метко подчеркивающие личностные и профессиональные качества сотрудников. Все знали авторов этих шаржей, но на них никто не обижался, потому что шаржи носили шуточный и доброжелательный характер. В обеденный перерыв мы собирались в фойе, где можно было пообщаться, почитать настенную газету, поиграть в настольный теннис (фото 2).



**Фото 2. Во время обеденного перерыва после Нового года. Слева направо:
Туманов В.Н., Зиматкина Т.И., Золотухина С.Ф., Маглыш С.С.,
Буко В.У.**

Ежегодно к Новому году силами самих сотрудников готовился концерт художественной самодеятельности по сценарию, написанному Наумовым Александром Васильевичем. Это были своего рода костюмированные театральные постановки, импровизированные танцы под музыку Bonu M, современные популярные песни. После концерта, опять-таки силами самих сотрудников, организовывался праздничный банкет, который продолжался почти до утра. Сотрудники приходили со своими женами и мужьями, приносили разные вкусные блюда, которыми накрывали столы. Юрий Михайлович всегда принимал участие в этих вечерах, смеялся от души над постановками, шутил, он обладал тонким чувством юмора. Обязательным элементом были танцы вокруг елки. Это были незабываемые вечера. А для детей сотрудников организовывался новогодний утренник с собственным Дедом Морозом и Снегурочкой, с многочисленными игрушками-подарками за прочитанные стишки или спетые песенки. Профком дарил детям подарки с вкусными конфетами и фруктами.

Я с большой теплотой и огромной благодарностью вспоминаю своих научных руководителей – Островского Ю.М., Горбача З.В. (фото 3), коллег из своей лаборатории и других лабораторий, с которыми мне довелось бок о бок работать в Институте биохимии.



Фото 3. Обсуждение результатов исследований. Слева направо: Островский Ю.М., Маглыш С.С., Горбач З.В., Ларин Ф.С.

Невозможно переоценить вклад Юрия Михайловича в формирование белорусской биохимической школы и его роль в подготовке биохимических научных кадров. Это было золотое время расцвета белорусской биохимической

науки, в развитие которой гродненские биохимики под руководством Островского Ю.М. внесли огромный вклад. Я счастлива, что в это время работала с замечательными учеными и в настоящем научном учреждении, которым руководил великий ученый, талантливый организатор, замечательный человек с большой буквы Островский Юрий Михайлович. Благодаря ему Институт биохимии стал настоящей «кузницей» биохимических научных кадров, которые в настоящее время работают во всех трех вузах нашего города и готовят кадры разных специальностей для нашей республики, а некоторые продолжают научную деятельность как в нашей стране, так и за рубежом. Сейчас, работая доцентом на кафедре биологической химии в ГрГМУ, я постоянно использую знания и практические навыки, полученные в Институте биохимии. Легко объяснять то, что делал своими руками. Хочу сказать огромное спасибо Юрию Михайловичу Островскому и созданному им Институту биохимии за самые счастливые и творческие годы моей жизни.

ДВА РАЗГОВОРА С Ю.М. ОСТРОВСКИМ

Шейбак В.М.,

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Юрий Михайлович Островский был яркой личностью во всем – от формы одежды – его знаменитый берет был неподражаем и часть его фирменного стиля; общения – интеллигентный и равный, но тем не менее всегда надо было быть настороже и не расслабляться, чтобы не почувствовать себя не в теме. Как и все, я увидел его на первой лекции – лекции были очень оригинальные – шел обычный разговор о важных вещах в чрезвычайно простом исполнении. Не было сложных формул или графиков, любой процесс или реакция (как часть процесса) логично вписывалась в контекст и понять можно было элементарно. Это и подкупало – можно было не записывать – а зачем? – все и так понятно.

Предмет был интересный и многие захотели пойти в кружок при кафедре биохимии. А надо сказать, что в обществе был спрос на понимание и расшифровку биологических процессов. Многие врачи хотели понять механизмы происходящего в организме пациента. И, казалось, биохимия даст объяснение. Это сейчас есть замечательные учебники, где информация подобного типа присутствует или ее легко отыскать в различных базах данных. А тогда... многие были покорены эрудицией и уверенностью в объяснении патобиохимических процессов Юрием Михайловичем Островским.

Продолжаю. Итак, когда я пришел на первое заседание кружка (таких как я было около 50 человек, а может и больше), Юрий Михайлович представил своих сотрудников, обозначил их научные интересы и предложил нам, студентам 2 –ого курса (!), определиться с научной тематикой. Я решил, что энергетика - это важно и подошел к ассистенту Э.А. Галицкому. Это было в сентябре 1974 года. В течение месяца я периодически подходил к нему за

конкретным поручением (темой), но... не сложилось. И тогда я двинулся в Отдел регуляции обмена веществ. Им тоже руководил Ю.М.Островский. Ученым секретарем Отдела регуляции был Андрей Георгиевич Мойсеенок и я фактически пришел к нему студентом 2 курса – в октябре 1974 года. Сразу мне был предоставлен стул и стол в лаборатории вместе с м.н.с. Жорой Андросюком. Доступ к лабораторной посуде и возможностью осваивать лабораторные методы – самые разные – от мытья посуды (очень ответственный процесс, для тех, кто понимает) до участия в экспериментах с изотопами. Это вдохновляло.

Я работал в Отделе регуляции обмена веществ АН БССР и учился у Ю.М. Островского много лет. Очевидно, что мы были с разным уровнем знаний, но тем приятней вспоминать моменты, когда тебя учат ненавязчиво понимать простейшие (элементарные) вещи в лабораторной практике и научной этике. Позволю себе вспомнить некоторые из таких моментов.

Мне было поручено освоить метод определения мочевой кислоты и понятно, чтобы построить калибровку нужна мочевая кислота. Тогда все было просто – все, что нужно для практической работы было у наших руководителей. И меня отправили к Ю.М.Островскому. Я взял посуду (флакон) и пошел.

Состоялся следующий разговор: «Юрий Михайлович мне нужна мочевая кислота. – Сколько и зачем? – Для отработки методики надо построить калибровку. – Так сколько нужно? – Ну может грамм. – А точнее? – Не знаю. – Решите сколько Вам нужно и приходите».

Коротко, понятно и по-деловому. Сел посчитал, выходило 100 мг хватит и не одну калибровку. Пошел еще раз к Юрию Михайловичу: «Юрий Михайлович, я посчитал 100 мг мочевой кислоты. – Куда будете взвешивать? – Вот в этот флакон. – На 150 мл? Очень большой, Вы оттуда ничего не достанете, нужно меньше, лучше пенициллиновый. – Хорошо».

Следующий раз пришел с нужным флаконом. Опять диалог: «Юрий Михайлович: – Он чистый? – Да. – Почему не подписан? – Потом подпишу. – Нет надо заранее подписать, потом забудете».

Флакон подписал стеклографом, были такие карандаши по стеклу. Прихожу. Показываю. Ухожу менять на нормальную этикетку. Затем опять прихожу. Опять вопрос: - А где пробка?

Ухожу искать пробку. Нашел. Прихожу. Юрий Михайлович достает банку, а там грамм 100 мочевой кислоты. Беру, иду взвешивать. Приношу, показываю, сколько взвесил, говорю «спасибо» и ухожу.

Так меня учили аккуратности и предусмотрительности в лабораторной работе. Запомнил на всю жизнь, поскольку это заняло не один вечер: то меня не было в лаборатории, то Юрий Михайлович был занят.

Следующий аналогичный момент образовался, когда будучи младшим научным сотрудником я после работы на спектрофотометре мыл кварцевые кюветы и неосторожно уронил в раковину кювету, которая благополучно разбилась. После доклада зав. лабораторией А.Г.Мойсеенку было дано указание

просить аналогичную кювету у Ю.М.Островского (с одной кюветой работать невозможно). Опять в роли просителя и опять урок воспитания.

Юрий Михайлович: «Кварцевые кюветы большой дефицит – надо заказывать. Вот беритесь за это дело. Нам надо разные кюветы и достаточно большое количество для всего института. Разберитесь с Отделом снабжения и подготовьте в адрес завода заказное письмо с гарантией оплаты». Около недели ушло на решение этой проблемы. Надо было узнать адрес, кому именно адресовать просьбу, собрать заявки по всем лабораториям. Сделал, зашел подписать письмо и пожаловаться, что работа тормозится отсутствием кювет. И опять самое интересное – Юрий Михайлович выдвигает ящик стола (он был заполнен кюветами) и достает одну (!) кювету (и можно было бы сказать торжественно, но это не так), и со словами «идите работайте» вручает ее мне.

Вот такие моменты запоминаются больше всего. Он был очень недоволен, что я отказался поступать в аспирантуру по двум специальностям биохимия/фармакология (мне казалось на тот момент, что я уже существенно продвинулся в своей тематике и не стоило отвлекаться). Были и научные беседы, он задавал вопросы по метаболизму кофермента А, возможности его транспорта в митохондрии. Я пытался с ним обсуждать особенности воздействия на организм отдельных производных пантотеновой кислоты (в этом отношении меня очень интересовал 4-фосфопантотенат). Именно с его подачи вышла наша с к.б.н Ю.Тарасовым статья об антистрессорных механизмах действия производных пантотеновой кислоты.

Кажущаяся доступность Юрия Михайлович для обсуждения тех или других вопросов на самом деле требовала основательной подготовки – его колоссальная эрудиция потрясала и надо было стараться соответствовать. На моей памяти таких ученых было очень немного и я, как один из его большой школы (Института биохимии АН БССР), всегда стараюсь вспоминать его и рассказывать о Юрии Михайловиче Островском.

Раздел 2. ОБЗОРЫ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

ОБЩНОСТЬ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ МЕХАНИЗМОВ АЛКОГОЛЬНОЙ И МОРФИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Лелевич С.В., Лелевич В.В.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Такие патологические состояния, как алкоголизм и наркомания в последнее время обнаруживают тенденцию к росту во многих странах. Следует констатировать, что алкоголь и наркотики являются обязательными атрибутами цивилизации уже длительное время. Значительная распространенность данной патологии заставляет настойчиво искать и пытаться научно обосновать причины злоупотребления психоактивными веществами (ПАВ).

Важным аспектом наркологической практики является чередующееся потребление алкоголя и опиатов [1]. Следует выделить несколько аспектов этой проблемы:

- отягощенность алкоголизмом в семьях пациентов с опийной наркоманией;
- употребление алкоголя пациентами с опийной наркоманией в период, предшествовавший развитию наркотической зависимости;
- сочетанная зависимость от этанола и опиатов (включая случаи политропной зависимости от ПАВ);
- употребление алкоголя лицами с наркоманией в период воздержания от приема наркотиков;
- усугубление соматических нарушений при опийной наркомании вследствие алкоголизации.

Клиническая картина алкоголизма и наркотической зависимости обнаруживает значительное сходство основных симптомов заболеваний, характера их динамики, осложнений и исходов [2]. Естественно, что клиническое течение алкоголизма и наркоманий имеет свои особенности в силу того, что каждое из данных веществ обладает специфическими фармакологическими свойствами. Вместе с тем, несмотря на эти особенности, большинству ПАВ присущи общие черты, главными из которых являются способность вызывать эйфорию и синдром зависимости. Анализ вышеприведенных фактов позволяет предположить возможность существования общих патогенетических механизмов алкоголизма и различных типов наркоманий. В последнее время данный вопрос обсуждается различными специалистами. Большинство исследований в этом направлении посвящены изучению «центральной» компоненты данной патологии [3].

С позиции одних авторов наркотическая и алкогольная зависимость формируется на основе биологических мотиваций, создающих в ЦНС специфическую химическую интеграцию, имеющую к этим веществам

повышенную химическую чувствительность. Введение в организм наркотиков или этанола нарушает интегративные механизмы мозга, лежащие в основе формирования естественных биологических мотиваций. Создаваемая при этом новая интеграция корково-подкорковых отношений фиксируется специальными олигопептидами. Однако персонализация этих олигопептидов до настоящего времени не проведена.

С позиций И. П. Анохиной и соавторов [4] главным звеном действия этанола и наркотиков является катехоламинавая система в гипоталамусе и среднем мозге, где локализуется «система подкрепления». Эта группа исследователей считает, что функциональной основой предрасположенности к злоупотреблению ПАВ является низкая активность «системы подкрепления» головного мозга, обусловленная, главным образом, дефектом дофаминовой нейромедиации. Алкоголь и наркотики вызывают развитие синдрома зависимости и стимулируют данную нейромедиаторную структуру в «системе подкрепления». Исследования молекулярно-генетического профиля пациентов с алкоголизмом и опийной наркоманией выявили два элемента риска зависимости от данных ПАВ – полиформные локусы генов дофаминовых рецепторов 2 типа и фермента тирозингидроксилазы [5]. Полученные данные можно расценивать как свидетельство общности некоторых генетических факторов, предрасполагающих к развитию наркомании и алкоголизма. Подчеркивают [6], что не существует одного гена, отвечающего за наркотическую зависимость. По-видимому, имеет значение лишь небольшое число главных генов. Особенно важными из них являются те, которые вызывают нарушения баланса дофаминергической и серотонинергической систем мозга. Именно нарушения процессов нейромедиации в настоящее время рассматриваются как основа формирования алкогольной и опийной зависимости.

Важным типом эффектов острой алкогольной (ОАИ) и морфиновой интоксикации (ОМИ) является их влияние на ключевые звенья метаболизма. Причем, это как центральные нарушения, выражающиеся в изменении функционирования ключевых нейромедиаторных систем головного мозга, так и дисбаланс метаболических процессов в периферических органах и тканях, во многом определяющий клинические проявления алкогольной и морфиновой интоксикации.

Нейромедиаторные изменения при ОАИ определялись дозой вводимого алкоголя. Введение этанола в небольшой дозе (1 г/кг) не приводило к существенным сдвигам нейромедиации в изученных регионах головного мозга. Средняя доза алкоголя (2,5 г/кг) вызывала более выраженные эффекты. При этом концентрация дофамина снижалась во всех изученных регионах мозга, а уровень норадреналина – в таламической области (на 64%, $p < 0,01$), стволе и мозжечке (на 82%, $p < 0,001$). Со снижением содержания дофамина в стволе головного мозга согласовывался рост концентрации одного из его метаболитов – гомованилиновой кислоты (ГВК). На фоне выраженной алкогольной интоксикации (5 г/кг) в таламической области снижались уровни дофамина и норадреналина, а также возрастало содержание им метаболитов [3].

Уровень серотонина в таламической области резко повышался при ОАИ слабой (на 166%, $p < 0,001$) и средней степени (на 183%, $p < 0,001$), тогда как в стволе головного мозга – только при тяжелой форме (на 139%, $p < 0,001$). В коре больших полушарий и мозжечке содержание серотонина не претерпевало изменений.

При введении небольшой дозы морфина (10 мг/кг) в таламической области снижался только уровень дофамина при неизменном содержании норадреналина, серотонина и ГАМК.

Увеличение дозы вводимого наркотика до 20 мг/кг приводило к снижению в таламической области уровня дофамина и повышению содержания ГВК и 3,4-диоксифенилуксусной кислоты (3,4-ДОФУК). Кроме того, отмечалось уменьшение содержания норадреналина при неизменном уровне серотонина и ГАМК. На фоне введения большой дозы морфина (40 мг/кг) в таламической области повышалось содержание ГВК и 3,4-ДОФУК, а также снижался уровень норадреналина.

Функционирование дофаминергической системы в стволе мозга изменялось аналогично таковому в таламической области только при введении 20 мг/кг наркотика, оставаясь неизменным при низкой и высокой дозах морфина.

В коре больших полушарий при введении малой дозы морфина снижался только уровень ГАМК, а при 20 мг/кг – повышалось содержание серотонина. На фоне тяжелой морфиновой интоксикации (40 мг/кг) в данном регионе мозга снижалось содержание дофамина и повышался уровень ГАМК.

В мозжечке введение морфина в дозе 10 мг/кг приводило к снижению уровня дофамина на 78% ($p < 0,001$), серотонина на 83% ($p < 0,002$), его метаболита – 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК) – на 69% ($p < 0,001$), ГАМК на 42% ($p < 0,001$). При этом в данном регионе ЦНС повышалась концентрация 3,4-ДОФУК на 71% ($p < 0,001$). Увеличение дозы вводимого морфина (20 мг/кг) приводило к снижению содержания дофамина на 62% в сравнении с контрольной группой ($p < 0,001$), серотонина на 47% ($p < 0,002$), 5-ОИУК на 64% ($p < 0,001$) и повышению уровня 3,4-ДОФУК на 61% ($p < 0,001$). На фоне введения большой дозы морфина (40 мг/кг) в мозжечке снижался только уровень дофамина (на 70%, $p < 0,001$) [7].

Первое заключение, которое можно сделать на основании полученных данных для обоих ПАВ это то, что нейромедиаторные нарушения в ткани головного мозга определяются дозой этанола и морфина и имеют региональную специфику.

Во-вторых, наиболее выраженные, согласно результатам наших экспериментов, нейромедиаторные изменения при ОАИ и ОМИ проявляются в таламической области и стволе головного мозга.

В-третьих, однократное введение алкоголя и морфина оказывает схожее, в определенной степени, влияние на катехоламиновую нейромедиацию в лимбических структурах мозга или так называемой «системе подкрепления» [8]. Эффекты данных ПАВ на начальных стадиях приводят к выбросу из депо катехоламинов, в первую очередь дофамина, в данных отделах мозга. Это

сопровождается возбуждением «системы подкрепления». Данные эффекты ОАИ и ОМИ проявлялись при введении различных доз этанола и морфина и имели региональную специфику.

В таламической области снижение уровней катехоламинов проявлялось при введении средних и больших экспериментальных доз этанола. На фоне ОМИ изменение содержания дофамина и норадреналина в данном регионе ЦНС носили менее синхронный характер, а концентрация ДА снижалась при малой и средней дозах морфина. В стволе головного мозга эффект максимальной секреции катехоламинов проявлялся при введении средних экспериментальных доз этанола и морфина. Таким образом, нельзя говорить о дозозависимом эффекте этанола и морфина на обмен катехоламинов в таламической области и стволе головного мозга.

Изменение функционального состояния серотонинергической нейромедиаторной системы было менее специфичным для ОАИ и ОМИ. Содержание серотонина в таламической области резко возрастало при введении малой и средней дозы этанола и не изменялось при ОМИ. В стволе головного мозга уровень нейромедиатора повышался только при выраженной форме алкогольной интоксикации, не меняясь на фоне ОМИ.

Метаболические эффекты хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) и хронической морфиновой интоксикации (ХМИ) отличаются от таковых при однократном введении этих ПАВ.

Литературных сведений о нарушениях метаболизма при ХАИ значительно больше, чем при ХМИ, что объясняется более длительным периодом изучения первого состояния. Хроническую интоксикацию следует рассматривать как модель болезненного состояния, которое развивается у человека при длительном потреблении ПАВ с выходом на зависимость от них. Формирование алкогольной и наркотической зависимости, абстинентного синдрома и толерантности обусловлено нарушением различных биохимических и физиологических процессов, ряд из которых можно рассматривать как первичные патогенетические факторы развития заболевания [2]. К таким факторам относят особенности метаболизма ацетальдегида и этанола в печени при избыточном поступлении в организм последнего [9], повреждающее действие ПАВ на мембраны клеток мозга и образование в данной ткани алкалоидов морфиноподобного действия [10], торможение синтеза нуклеиновых кислот и белков в мозге, изменение функциональной активности нейромедиаторных систем мозга [11]. Кроме того, при длительном поступлении ПАВ проявляются их токсические эффекты почти на все органы и системы. Наиболее частыми и выраженными при этом являются поражения печени, нервной системы, мышц. В этой связи, именно детальный анализ патохимической картины при длительном поступлении алкоголя и морфина позволит подтвердить или опровергнуть высказывания ряда исследователей об общности патогенетических механизмов формирования зависимости от этих субстанций.

В коре больших полушарий при введении алкоголя в течение 7 суток отмечалось снижение концентрации дофамина и серотонина. В стволе

головного мозга при этом снижалось содержание дофамина и триптофана при повышенном уровне ГВК, а в таламической области понижался уровень нейромедиаторных аминокислот – глутамата, аспартата и ГАМК [12].

Увеличение сроков алкоголизации до 14-ти суток несколько меняло картину нейрохимических отклонений в изученных отделах мозга. В коре больших полушарий оставалось пониженным содержание серотонина, тогда как уровень норадреналина и глутамата превышал значения в контрольной группе. В стволе головного мозга на фоне двухнедельной алкогольной интоксикации сохранялись эффекты, регистрируемые в предыдущей экспериментальной группе: понижение содержания дофамина и увеличение концентрации гомованилиновой кислоты. В таламической области при 14-суточной алкоголизации отмечалось статистически значимое снижение уровня норадреналина и 5-окситриптофана, а также повышение содержания глицина в сравнении показателями в контрольной группе.

Трехнедельная алкогольная интоксикация приводила к снижению содержания дофамина во всех изученных отделах мозга, с наибольшей выраженностью данного эффекта в стволе. Уровень одного из метаболитов дофамина – ГВК – повышался при этом в таламической области и стволе. Концентрация серотонина при трехнедельной ХАИ снижалась, в сравнении с контролем, в коре больших полушарий и стволе головного мозга. На этом фоне в стволе регистрировались пониженное содержание 5-окситриптофана и повышенный уровень 5-ОИУК, а также статистически значимое увеличение концентрации ГАМК, глутамата и триптофана в коре больших полушарий, триптофана – в таламической области и снижение уровня глицина в стволе головного мозга.

Введение алкоголя в течение 28 суток сопровождалось снижением концентрации дофамина во всех исследуемых отделах мозга. Содержание ГВК при этом оставалось повышенным в таламической области и стволе. В этих же отделах мозга снижался уровень норадреналина. Показатели серотонинергической нейромедиаторной системы при четырехнедельной ХАИ не изменялись в таламической области, тогда как в коре больших полушарий уровень серотонина снижался, а в стволе повышался в сравнении с показателями в контрольной группе [13].

При ХМИ в коре больших полушарий уровень изученных нейромедиаторов и их метаболитов изменялся менее значительно в сравнении с другими отделами головного мозга. Содержание дофамина, норадреналина и 5-окситриптофана оставалось стабильным на протяжении всего периода наркотизации. Уровень одного из метаболитов дофамина – ГВК – повышался через 7 суток введения морфина на 43% ($p < 0,01$), 3,4-ДОФУК к концу 14-х суток морфинизации – на 59% ($p < 0,001$). Содержание серотонина в данном отделе мозга статистически значимо снижалось через 21 день, а продукта его катаболизма – 5-ОИУК – на 14-е и 21-е сутки введения морфина. Уровень основного медиатора торможения – ГАМК – повышался в корковом отделе мозга через 14 и 21 сутки от начала морфинизации [13].

К концу первой недели введения морфина в таламической области отмечалось снижение содержания дофамина и норадреналина при повышении уровней их метаболитов – 3,4-ДОФУК и ГВК. Содержание серотонина и ГАМК при 7-суточной ХМИ в данном регионе мозга не отличалось от значений в контрольной группе. Удлинение сроков наркотизации до 2-х недель сопровождалось снижением уровня дофамина и повышением содержания ГВК в таламической области, а уровень ГАМК увеличивался на 92% ($p < 0,001$).

Через три недели от начала введения морфина в данном отделе мозга отмечалось повышение содержания синаптического метаболита дофамина – ГВК – снижение уровня серотонина и 5-ОИУК.

При 7-суточном введении наркотика в стволе головного мозга снижалось содержание дофамина (на 28%, $p < 0,05$) и норадреналина (на 42%, $p < 0,01$). При этом отмечалось повышение уровней их метаболитов – 3,4-ДОФУК и ГВК, а также увеличение концентрации ГАМК. К концу двухнедельной ХМИ в стволе отмечалось снижение уровней дофамина и норадреналина на 28% и 38% ($p < 0,01$), соответственно. При этом увеличивались концентрации метаболитов дофамина – 3,4-ДОФУК и ГВК, наблюдалось снижение содержания серотонина и 5-ОИУК. Трехнедельная морфиновая интоксикация сопровождалась снижением содержания дофамина и серотонина в стволе мозга [14].

В мозжечке при 7-суточной ХМИ отмечалось статистически значимое увеличение уровней ГВК и 5-ОИУК, а также ГАМК. Двухнедельная ХМИ приводила к увеличению содержания норадреналина и ГАМК, а также к падению концентрации 5-окситриптофана в данном регионе головного мозга.

Таким образом, хроническое введение алкоголя и морфина в сопоставимых дозах и сроках интоксикации имеет некоторые схожие эффекты на состояние нейромедиаторных процессов в ЦНС. Идентичность влияния данных ПАВ на показатели нейромедиации проявляется снижением содержания дофамина в стволе головного мозга, а также статистически значимым увеличением здесь концентрации его метаболита – ГВК. Схожесть эффектов ХАИ и ХМИ была отмечена и в виде снижения уровня серотонина в коре больших полушарий и стволе мозга, а также повышения содержания ГАМК в первом отделе.

Грубые метаболические нарушения у пациентов с абстинентным синдромом после отмены ПАВ выявляются, как правило на стадии госпитализации [11]. Однако до настоящего времени не совсем ясна динамика формирования патохимической картины при абстиненции. В связи с этим были изучены нейромедиаторные изменения при моделировании алкогольного абстинентного синдрома (ААС) и морфиновой абстиненции (МАС).

Через сутки после прекращения форсированной алкоголизации в коре больших полушарий на фоне стабильного содержания норадреналина и ГАМК отмечался существенный рост уровня дофамина (на 70%, $p < 0,001$). Накопление дофамина в данный период ААС отмечалось также в стволе мозга (на 44%, $p < 0,004$) и таламической области (на 38%, $p < 0,001$), что указывает на замедление его секреции. Это подтверждалось снижением уровней 3,4-ДОФУК (на 31%, $p < 0,02$) и ГВК (на 28%, $p < 0,05$) в таламической области. Изменение

состояния серотонинергической системы к концу первых суток ААС проявлялось в различных регионах мозга дифференцированно – содержание серотонина снижалось в таламической области (на 46%, $p<0,01$), стволе (на 59%, $p<0,001$) и возрастало в коре больших полушарий (на 95%, $p<0,001$) [15].

Увеличение сроков ААС до 3-х суток приводило к изменению содержания изученных показателей в коре больших полушарий. На фоне сохраненного повышения концентрации дофамина (на 48%, $p<0,01$) возрастал уровень ГВК (на 34%, $p<0,001$), тогда как концентрация серотонина и ГАМК не отличались от контроля. В стволе головного мозга при этом на фоне нормального содержания дофамина отмечалось увеличение концентрации 3,4-ДОФУК (на 49%, $p<0,001$) и снижение уровня ГВК (на 36%, $p<0,002$). В данном регионе ЦНС изменялись и параметры серотонинергической системы: при неизменном уровне серотонина снижалась концентрация 5-окситриптофана (на 43%, $p<0,001$) и 5-ОИУК (на 58%, $p<0,001$). В таламической области через трое суток после отмены алкоголя уменьшалось содержание ГВК (на 36%, $p<0,001$) и 5-ОИУК (на 34%, $p<0,001$) в сравнении с контрольной группой. В мозжечке в данный период ААС оставалось сниженным содержание дофамина (на 40%, $p<0,001$) при нормальном функционировании серотонинергической системы [16].

В отдаленные сроки алкогольной абстиненции (7 суток) в коре больших полушарий повышался уровень норадреналина (на 100%, $p<0,001$) при сниженном содержании 3,4-ДОФУК (на 47%, $p<0,001$). В стволе головного мозга при 7-суточном ААС снижалась концентрация катехоламинов – дофамина на 33% ($p<0,01$), норадреналина на 35% ($p<0,02$) и повышался уровень 3,4-ДОФУК (на 127%, $p<0,001$). В таламической области при этом на фоне нормального содержания дофамина и норадреналина отмечалось снижение концентрации серотонина (на 33%, $p<0,001$), его метаболита – 5-ОИУК (на 33%, $p<0,001$) – и повышение уровня ГВК (на 90%, $p<0,001$).

Характеризуя нейромедиаторные отклонения в динамике морфинового абстинентного синдрома, следует отметить однотипные с ААС изменения компонентов дофаминергической нейромедиаторной системы в таламической области и стволе мозга. На высоте поведенческих проявлений МАС (36 часов) в таламической области отмечалось увеличение концентрации дофамина (на 49%, $p<0,02$), его метаболитов – 3,4-ДОФУК (на 39%, $p<0,01$) и ГВК (на 65%, $p<0,001$) [16].

В стволе головного мозга в данный период МАС повышалось содержание норадреналина (на 39%, $p<0,02$), 3,4-ДОФУК (на 216%, $p<0,001$), ГВК (на 117%, $p<0,001$) и 5-окситриптофана (на 38%, $p<0,01$). Через трое суток после отмены морфина в таламической области снижался уровень нейромедиаторов катехоламиновой системы – дофамина и норадреналина – на фоне падения концентрации ГАМК. Изменение параметров серотонинергической системы при этом проявлялось снижением содержания серотонина в стволе мозга (на 48%, $p<0,001$) и мозжечке (на 26%, $p<0,05$), повышением концентрации 5-окситриптофана в стволе (на 59%, $p<0,01$) и 5-ОИУК в мозжечке (на 60%, $p<0,001$) [17].

К концу недельного срока морфиновой абстиненции в таламической области и стволе головного мозга происходило снижение уровня катехоламинов и повышение продуктов их метаболизма. В таламической области уменьшалось содержание дофамина, в стволе – норадреналина (на 42%, $p < 0,01$) при повышенном уровне здесь 3,4-ДОФУК и ГВК (на 47%, $p < 0,01$). Через семь суток после отмены морфина в стволе мозга и мозжечке снижалось содержание серотонина (на 54%, $p < 0,001$ и 33%, $p < 0,05$, соответственно) на фоне повышения уровня 5-окситриптофана (на 98%, $p < 0,001$), а также 5-ОИУК (на 54%, $p < 0,001$) в первом отделе мозга.

Таким образом, изменение функционального состояния катехоламинергической системы в таламической области и стволе мозга при различных режимах алкогольной интоксикации имеет, с нашей точки зрения, важное патогенетическое значение. Среди фактов, выявленных нами впервые, следует отметить следующие: во-первых, наибольшая секреция дофамина и норадреналина при ОАИ отмечается на фоне введения средней дозы этанола; во-вторых, при ХАИ истощение запасов катехоламинов формируется в течение первых 2-3 недель алкоголизации; в-третьих, ААС на высоте своих проявлений (1 сутки) характеризуется резким накоплением дофамина в таламической области и стволе, уровень которого нормализуется через 3 дня и несколько снижается к концу первой недели после прекращения алкоголизации.

В настоящее время достаточно обоснованной является гипотеза о дофаминергической природе эмоционально-положительных состояний [4]. Общеизвестно также об участии серотонинергической системы в реализации положительных эмоций. Однако взаимодействия дофаминергической и серотонинергической систем еще недостаточно изучено, особенно при действии различных психоактивных веществ. В ряде работ показано, что дофаминергическая и серотонинергическая системы являются ключевыми для поощрения и подкрепления, вследствие чего приобретают оценочную функцию и принимают участие во всех видах поведения [8]. Считают, что эмоционально-положительное состояние формируется усилением активности дофаминергической и уменьшением активности серотонинергической систем мозга. При этом дофамин рассматривается как директивный (направляющий) аспект. Между дофаминергической и серотонинергическими системами существуют оппонентно-реципрокные взаимоотношения, обеспечивающие оптимальный эмоционально-физический статус организма [10].

Исходя из вышеуказанных представлений о функциональной роли дофамина и полученных нами результатов, патогенетическая роль данного нейромедиатора в развитии алкоголизма выглядит следующим образом: воздействие алкоголя приводит к выбросу из депо в стволовых и лимбических структурах мозга катехоламинов, в первую очередь дофамина, и, следовательно, к возбуждению «системы подкрепления». Этот процесс сопровождается положительно окрашенными эмоциональными переживаниями, что часто называют алкогольной эйфорией. Хроническая алкоголизация приводит к истощению запасов дофамина, что проявляется недостаточно выраженным возбуждением «системы подкрепления» и, как

следствие этого, падением настроения, а также эмоциональным дискомфортом. Прием алкоголя на этом фоне вновь вызывает дополнительное высвобождение катехоламинов из депо, что временно компенсирует их дефицит в синаптической щели, нормализует деятельность лимбических структур мозга и психоэмоциональный фон. Однако выделившиеся катехоламины быстро разрушаются, что приводит к снижению их уровня, ухудшению психоэмоционального состояния и, следовательно, стремлению к очередной порции алкоголя. При длительном потреблении этанола формируются компенсаторные механизмы в ответ на дефицит катехоламинов, которые выражаются в усиленном синтезе данных нейромедиаторов и подавлении активности ферментов их катаболизма. То есть, на фоне хронической алкогольной интоксикации формируется ускоренный кругооборот катехоламинов. При прекращении приема алкоголя, в период абстиненции, ускоренный синтез нейромедиаторов продолжается, а высвобождение катехоламинов из депо не происходит. Вследствие этого в головном мозге накапливается дофамин, что обуславливает развитие основных клинических признаков ААС – тревожности, возбуждения, нарушения сна, возникновение психотических состояний и др.

Изменение функционального состояния серотонинергической и ГАМК-ергической нейромедиаторных систем при изменяющихся формах алкоголизации не вписываются в определенную, логически понятную схему. Поэтому пока затруднительно говорить об их патогенетической роли в формировании нейрхимической картины алкогольной интоксикации.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Савченков, В.А. Употребление алкоголя в клинике опийной наркомании / В.А. Савченков, Ю.П. Сиволап // Вопросы наркологии. – 2000. - №1. – С. 39-45.
- 2 Иванец, Н.Н. Наркология: национальное руководство / Н.Н. Иванец, И.П. Анохина, М.А. Винникова. – Москва: ГЭОТАР – Медиа, 2008. – 720 с.
- 3 Лелевич, С.В. Центральные и периферические механизмы алкогольной и морфиновой интоксикации / С.В. Лелевич. – Гродно: ГрГМУ, 2015. – 252 с.
- 4 Анохина, И.П. Структура и функция α_2 -адренергических рецепторов и их роль в развитии алкогольной и наркотической зависимости / И.П. Анохина, Н.Л. Векшина, В.А. Томилин // Наркология. 2008. - №1. – С. 22-28.
- 5 Кибитов, А.О. Генетика наркологических заболеваний: молекулярно-генетический профиль дофаминовой нейромедиаторной системы при алкоголизме и опийной наркомании / А.О. Кибитов // Наркология. – 2011. - №9. С. 25-42.
- 6 Генетические факторы в этиологии и патогенезе наркомании / Н.П. Бочков [и др.] // Наркология. – 2003. - №1 – С. 7-14.
- 7 Лелевич, С.В. Состояние нейромедиаторных систем в мозжечке и стволе мозга крыс при однократном введении морфина / С.В. Лелевич, Е.М. Дорошенко // Экспер. и клин. фармакол. – 2009. - №5. – С. 11-14.

- 8 Шабанов, П.Д. Активация этанолом механизмов мозгового подкрепления / П.Д. Шабанов, А.А. Лебедев, Ш.К. Мещеров // Наркология. – 2002. - №6. – С. 8-11.
- 9 Островский, Ю.М. Биологический компонент в генезе алкоголизма / Ю.М. Островский, В.И. Сатановская, М.Н. Садовник. – Минск: Наука и техника, 1986. – 95 с.
- 10 Панченко, Л.Ф. Аллостерические процессы при наркологической патологии / Л.Ф. Панченко, А.Н. Балашов // Наркология. – 2003. - №8. – С. 14-23.
- 11 Чернобровкина, Т.В. Феноменология наркоманического гомеостаза: от энзимодиагностики к энзимотерапии. / Т.В. Чернобровкина // Наркология. – 2004. - №3. – С. 59-68.
- 12 Лелевич, С.В. Особенности нейромедиации в головном мозге крыс при хронической алкогольной интоксикации / С.В. Лелевич, В.В. Лелевич, Е.М. Дорошенко // Вопросы наркологии. – 2010. – №3.- С. 55-66.
- 13 Лелевич, С.В. Нейромедиаторные нарушения в головном мозге при хронической интоксикации алкоголем и морфином / С.В. Лелевич // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2011 - №2. – С. 49-56.
- 14 Лелевич, С.В. Нейромедиаторные нарушения в мозжечке и стволе головного мозга крыс при хронической морфиновой интоксикации / С.В. Лелевич, В.В. Лелевич, А.А. Новокменов // Журн. ГрГМУ. – 2009. - №3. – С. 54-56.
- 15 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.
- 16 Лелевич, С.В. Характеристика нейромедиаторных систем головного мозга при экспериментальной алкогольной и морфиновой абстиненции / С.В. Лелевич // Вопросы наркологии. – 2011. - №1. – С. 61-71.
- 17 Лелевич, С.В. Характеристика нейромедиаторных систем некоторых структур головного мозга крыс при морфиновой абстиненции / С.В. Лелевич, В.В. Лелевич, Е.М. Дорошенко // Вопросы наркологии. – 2009. - №3. – С. 70-77.

ОБЗОР ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЕЙ ОПИЙНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Виницкая А.Г., Лелевич В.В.

*Гродненский государственный медицинский университет,
г. Гродно, Республика Беларусь*

Введение. Лабораторные животные остаются незаменимым инструментом в изучении медико-биологических эффектов алкоголя и опийных наркотиков (морфин, героин) [4, 5, 11, 15]. Поразительное анатомическое и физиологическое сходство между человеком и животными, особенно млекопитающими, побуждает исследователей исследовать широкий спектр

механизмов и оценить новые методы лечения животных, прежде чем применить их открытия к людям [5].

В экспериментальной наркологии наиболее часто используются грызуны (мыши и крысы). Несмотря на то, что лабораторные животные со смешанным фенотипом не идеальны для отражения истинной человеческой ситуации, грызунов часто используют для моделирования отдельных проявлений наркотической интоксикации, включая острую интоксикацию, контролируемое и неконтролируемое потребление, синдром зависимости или состояние абстиненции [4]. В токсикологических и других исследованиях на грызунах предпочтение отдается самцам, поскольку они не имеют гормональных колебаний, способных оказывать влияние на мембранотропное действие препаратов. Целесообразно использовать молодых животных, поскольку у них меньше толерантность к различным токсическим веществам. Животные должны содержаться в стандартных условиях вивария, иметь свободный доступ к пище и воде [4, 10, 15].

Для моделирования опиной интоксикации чаще применяют морфин, как легальное фармакопейное средство. Морфин (химическое название – 7,8-дегидро-4,5-эпокси-3,6-дигидрокси-N-метилморфинан) является опиатом, естественным алкалоидом опиного мака и особо опасным наркотическим средством, разрешенным к контролируемому обороту в Республике Беларусь (Список 2 Республиканского перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих государственному контролю в Республике Беларусь). В клинической практике морфин используется для купирования выраженного болевого синдрома [1]. Однако статус легального наркотического средства и специфические фармакологические свойства сделали морфин доступным инструментом для проведения метаболических исследований у подопытных животных [11, 15].

Экспериментальное изучение опиной (морфиновой) интоксикации известно с 1970-тых годов [12]. В дальнейшем были разработаны различные модели морфиновой интоксикации на крысах, в зависимости от целей, поставленных исследователями. Так, механизмы формирования толерантности и отдельные поведенческие эффекты опиоидов изучают на моделях самовведения наркотиков. Для моделирования ситуаций с формированием зависимости от опиных наркотиков и абстинентного состояния разработаны схемы полупринудительного или принудительного введения морфина беспородным крысам и мышам [18].

Цель исследования – обзор основных животных моделей морфиновой интоксикации, применяемых в лабораториях при изучении патогенеза опиной наркомании.

Материалы и методы. Объектом исследования явились научные публикации, депонированные в библиотечных базах данных Medline, Elibrary.ru и National Library of Medicine. Поиск работ проводился по ключевым словам «морфин», «животные модели», «метаболические эффекты» и некоторым другим. Было проанализировано более 150 статей, посвящённых применению животных для моделирования опиной интоксикации.

Результаты исследования.

Были описаны случаи предоставления животным морфина с кормом, или в водных растворах с сахарозой в качестве единственного источника питья [10]. Существенным ограничением такого *полупринудительного* способа введения является специфический привкус у раствора морфина, что приводит к разделению животных на группы с разным предпочтением к потребляемому препарату [20].

Наиболее часто применяется *принудительное введение морфина* в организм животного посредством подкожных, внутривенных, или внутрибрюшинных инъекций [10, 15]. Считается, что степень поглощения лекарственного препарата, поступающего в организм, изменяется следующим образом «внутривенное > внутрибрюшинное > внутримышечное > подкожное > оральное». Поэтому у мелких лабораторных животных, таких как крысы или мыши, наиболее предпочтительно внутрибрюшинное введение препарата [10]. В настоящее время активно используются схемы внутрибрюшинного введения морфина крысам для моделирования острой, хронической морфиновой интоксикации и морфинового абстинентного синдрома.

Острая морфиновая интоксикация. Однократное введение опиоидов крысам приводит к дозозависимым эффектам на скорость потребления кислорода и глюкозы в прилежащем ядре и вентральной области покрышки – структурах ЦНС, ответственных на эйфорические и подкрепляющие эффекты наркотиков [18]. В нашем исследовании мы использовали однократные внутрибрюшинные инъекции 1% морфина гидрохлорида крысам в дозах 10, 20 и 40 мг на кг массы животного. Введение таких доз морфина приводило к разнонаправленным сдвигам в активности ферментов метаболизма ГАМК, от активации при введении низкой дозы, до угнетения активности при применении высокой дозы препарата [6].

Хроническая и прерывистая морфиновая интоксикация.

Для изучения метаболических последствий морфиновой интоксикации используются различные экспериментальные модели на животных, в зависимости от целей, поставленных исследователем [4]. Так, в предыдущих работах мы исследовали влияние однократного и хронического введения морфина на состояние обмена гамма-аминомасляной кислоты и некоторые показатели энергетического обмена в отделах головного мозга крыс [6, 7, 8, 9]. Однако, как следует из клинических наблюдений, прием наркотика может иметь прерывистый характер, который можно рассматривать, как чередование периодов опийной интоксикации и отмены потребления наркотика [2].

В литературе описаны два экспериментальных режима морфиновой интоксикации, которые относятся к хроническому (*continuous*) и прерывистому (*intermittent*) введению наркотика [2, 13]. При первом, хроническом режиме крысам вводят морфин внутрибрюшинно в возрастающих дозах от 5 до 50-100 мг/кг массы тела на протяжении нескольких суток [1, 2]. Другая разновидность ХМИ была проведена на мышах, которым имплантировали под кожу ампулы с морфином, непрерывно выделяющим наркотик в организм животного. Продолжительность непрерывного введения наркотика составляла

от 1 до 7 суток, по истечении которых регистрировались признаки синдрома отмены [14].

Прерывистая морфиновая интоксикация представляет собой разновидность субхронической интоксикации, при котором периоды введения наркотика прерывались периодами времени, в течение которых морфин полностью, или частично элиминировался из организма. В работе Le Marek T. et al (2011) «прерывистый» режим введения морфина был основан на ежедневном, однократном введении наркотика в одно и то же время в дозе 20 мг/кг на протяжении 7 суток [13]. Мы использовали вариант прерывистой морфиновой интоксикации, основанный на циклическом, внутрибрюшном введении крысам 1% раствора морфина гидрохлорида в увеличивающихся дозах от 30 до 40 мг/кг. При этом морфин вводили по схеме «4 суток морфин + 3 суток отмена» с повторением нескольких таких циклов. Доза морфина 30 мг/кг относится к средней по токсичности для грызунов [2] и была выбрана как стартовая для последующего формирования толерантности у животных и повышения их выживаемости при применении более высокой суточной дозы – 40мг/кг [14]. И хронический, и прерывистый режимы морфиновой интоксикации отличаются разной степенью развития толерантности к поведенческим эффектам морфиновой интоксикации, а также различиями в изменениях показателей дофаминергической и опиоидной систем ЦНС [13, 14].

Модели морфинового абстинентного синдрома. Целью таких экспериментов является изучение поведенческих, биохимических отклонений при отмене потребления. Другим применением такого рода экспериментов является предклиническое тестирование соединений, используемых, или планируемых к использованию в наркологической практике [6].

В эксперименте, проведенном R. Hassan, et al, (2020), крысы являлись объектом моделирования МАС, на фоне которого вводили митрагинин (алкалоид растения *Mitragyna speciosa* Korth.), бупренорфен и метадон – препараты, используемые для смягчения абстинентных проявлений [16]. Модель МАС была основана на внутрибрюшинном введении крысам морфина в увеличивающихся суточных дозах от 20 до 100 мг/кг/сутки на протяжении 6 дней. На 7-е сутки эксперимента введение наркотика прекращали, что приводило к постепенному развитию спонтанного абстинентного синдрома. Согласно наблюдениям авторов, наиболее выраженные симптомы МАС появились через 24 часа после последней инъекции морфина и окончательно исчезали примерно на 16-е сутки эксперимента без проведения корректирующей терапии [5].

По данным литературных источников независимо от способа вызывания синдрома зависимости от морфина, лабораторные крысы демонстрировали следующие поведенческие симптомы МАС: жевательные движений челюстями, потряхивания головой, скрежетание зубами, «отряхивание мокрой собаки» (wet dog shakes), издавание скрипучих звуков (squeaking on touch) или агрессивную реакцию при касании животного (hostility on handling). Помимо этих признаков гипервозбудимости ЦНС, могли наблюдаться вегетативные нарушения – диарея, птоз, ринорея, пилоэрекция, диспноэ, писк при дотрагивании [15].

Каждый из этих симптомов имел собственную амплитуду и длительность, которые регистрировались количественно и оценивались по шкале. Было показано, что выраженность признаков МАС у животных зависела от типа экспериментального абстинентного синдрома (спонтанный или обусловленный) и времени их регистрации после последнего приема наркотика [17]. Например, поведение «отряхивания мокрой собаки», было наиболее выражено в середине абстинентного периода. Применение поддерживающей терапии в виде введения митрагинина и антагонистов опиоидных рецепторов приводило к ослаблению этих симптомов [16].

В моделях *обусловленной абстиненции* поведенческие признаки МАС возникали у крыс после внутрибрюшинного введения антагонистов опиоидов, в основном, налоксона или налтрексона. Такой способ моделирования абстинентного синдрома не требовал длительного лишения животных наркотика, поскольку вызывал интенсивные поведенческие и физиологические реакции непосредственно после введения антагониста, за счет блокирования мю-опиоидных рецепторов [16, 17].

По данным литературных источников, постоянное присутствие опиоидов в мозге вызывает адаптивные изменения в нейрональной активности во многих структурах ЦНС, включая «систему награды» [3]. По современным данным «система награды» объединяет структуры гипоталамуса, расширенной миндалины, 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 [3].

Так, длительный прием опиоидов сопровождается значительным снижением активности мезолимбических ДА-ергических нейронов, что играет существенную роль в проявлении агедонии и дисфории на ранних стадиях абстинентного синдрома. Избегание этих авersive реакций пациентами с опиоидной зависимостью наркоманией способствует рецидивам потребления наркотиков [1, 6]. Зависимость между активностью ДА-ергической системы в структурах «системы награды» и тяжестью абстинентного синдрома объясняет появление симптомов МАС у морфин-зависимых животных при введении им антагонистов ДА-ергических рецепторов [16].

Заключение. Таким образом, исследователи достигли значительного прогресса в разработке животных моделей опиоидной интоксикации. Большинство экспериментальных моделей основаны на использовании грызунов и введении им морфина, как легального и доступного наркотического средства и естественного алкалоида снотворного мака. Накоплено множество данных о метаболических нарушениях, возникающих в тканях на разных стадиях развития опиоидной зависимости, которые можно экстраполировать на человеческую популяцию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арбух, Д. М. Опиоидные анальгетики в терапии болевых синдромов (часть 1) / Д. М. Арбух, Г. Р. Абузарова, Г. С. Алексеева // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2017. – Т. 14, № 3. – С. 58–67. DOI: 10.21292/2078-5658-2017-14-3-58-67
2. Влияние прерывистой морфиновой интоксикации на состояние пула нейроактивных аминокислот и биогенных аминов в отделах головного мозга // В. В. Лелевич [и др.] // Нейрохимия. – 2015. – Т. 32, № 3. – С. 252–258.
3. 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. – С. 18–55.
4. Лелевич, В. В. Метаболические механизмы алкогольной абстиненции (экспериментальные аспекты) / В. В. Лелевич, А. Г. Виницкая, С. В. Лелевич // Наркология. – 2017. – № 11. – С. 92–106.
5. Лелевич, В. В. Биохимические аспекты морфиновой абстиненции: экспериментальное исследование / В. В. Лелевич, А. Г. Виницкая, С. В. Лелевич // Наркология. – 2020. – Т. 19, № 8. – С. 64–76. doi: 10.25557/1682-8313.2020.08.64-76.
6. Лелевич, С. В. Методология экспериментального изучения токсического действия алкоголя и морфина / С. В. Лелевич, В. В. Лелевич // Вопросы наркологии. – 2018. – Т. 163, № 3. – С. 188–206.
7. 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.
8. Особенности обмена ГАМК и нейроактивные аминокислоты в головном мозге белых крыс в динамике морфинового абстинентного синдрома / А. Г. Виницкая, [и др.] // Биомедицинская химия. – 2007. – Вып. 53, № 4. – С. 427–434.
9. Состояние обмена ГАМК и содержание ее предшественников в головном мозге крыс при хронической морфиновой интоксикации и коррекции аминокислотами / В. В. Лелевич, [и др.] // Нейрохимия. – 2000. – Т. 17, № 3. – С. 202–206.
10. Administration of substances to laboratory animals: equipment considerations, vehicle selection, and solute preparation / P. V. Turner [et al] // J Am Assoc Lab Anim Sci. – 2011. – Vol. 50, N 5. – P. 614-627. PMID: 22330706; PMCID: PMC3189663.
11. Barré-Sinoussi, F. Animal models are essential to biological research: issues and perspectives / F. Barré-Sinoussi, X. Montagutelli // Future Sci OA. – 2015. – Vol. 1, N 4. – FSO63. doi: 10.4155/fso.15.63. PMID: 28031915; PMCID: PMC5137861.
12. Bläsing, J. Development of physical dependence on morphine in respect to time and dosage and quantification of the precipitated withdrawal syndrome in rats / J. Bläsing, A. Herz, K. Reinhold, S. Zieglgansberger // Psychopharmacologia. – 1973. – N 33. – P. 19–38. doi: 10.1007/bf00428791.

13. Chronic and intermittent morphine treatment differently regulates opioid and dopamine systems: a role in locomotor sensitization / T. Le Marec [et al] // Psychopharmacology (Berl). – 2011. – Vol. 216, N 2. – P. 297–303. doi:10.1007/s00213-011-2223-6.
14. Continuous morphine produces more tolerance than intermittent or acute treatment / S. V. Dighe [et al] // Pharmacology Biochemistry and Behavior. – 2009. – Vol. 92, N 3. – P. 537—542. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2009.02.004>.
15. Kuhn, B. N. Understanding Addiction Using Animal Models / B. N. Kuhn, P. W. Kalivas, A. C. Bobadilla // Front Behav Neurosci. – 2019. – Vol. 13. – P. 262. doi: 10.3389/fnbeh.2019.00262. PMID: 31849622; PMCID: PMC6895146.
16. Mitragynine attenuates morphine withdrawal effects in rats — A comparison with methadone and buprenorphine / R. Hassan [et al] // Front. Psychiatry. – 2020. – Vol. 11. – P. 411. doi: 10.3389/fpsyt.2020.00411.
17. Precipitated and conditioned withdrawal in morphine-treated rats / G. L. Becker [et al] // Psychopharmacology (Berl). – 2010. – Vol. 209, N 1. – P. 85–94. doi:10.1007/s00213-009-1773-3
18. Prolonged tolerance, dependence and abstinence following subcutaneous morphine pellet implantation in the rat / L. H. Gold, [et al] // Eur J Pharmacol. – 1994. – Vol. 253. – P. 45—51. doi: 10.1016/0014-2999(94)90755-2.
19. Solis, E. Jr, Changes in brain oxygen and glucose induced by oxycodone: Relationships with brain temperature and peripheral vascular tone / E. Jr Solis, A. Afzal, E. A. Kiyatkin // Neuropharmacology. – 2018. – Vol. 133. – P. 481–490. doi: 10.1016/j.neuropharm.2018.02.017.
20. Subcutaneous compared with intraperitoneal ketamine-xylazine for anesthesia of mice / M. Levin-Arama, [et al] // J Am Assoc Lab Anim Sci. - 2016. – Vol. 55. – P. 794—800.

СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ, БИОГЕННЫЕ АМИНЫ И РОДСТВЕННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ КРОВООБРАЩЕНИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА

Дорошенко Е.М.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Свободные аминокислоты, в том числе предшественники биогенных моноаминов, и их производные вовлечены в регуляцию функции сердца, а нарушения сократительной функции и аритмии, ишемия миокарда может сопровождаться изменениями пула этих соединений [1, 2]. Метаболический дисбаланс, который сопровождает ишемические расстройства и недостаточность кровообращения, может иметь специфические черты при хронической сердечной недостаточности, а также у пациентов с ИБС, причем

некоторые проявления дисбаланса могут быть характерными, например, для желудочковых аритмий [1, 3, 4]. Несмотря на относительную автономность аминокислотного пула в ЦНС, аминокислотный дисбаланс на периферии способен изменять доступность предшественников в синтезе медиаторов или иным образом влиять на центральные механизмы регуляции функций сердечно-сосудистой системы.

Пул свободных аминокислот с метаболической точки зрения является единым целым, а между его компонентами существуют многочисленные связи, обусловленные общими путями превращений или транспорта. Однако среди его компонентов особую роль играют серосодержащие соединения, обмен которых является частью синтеза глутатиона, гормонов, медиаторов, других аминокислот, а конечный продукт их превращений – таурин (Tau) является нейромодулятором/медиатором в ЦНС и одним из количественно преобладающих компонентов пула аминокислот в сердце. В экспериментальных и клинических исследованиях было показано, что как в генезе патологии ЦНС, так и при заболеваниях сердца и сосудов [5, 6] может иметь место недостаточность серотонинергических функций, связанная с недостаточностью предшественника, а также таурина [4, 7]. Так как формирование пула последнего зависит от активности реакций, использующих пиридоксальфосфат, широкий круг патологических состояний может отражаться на формировании пула Тау. Поэтому характеристика пула соединений, участвующих в формировании пула Тау должна включать оценку уровней и его непосредственных предшественников (CA, CSA и HpTau). С другой стороны, для уровней метаболитов пирролазного пути превращений триптофана и синтез кинуреновой кислоты в мозге показана связь с развитием когнитивных нарушений у пациентов, перенесших инфаркт миокарда [8].

Цель работы – охарактеризовать пул свободных аминокислот и родственных соединений в головном мозге крыс при экспериментальной недостаточности кровообращения и экспериментальной острой ишемии миокарда.

Материалы и методы исследования. Недостаточность кровообращения у крыс моделировали с помощью искусственного сужения просвета брюшной аорты выше места отхождения почечных артерий путем наложения металлической спирали, ограничивающей просвет аорты до 1 или 0,7 мм [9,10 в собственной модификации]. Операции выполняли под кетаминовой анестезией (100 мг/кг, внутримышечно). В эксперименте использовано 40 белых крыс-самцов гетерогенной популяции, массой тела в начале эксперимента 130-200 г, находившихся на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. Ложнооперированным выполнили все этапы операции (доступ к забрюшинному пространству), кроме наложения спирали на аорту. Данная группа использована в качестве ложнооперированного контроля. После операции животные содержались на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде в течение 12 недель. Данная модель воспроизводит недостаточность кровообращения по гемодинамическим показателям [9], соответствующую таковой при артериальной гипертензии или аортальном

стенозе (выраженная гипертрофия левого желудочка, вызванная изометрической гиперфункцией сердца). Срок наблюдения соответствовал фазе компенсации, которая наблюдается у животных после 1-2 мес после операции, при этом степень сужения просвета брюшной аорты достигала 2,5–3 раза.

ОИМ у крыс вызывали с использованием модификации модели изадрин-питуитринового инфаркта миокарда [11], в которой использовался Арг-вазопрессин, который вводили однократно внутривентрально в дозе 1,6 мкг/кг. Через 15 мин и затем через 6 ч подкожно вводили изопrenalина ацетат (35 мг/кг).

Животных забивали декапитацией. Образцы тканей головного мозга (отделы головного мозга – часть лобной доли больших полушарий, ствол мозга, стриатум, гипоталамус) забирали в течение 3 мин после забоя животных [12] и немедленно замораживали в жидком азоте.

Образцы тканей гомогенизировали в микропробирках Эппендорфа объемом 1,6 мл в соотношении 1:10 (по объему) плотно пригнанным тефлоновым пестиком в среде, содержащей 0,2 М раствор хлорной кислоты, 40 мг/л ЭДТА, 40 мг/л метабисульфита натрия, а также 0,2 мМ норвалина и 0,1 мМ ванилиновой кислоты (внутренние стандарты). Далее осаждали белки центрифугированием, супернатанты отбирали аспирацией и использовали для определения. Растворы стандартов, использованные для калибровки, обрабатывали аналогичным способом.

Определение свободных аминокислот и их дериватов проводили методом обращенно-фазной хроматографии с предколоночной дериватизацией о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой и детектированием по флуоресценции (338/445 нм) [13].

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) [14, в собственной модификации]. Биогенные моноамины и их метаболиты определяли ион-парной ВЭЖХ с детектированием по природной флуоресценции [15].

В определениях использовали прибор ВЭЖХ Agilent 1200, реактивы квалификации не ниже хч. При пробоподготовке использовалась центрифуга Biofuge Primo R+ с охлаждаемым ротором (Thermo Scientific, США). Прием данных и обработка хроматограмм проводились с помощью пакета Agilent OpenLab CDS C.01.05 с ручной коррекцией базовой линии.

Для исследуемых показателей определяли базовые параметры описательной статистики. Отклонение распределения значений от нормального оценивали критериями Колмогорова–Смирнова. Значения в группах сравнивали с помощью t-критерия Стьюдента для независимых выборок с учетом сравнения дисперсий. Для проверки достоверности парных сравнений использовали медианный тест Манна-Уитни. Для оценки достоверности изменений при сравнении трех и более групп применяли тест Краскелла-

Уоллиса. Для выявления значимости вклада отдельных показателей в комплексную характеристику пула свободных аминокислот и родственных соединений в группах, а также выявления наиболее информативных показателей использовали пошаговый дискриминантный анализ, для оценки достоверности дискриминации групп использовали величину лямбда Уилкса. При этом применялась пошаговая процедура, F-критерий Фишера для включения переменных был 2,0, для исключения – 1,9. Для анализа различий контрольных и опытных групп в модели ОИМ использовали бутстрепированный t-критерий Стьюдента. Используемые методы анализа данных реализованы с помощью пакета программ Statistica 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q) или бесплатный пакет статистических программ R.

Результаты и их обсуждение

Через 13 недель после операции у животных, которым сужали просвет брюшной аорты до величины 1 мм, относительная масса сердца (Мс/мт) достоверно не повышалась. В этой группе у части животных наблюдалось развитие аневризм брюшной аорты, т.е. механизм развития сердечной недостаточности был смешанным, при котором развитие выраженной гипертрофии миокарда менее вероятно (изометрическая и изотоническая гиперфункция). Если накладываемая спираль имела диаметр 0,7 мм, то по истечении 13 недель после операции развивалась выраженная гипертрофия сердца (рост относительной массы сердца на 35%, $p < 0,0001$) и ни у одного животного не развились аневризмы аорты, что говорит о воспроизведении изометрической перегрузки сердца.

После наложения спирали внутренним диаметром 0,7 мм, в больших полушариях снижались уровни аспартата, глутамата (табл.), а также гипотаурина и таурина. После наложения спирали диаметром 1 мм наблюдалось снижение также уровней глицина и ГАМК. Таким образом, баланс «возбуждающих» и «тормозных» аминокислот-трансммиттеров сохранялся. Снижение синтеза таурина может быть обусловлено торможением реакций превращений серосодержащих аминокислот, начиная со второй реакции транссульфурирования (это подтверждается существенным ростом уровня цистатинина по отношению к ложнооперированным животным) и до образования гипотаурина.

Пул исследованных показателей показал высокую дискриминацию групп, если из анализа исключали уровни карнозина и ансерина (лямбда Уилкса 0,00185, $p < 0,0001$). Корень 1 дискриминантной функции, по которому различались опыт и контроль, коррелировал с уровнями цистатинина и таурина и описывал 81,8% полной дисперсии, корень 2, по которому различались опытные группы между собой, коррелировал с уровнями тирозина, аланина и гипотаурина, а оба корня описывали 94,3% полной дисперсии. Наиболее информативными показателями (по величинам F-констант), влияющими на дискриминацию, были уровни цистатинина, тирозина и аланина (рисунок 1)

Следовательно, наиболее выраженные изменения имели место в пуле серосодержащих аминокислот и заключаются в снижении скорости

превращений серосодержащих аминокислот и синтеза таурина, наиболее вероятно, на уровне реакции, катализируемой цистатионин-гамма-лиазой.

В стволе мозга только после наложения спирали с просветом 0,7 мм снижались уровни аспартата, глутамата, а также таурина и гипотаурина, уровни цистатионина в обеих опытных группах были повышены по отношению к интактному контролю, хотя и в меньшей степени, чем в больших полушариях (таблица 1) Кроме этого, у животных обеих опытных групп снижался уровень ГАМК. Следует отметить, что уровень метионина в группе с сужением просвета аорты до 0,7 мм был ниже, чем у интактного, но не ложнопериоперированного контроля, хотя уровень таурина был снижен и по отношению к ложнопериоперированному контролю. Следовательно, сдвиги в обмене серосодержащих аминокислот не объясняются только доступностью предшественника.

Следует отметить, что в стволе, как и в больших полушариях, уровень триптофана снижался одновременно с уровнями таурина и гипотаурина, однако в стволе между уровнем триптофана, с одной стороны, и уровнями таурина и гипотаурина, с другой, имелись положительные корреляции ($r=0,71$ и $0,81$, соответственно, $p<0,05$).

Таблица 1 - Содержание свободных аминокислот и родственных соединений в структурах мозга крыс через 12 нед после искусственного сужения просвета брюшной аорты

Показатель	Интактный контроль, n=8	ЛО контроль, n=8	сужение аорты до 1 мм, n=7	сужение аорты до 0,7 мм, n=8
большие полушария				
Asp	2148,79 ± 113,99	1950,06 ± 50,339	1886,71 ± 140,17	1718 ± 62,3*,**
Glu	9830,66 ± 433,76	8690,73 ± 332,47	8951,79 ± 695,05	8259,8 ± 332,0*
Gly	1220,11 ± 60,31	1040,38 ± 78,53	870,83 ± 65,376*	1012,81 ± 94,314
HpTau	139,127 ± 13,893	128,946 ± 22,145	108,676 ± 8,0756	76,104 ± 14,151*
Tau	6134,81 ± 356,27	5225,27 ± 178,91	4299 ± 222*,**	5051,3 ± 316,58*
GABA	2474,81 ± 102,79	2292,81 ± 106,16	1940 ± 101*,**	2243,71 ± 218,84
Ctn	21,810 ± 1,8596	18,908 ± 1,8923	47,45 ± 4,05*,**	60,497 ± 9,257**
Trp	48,48 ± 1,30	46,96 ± 3,01	36,37 ± 1,74*,**	43,77 ± 1,53*
СТВОЛ				
Asp	1417,47 ± 79,61	1396,01 ± 50,578	1246,73 ± 83,104	1077 ± 87,6*,**
Glu	4430,88 ± 205,08	4374,98 ± 216,46	3987,00 ± 255,88	3468 ± 267*,**
HpTau	28,091 ± 3,6845	39,733 ± 8,0400	35,434 ± 15,815	16,91 ± 3,00*,**
Tau	1546,13 ± 100,41	1736,80 ± 138,89	1380,57 ± 172,79	1272,1 ± 93,32**
GABA	4248,49 ± 236,85	4085,61 ± 320,56	3201 ± 210*,**	3226,0 ± 353,58*
Met	24,414 ± 1,0053	23,984 ± 2,1718	21,638 ± 1,3810	18,463 ± 1,6551*
Ctn	32,552 ± 5,7888	49,236 ± 7,2833	53,994 ± 7,8912*	62,001 ± 10,861*
Trp	43,07 ± 1,40	45,32 ± 1,87	34,76 ± 1,38*,**	36,72 ± 2,94**
гипоталамус				
Asp	1617,49 ± 51,40	1450,92 ± 76,694	1040 ± 34,4*,**	1532,21 ± 37,19
Glu	6861,24 ± 250,30	5998,5 ± 253,43*	3898 ± 341,9*,**	6581,84 ± 249,49
Gly	2610,09 ± 80,690	2028,86 ± 74,72*	2813,3 ± 341,7**	2234 ± 53,7*,**
HpTau	129,00 ± 12,36	148,147 ± 18,508	36,3 ± 12,01*,**	122,26 ± 14,681
Tau	4308,22 ± 251,67	3227,8 ± 167,5*	2290,6 ± 458,0*	3833,5 ± 162,4**

GABA	9174,6 ± 413,45	7287,2 ± 253,3*	3224 ± 391*,**	8280 ± 282,6**
стриатум				
Asp	1076,42 ± 73,93	1089,78 ± 82,57	998,424 ± 42,229	875,1 ± 41,3*,**
Glu	7486,3 ± 387,82	7215,8 ± 342,18	6220 ± 231*,**	6067 ± 286,7*,**
HpTau	127,25 ± 9,337	80,14 ± 19,043*	58,440 ± 9,1844*	65,497 ± 11,816*
Tau	7789,4 ± 482,27	7329,9 ± 311,02	5182 ± 249*,**	5578 ± 299,0*,**
GABA	2757,9 ± 197,49	2874,6 ± 109,07	2204 ± 157,2**	2098 ± 156,6*,**
Trp	51,02 ± 1,54	52,41 ± 2,78	41,02 ± 2,21*,**	43,01 ± 2,36*,**

Примечание – нмоль/г ткани; среднее ± средняя ошибка среднего;

* p<0,05 по отношению к интактному контролю;

** p<0,05 по отношению к ложнооперированному контролю

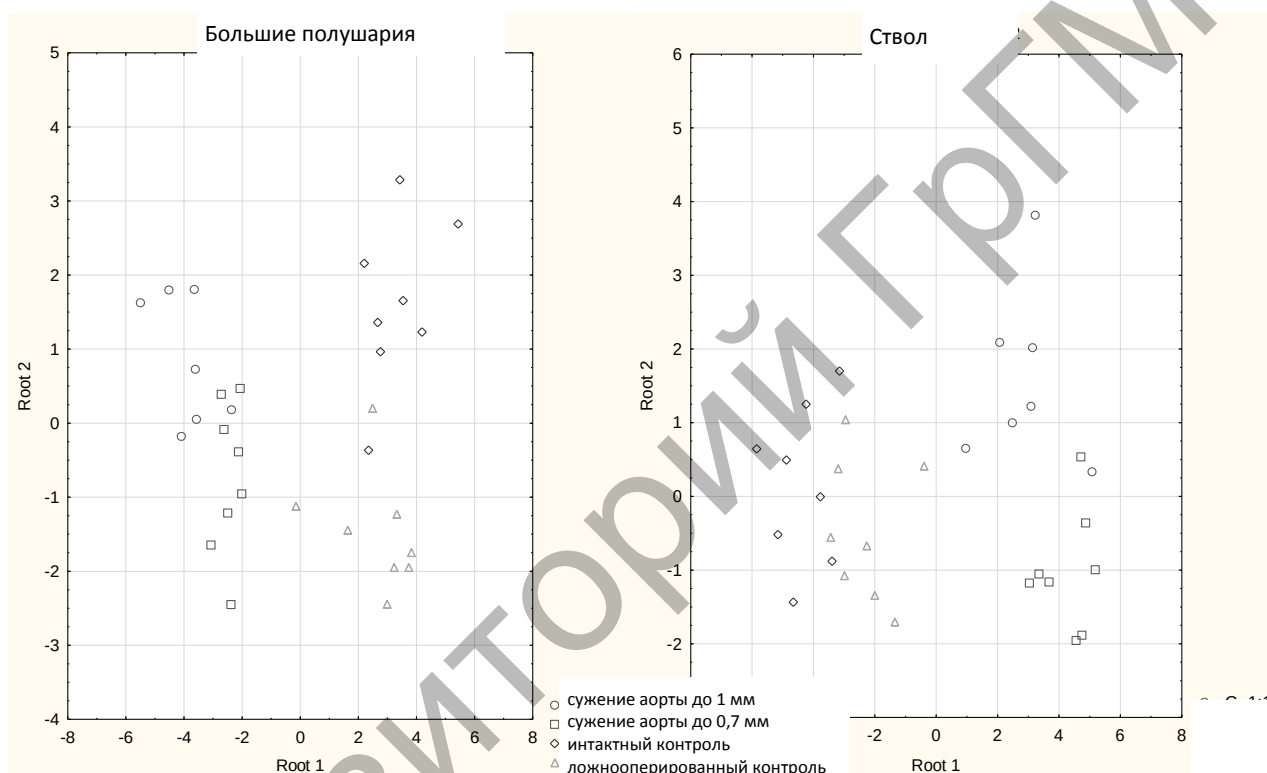


Рисунок 1 – Расположение отдельных реализаций экспериментальных групп на плоскости корней дискриминантных функций (Root 1 и Root 2)

При дискриминантном анализе видно, что обе опытные группы отчетливо дискриминируются от контрольных групп (рисунок 1). Наиболее высокие значения F-констант были у уровней триптофана, гистидина и 3-метилгистидина, орнитина и фосфосерина. Различия опытных и ложнооперированной групп заметны по корню 2, наибольшее влияние на значение которого оказывали уровни триптофана и 3-метилгистидина. Оба корня суммарно описывают 87,7% полной дисперсии. Очевидно, недостаточность триптофана в этом отделе мозга является наиболее выраженным изменением в пуле свободных аминокислот.

В гипоталамусе крыс недостаточность таурина зарегистрирована только после сужения аорты до 1 мм (таблица 1). В этой же группе снижались также уровни аспартата, глутамата, глутамина и ГАМК. При сужении просвета аорты

до 0,7 мм наблюдалось, напротив, повышение уровня тормозных транмиттеров глицина, ГАМК и таурина по отношению к ложнооперированному контролю.

Уровни возбуждающих аминокислот-транмиттеров в стриатуме в обеих опытных группах снижались (таблица 1.) Одновременно, снижались уровни таурина, ГАМК, и в меньшей степени – гипотаурина, метионина. Имеет место общее обеднение аминокислотного пула, включающее уровни всех медиаторных аминокислот, а также серосодержащих соединений.

Таким образом, недостаточность синтеза таурина при НК во всех исследованных структурах мозга сопровождалась также снижением уровня триптофана, а в стволе мозга эти показатели коррелировали друг с другом, что может указывать на наличие взаимосвязи недостаточности триптофана и нарушений обмена серосодержащих аминокислот.

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 [16]. 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 [17], что свидетельствует о происхождении сдвигов за счет пула аминокислот сердечной мышцы. Очевидно, в острой фазе ишемии миокарда снижается соотношение тормозных аминокислот-транмиттеров к возбуждающим за счет тормозных, что сопровождается снижением уровня альфа-аминоадипиновой кислоты, которая является ингибитором синтеза KYNA в мозге.

В больших полушариях мозга крыс ОИМ в сроке 1 сут вызывала повышение уровня 3-метилгистидина (в 2 раза). Более высокими, чем в контроле, были также концентрации валина и лейцина. Уровни альфа-аминоадипиновой кислоты и серотонина значимо снижались.

Как и в стволе мозга, имело место повышение уровня гипотаурина (в 2,5 раза), но уровень таурина оставался неизменным. Направленность сдвигов в уровнях большинства исследованных соединений совпадало таковыми в сердце [17]. Очевидно, в острой фазе ишемии миокарда имеется снижение серотонинергических функций. Последнее может усугубляться снижением уровня альфа-аминоадипиновой кислоты, учитывая, что последняя является ингибитором синтеза KYNA в мозге.

В стриатуме при ОИМ также повышался уровень гипотаурина (при неизменном уровне таурина), 3-метилгистидина и снижался - альфа-аминоадипиновой кислоты (все – в 2-2,3 раза). Имело место повышение уровней валина и лейцина. Содержание 3-метокситирамина снижалось в 1,6 раза, что может означать снижение синаптического выброса дофамина, а также снижался уровень кинуренина. Через 6 сут после ОИМ повышалось отношение уровня триптофана к уровню кинуренина, а также уровень серотонина, что может быть проявлением адаптации.

В гипоталамусе ОИМ вызывала повышение уровней глутамата, глутамина, почти 4-кратный рост уровня гипотаурина, но не таурина и его других предшественников, ГАМК, метионина, валина, лейцина, альфа-аминобутирата, а также норадреналина и адреналина (последний, учитывая его уровень 0,60 нмоль/г, с очень малой вероятностью имеет внесозговое происхождение), а также существенное снижение уровней серотонина, 5-оксииндолуксусной кислоты, цистатинина и глицина. Повышение уровней метилгистидинов может быть обусловлено их высвобождением из мышечных белков, а также относительно высокой проницаемостью гематоэнцефалического барьера по сравнению с другими отделами мозга.

Заключение

1. Недостаточность кровообращения, вызываемая сужением просвета брюшной аорты, сопровождается однонаправленными сдвигами содержания аминокислот-трансммиттеров и других компонентов пула свободных аминокислот в больших полушариях, стволе и стриатуме крыс, включающих тенденцию к обеднению пула без явного превалирования «возбуждающих» и «тормозных» медиаторов.

2. Наиболее выраженные сдвиги в аминокислотном пуле больших полушарий, ствола и стриатума при экспериментальной недостаточности кровообращения отмечаются в пуле серосодержащих аминокислот. Они выражаются в снижении уровня таурина, вероятно, обусловленном замедлением цистатининлиазной реакции. Тауриновый дефицит при экспериментальной недостаточности кровообращения наблюдался в структурах головного мозга и экспериментальных группах, где отмечалось снижение уровня триптофана.

3. Сдвиги в обмене серосодержащих аминокислот в исследованных отделах головного мозга при экспериментальной недостаточности кровообращения не опосредованы изменениями уровня метионина.

4. В острой фазе ишемии миокарда в стволе мозга снижается соотношение тормозных аминокислот-трансммиттеров к возбуждающим за счет тормозных. В больших полушариях при ОИМ наблюдается снижение серотонинергической активности. Последнее может усугубляться снижением уровня альфа-аминоадипиновой кислоты (имело место в обеих исследованных структурах мозга), учитывая, что последняя является ингибитором синтеза в мозге кинуреновой кислоты.

5. Общими особенностями пула свободных аминокислот в мозге при ОИМ являются торможение окислительного этапа в синтезе таурина – превращения гипотаурина в таурин, что ведет к накоплению предшественника, рост уровней аминокислот с мышечным типом метаболизма – АРУЦ – и метилгистидинов, снижение уровня альфа-аминоадипиновой кислоты и показателей гидроксилазного пути обмена триптофана.

ЛИТЕРАТУРА

1. Снежицкий, В. А. Аритмии у пациентов с хронической сердечной недостаточностью: клинические и биохимические особенности: монография /

В. А. Снежицкий, Н. С. Белюк, Е. В. Зуховицкая ; под ред. В. А. Снежицкого ; УО «Гродн. гос. мед. ун-т». – Гродно : ГрГМУ, 2014. – 215 с.

2. L-tryptophan-kynurenine pathway metabolites regulate type I IFNs of acute viral myocarditis in mice / M. Hoshi [et al.] // J. Immun. – 2012. – V. 188, N. 8. – P. 3980-3987.

3. Metabolite profiling identifies pathways associated with metabolic risk in humans / S. Cheng [et al.] // Circulation. – 2012. – V. 125, N. 18. – P. 2222-2231.

4. 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.

5. Tryptophan depletion affects heart rate variability and impulsivity in remitted depressed patients with a history of suicidal ideation / L. Booij [et al.] // Biol. Psychiatry. – 2006. – V. 60, N. 5. – P. 507-514.

6. 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.

7. Смирнов, В. Ю. Фонд свободных аминокислот и их производных при избыточном поступлении таурина и его функциональной недостаточности : Автореф. дисс. ... канд. биол. наук : 03.00.04 / В. Ю. Смирнов ; Ин-т питания РАМН. – М., 1998. – 21 с.

8. 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.

9. Непомнящих, Л. М. Морфометрия и стереология гипертрофии сердца / Л. М. Непомнящих, Е. Л. Лушникова, Т. И. Непомнящих. – Новосибирск : Наука, 1986. – 303 с.

10. Коган, А. Х. Новая простая методика сужения почечных и других артерий у мелких лабораторных животных в хроническом эксперименте / А. Х. Коган // Бюлл. экспериментальной биологии и медицины. – 1961. – № 1. – С. 112-115.

11. Моделирование поражений миокарда различной степени выраженности / К.М. Резников [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1985. – Т. XCIC, №. 5. – С.532-534.

12. Glowinsky, J. Regional studies of catecholamines in the rat brain. The disposition of [³H]-norepinephrine, [³H]-dopamine and [³H]-DOPA in various regions of the brain / J. Glowinsky, L.L. Iversen // J. Neurochem. – 1966. – Vol. 13, № 8. – P.655-669.

13. Дорошенко, Е.М. Исследование спектра свободных аминокислот сыворотки крови и печени методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Е.М. Дорошенко, О.М. Балаева-Тихомирова // Веснік ВДУ. – 2023. – № 4 (121). – С. 30-36.

14. Age-related increase of kynurenic acid in human cerebrospinal fluid - IgG and beta2-microglobulin changes / B. Kepplinger [et al] // Neurosignals – 2005. – V. 14, V. 3. – P. 126-135.

15. Дорошенко, Е.М. Биогенные моноамины, их предшественники и метаболиты в мозге крыс при экспериментальной недостаточности кровообращения / Е.М. Дорошенко, В.В. Лелевич // Нейрохимия. – 2020. – Т. 37, № 3. – С. 240–248. DOI: 10.31857/S1027813320030036

16. 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.

17. 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.

АЛКОГОЛЬ И КИШЕЧНИК: НАЧАЛЬНЫЕ СТАДИИ ПАТОГЕНЕЗА АЛКОГОЛИЗМА

Шейбак В.М., Николаева И.В.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

В современном мире хроническое употребление алкоголя становится растущей проблемой. Этанол влияет на всасывание множества макро- и микроэлементов, включая глюкозу, аминокислоты, витамины С, В₁, В₂, В₉, железо, цинк и селен. Кроме того, исследуются молекулярные механизмы действия этанола на усвоение питательных веществ, в частности, на транспортеры нутриентов. Продолжаются исследования «доза-эффект», изучающие влияние легкого, умеренного и сильного употребления алкоголя на микробиом и абсорбцию питательных веществ. Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) при контакте с потребляемыми с пищей макро- и микроэлементами, ксенобиотиками подвергается особо высокому риску повреждения. И все больше исследований доказывают, что нарушение гомеостаза желудочно-кишечного тракта может иметь последствия далеко за его пределами. В этой связи рассматривается функционирование метаболически взаимосвязанных осей кишечник-печень и кишечник – мозг. Спирты, в силу своих физико-химических свойств и особенностей метаболизма, являются особым фактором, влияющим на эти ключевые для организма органы – печень и мозг. Алкоголь (в рассматриваемом случае, этанол), особенно если его употреблять длительное

время и в больших количествах, вызывает патологические процессы, инициированные в кишечнике, который способствует последующей патологии всех органов [3]. Вызванное алкоголем повреждение кишечника может быть причиной многих дисфункций, включая хронические заболевания печени, неврологические заболевания, канцерогенез клеток желудочно-кишечного тракта и синдром воспаленного кишечника. Механизмы повреждающего действия включают влияние алкоголя на микробиоту кишечника, на целостность кишечного барьера, а также на иммунную функцию [4].

Метаболизм алкоголя в кишечнике. После употребления алкоголь абсорбируется главным образом в верхних отделах желудочно-кишечного тракта и затем, в конечном итоге, попадает в печень через воротную вену, которая обеспечивает не менее 70% от общего содержания крови в этом органе. Фермент алкогольдегидрогеназа (АДГ) в клетках кишечника и печени превращает алкоголь в ацетальдегид. Ацетальдегиддегидрогеназа (АЛДГ) затем превращает ацетальдегид в ацетат. Другой путь метаболизма алкоголя, микросомальная система окисления этанола (MEOS), метаболизирует небольшую часть этанола, но ее роль значительно возрастает, когда организму необходимо перерабатывать большие количества алкоголя. В результате, в MEOS образуются свободные радикалы кислорода, которые могут вызвать повреждение клеток. Хотя большая часть метаболизма алкоголя происходит в гепатоцитах, ферменты, участвующие в окислительном метаболизме алкоголя, также присутствуют в слизистой оболочке кишечника [3,6]. В общую циркуляцию попадают существенно более низкие концентрации этанола. Влияние алкоголя на дистальную часть тонкой кишки и толстой кишки в значительной степени зависит от уровня его в крови. Известно, что просветная концентрация алкоголя в дистальных отделах тонкой кишки достигает 0,2% в течение часа после введения этанола в дозе 0,8 г/кг массы [6].

Кишечные бактерии также продуцируют ацетальдегид. Кроме того, преобразование этанола происходит в кишечнике посредством реакций с мембранными фосфолипидами и/или свободными жирными кислотами. Этот альтернативный путь может стать особенно актуальным при повреждении кишечника другими агентами. Следовательно, этанол и его метаболиты могут поражать отделы тонкого и толстого кишечника в результате его окислительного и неокислительного метаболизма [8].

Основные механизмы повреждения кишечника этанолом

Этанол и кишечная микробиота. Кишечник содержит более 1000 видов бактерий и бактериальный гомеостаз подразумевает сбалансированное соотношение симбиотических и патогенных бактерий. Потребление алкоголя изменяет кишечный микробиом, способствует как дисбиозу, так и бактериальной пролиферации. Снижение перистальтики кишечника, нарушение секреции желчи или изменение pH желудка, под влиянием этанола, приводит к увеличению количества бактерий в просвете. [8]. Хотя изменения специфичны для исследуемого вида (например, мышь, крыса, человек) и используемого протокола потребления этанола (например, хроническое или острое), существует тенденция к увеличению количества провоспалительных бактерий

после воздействия этанола. У злоупотребляющих этанолом меньше бактерий рода *Bacterioidetes* и бактерий, продуцирующих бутират (обычно считающихся противовоспалительными), и больше бактерий (обычно считающихся провоспалительными, поскольку кишечные бактерии типа *Proteobacteria* могут самостоятельно метаболизировать алкоголь, продуцируя избыток ацетальдегида в толстой кишке, что увеличивает выработку провоспалительных медиаторов [6]. Употребление алкоголя подавляет секрецию в тонком кишечнике клетками Панета и эпителиальными клетками бактерицидного белка - *Reg3g*, который может регулировать избыточный бактериальный рост. Таким образом, дисбактериоз кишечника, вызываемый алкоголем, может усугублять негативные эффекты, связанные с потреблением алкоголя [19].

Поскольку чрезмерный рост бактерий фиксируется на всем протяжении ЖКТ, это, в свою очередь, приводит к увеличению выброса эндотоксинов, продуцируемых грамотрицательными бактериями, основным среди которых является липополисахарид (ЛПС). ЛПС воздействуют на толл-подобные рецепторы, вызывая выброс провоспалительных хемокинов и цитокинов, модифицируют белки и способствуют развитию воспаления [9]. Чрезмерное увеличение числа кишечных бактерий может стимулироваться непосредственно алкоголем, но также может быть косвенной причиной сопутствующего нарушения пищеварительной и кишечной функции. Исследования пациентов с циррозом печени различной этиологии обнаружили связь между тяжестью поражения печени, аномальной кишечной перистальтикой и бактериальной пролиферацией [11]. Доказана связь между потреблением алкоголя, секрецией желчных кислот и избыточным бактериальным ростом. Этанол может изменять метаболизм желчных кислот, и, в свою очередь, желчные кислоты могут влиять на кишечные бактерии. Алкоголь изменяет спектр синтезируемых желчных кислот, а бактериальное воздействие на последние, модифицирует процессы деконъюгации, что с одной стороны нарушает обеспеченность кишечных бактерий таурином, с другой – приводит к увеличению образования литохолевой кислоты. Используя технологию секвенирования нуклеиновых кислот, позволяющую оценить популяцию кишечной микробиоты, показана корреляция между количеством потребляемого алкоголя и изменениями в соотношении симбиотических (*Lactobacillus* и *Bifidobacterium*), и патогенных бактерий (протеобактерии и бациллы) [19].

Нарушение циркадного ритма этанолом и факторы воспаления кишечника. Циркадный ритм, также известный как биологические часы, характеризуется внутренней цикличностью различных биологических процессов. Хроническое употребление алкоголя нарушает ритм биологических часов, что, в свою очередь, может оказывать негативное влияние на здоровье. При нарушении циркадного ритма усиливается проницаемость кишечного барьера. Поскольку рост кишечных микробов подчиняется циркадному ритму, его нарушения могут приводить к дисбиозу в условиях параллельного воздействия факторов питания – алкоголя, жиров или избыточных количеств пищи [5].

Алкоголь и барьерная функция кишечника. Кишечник является крупнейшим интерфейсом между хозяином и окружающей средой. Ключевые компоненты кишечного барьера включают иммунологический барьер и биохимический/физический барьер, и вместе эти компоненты регулируют прохождение соединений из просвета, таких как пищевые антигены, бактерии и бактериальные продукты, в слизистую кишечника и затем в порталный и системный кровоток. Исследования показывают, что у людей с повышенной проницаемостью кишечного барьера чаще встречаются заболевания печени, что указывает на то, что кишечная проницаемость может быть медиатором повреждения внутренних органов [15]. Алкоголь непосредственно вызывает гибель клеток вследствие своих физико-химических свойств, что приводит к изменениям в кишечнике, которые включают изъязвления слизистой оболочки, эрозии и потерю эпителия, главным образом на кончиках ворсинок. Это связано также с образованием ацетальдегида, который образует аддукты ДНК, вызывающие повреждение клеток. Активные виды кислорода (АФК), выделяющиеся при метаболизме алкоголя, вызывают повреждение клеток в результате окислительного стресса. Кроме того, этанол дестабилизирует цитоскелеты клеток. Сверхэкспрессия микроРНК подавляет экспрессию генов, кодирующих белки, связанные с гомеостазом кишечного барьера [18]. Алкоголь разрушает как сами эпителиальные клетки (трансэпителиальная проницаемость), так и способствует увеличению промежутков между эпителиальными клетками (параклеточная проницаемость), которые состоят из плотных соединений, образуемых белками цитоскелета и несколькими типами специфических белков. Повышенная проницаемость кишечного барьера позволяет бактериям и токсинам, которые они продуцируют, проникнуть из просвета кишечника через кровь в другие органы [18].

Биохимический/физический барьер. Ключевые компоненты неиммунологического кишечного барьера включают непремещаемый водный слой, гидрофобность слизистой поверхности, поверхностный слизистый слой, эндотелиальные факторы и эпителиальные факторы (наиболее важны плотные соединения). Плотные соединения герметизируют пространство между соседними эпителиальными клетками и, следовательно, регулируют барьерную функцию. Плотные контакты состоят из сложной сети белков, включая окклюдины, клаудины и молекулы межклеточной адгезии, которые взаимодействуют с актиновым цитоскелетом через белки, такие как ZO-1. Каждый из этих компонентов имеет решающее значение для правильного функционирования барьера, и многие из этих компонентов могут подвергаться воздействию алкоголя. Воздействие на эпителий кишечника препаратов, деполимеризующих актин, нарушает барьерную функцию, а нарушение актинового цитоскелета усиливает вызванное алкоголем нарушение кишечного барьера *in vitro* (т. е. монослоя эпителиальных клеток кишечника) [7].

Алкоголь может вызвать повышение проницаемости кишечника, влияя на любой из этих компонентов барьерной функции. Например, воздействие алкоголя на физико-химические свойства слизи может потенциально увеличить проницаемость кишечника. Алкоголь влияет на экспрессию белка MUC-2,

который является одним из ключевых компонентов слоя кишечной слизи. Другим потенциальным средством, с помощью которого алкоголь может влиять на проницаемость кишечника, является увеличение трансэпителиального прохождения молекул. Поскольку хорошо известно, что алкоголь может увеличивать текучесть клеточной мембраны, вполне вероятно, что злоупотребление алкоголем приводит к нарушению текучести мембран эпителиальных клеток кишечника, что также приводит к повышению проницаемости кишечника. Эпителиальный слой является высокоселективным барьером, который позволяет абсорбировать питательные вещества из просвета кишечника в кровоток и ограничивает прохождение токсичных соединений (например, эндотоксина). Два основных пути эпителиальной проницаемости — трансэпителиальный и парацеллюлярный пути, хотя физиология этих строго регулируемых путей не до конца понята, ясно, что эпителиальная проницаемость по-разному регулируется при различных физиологических и патологических состояниях. Например, барьерная функция часто нарушается у пациентов с болезнью Крона и другими кишечными заболеваниями, опосредованными воспалением и/или инфекцией [20]. Образцы биопсии двенадцатиперстной кишки у пациентов с циррозом демонстрируют увеличенные межклеточные пространства, что указывает на морфологические изменения, при потреблении этанола у грызунов и у пациентов с хроническим алкоголизмом. Воздействие алкоголя на клетки кишечного эпителия *Caco-2* вызывает множество эффектов, приводящих к нарушению барьерной функции, включая: (1) индукцию оксида азота и увеличение окислительного стресса (частично опосредованной через NF- κ B и протеинкиназу C); (2) высвобождение кальция и активацию митоген-активируемой протеинкиназы; (3) недостаточность цинка; (4) активацию киназы легкой цепи миозина; и (5) подавление микроРНК 212 (*miR-212*) ZO-1.

МикроРНК — это небольшие некодирующие РНК, которые регулируют многочисленные биологические функции, включая воспаление. Как *miR-212*, так и *miR-155* могут подавлять образование компонентов плотного контакта, включая ZO-1. Продукция активных форм кислорода (АФК) и окислительное повреждение являются признаком, связанным с дисфункцией монослойного барьера *in vitro*, и АФК также, по-видимому, имеют решающее значение *in vivo*. Изоформа E1 цитохрома P450 (*Cyp2e1*) является важным медиатором в метаболизме алкоголя, а метаболизм алкоголя с помощью *Cyp2e1* производит АФК. *Cyp2e1* экспрессируется в тонком и толстом кишечнике грызунов и людей и повышается в кишечной ткани при хроническом приеме алкоголя. Один из механизмов, посредством которого *Cyp2e1* увеличивает проницаемость кишечника, — это механизм циркадных часов, который будет более подробно рассмотрен ниже [13]. Повышенная проницаемость возникает как специфический механизм, посредством которого вещества, вырабатываемые кишечником, такие как эндотоксин и N-формилметионил-лейцил-фенилаланин (fMLP) (максимально короткий бактериальный антиген), могут попадать в портальную венозную систему [12].

Иммунологический барьер. Модуляция этанолом и его метаболитами защитных свойств слизистой оболочки возникает в результате активации клеток иммунной системы. Среди основных механизмов – торможение врожденного иммунного ответа в слизистой оболочке и, как следствие – повышенная восприимчивость к кишечным патогенам. Этанол формирует воспалительный ответ, способствуя миграции иммунных клеток воспаления, таких как лейкоциты и тучные клетки. В свою очередь, чрезмерный рост бактерий и дисбактериоз могут привести к увеличению выработки эндотоксинов в кишечнике, которые могут связываться с клетками слизистой оболочки кишечника, вызывая локальное воспаление, или перемещаться в области пейеровых бляшек во внеклеточное пространство, вызывая системное воспаление. В тоже время некоторые исследователи считают, что алкоголь ингибирует иммунный ответ кишечника, подавляя активность иммунных клеток слизистой кишечника [4].

Алкоголь может вызывать изменения в иммунной системе кишечника посредством каскада механизмов, которые впоследствии приводят к воспалению и дисфункции печени и мозга. ЖКТ содержит самое большое и сложное микробное сообщество в организме человека, продуцирующее провоспалительные триггеры, такие как ЛПС. Поскольку до 70% крови печени поступает через воротную вену, печень постоянно подвергается воздействию соединений, поступающих из кишечника. Клетки Купфера реагируют на ЛПС посредством активации TLR4, выработки АФК, лейкотриенов, хемокинов и других цитокинов. TLR4 (толл-подобный рецептор 4) играет важную роль в иммунном ответе на бактериальную транслокацию, связываясь с ЛПС и инициируя каскад активации клеток Купфера и макрофагов. Было доказано, что TLR4 играет важную роль в заболеваниях печени, поскольку его активация стимулирует выброс провоспалительных цитокинов и повышает риск развития цирроза у пациентов с хроническим гепатитом. Индуцируемая алкоголем бактериальная транслокация сопровождается высвобождением провоспалительных цитокинов в результате иммунной активации компонентами внешней мембраны грамотрицательных бактерий. Существует прямая связь между введением этанола и повышением уровня ЛПС в плазме крови животных [8]. Провоспалительные цитокины (например, TNF α) повышаются в кишечнике в ситуации потребления алкоголя. Введение веществ, влияющих на кишечную микрофлору (антибиотики или пробиотики), ослабляет вызванное алкоголем повреждение печени, главным образом, уменьшая поступление продуктов микробной деградации и активацию иммунной системы [16]. Эндотоксины и цитокины из крови могут проникать в ЦНС, вызывая нейровоспаление. Этанол подавляет одну из основных линий защиты слизистой кишечника от бактерий – клетки Панета, которые секретируют антибактериальные вещества. Снижение секреции дефензинов и кателицидинов при алкогольной интоксикации может приводить к пролиферации кишечных бактерий и усиливать эндотоксемию.

Секреторный IgA находится в просвете кишечника и защищает эпителий кишечника от токсинов и повреждения. IgA оказывает свое

противовоспалительное действие ограничивая высвобождение цитокинов, вызванное ЛПС (например, *IL-1* и *TNF α*). Уровень *IgA* повышается при потреблении алкоголя, что может быть компенсаторным защитным механизмом для ограничения повреждения кишечника [14].

Ось кишечник-печень. Приблизительно у 20–30% лиц, потребляющих алкоголь в количестве более 30 г/день в течение не менее 10 лет, развивается клинически значимое алкогольное поражение печени, включая алкогольный стеатогепатит и цирроз печени. Индуцируемое этанолом воспаление кишечника способствует повреждению печени за счет увеличения проницаемости кишечного барьера и увеличения попадания эндотоксинов из кишечника в печень. В частности, показано, что люди, потребляющие этанол и имеющие поражение печени, гораздо чаще имеют повышенную кишечную проницаемость (более чем в 40 раз), чем не употребляющие алкоголь. У крыс, получавших алкоголь, повышенная проницаемость кишечника обнаруживается уже через 2 недели после начала введения этанола. Через 4 недели развивается эндотоксемия, а затем регистрируется гистологически выраженное повреждение печени, что свидетельствует о роли эндотоксемии при повреждении печени [7].

Несмотря на то, что алкоголь инициирует поражение печени, далеко не у всех потребляющих этанол развивается цирроз и печеночная недостаточность. Прогрессирование алкогольной болезни печени обусловлено воспалительным процессом, который, по-видимому, является многофакторным. Микробные факторы, происходящие из кишечника, и бактериальные эндотоксины играют первостепенную роль в развитии воспалительного процесса в печени. Эндотоксемия играет важную роль при алкогольном поражении печени, стимулируя выработку провоспалительных цитокинов. Нарушение кишечного барьера является основной причиной алкогольной эндотоксемии. У пациентов, хронически потребляющих этанол, наблюдалась повышенная проницаемость кишечника при использовании различных маркеров проницаемости, таких как полиэтиленгликоль, маннитол/лактоулоза или ⁵¹CrEDTA [10]. В исследованиях на животных проницаемость кишечника для макромолекул, таких как пероксидаза хрена, также увеличивалась в связи с эндотоксемией и повреждением печени. Перорально вводимый ЛПС обнаруживали в плазме животных, находящихся в состоянии алкогольной интоксикации, при отсутствии у контрольных мышей. Профилактика проницаемости кишечника приводит к подавлению эндотоксемии и уменьшению степени повреждения печени, вызванных эффектами этанола [17]. При метаболизме алкоголя высвобождаются токсичные метаболиты, вызывающие целый каскад эффектов, включая активацию защитных клеток организма, высвобождение провоспалительных молекул, которые приводят к повреждению гепатоцитов. Вследствие различных причин и механизмов состав и функции кишечной микробиоты существенно изменяются в патогенезе и прогрессировании повреждения печени у пациентов, злоупотребляющих алкоголем. В частности, алкоголь-индуцированный дисбиоз, наряду с рядом других проблем, способствует повышению индивидуальной восприимчивости к алкогольному

поражению печени. Для уменьшения вызываемого алкоголем повреждения органов прикладывают усилия по нормализации микробиома кишечника и/или повышение целостности кишечного барьера - препараты, поддерживающие гомеостаз микробиоты, такие как пребиотики, пробиотики, постбиотики и симбиотики. Пребиотики — это вещества, которые способствуют росту/активности микроорганизмов, а пробиотики — это живые микроорганизмы. Пребиотики восстанавливают уровни защитного белка Reg3G, что подавляет избыточный рост бактерий и тормозит прогрессирование стеатогепатита при хроническом употреблении алкоголя. Кроме того, добавление *Lactobacillus GG* подавляет окислительный стресс и воздействие этанола на актиновый цитоскелет кишечника и плотные соединения, тем самым поддерживая целостность кишечного барьера. Добавка длинноцепочечных жирных кислот предотвращает снижение численности *Lactobacillus* у мышей, получавших этанол, и тормозит нарушение проницаемости кишечного барьера [18].

Внутрижелудочное однократное введение этанола вызывает выраженный аминокислотный дисбаланс в микробно-тканевом комплексе тонкого умеренное повышение наполнения секретом бокаловидных клеток крипт и ворсинок слизистой оболочки тощей кишки, а также выраженное утолщение гликопротеинсодержащего слоя, покрывающего боковые поверхности ворсинок толстого кишечника, который также сопровождается увеличением численности условно-патогенных лактозонегативных бактерий группы кишечной палочки, анаэробных спорообразующих бактерий на фоне обеднения популяции лактозапозитивных энтеробактерий [1].

Трехкратное введение этанола приводило к повышению содержания глутамата, аспарагина, глутамата, аланина в энтероцитах и глутамина в печени, что указывает на возможное их использования в качестве энергетических субстратов, а относительное увеличение общего количества незаменимых аминокислот, в том числе АРУЦ, может свидетельствовать о торможении процессов синтеза белка [2]. Корреляционный анализ выявил ряд как положительных, так и отрицательных взаимосвязей, характерных в наибольшей степени для основных компонентов биосинтеза белка (АРУЦ) и гликокаликса (треонин, серин), а также обеспечивающих поступление в циркуляцию биологически важных биорегуляторов (ароматические аминокислоты, триптофан, аргинин, аланин), аспарагином, гистидином, глицином и лизином. Наблюдаемый в ткани печени через 24 ч после введения однократной токсической дозы этанола аминокислотный дисбаланс во многом предопределен (как показывает корреляционный анализ) изменениями наблюдаемыми в толстом кишечнике [1,2].

Учитывая, что большинство исследований проводилось на животных моделях, окончательные выводы все еще ограничены. Необходимы новые исследовательские проекты, чтобы лучше понять эти процессы у людей. Это повысит возможность адекватной профилактики возникновения и прогрессирования алкогольного поражения печени. Модуляция микрофлоры кишечника с использованием пробиотиков, пребиотиков, синбиотиков или

фекальной трансплантации станет поворотным моментом в лечении пациентов с алкогольным поражением печени. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы полностью определить истинную причинно-следственную связь между изменениями, наблюдаемыми в контексте злоупотребления алкоголем и поражением печени, а также точно определить механизмы, посредством которых изменения микробиоты влияют на патологию печени. Очевидно, что необходимы дополнительные исследования, чтобы полностью понять сложный баланс метаболического гомеостаза и микробиома, и влияние потребления этанола на эту весьма чувствительную систему взаимоотношений. Очевидно, что ключевую роль в этом контексте играет дисбактериоз кишечной микробиоты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шейбак, В.М. Вклад тонкого и толстого кишечника в аминокислотный дисбаланс печени при острой алкогольной интоксикации/ В.М. Шейбак, И.В. Николаева, В.Ю. Смирнов, О.Б. Островская, Р.И. Кравчук, С.А. Островцова // Новости медико-биологических наук. Биохимия. – 2024. – Т. 24, №4. С.39 – 45.
2. Николаева И.В. Изменения свободных аминокислот в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника и печени в динамике алкогольной интоксикации /Николаева И.В., Смирнов В.Ю., Шейбак В.М // Сборник статей ГП Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси / И.Н. Семененя (гл. ред.) – Минск 2020. – С. 157 – 162.
3. Alcohol and the intestine. / S. Patel [et al] // Biomolecules. – 2015. – Vol. 5, №4. – P.2573 – 2588.
4. Alcohol as friend or foe in autoimmune diseases: a role for gut microbiome? B. Caslin [et al] // Gut Microbes. – 2021. – Vol. 13, №1. – P.1 – 15.
5. Bonmatí-Carrión, M.Á. Melatonin as a Mediator of the Gut Microbiota-Host Interaction: Implications for Health and Disease / M.Á. Bonmatí-Carrión, M.A. Rol // Antioxidants (Basel). – 2023. – Vol. 13, №1. – P.1 – 34.
6. Cederbaum, A.I. Alcohol metabolism / A.I. Cederbaum // Clinics in Liver Disease. – 2012. – Vol. 16, №4. – P.667 – 685.
7. Chopyk, D., Grakoui A. Contribution of the Intestinal Microbiome and Gut Barrier to Hepatic Disorders/ D. Chopyk, A.Grakoui //Gastroenterology. – 2020. – Vol. 159, №3. – P.849 – 863.
8. DiVincenzo, F. Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: a narrative review / F. DiVincenzo, A. Del Gaudio, V. Petito // Intern. Emerg Med. – 2023. – Vol. 19, №2. – P.275 – 293.
9. Ethanol impairs intestinal barrier function in humans through mitogen activated protein kinase signaling: A combined in vivo and in vitro approach / E. Elamin [et al]. // PLoS One. – 2014. – Vol. 9. – P. 1 – 11.
10. Frias, R. 51Cr-EDTA absorption blood test: an easy method for assessing small intestinal permeability in dogs/ R. Frias, S. Sankari, E. Westermarck // J. Vet. Intern. Med. – 2004. – Vol. 18, №2. – P. 156 – 159.

11. Fukui, H. Leaky Gut and gut-liver axis in liver cirrhosis: Clinical studies update / H. Fukui // Gut Liver. – 2020. – Vol. 15, № 5. – P. 666 – 676.
12. Gut-liver axis: barriers and functional circuits / O. Pabst [et al]. // Nat. Rev. Gastroenterol Hepatol. – 2023. – Vol. 20, №7. – P. 447–461.
13. Harjumäki, R. CYP2E1 in alcoholic and non-alcoholic liver injury. Roles of ROS, reactive intermediates and lipid overload / R. Harjumäki, C.S. Pridgeon, M. Ingelman-Sundberg // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – Vol. 22, № 15. – P.1 – 20.
14. Hendriks, T. Hepatic pIgR-mediated secretion of IgA limits bacterial translocation and prevents ethanol-induced liver disease in mice / T. Hendriks, S. Lang, D. Rajcic // Gut. – 2023. – Vol. 72, № 10. – P. 1959 – 1970.
15. Liu, G. Characteristics of intestinal bacteria with fatty liver diseases and cirrhosis / G. Liu, Q. Zhao, H. Wei // Ann. Hepatol. – 2019. – Vol. 18, № 6. – P. 796 – 803.
16. Metformin and probiotics interplay in amelioration of ethanol-induced oxidative stress and inflammatory response in an in vitro and in vivo model of hepatic injury / F. Patel [et al]. // Mediators Inflamm. – 2021. – Vol. 15. – P. 1 – 31.
17. Paneth cell dysfunction mediates alcohol-related steatohepatitis through promoting bacterial translocation in mice: Role of Zinc Deficiency / W. Zhong [et al]. // Hepatology. – 2020. – Vol. 71, №5. – P. 1575 – 1591.
18. Prevention of alterations in intestinal permeability is involved in zinc inhibition of acute ethanol-induced liver damage in mice / J.C. Lambert [et al]. // J. Pharmacol Exp. Ther. – 2003. – Vol. 305. – P. 880 – 886.
19. Supplementation of saturated long-chain fatty acids maintains intestinal eubiosis and reduces ethanol-induced liver injury in mice / Chen P. [et al] // Gastroenterology. – 2015. – Vol. 148. – P. 203 – 214.
20. Tilg, H. Gut-liver axis: Pathophysiological concepts and clinical implications / H. Tilg, E. Timon, M. Trauner // Cell Metab. – 2022. – Vol. 34, № 11. – P. 1700 – 1718.

АДЬЮВАНТНЫЕ СТРАТЕГИИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ

Артюх Т. В.¹, Сидорович Е. А.¹, Карнова Е. В.², Тапальский Д. В.²

¹*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно;*

²*Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси»,
Минск, Республика Беларусь*

С 2000-х годов во всем мире отмечается широкое распространение плазмид-опосредованной устойчивости микроорганизмов к антибиотикам [1, 14].

Ассоциации между плазмидами резистентности и клонами патогенных бактерий чрезвычайно распространены: bla-NDN-1, mcr-1 и tet(X3/X4) – плазмидные гены, кодирующие устойчивость к препаратам «последнего

резерва» (карбапенемам, колистину, тигециклину) среди грамотрицательных бактерий [4].

При этом сцепление хромосомных генов карбапенемаз с мобильными генетическими элементами во многих случаях сопровождается развитием экстремальной антибиотикорезистентности и появлению отдельных «успешных» эпидемически значимых клонов грамотрицательных патогенов (*Pseudomonas aeruginosa* ST 235, *Klebsiella pneumoniae* ST 258), которые являются серьезной угрозой общественному здравоохранению [13, 11].

Несмотря на большое количество и разнообразие антибактериальных лекарственных средств, практически для всех из них существуют ограничения по применению, связанные с наличием видовой или возникновением и распространением приобретенной антибиотикорезистентности. Видовую устойчивость бактерий как правило преодолеть невозможно. Тем не менее существует ряд подходов для преодоления приобретенной антибиотикорезистентности:

1. Скрининг альтернатив антибиотикам (нетрадиционные методы).

В качестве альтернативы антибиотикам используются антитела, бактериофаги, вакцины, антимикробные пептиды, бактериоцины, пробиотики, восстановление микробиома (фекальная трансплантация), противовирусные средства. Однако нынешнее положение альтернативных подходов указывает на то, что они могут лишь частично заменить антибиотики и используются только в качестве вспомогательной терапии [7, 12].

Доминирующими подходами для повышения чувствительности патогенов с множественной устойчивостью остаются разработка новых антибиотиков и поиск новых адъювантов антибиотиков.

2. Открытие и разработка новых антибиотиков. В новом тысячелетии выпуск на фармацевтический рынок новых антибиотиков значительно сократился [9].

В период с 1988 по 2002 год был создан только один антибиотик нового класса – линезолид, а в период с 2003 по 2007 год – только даптомицин. С середины 2000-х годов вынужденным направлением антибактериальной терапии инфекций вызванных экстремально-резистентными возбудителями является использование комбинаций антибиотиков [5].

Выявление и использование эффективных комбинаций антибиотиков против устойчивых микроорганизмов является перспективным направлением антибиотикотерапии и предупреждения селекции резистентных мутантов. Однако, учитывая высокий уровень резистентности клинических изолятов и динамичную эпидемиологическую ситуацию (на фоне COVID-19), большинство традиционно используемых антибиотиков и их комбинаций перестали проявлять значимую активность. Несмотря на предпринимаемые усилия по открытию новых антибиотиков, те препараты, которые все же успешно завершат курс испытаний, скорее всего, будут структурно схожи с существующими антибиотиками, и вероятно столкнутся с бактериями, которые уже имеют необходимые для выживания механизмы устойчивости или смогут быстро адаптироваться, чтобы стать к ним устойчивыми [3].

3. Открытие и разработка адъювантов антибиотиков. С 1950-х годов проводятся исследования по перепрофилированию существующих лекарственных соединений и изучение их антибактериальных свойств, в том числе посредством комбинирования с имеющимися антибиотиками. Этот подход направлен на повышение активности существующего арсенала антибиотиков, он нацелен на преодоление имеющихся механизмов резистентности [17].

Данный подход называется адъювантным и может быть реализован посредством множества мишеней и точек соприкосновения в цикле взаимодействия, включающем антибиотик, потенциальный адъювант и бактериальный патоген с индивидуальными особенностями клеточной структуры, метаболизма и механизмами резистентности. Поиск или разработка адъювантов, которые восстанавливают, увеличивают время эффективного медицинского использования или даже усиливают активность существующих антибиотиков в отношении устойчивых штаммов бактерий, представляет собой наиболее реалистический подход для сдерживания распространения множественной и экстремальной антибиотикорезистентности. Адъюванты антибиотиков (потенциаторы) – это соединения, которые способны повышать чувствительность микроорганизма к антибиотику или усиливать действие антибиотика. Для открытия и разработки новых потенциаторов антибиотиков проводится скрининг как природных, так и синтетических соединений [15].

Потенциальные адъюванты делят по двум основным критериям. Первый критерий – является ли соединение биологически активным веществом (БАВ) или лекарственным средством, с физиологическим действием которого связаны его лечебные свойства (терапевтическая цель – не инфекционный агент). Второй критерий связан с наличием или отсутствием у соединений индивидуальной, описанной *in vitro* или *in vivo* антибактериальной активности (минимальной подавляющей концентрации). Выделяют следующие группы низкомолекулярных соединений:

- БАВ с заявленной индивидуальной антибактериальной активностью;
- БАВ с неизученной антибактериальной активностью;
- неантибиотическое лекарственное средство (НАЛС) с заявленной индивидуальной антибактериальной активностью;
- НАЛС с неизученной антибактериальной активностью.

Для выявления синергетического потенциала соединений в качестве антибиотических адъювантов преимущественно используют анализ «шахматной доски» с регистрацией индекса фракционной ингибирующей концентрации (FIC), либо анализ «время-гибели» с построением изоболограмм (рисунок 1) [2].

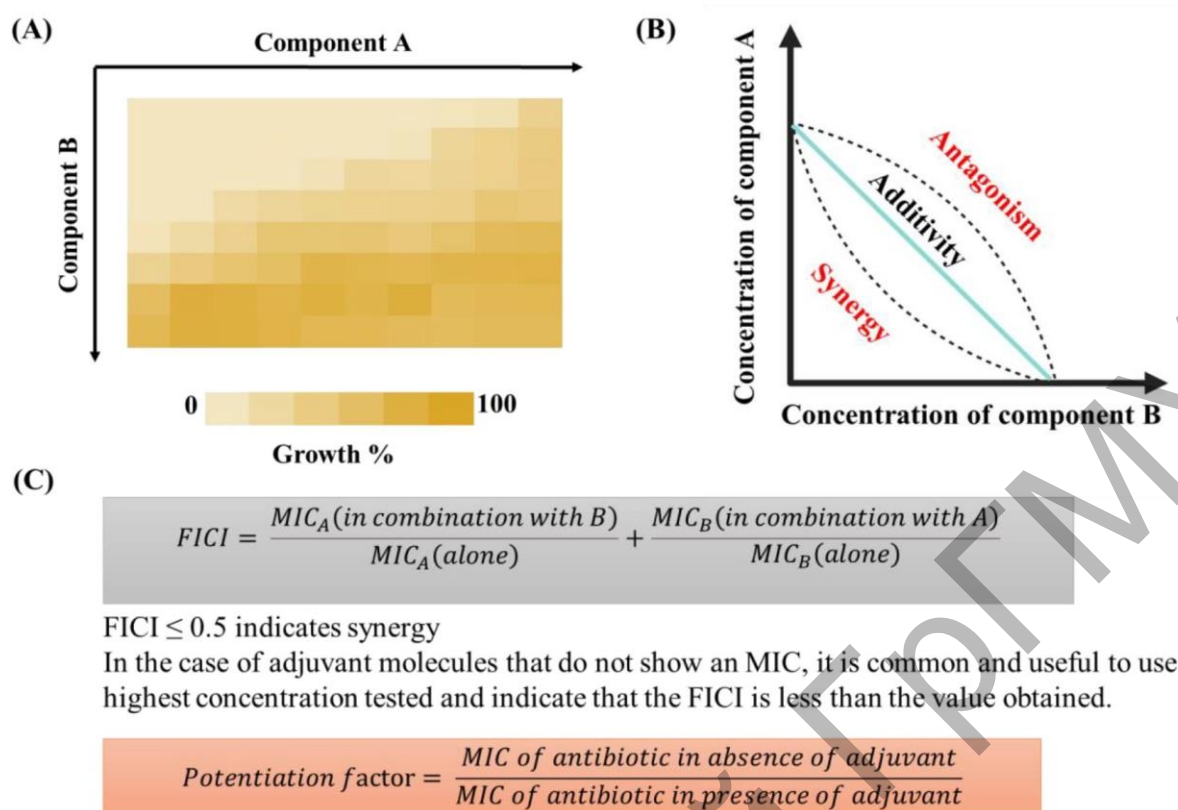


Рисунок 1. – Определение эффектов антибиотических адъювантов. (А) – метод шахматной доски для оценки потенцирующей способности адъювантов антибиотиков; (В) – изоболограмма для оценки синергетического, аддитивного или антагонистического взаимодействия между двумя соединениями; (С) – параметры для оценки антибиотических адъювантов (адаптировано из Dhanda G., et al., 2023 [10])

Исследователи сужают круг возможных потенциаторов для проведения дальнейшего микробиологического скрининга исходя из нескольких критериев. Во-первых, соединение не должно обладать собственной антибактериальной активностью. В противном случае антибактериальная молекула приведет к отбору мутантов, устойчивых к ее действию. Однако следует отметить, что первый применяемый в клинической практике адъювант – клавулановая кислота, обладает индивидуальной антибактериальной активностью (сама по себе имеет антибактериальный эффект). Во-вторых, молекула-потенциатор должна быть селективной и не нацеливаться на какие-либо эукариотические мишени. Селективность является сложной задачей, поскольку мишени в бактериальной клетке, например эффлюксные насосы либо активные центры бактериальных ферментов порой широко распространены и их основные функциональные аспекты, как правило, схожи у эукариотических и прокариотических клеток. В-третьих, адъювант должен обладать достаточными фармакокинетическими характеристиками (всасывание, распределение, метаболизм, экскреция и токсичность). Наконец, для успеха на коммерческом уровне, производство адъюванта должно быть экономически целесообразным [16].

Европейская инициатива по инновационным лекарственным средствам создала консорциум под названием «TRANSLOCATION», который исследует

пассивное и активное проникновение малых молекул в грамотрицательные бактерии для определения механизмов проникновения и расширения знаний о переносчиках, которые могут стать источником для будущих исследований [6].

На сегодняшний день существует несколько классификаций адъювантов по механизму их действия (рисунок 2).

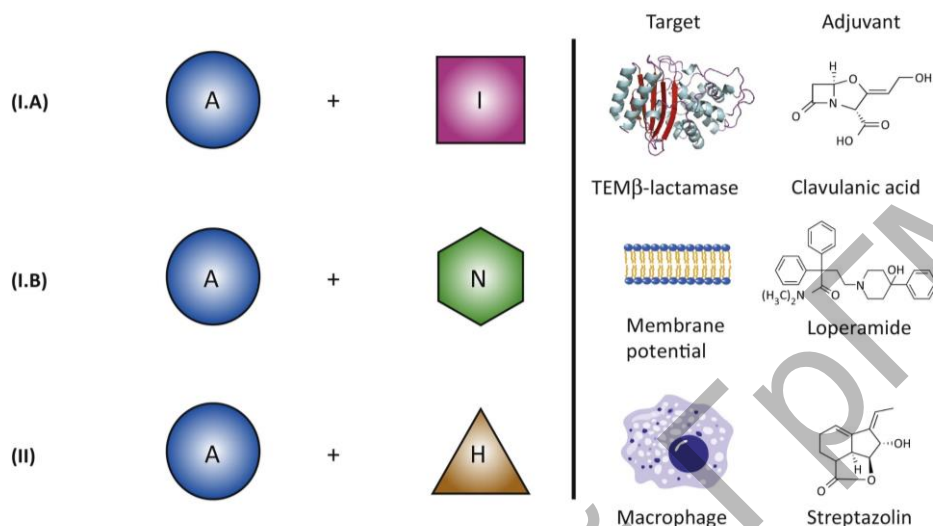


Рисунок 2. – Основные группы адъювантов в зависимости от механизма действия и примеры наиболее изученных представителей данных групп адъювантов (из Wright G. D., 2016 [18])

Первая классификация приведена Y. Liu и др. [8]:

A. Блокирование бактериальных ферментов:

- блокирует фермент, который ингибирует антибиотик,
- блокирует фермент, который загрязняет мишень для антибиотика.

B. Увеличение внутриклеточного накопления антибиотика:

- улучшает проникновение антибиотика через внешнюю мембрану,
- ингибирует эффлюксные насосы,
- разрушает биопленку, повышая доступ антибиотика к клеткам.

C. Ингибирование сигнальных путей, которые опосредуют устойчивость к антибиотикам.

D. Усиление защиты хозяина путем стимулирования иммунных клеток.

E. Дополнительные механизмы.

Еще одна классификация представлена G. D. Wright [18].

Исходя из данной классификации, антибиотические адъюванты могут быть разделены на две группы: соединения I класса, которые действуют на патоген, и соединения II класса, которые действуют на макроорганизм. Адъюванты класса I могут быть дополнительно разделены на основе мишени действия на I.A и I.B (рисунок 2).

Соединения класса I.A ингибируют устойчивость к антибиотикам, инактивируя ферменты, эффлюксные насосы или альтернативные мишени. Именно адъюванты класса I.A используются в настоящее время в клинической практике [10].

Адьюванты класса *I.B* усиливают активность антибиотиков, преодолевая внутренние механизмы резистентности, включая метаболические пути или физиологию, и способствуют накоплению антибиотика. Среди них выделяют повышение проницаемости внешней мембраны, разрушение биопленки, ингибирование сигнальных путей бактериальной коммуникации путем модулирования экспрессии генов резистентности.

Таблица 1. – Одобренные и потенциальные адьюванты антибиотиков с механизмами/мишенями их действия.

Механизм	Адьювант	Мишень	Антибиотик	Патоген
Ингибиторы ферментов резистентности	Одобренные ингибиторы β-лактамаз			
	Clavulanic acid	Type A β -lactamase	Amoxicillin/ Amoxicillin+ Aztreonam	G+/G-
	Sulbactam	Type A β -lactamase	Ampicillin	G+/G-
	Tazobactam	Type A β -lactamase	Piperacillin	G+/G-
	Avibactam	Type A/C/D/ β -lactamase	Ceftazidime/ Aztreonam	G+/G-
	Vaborbactam (RPX7009)	Type A/C β -lactamase	Meropenem	G+/G-
	Relebactam	Type A/C β -lactamase	Imipenem	G+/G-/ <i>P.aeruginosa</i>
	Ингибиторы β-лактамаз в стадии разработки			
	Durlobactam (ETX2514)	Type A/C/D β -lactamase	b-lactams	<i>A.baumannii</i>
	Taniborbactam (VNRX-5133)	All types β -lactamase	Cefepime	<i>Enterobacteriaceae</i>
Увеличение накопления антибиотика	Aspergillomarasmine A	NDM, VIM	Meropenem	MBL-positive/G-
	PA β N	RND pump	Quinolones	<i>P. aeruginosa</i>
	Guanidine derivative of silver	Outer membrane	Colistin	<i>A.baumannii</i>
	Benzydamine	Proton motive force	Tetracyclines	G+/G-
	Azidothymidine	Inhibition of the Tet(X4)	Tigecycline/	<i>E.coli</i>
	Vanillin	Unclear	Spectinomycin	<i>E.coli</i> , <i>S.typhimurium</i>
Ингибирование образования биопленки и сигнальных	Loperamide	Proton motive force	Tetracyclines	<i>E.coli</i> , <i>P.aeruginosa</i>
	Asiatic acid	Biofilm	Tobramycin	<i>P. aeruginosa</i>
	Triclosan	Biofilm	Tobramycin	<i>P. aeruginosa</i>
	Naringenin	Biofilm/outer membrane	Colistin	G-

<i>путей</i>	Guaiacol	Quorum sensing	Ciprofloxacin	<i>P. aeruginosa</i>
Усиление защиты хозяина	hLF1-11	Immune cells	Gentamicin	<i>K. pneumoniae</i>
	TLR agonists	Immune cells	Multi-classes	G+/G-
	Streptazolin	stimulates macrophages	Multi-classes	G+/G-

Примечание: G+/G – Грамположительные и Грамотрицательные бактерии.

Адьюванты *класса II* не воздействуют на бактерии, а влияют на свойства макроорганизма и усиливают действие антибиотика в организме хозяина, увеличивая его защитные свойства. Примеры адьювантов классов I.B и II еще не утверждены регулирующими органами в качестве лекарственных комбинаций с антибиотиками, но изучаются в доклинических моделях.

В таблице ниже авторами собраны и приведены примеры некоторых адьювантов именно в структуре классификации G. D. Wright.

В таблице 1 приведены лишь некоторые низкомолекулярные соединения, с уже изученными адьювантными свойствами. В целом, существует очень большой спектр биологически активных веществ для изучения эффектов комбинированной антибактериальной терапии. Однако необходимо приложить немалые усилия для того, чтобы вывести такие соединения на доклиническую и клиническую стадию разработки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антибиотикорезистентность. Вызов современности. / А. Д. Даудова [и др.] // Антибиотики и Химиотерапия. – 2023. – Т. 68, № 3-4. – С. 66-75. doi: org/10.37489/0235-2990-2023-68-3-4-66-75.
2. Артюх, Т. В. Изучение синергии антибактериальных препаратов с использованием метода «шахматной доски» и анализа «времени уничтожения» / Т. В. Артюх // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2022. – Т. 67, № 3. – С. 332-342. doi: org/10.29235/1029-8940-2022-67-3-332-342.
3. Карпова, Е. В. Активность цефидерокола и других новых антибиотиков в отношении экстремально-антибиотикорезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae* / Е. В. Карпова, Д. В. Тапальский // Антибиотики и химиотер. – 2022. – Т. 67, № 11-12. – С. 16-21. doi: org/10.37489/0235-2990-2022-67-11-12-16-21.
4. Молекулярно-генетические маркеры резистентности и вирулентности инвазивных штаммов *Klebsiella pneumoniae* по данным полногеномного секвенирования / Н. А. Бонда [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. – 2023. – Т. 20, № 1. – С. 7-15. doi: org/10.51523/2708-6011.2023-20-1-01.
5. Тапальский, Д. В. Чувствительность к комбинациям антибиотиков среди нозокомиальных карбапенемазопродуцирующих грамотрицательных бактерий, выделенных в Беларуси / Д. В. Тапальский // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2018. – Т. 20, № 3. – С. 182-191. doi: 10.36488//cmac.2018.3.182-191.

6. Alternatives to antibiotics a pipeline portfolio review / L. Czaplewski [et al.] // *Lancet Infect Dis.* – 2016. – Vol. 16, № 2 – P. 239-251. doi: 10.1016/S1473-3099(15)00466-1.
7. Alternatives to conventional antibiotics in the era of antimicrobial resistance / C. Ghosh [et al.] // *Trends in Microbiology.* – 2019. – Vol. 27, № 4. – P. 323-338. doi: 10.1016/j.tim.2018.12.010.
8. Antibiotic adjuvants: an alternative approach to overcome multi-drug resistant Gram-negative bacteria / Y. Liu [et al.] // *Critical Reviews in Microbiology.* – 2019. – Vol. 45, № 3 – P. 301-314. doi: org/10.1080/1040841X.2019.1599813.
9. Boluarte, T., Schulze, U. The Case for a subscription model to tackle antimicrobial resistance [Electronic resource] / T. Boluarte, U. Schulze // *Biopharma, Health care industry.* – 2022. – Mode of access: <https://www.bcg.com/publications/2022/model-for-tackling-antimicrobial-resistance>. – Date of access: 09.12. 2023.
10. Dhanda, G. Antibiotic adjuvants: a versatile approach to combat antibiotic resistance / G. Dhanda, Y. Acharya, J. Halder // *ACS Omega.* – 2023. – Vol. 8. – P. 10757-10783. doi: 10.1021/acsomega.3c00312.
11. First report of KPC-35-producing *Klebsiella pneumoniae* ST 258 isolated in Peru / A. Gonzales-Rodriguez [et al.] // *Rev Argent Microbiol.* – 2025. – Vol. 57, № 1. – P. 3-7. doi: 10.1016/j.ram.2024.10.008.
12. Genomic surveillance as a scalable framework for precision phage therapy against antibiotic-resistant pathogens / M. Koncz [et al.] // *Cell reports.* – 2024. – Vol. 187, № 21. – P. 5901-5918. doi: 10.1016/j.cell.2024.09.009.
13. Global emergence of the widespread *Pseudomonas aeruginosa* ST 235 clone / P. Treepong [et al.] // *Clin Microbiol Infect.* – 2018. – Vol. 24, № 3. – P. 258-266. doi: 10.1016/j.cmi.2017.06.018.
14. Millan, A. S. Evolution of plasmid-mediated antibiotic resistance in the clinical context / S. A. Millan // *Trends in Microbiology.* – 2018. – Vol. 26, № 12 – P. 978-985. doi: 10.1016/j.tim.2018.06.007.
15. Overcoming intrinsic resistance in gram-negative bacteria using small molecule adjuvants [Electronic resource] / R. J. Melander [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* – 2023. – Vol. 80 – Mode of access: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960894X22005893?via%3Dihub>. – Date of access: 24.03. 2025.
16. Rathi, E. Computational approaches in efflux pump inhibitors: current status and prospects / E. Rathi, A. Kumar, S. G. Kini // *Drug Discovery Today.* – 2023. – Vol. 25, № 10 – P. 1883-1890. doi: 10.1016/j.drudis.2020.07.011.
17. Tyers, M., Wright, G. D. Drug combinations: a strategy to extend the life of antibiotics in the 21st century / M. Tyers, G. D. Wright // *Nature Reviews Microbiology.* – 2019. – Vol. 17. – P. 141-155. doi: 10.1038/s41579-018-0141-x.
18. Wright, G. D. Antibiotic adjuvants: rescuing antibiotics from resistance / G. D. Wright // *Cell Press.* – 2016. – Vol. 24, № 11 – P. 862-871. doi: 10.1016/j.tim.2016.06.009.

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КАЛЕНДУЛЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ КИШЕЧНИКА ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ

Белоус Е.М., Цыбулькина П.С.

*Гомельский государственный медицинский университет,
Гомель, Республика Беларусь*

Актуальность. В современной медицине проблема восстановления организма после лучевой терапии остается одной из наиболее актуальных, особенно при повреждении слизистой оболочки кишечника. Лучевое воздействие часто приводит к развитию радиационного энтерита, который сопровождается воспалением, нарушением микрофлоры и снижением барьерной функции кишечника. Это существенно ухудшает качество жизни пациентов и требует поиска эффективных и безопасных методов коррекции.

Цель: изучение литературных данных о возможности применения календулы лекарственной для коррекции кишечника после облучения.

Материалы и методы исследования. Проанализированы и использованы источники литературы из библиографических баз данных PubMed и e.Library.

Результаты и их обсуждение. В условиях стремительного технологического прогресса современный человек постоянно подвергается воздействию различных видов излучения [1]. Ионизирующее излучение менее распространено в повседневной жизни и встречается в основном в медицине (рентген, КТ), природных источниках (радон, космические лучи) и ядерных технологиях. Неионизирующее излучение окружает человека постоянно – это Wi-Fi, мобильная связь, микроволновые печи, солнечный свет и бытовая электроника. Несмотря на разную степень распространенности, оба типа излучения требуют контроля для минимизации потенциальных рисков [2]. Прямые эффекты облучения могут проявляться в виде мутаций и генотоксических изменениях структуры ДНК, а косвенные эффекты приводят к ионизации цитозоля и повреждению клеточных структур. Сегодня за счёт своего цитотоксического действия лучевая терапия применяется приблизительно в половине случаев лечения злокачественных новообразований. Различные лекарственные растения так же подвергают гамма-излучению с целью изменения некоторых морфологических свойств растений. Воздействие излучения во многом зависит от дозы, вида излучения, стадии роста, структуры растения.

Лечение злокачественных новообразований молочной железы посредством лучевого облучения было предложено в 1896 году Эмилем Груббе и послужило основой для развития современной лучевой терапии рака. Несмотря на недавние успехи в использовании локального облучения, исследование побочных эффектов радиационного воздействия и их профилактика являются чрезвычайно актуальными. Наиболее восприимчивыми к воздействию радиоактивных частиц относятся слизистые оболочки полых

органов, кожа и органы кроветворения. Ключевой проблемой современной лучевой терапии по-прежнему остается экранирование здоровых тканей в зоне облучения, особенно с внедрением новых способов облучения, например, электронами. Чаще всего радиационное повреждение приводит к развитию хронического радиационного энтерита, который сильно снижает качество жизни пациентов.

Кишечник является тканью с высокой степенью пролиферации, имеет достаточно высокий уровень энергетического обмена. Благодаря чему кишечник обладает хорошей чувствительностью к радиационному воздействию на него в лечебных целях.

Радиационный энтерит – это повреждение слизистой оболочки кишечника свободными радикалами, образующимися в результате ионизации. Радиационный энтерит проявляется в таких фенотипах, как нарушение барьерной функции слизистой оболочки кишечника, повышение уровня воспалительных факторов, усиление инвазии патогенов и высвобождение эндотоксинов, а также снижение иммунного барьера [4].

Радиационно-индуцированный энтерит сопровождается диареей, которая связана с продолжительностью использования данного метода лечения. Энтерит является распространенной причиной снижения дозы облучения при лучевой терапии. Такое снижение может серьезно ухудшить функции организма и повысить смертность среди онкологических пациентов. Высокие дозы лучевой терапии приводят к атрофии ворсинок кишечника, повреждению эпителия кишечника, усилению апоптоза и всплеску воспалительных процессов. Более того, лучевая терапия может привести к нарушению функции эпителиального барьера кишечника, что приводит к повышенной проницаемости кишечника, диарее и нарушению усвоения воды и электролитов. В конечном итоге это может привести к гиповолемическому шоку, что ставит под угрозу жизнь.

Лучевой энтерит включает в себя пять фаз. Начальная фаза с образованием активных форм кислорода, которые приводят к повреждению ДНК. Фаза первичной реакции на повреждение с воспалением и апоптозом. Фаза усиления сигнала, во время которой происходит ещё большее воспаление и апоптоз. Фаза образования язв с нарушением эпителиального барьера, что способствует проникновению бактерий. Фаза заживления с пролиферацией клеток после прекращения лучевой терапии.

Слизистая тонкого кишечника имеет хорошее кровоснабжение, оксигенацию. Помимо этого, в ней содержится большое количество митохондрий в энтероцитах, лимфоидных образованиях, клетках гладкой мускулатуры, которые являются клеточными структурами стенки кишечника. Как следствие вышеперечисленного, кишечник относится к радиочувствительным тканям. В первые дни после облучения в ткани кишечника возникают существенные изменения. Нарушается микроциркуляция, строение ворсинок и крипт претерпевает существенные изменения, развивается ряд структурных и метаболических нарушений апикальной и базальной мембран энтероцитов. Это может привести к

появлению эрозий или некроза слизистой. Далее это препятствует выполнению кишечником его основных функций (переваривание и всасывание питательных веществ). Данное состояние может привести к возникновению у человека «энергетического голода», распространенного на другие ткани и органы. Это повлечет за собой гомеостатические изменения в целом [5].

При этом метаболической основой повреждения клеток и тканей ионизирующим излучением является нарушение процессов тканевого дыхания. Это обусловлено тем, что главным фактором негативного радиационного воздействия является образование активных форм кислорода, а в митохондриях локализуются основные кислородзависимые процессы клетки. Кроме того, митохондрии характеризуются высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот в составе фосфолипидов, радиационно-индуцированное окисление которых приводит к изменению структурно-функционального состояния мембран [3].

Исходя из основных патофизиологических и патоморфологических изменений слизистой пищевода при химическом ожоге, оправданными являются разработка и применение препаратов на основе календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) – однолетнее травянистое растение высотой 30 – 60 см. Она широко применяется в народной медицине. Это растение содержит различные активные компоненты, такие как сапонины, эфиры тритерпенола, флавоноиды, и обладает широким спектром фармакологической активности, включая противовоспалительное, антисептическое, ранозаживляющее, противовирусное и противогрибковое действие. Из нее готовят отвары, которые используют при лечении болезней печени, селезенки, желудка и кишечника. Компрессы из отваров цветков календулы рекомендуются при лечении ожогов, обморожений, различных язв и фурункулов. Известно, что активные формы кислорода (АФК) и активные формы азота (АФА) участвуют в патогенезе различных заболеваний человека и могут быть связаны с состояниями, для лечения которых используется *C. Officinalis*. Лекарственные препараты календулы оказывают положительный эффект как мочегонное средство, краснухе, рахите, головокружении, кашле, болях в животе (язва и спазмы желудка). Мази из спиртовой вытяжки календулы с вазелином помогают при различных травмах, бородавках, облегчают боли при ожогах и обморожении.

Лекарственные препараты из календулы широко применяются в практике современной медицины. Благодаря тому, что она обладает противовоспалительным, антиэкссудативным, антибактериальным и регенерирующим свойствами, календула широко используется в гастроэнтерологии, хирургии при лечении трофических язв на фоне хронической венозной недостаточности, стоматологической практике при парадонтозе и стоматите, эффективна при кольпитах и после эпизиотомии в гинекологии, в оториноларингологии для купирования тонзиллита и гингивита, в проктологии для лечения геморроя и анальных трещин, офтальмологии, дерматологии, при лечении лучевого и пеленочного дерматита, в травматологии при повреждении ахиллова сухожилия, в эндокринологии при сахарном диабете [7].

Весь широкий спектр действия обусловлен наличием в соцветиях календулы лекарственной многочисленных биологически активных веществ: флавоноиды, каротиноиды, тритерпеновые сапонины, дубильные вещества, органические смолы, горечи, слизи, следы алкалоидов, микроэлементы. Именно в цветках календулы отмечено самое высокое содержание суммы флавоноидов и каротиноидов (4,37 и 63,1 мг% соответственно), и небольшое их количество в листьях (0,45 и 2,92 мг%). Хотя в странах Западной Европы в качестве растительного сырья для создания гомеопатических средств используется вся надземная часть растения.

Именно за счет усиления антиоксидантных защитных механизмов при местном применении экстракта календулы ускоряется процесс регенерации тканей и улучшается качество грануляций, что способствует быстрой эпителизации ран.

Календула лекарственная является доминирующим компонентом средства «Вентрофит». Календула оказывает выраженное антиульцерогенное действие, препятствуя развитию атрофических и деструктивных процессов в слизистой оболочке желудка, сохраняя ее функциональную активность. Помимо этого, установлено уменьшение выраженности воспалительного процесса, количества крупных эрозий и полосовидных язв слизистой оболочки и сохранение ее кислото-, фермента- и слизиобразующей функций.

Капилляроукрепляющее действие «Калефлона» на основе календулы лекарственной позволяет использовать его при кровоточащих язвах и медикаментозных эрозиях желудка. Гастропротекторное действие флавоноидов связано не только с их прямой антиоксидантной активностью, но способностью уменьшать дезаминирование ДНК, и особенно связывать ионы железа, уменьшая при этом их негативное воздействие на слизистую желудка [6].

Выводы. Календула лекарственная обладает значительным потенциалом для применения в коррекции повреждений кишечника, вызванных лучевой терапией. Ее противовоспалительные и регенерирующие свойства могут способствовать восстановлению слизистой оболочки, нормализации микрофлоры и улучшению барьерной функции кишечника. Применение фитопрепаратов на основе календулы может стать важным дополнением к комплексной терапии пациентов, перенесших лучевое воздействие, улучшая их качество жизни и ускоряя процесс реабилитации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Belous Ye. M. The effect of electromagnetic radiation on health // International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Students "Problems of Fundamental Medicine", 19-20 December 2024. – Кемерово: КемГМУ, 2024. – С. 235-237.
2. Белоус Е. М. Влияние электромагнитного облучения на здоровый образ жизни // Межрегиональная научно-практическая конференция Актуальные проблемы профилактической медицины, посвященная 150-летию со дня рождения академика Н.А. Семашко, 12 декабря 2024. – Кемерово: КемГМУ, 2024. – С. 247-250.

3. Белоус Е. М. Синьковская К. Д. Образование активных форм кислорода в клетках. Роль митохондрий // Актуальные проблемы общей и клинической биохимии. – 2024: сборник материалов республиканской научно-практической конференции, Гродно, 24 мая 2024 года. – Гродно: Гродненский государственный медицинский университет, 2024. – С. 129-136.

4. Белоус Е.М. Повреждение тонкого кишечника при лучевой терапии и способы его защиты // Актуальные проблемы радиационной биологии. Модификация радиационно- индуцированных эффектов: Междунар. конф. (Дубна, 16–18 окт. 2024 г.): Матер. конф. – Дубна: ОИЯИ, 2024. – С. 48-50.

5. Белоус, Е. М. Энергетический метаболизм эритроцитов / Е. М. Белоус // Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине : сборник научных трудов 5-й Международной конференции, посвященной 155-летию со дня рождения профессора Е.С. Лондона, Санкт-Петербург, 05–06 декабря 2024 года. – Санкт-Петербург: Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, 2024. – С. 152-155.

6. Воскресенская, М.Л. Перспективы использования фитопрепарата на основе календулы лекарственной в комплексном лечении химического ожога пищевода/ Воскресенская М.Л., Плеханов А.Н., Доржиев Б.Д., Цыремпилов С.В. // Acta Biomedica Scientifica.– 2016. – № 1(5). – С. 175-180.

7. Маткаримова, А. А. Биоэкологические особенности некоторых лекарственных растений / Маткаримова А.А. [и др.] // International scientific review. – 2016. – № 18 (28). – С. 32-34.

РОЛЬ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА ПРИ РАДИАЦИОННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ

Белоус Е.М., Абрамович А.С., Станевка А.А.

*Гомельский государственный медицинский университет,
Гомель, Республика Беларусь*

Актуальность. Радиационное поражение остается одной из важных проблем медицины, экологии и радиобиологии в связи с рисками радиационных аварий, лучевой терапии онкологических заболеваний и космических полетов. Одним из основных механизмов повреждения клеток и тканей под действием ионизирующего излучения является генерация активных форм кислорода (АФК), вызывающих окислительный стресс, повреждение ДНК, липидов и белков. исследование роли АФК при радиационном поражении имеет фундаментальное и прикладное значение.

Цель: изучение литературных данных о роли активных форм кислорода при радиационном повреждении.

Материалы и методы исследования. Проанализированы и использованы источники литературы из библиографических баз данных PubMed и e.Library.

Результаты и их обсуждение. Радиация, кажется, далека от нашей жизни, но каждый человек на Земле постоянно подвергается воздействию радиации. Воздействие радиочастот от искусственных источников резко возросло с эрой передовых технологий. Люди не могли избежать таких радиочастотных излучений, поскольку они стали неотъемлемой частью нашей повседневной жизни, такой как Wi-Fi, микроволновые печи, телевизоры, мобильные телефоны [1, 8]. Есть и более масштабные источники радиации – ядерное оружие, используемое в войнах, аварии на промышленных и атомных электростанциях, случайное облучение от медицинских источников радиации, экологические факторы и ядерные террористические атаки – вот некоторые из способов, которыми люди сталкиваются с радиационными травмами. Если известен источник радиации, следует приложить все усилия, чтобы избежать воздействия радиации и сократить время воздействия, избегать источника радиации и искать убежище. Как только организм человека подвергся воздействию радиации, следует немедленно провести соответствующее обследование и оказать медицинскую помощь. Изучение воздействия солнечных радиации на ткани организма стало популярной темой с момента открытия рентгеновских лучей в конце 19 века. Радиация в целом делится на ионизирующее излучение (ИК) и неионизирующее излучение (НИР). ИК включает в себя альфа-, бета-, гамма- и нейтронные лучи, а также рентгеновские лучи [5, 12].

В настоящее время в мире насчитывается около 25 миллионов онкологических пациентов, но ожидается, что число людей, у которых диагностирован рак, возрастет до 75 миллионов в течение следующих 20 лет. Около шести миллионов онкологических пациентов в настоящее время получают лучевую терапию, как отдельно, так и в сочетании с другими методами, такими как хирургия, иммунотерапия, химиотерапия и гормональная терапия. Лучевая терапия является высокоэффективным методом лечения пациентов с опухолями. Она уничтожает раковые клетки, ускоряя их гибель. Однако лучевая терапия не является избирательной и, следовательно, наносит вред здоровым тканям вокруг раковой ткани.

Лучевая терапия (ЛТ) является важным инструментом в терапевтическом арсенале для лечения рака в брюшной полости и малого таза (желудочно-кишечные, урологические и гинекологические раковые заболевания), используемом отдельно или в сочетании с химиотерапией и/или хирургическим вмешательством. Технический прогресс и междисциплинарный подход способствовали существенному улучшению прогноза и выживаемости пациентов, проходящих лечение от рака, часто обеспечивая некалечащие органосохраняющие решения.

Тем не менее, контроль опухоли зависит от дозы доставленной ЛТ. Следовательно, любая терапевтическая схема, включающая ЛТ, должна учитывать гистологию и локализацию первичной опухоли, смежные анатомические структуры, а также хирургические предшествующие события, которые могут изменить анатомию. Это особенно актуально для тонкой кишки, расположение которой может ограничивать допустимую дозу облучения у

пациентов, проходящих абдомино-тазовую ЛТ. Тонкая кишка чрезвычайно радиочувствительна, и ЛТ может привести к повреждению стенки кишечника с инвалидизирующими функциональными последствиями и долгосрочным ухудшением качества жизни пациента.

Кишечник является очагом радиационной защиты [9]. Желудочно-кишечный тракт является нормальным путем входа и всасывания питательных веществ, имеет высокую степень структурной сложности и состоит из множества типов клеток, каждый из которых выполняет свою функцию. Он чувствителен к различным патогенным микроорганизмам, химическим и радиационным атакам. Исследования показали, что существует множество факторов, которые влияют на начальную дозу облучения при повреждении тонкого кишечника.

Во-первых, различные типы излучения вызывают разную степень повреждения кишечника. Например, нейтронное излучение вызывает более серьезное повреждение кишечника, чем гамма-фотонное излучение.

Во-вторых, объем облученного тонкого кишечника также является важным фактором: чем больше объем облучения, тем серьезнее повреждение. Облученный объем тонкого кишечника влияет не только на острое повреждение тонкого кишечника, но и на хроническое повреждение [11]. Эмами и другие оценили дозу облучения, связанную с отсроченной токсичностью тонкого кишечника. При облучении одной трети тонкого кишечника TD5/5 (5% вероятность появления травмы в течение следующих 5 лет) и TD50/5 (50% вероятность появления травмы в течение следующих 5 лет) оцениваются в 50 Гр и 60 Гр соответственно. В то время как TD5/5 и TD50/5 облучения всего органа составляют 40 Гр и 55 Гр. Кроме того, фиксированные части отдела тонкого кишечника более чувствительны к радиации. Поскольку рост эпителиальных клеток тонкого кишечника имеет циркадный ритм, период времени воздействия в течение дня также может влиять на тяжесть поражения. Эти неопределенности делают невозможным иметь четкий порог радиационного поражения тонкого кишечника. Острое радиационное повреждение возникает, когда системная доза превышает 2 Гр, и по мере увеличения уровня радиационного воздействия тяжесть симптомов также увеличивается. Исследования также показали, что дозы до 1,5 Гр могут вызвать продромальную стадию тошноты, рвоты и рака желудка. В некоторых экспериментах доза, вызвавшая коллапс желудочно-кишечного тракта, составляла 6–10 Гр. В то время как некоторые исследователи полагают, что потеря клеток кишечных крипт и разрушение слизистого барьера происходит в диапазоне от 5 до 12 Гр [6]. Хотя в прошлом считалось, что трудно избежать последствий такого лечения, профилактика этих последствий, а также шаги, предпринимаемые для улучшения качества жизни этих пациентов, стали приоритетом для ученых обществ. Как и в случае оценки токсичности противораковых методов лечения, этот приоритет подтверждается целями Французского онкологического проекта 2014–2019 гг.

Предыдущие исследования показали, что наиболее значимым состоянием, возникающим в результате облучения в дозе 6–8 Грей (Гр),

является желудочно-кишечный синдром, последствия которого включают анорексию, летаргию, инфекцию, потерю жидкости и электролитов, а также снижение кишечной абсорбции, связанное с потерей ворсинок и задержкой в желудке. Последние исследования показали, что облучение биологических материалов вызывает ферроптоз. Ферроптоз – это зависимая от железа регулируемая клеточная смерть, которая в основном проявляется в выработке активных форм кислорода (АФК) и накоплении перекисей липидов. АФК вызывают повреждение клеток, оказывая неблагоприятное воздействие на механизмы антиоксидантной защиты за счет снижения уровня глутатиона и повышения уровня малонового диальдегида (МДА). Недавние исследования также показали, что АФК вызывают повреждение ДНК и приводят к апоптозу, зависимому от каспазы. Активация каскада каспазы-3 играет очень важную роль в апоптозе и рассматривается как конечное событие перед гибелью клетки и усиливается под воздействием радиации. Ферроптоз отличается от других форм клеточной смерти с точки зрения морфологии и биохимии, в частности нарушением функции митохондрий. Митохондрии – это важнейшие органеллы, в которых организм вырабатывает энергию, и они тесно связаны с ферроптозом. В настоящее время исследователи изучают потенциальную ценность ферроптоза и митохондрий для преодоления лекарственной чувствительности и лечения рака [10].

Повреждения, вызываемые ферроптозом в митохондриях, включают набухание митохондрий, уменьшение или исчезновение митохондриальных крист, изменения потенциала и проницаемости митохондриальной мембраны. Предыдущие исследования показали, что ферроптоз не требует участия митохондрий, и при истощении мтДНК в клетках остеосаркомы человека не наблюдалось влияния митохондрий на ферроптоз, вызванный эрастином. Однако всё больше данных указывает на то, что митохондрии играют важную роль в индукции ферроптоза посредством клеточного метаболического пути. Роль митохондрий в ферроптозе в основном отражается на цикле трикарбоновых кислот, окислительном фосфорилировании, митохондриальной регуляции ионов железа и мтДНК [4].

Цикл трикарбоновых кислот является ключевым метаболическим путем, протекающим в митохондриях клеток. Это серия химических реакций, которые генерируют энергию путем окисления ацетил-КоА, который является производным углеводов, жиров и белков. Цикл трикарбоновых кислот является важной частью клеточного дыхания, которое является ключевым процессом энергетического метаболизма. Митохондриальная цепь переноса электронов (ЭТЦ) включает в себя ряд белковых комплексов и молекул-переносчиков электронов внутри внутренней мембраны митохондрий. Цикл трикарбоновых кислот и электрон-транспортная цепь митохондрий тесно связаны; цикл трикарбоновых кислот генерирует восстановительные эквиваленты в виде НАДН и ФАДН₂, которые используются электрон-транспортной цепью для выработки аденозинтрифосфата (АТФ). Исследования показали, что цикл трикарбоновых кислот и митохондриальный ЭТЦ играют важную роль в ферроптозе. Разница между ними заключается в активации различных

митохондриальных комплексов. Другой возможный механизм заключается в том, что ЭТЦ создаёт протонную движущую силу. Аденозинмонофосфат-активируемая протеинкиназа, активируемая АМФ, является датчиком энергии. Раковые клетки с высокой базальной активацией АМФ устойчивы к ферроптозу, в то время как инактивация АМФ делает эти клетки чувствительными к ферроптозу. Кроме того, синтез АТФ, который ингибирует АМФ, фермент, способный блокировать ферроптоз, подавляя биосинтез полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК).

Фумаратгидратаза (ФГ), эволюционно консервативный фермент цикла трикарбоновых кислот, обратимо катализирует гидратацию фумарата до L-малата. Потеря ФН в значительной степени способствует онкогенезу. Активность GPX4 снижается в клетках с инактивированной ФН, что приводит к накоплению перекисей липидов и последующей окислительной гибели клеток (ферроптозу) при наследственном лейомиоматозе и почечно-клеточном раке (ПКРК). Более того, потеря ФН делает рак почек устойчивым к ферроптозу, вызванному дефицитом цистеина. Эти исследования показывают, что экспрессия ФН положительно коррелирует с возникновением ферроптоза, связанного с митохондриями, при подавлении роста опухоли.

Глутамин – важная заменимая аминокислота в организме человека, которая широко используется в биосинтезе и выработке энергии глутатиона. Подавление глутамина может способствовать циклу трикарбоновых кислот, поскольку глутамат образуется из глутамина с помощью глутаминазы. Стоит отметить, что глутаминаза имеет два подтипа, глутаминаза1 и глутаминаза2, и только глутаминаза2 участвует в процессе ферроптоза. Молекулярный механизм заключается в том, что только глутамат, образующийся в результате расщепления глутамина с помощью глутаминазы2 может способствовать образованию α -кетоглутарата и последующему усилению образования перекисей липидов, тем самым вызывая ферроптоз. Ингибирование глутаминализа в раковых клетках может подавлять активность цикла трикарбоновых кислот в раковых клетках и вызывать ряд функциональных изменений в митохондриях, таких как снижение деполяризации потенциала митохондриальной мембраны и подавление активности ЭТЦ. Тем самым снижая уровень липидных АФК и повышая устойчивость к ферроптозу. Как известно, глутамат и глутамин являются важными активными регуляторами клеточного ферроптоза. Высокие концентрации глутамата и глюкозы ограничивают клеточную концентрацию цистина, снижая синтез глутатиона. Это приводит к повышению уровня АФК и ферроптозу. Это показывает, что глутаминилирование имеет решающее значение для возникновения ферроптоза.

Митохондриальный цикл трикарбоновых кислот является центром внутриклеточной окислительно-восстановительной реакции, которая тесно связана с образованием активных форм кислорода и перекисным окислением липидов [3]. Побочные продукты нормального метаболизма и гомеостаза митохондрий включают накопление потенциально опасных уровней активных форм кислорода (АФК), Ca^{2+} и т. д., которые необходимо нормализовать. Данные свидетельствуют о том, что кратковременные открытия пор

переходной проницаемости митохондрий (мПТП) играют важную физиологическую роль в поддержании здорового гомеостаза митохондрий. Адаптивные и неадаптивные ответы на окислительно-восстановительный стресс могут включать митохондриальные каналы, такие как мПТП и внутренний мембранный анионный канал (МАК). Их активация вызывает изменения внутри- и межмитохондриальной окислительно-восстановительной среды, приводящие к высвобождению АФК. Этот регенеративный цикл образования и высвобождения митохондриальных АФК был назван АФК-индуцированным высвобождением АФК. Кратковременное обратимое высвобождение АФК, связанное с открытием мПТП, по-видимому, представляет собой адаптивную функцию ведения домашнего хозяйства путем своевременного высвобождения из митохондрий накопленных потенциально токсичных уровней АФК (и Ca^{2+}). При более высоких уровнях АФК более длинные открытия мПТП могут высвобождать всплеск АФК, приводящий к разрушению митохондрий, а при распространении от митохондрии к митохондрии – и самой клетки. Разрушительная функция АИВА может выполнять физиологическую роль, удаляя нежелательные клетки или поврежденные митохондрии, или вызывать патологическую элиминацию жизненно важных и необходимых митохондрий и клеток. Адаптивное высвобождение достаточного количества АФК от митохондрий может также активировать локальные пулы редокс-чувствительных ферментов, участвующих в защитных сигнальных путях, которые ограничивают ишемическое повреждение митохондрий и клеток в этой области. Неадаптивный АИВА, связанный с мПТП или МАК, также может играть роль в старении.

Фотоактивированные активные формы кислорода могут вызывать индукцию митохондриальной поры перехода проницаемости в отдельных митохондриях в интактных клеточных системах. Феномен запуска под действием активных форм кислорода, связанный с дальнейшей стимуляцией образования активных форм кислорода, был назван «вызванным АФК высвобождением АФК». Открытие мПТП является митохондриальным ответом на окислительный вызов, приводящим к усилению сигнала АФК, который в зависимости от уровня АФК может приводить к различным результатам. В дополнение к эффектам АФК в тех митохондриях (где возник АИВА), АФК, высвобождаемые в цитозоль, могут вызывать сложный клеточный сигнальный ответ и/или АИВА в соседних митохондриях. В последнем случае транспортировка АФК между митохондриями может представлять собой механизм положительной обратной связи, приводящий к повышенной продукции АФК, которая может распространяться по всей клетке и может вызывать ощутимые митохондриальные и клеточные повреждения.

Хотя фотоиндуцированное образование АФК изначально могло использоваться в экспериментальных условиях в качестве триггера для более массивного, лавинообразного высвобождения АФК, это явление представляет собой более фундаментальный механизм, например, независимые от света спонтанные окислительно-восстановительные переходы, связанные с

индукцией мПТП или других митохондриальных каналов, которые могут происходить при различных физиологических или патологических состояниях с соответствующим воздействием на митохондриальную и клеточную физиологию [2]. Выявлен эффект снижения потребления кислорода в присутствии и 2,4-динитрофенола после облучения. В настоящее время разобшители исследуются как возможные противоопухолевые агенты. Исследование действия на противоопухолевую активность разобшителей, таких как FCCP (carbonyl cyanide p-trifluoromethoxyphenylhydrazone), никлозамиде и других показало, что они обладают способностью тормозить рост экспериментальных опухолей, как в культуре клеток, так и в экспериментах *in vivo*. Одним из аспектов противоопухолевого действия разобшителей является ингибирование роста сосудов. Одним из наиболее изучаемых разобшителей является 2,4-динитрофенол (ДНФ). Это соединение было первым веществом, идентифицированным как разобшитель. История применения ДНФ в качестве лекарственного средства уходит в 30-ые г. 20-го в., когда его впервые использовали в качестве средства для похудения. 2,4-Динитрофенол (ДНФ) принадлежит к особой группе веществ, вызывающих разобщение дыхания и фосфорилирования в митохондриях. В результате активируется митохондриальная АТФ-аза и клетки ощущают нехватку АТФ. ДНФ действует на рост опухоли примерно так же, как и ранее исследованные другие вещества со свойствами разобщения. По-видимому, этот класс соединений вряд ли найдет применение в монотерапии, но благодаря уменьшению уровня АТФ в клетках опухоли должно происходить ослабление функционирования Р-гликопротеинов – белков, способствующих выбросу цитостатиков из клетки.

Для функционирования Р-гликопротеинов требуется большое количество АТФ, поэтому совместное действие ингибиторов гликолиза и митохондриального дыхания усилит действие цитостатиков. Другой путь использования разобшителей связан с совместным введением их с ингибиторами гликолиза. Вызванная разобшителями нехватка АТФ в опухолевых клетках, требующих постоянного притока энергии для своего роста, не может быть восполнена за счет гликолиза, что приводит или к прекращению роста опухоли, или к апоптозу. Совместное использование ингибиторов гликолиза и митохондриального дыхания дает обнадеживающие результаты в дальнейшем поиске комбинации этих двух классов ингибиторов [7].

Н-ацетилцистеин (НАЦ) – это вещество, которое особенно часто используется в качестве антидота при отравлениях муколитическими и анальгетическими препаратами. Кроме того, НАЦ является антиоксидантом, который позволяет устранять свободные радикалы кислорода и способствует синтезу глутатиона. НАЦ играет активную роль в устранении свободных радикалов кислорода, увеличивая уровень глутатиона в тканях. Кроме того, сообщалось, что НАЦ ингибирует апоптоз, вызванный АФК, путем снижения экспрессии каспазы-3.

В нескольких исследованиях сообщалось, что из-за быстрого цикла кишечного эпителия тонкий кишечник весьма чувствителен к острой и

хронической токсичности, развивающейся в связи с лучевой терапией. Эль-Газали и др. сообщили, что сращивание эпителиальных клеток кишечника в результате ионизирующего излучения привело к слиянию кишечных ворсинок. Эллиотт и др. сообщили, что ионизирующее излучение привело к дозозависимому уменьшению структур ворсинок и крипт. В этом исследовании также сообщалось, что воздействие ионизирующего излучения привело к повреждению крипт, а также ворсинок. Однократная доза ионизирующего излучения в 6 Гр привела к серьезной потере ворсинок и крипт. Кроме того, мы наблюдали сращивание эпителия ворсинок. Кианг и др. также сообщили, что однократная доза гамма-излучения в 8,75 Гр привела к отеку и утолщению, связанному с кровоизлиянием в структуре ворсинок.

Хотя механизм острого желудочно-кишечного синдрома, развивающегося в связи с ионизирующим излучением, до конца не изучен, недавние исследования выявили окислительный стресс, развивающийся в связи с увеличением продукции АФК. АФК приводят к повреждению клеток посредством неблагоприятного воздействия на механизмы антиоксидантной защиты, снижая сниженные уровни глутатиона. Ву и др. также показали, что глутатион является важным продуктом для предотвращения повреждения тканей от АФК и снижается из-за эффекта повреждения. В исследованиях было показано, что уровень глутатиона снижается при повреждении радиацией в соответствии с предыдущими исследованиями [6].

ЛИТЕРАТУРА

1. Belous Ye. M. The effect of electromagnetic radiation on health // International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Students "Problems of Fundamental Medicine", 19-20 December 2024. – Кемерово: КемГМУ, 2024. – С. 235-237.
2. Dmitry B Zorov. Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-Induced ROS Release / Dmitry B Zorov [et al.] // Physiological reviews. –2014. – Vol. 94, ess. 3. – P.909–950.
3. John Si. Mitochondria in health, disease, and aging / John Si [et al.] // Physiological reviews. – 2023. – Vol. 103, ess. 4. – P. 2349–2422.
4. Kai Sun. The mitochondrial regulation in ferroptosis signaling pathway and its potential strategies for cancer / Kai Sun [et al.] // Biomed Pharmacother.–2023. – Vol. 31, ess. 169. – P. 1–10.
5. Loge L. Radiation enteritis: Diagnostic and therapeutic issues / Loge L [et al.] // J Visc Surg. – 2020. – Vol. 157, ess 6. – P. 475–485.
6. Mercantepe Filiz. The effects of N-acetylcysteine on radiotherapy-induced small intestinal damage in rats / Mercantepe Filiz [et al.] // Exp Biol Med. – 2019. – Vol. 244, ess. 5. – P. 372-379.
7. Антошина, Е. Е. Действие митохондриального разобщителя 2,4-динитрофенола на рост перевариваемой аденокарциномы молочной железы мышей CA755 / Антошина Е. Е. [и др.] // Цитология. – 2019. – Т. 61, № 9, стр. 735–739.

8. Белоус Е. М. Влияние электромагнитного облучения на здоровый образ жизни // Межрегиональная научно-практическая конференция Актуальные проблемы профилактической медицины, посвященная 150-летию со дня рождения академика Н.А. Семашко, 12 декабря 2024. – Кемерово: КемГМУ, 2024. – С. 247-250.

9. Белоус, Е. М. Повреждение тонкого кишечника при лучевой терапии и способы его защиты // Актуальные проблемы радиационной биологии. Модификация радиационно- индуцированных эффектов: Междунар. конф. (Дубна, 16–18 окт. 2024 г.): Матер. конф. – Дубна: ОИЯИ, 2024. – С. 48-50.

10. Белоус, Е. М. Синьковская К. Д. Образование активных форм кислорода в клетках. Роль митохондрий // Актуальные проблемы общей и клинической биохимии. – 2024: сборник материалов республиканской научно-практической конференции, Гродно, 24 мая 2024 года. – Гродно: Гродненский государственный медицинский университет, 2024. – С. 129–136.

11. Белоус, Е. М. Энергетический метаболизм энтероцитов / Е. М. Белоус // Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине : сборник научных трудов 5-й Международной конференции, посвященной 155-летию со дня рождения профессора Е.С. Лондона, Санкт-Петербург, 05–06 декабря 2024 года. – Санкт-Петербург: Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, 2024. – С. 152–155.

12. Химические и природные субстанции для защиты от радиационного поражения / А. В. Литвинчук, О. С. Логвинович, А. О. Шпаньков [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. – 2024. – Т. 21, № 4. – С. 16-25. – DOI 10.51523/2708-6011.2024-21-4-02.

РОЛЬ ПИРУВАТА И ЛАКТАТА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ

Виницкая А.Г.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

В настоящее время не вызывает сомнения факт, что в нормальных физиологических условиях глюкоза является основным энергетическим субстратом для клеток головного мозга [1, 5]. Известно, что глюкоза поступает в нейроны посредством переносчика глюкозы (GluT) и метаболизируется в аэробном гликолизе до пирувата. При достаточном поступлении кислорода пируват используется как основной энергетический субстрат для генерации АТФ в митохондриях. При избытке пируват преобразуется в молочную кислоту лактатдегидрогеназой (ЛДГ) в присутствии НАДН [20]. Альтернативные источники энергии для мозга используются значительно реже. Это – кетоновые тела (при голодании), или пируват и лактат [12, 14].

Лактат и пируват. Большая часть лактата в мозге считается «гликолитической», происходящей из метаболизма глюкозы *in situ*, путем

Эмбдена-Мейерхофа, в пируват, за которым следует преобразование пирувата в лактат под действием лактатдегидрогеназы (ЛДГ). К другим источникам лактата в мозге относят поглощение его из кровообращения, синтез лактата из пирувата или из гликолитических субстратов, образованных в неокислительной фазе пентозофосфатного пути [2].

Экзогенный лактат способен проникать в клетки мозга из кровотока посредством переносчиков монокарбоксилата (МСТ). Метаболизм лактата в основном происходит в астроцитах, где он окисляется до пирувата в присутствии НАД⁺. Это объясняет, почему внеклеточный лактат может эффективно служить энергетическим топливом для клеток мозга, особенно в патологических условиях. Было показано, что ряд неврологических расстройств характеризуются окислительным стрессом и повышенным уровнем интерстициального глутамата, которые относятся к факторам развития эксайтотоксичности [20]. Окислительный стресс возникает из-за избыточного синтеза активных форм кислорода (АФК), в то время как глутамат способствует накоплению в цитоплазме ионов Ca^{2+} . Одним из эффектов АФК является повреждение ДНК, что приводит к гиперактивации фермента поли-АДФ рибозополимеразы-1, который активно утилизирует цитозольный НАД⁺ и приводит к снижению его запасов [20]. Именно истощение запасов НАД⁺ при окислительном стрессе вызывает угнетение гликолиза, поскольку для этапа превращения глицеральдегид-3-фосфата в 3-фосфоглицерат, требуются две молекулы НАД⁺. Это приводит к недостаточному выходу пирувата и снижению выработки митохондриального АТФ. Более того, истощение НАД⁺ делает неэффективным превращение лактата в пируват, и лактат больше не может служить энергетическим субстратом [20].

Было показано, что введение экзогенного пирувата оказывало нейропротекторное действие на клетки мозга за счет угнетения им активности PARP-1 что предотвращало истощение пула НАД⁺ для превращения глюкозы по аэробному пути. Пируват также ингибировал экспрессию провоспалительных белков: фактора некроза опухоли, интерлейкина 6 (ИЛ-6) и других [20]. Добавление пирувата также способствовало увеличению запасов гликогена в астроцитах и восстанавливало синаптическую активность в срезах мозга, в условиях лишения клеток глюкозы [10].

Согласно Carpenter K. L., (2014) повышение концентрация лактата в мозге может быть результатом дисфункции митохондрий или общего истощения запасов кислорода или НАД⁺, необходимых для продолжения гликолиза. Известно, что молекулярный кислород является конечным акцептором электронов в цепи переноса электронов (ЦПЭ), и его достаточное присутствие жизненно важно для функционирования митохондрий. Однако митохондрии могут стать дисфункциональными даже в присутствии кислорода, например, при повреждении какого-либо компонента ЦПЭ или любом нарушении активности цикла Кребса [2].

Уровень лактата в мозге определяется не только активностью его синтеза из пирувата, но интенсивностью его потребления в разных клетках мозга. Так, в работе Gallagher C. N., (2009) было показано, что наиболее активно лактат

производится из глюкозы в астроцитах в результате анаэробного гликолиза. Затем лактат активно поглощается нейронами, которые превращают его в пируват, активно используемый для производства энергии в митохондриях [16]. Таким образом, при повреждении нейронов возникает высокий уровень внеклеточного лактата и снижается уровень производимого АТФ за счет разобщения нейронального и глиального метаболизма [16].

На баланс между уровнями пирувата и лактата в мозге влияет характер изоферментов ЛДГ в нейронах и глиальных клетках. Было показано, что в нейронах преобладает изофермент «сердечного типа» - ЛДГ1, особенностью которого является окисление лактата в пируват. преимущественно переводит лактат в пируват, подготавливая его к реакциям ЦТК. Однако в астроцитах обнаружено больше активности изофермента ЛДГ5 («мышечного типа»), который преимущественно переводит пируват в лактат. Активность ЛДГ5 в нейронах выражена в гораздо меньшей степени [13].

Анаплеротическая функция пирувата в энергетическом обмене головного мозга

Важной особенностью энергетического обмена в головном мозге является использование анаплеротических (дополняющих) реакций для поддержания функциональной активности нейронов и протекания в них энергетических реакций. Такую дополняющую функцию выполняет процесс фиксации углекислого газа в реакции, катализируемой пируваткарбоксилазой. Реакция карбоксилирования пирувата с образованием оксалоацетата функционально важна для синтеза глутамата и поддержания активности ЦТК [19] (рисунок 1)

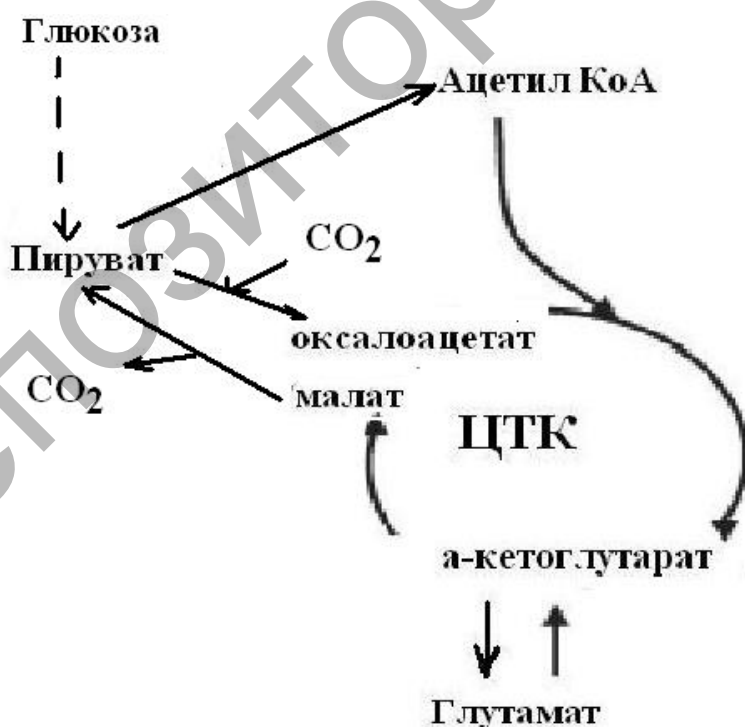


Рисунок 1 – Анаплеротические реакции метаболизма пирувата и глутамата и их роль в функционировании ЦТК в головном мозге (адаптировано из Waagepetersen H.S., et al (2009)[19])

Согласно схеме, представленной в работе Waagepetersen H.S., et al (2009) превращение пирувата в головном мозге происходит с участием **пируваткарбоксилаза (ПК)**, **фосфоенолпируват карбоксикиназа (ФЭПК-КК)** и **малик фермент (МФ)**. Эти ферменты обладают высокой активностью в головном мозге, и наиболее важным из них является ПК [4, 17, 19]. Иммуноцитохимические методы исследования и опыты на культурах клеток выявили специфическую локализацию этих ферментов. Так, было показано, что наибольшая активность цитоплазматических пируваткарбоксилазы и МФ определялась в астроцитах. В то же время, МФ и ФЭПК-КК митохондриальной локализации определялись в обоих типах клеток, но большей степени - в нейронах [8, 15]. Поскольку процесс карбоксилирования пирувата происходит исключительно в астроглиальном компартменте, был сделан вывод об исключительной важности митохондрий астроцитов для синтеза интермедиатов ЦТК [1, 7, 9].

Активность МФ и ФЭПК-КК частично определялась в митохондриях нейронов, что свидетельствует о способности нейронов фиксировать углекислый газ и получать оксалоацетат и малат для активации реакций ЦТК. Это было продемонстрировано в работе Hassel B. (2001) [6], использовавших радиоактивно меченные субстраты, и доказавших наличие карбоксилирования в изолированных глутаматергических нейронах мозжечка. Роль анаэробного карбоксилирования пирувата различалась на разных стадиях онтогенеза. Было показано, что во время постнатального развития карбоксилирование пирувата в мозге особенно активно способствует повышению концентраций глутамата и глутамина, тогда как во взрослом мозге этот процесс менее выражен [1, 18].

В настоящее время, общепринято предположение, взрослый мозг нуждается в восполнении субстратного фонда ЦТК, когда 4 (или более) углеродных атомов покидают мозг в форме синтезированных молекул глутамата или глутамина. Это происходит также, когда пируват метаболизируется до CO_2 в реакциях ЦТК. Последний процесс был назван **рециклинг пирувата** (pyruvate recycling), или повторным синтезом пирувата для нужд ЦТК [1, 9].

Рециклинг пирувата в головном мозге впервые был продемонстрирован Cerdan et al. (1990) [3]. Авторы вводили дважды меченный субстрат [$1,2\text{-}^{13}\text{C}$]-ацетата культивируемым астроцитам и отметили появление радиоактивной метки в продуктах [$1\text{-}^{13}\text{C}$]-ацетил КоА и [$2\text{-}^{13}\text{C}$]-ацетил КоА. Дальнейшее превращение мономеченных молекул ацетил КоА привело к появлению в среде глутамата, с расположением радиоактивной метки, как в С-4, так и в С-5 положениях. Авторы проанализировали возможные пути миграции атомов углерода ^{13}C в реакциях ЦТК и предложили следующее объяснение. Ацетил КоА, образованный из меченого ацетата, был подвергнут одному обороту превращения в ЦТК, в ходе которого сформировался пируват. Этот пируват был повторно метаболизирован в ходе ЦТК, с переводом радиоактивной метки в [$4\text{-}^{13}\text{C}$]-глутамат и [$5\text{-}^{13}\text{C}$]-глутамат. Основываясь на наблюдении, что в ходе реакций радиоактивная метка появилась в молекулах глутамата, а не глутамина,

было сделано предположение, что рециклинг пирувата происходит в нейронах, поскольку в них нет активности глутамин синтетазы [3, 11]. Рециклинг пирувата был позже подтвержден в работе [6], на основании образования [2-¹³C]-лактата из [2-¹³C]-ацетата и [1-¹²C]-глюкозы при введении этих субстратов клеточным культурам нейронов и глиальных клеток. Поскольку основным источником меченого лактата оказался из [2-¹³C]-ацетата, а не [1-¹²C]-глюкоза, авторы заключили, что местом рециклинга пирувата являются скорее астроциты, чем нейроны [6].

Заключение. Таким образом, лактат и пируват являются важными энергетическими субстратами в головном мозге, с особенностями метаболизма в нейронах и глиальных клетках. Образование пирувата в мозге происходит: при окислении лактата посредством ЛДГ [13]; декарбоксилировании малата в пируват малик-ферментом [8]; превращении оксалацетата в ФЕПК с удалением молекулы CO₂, катализируемое ФЕПК-карбоксикиназой. Затем в пируваткиназной реакции происходит образование пирувата из ФЕПК [6, 8, 15]. Известно, что образование ФЕПК из оксалацетата относится к реакциям глюконеогенеза, который несвойственен головному мозгу [19]. Следовательно, образование пирувата в мозге используется исключительно в целях окислительного метаболизма субстратов ЦТК и образования из них таких аминокислот, как глутамат, глутамин, аспартат и ГАМК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич, В. В. Алкоголь и мозг (метаболические аспекты) : монография / В. В. Лелевич, С. В. Лелевич, А. Г. Веницкая. – Гродно : ГрГМУ, 2019. – 244 с.
2. Carpenter, K. L. Glycolysis and the significance of lactate in traumatic brain injury / K. L. Carpenter, I. Jalloh, P. J. Hutchinson // Front Neurosci. – 2015. N 9. – P. 112. doi: 10.3389/fnins.2015.00112. PMID: 25904838; PMCID: PMC4389375
3. Cerdan, S.. Cerebral metabolism of [1,2-¹³C₂]acetate as detected by in vivo and in vitro ¹³C NMR / S. Cerdan, B. Künnecke, J. Seelig // J Biol Chem. – 1990. – Vol. 265, N 22. – P. 12916-12926. PMID: 1973931.
4. Cerebral pyruvate carboxylase flux is unaltered during bicuculline seizures / A. B. Patel, G. M. Chowdhury, R. A de Graaf, [et al] // J Neurosci Res. – 2005. – Vol. 79, N 1-2. – P. 128-138. doi: 10.1002/jnr.20311.
5. Cisternas, P. Brain glucose metabolism: Role of Wnt signaling in the metabolic impairment in Alzheimer's disease / P. Cisternas, N. C. Inestrosa // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. – 2017. – Vol. 80. – P. 316-328. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.06.004>.
6. Hassel, B. Pyruvate carboxylation in neurons / B. Hassel // J Neurosci Res. – 2001. – Vol. 66, N 5. – P. 755-762. doi: 10.1002/jnr.10044. PMID: 11746399.
7. Kreft, M. Aspects of astrocyte energy metabolism, amino acid neurotransmitter homeostasis and metabolic compartmentation / M. Kreft, L.K. Bak, H.S. Waagepetersen, A. Schousboe // ASN Neuro. – 2012. – Vol. 4, N 3 :e00086. doi: 10.1042/AN20120007. PMID: 22435484; PMCID: PMC3338196.

8. Mitochondrial malic enzyme activity is much higher in mitochondria from cortical synaptic terminals compared with mitochondria from primary cultures of cortical neurons or cerebellar granule cells / M. C. McKenna, J. H. Stevenson, X. Huang, [et al] // *Neurochem Int.* – 2000. Vol. 36, N 4-5. – P. 451-459. doi: 10.1016/s0197-0186(99)00148-5. PMID: 10733013.
9. Olstad, E. Pyruvate recycling in cultured neurons from cerebellum / E. Olstad, G. M. Olsen, H. Qu, U. Sonnewald // *J Neurosci Res.* – 2007. – Vol. 85, N 15. – P. 3318-3325. doi: 10.1002/jnr.21208. PMID: 17304574.
10. Pyruvate incubation enhances glycogen stores and sustains neuronal function during subsequent glucose deprivation / P. K. Shetty, M. P. Sadgrove, F. Galeffi, [et al] // *Neurobiol. Dis.* - 2012. – Vol. 45. – P. 177–187 10.1016/j.nbd.2011.08.002
11. ¹³C Pyruvate Transport Across the Blood-Brain Barrier in Preclinical Hyperpolarised MRI / J. J. Miller, J. T. Grist, S. Serres [et al] // *Sci Rep.* – 2018. – Vol. 8. P. 15082 <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33363-5>
12. Quantifying normal human brain metabolism using hyperpolarized [1–¹³C]pyruvate and magnetic resonance imaging / J. T. Grist, M. A. McLean, F. Riemer, R. F. Schulte, [et al] // *NeuroImage.* – 2019. Vol. 189. – P. 171-179, <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.01.027>.
13. Selective distribution of lactate dehydrogenase isoenzymes in neurons and astrocytes of human brain / P. G. Bittar, Y. Charnay, L. Pellerin, [et al] // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 1996. – Vol. 16. – P. 1079–1089. 10.1097/00004647-199611000-00001
14. Sethuraman, M. Chapter 4 – Neurophysiology/ M. Sethuraman. - Editor(s): Hemanshu Prabhakar, *Essentials of Neuroanesthesia*, Academic Press, 2017, Pages 61-90, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805299-0.00004-X>.
15. Shank, R. P. Alpha-ketoglutarate and malate uptake and metabolism by synaptosomes: further evidence for an astrocyte-to-neuron metabolic shuttle / R. P. Shank, G. L. Campbell // *J Neurochem.* – 1984. Vol. 42, N 4. – P. 1153-1161. doi: 10.1111/j.1471-4159.1984.tb12724.x. PMID: 6699641.
16. The human brain utilizes lactate via the tricarboxylic acid cycle: a ¹³C-labelled microdialysis and high-resolution nuclear magnetic resonance study / C. N. Gallagher, K. L. Carpenter, P. Grice [et al] // *Brain.* – 2009. – Vol.132, Issue 10. – P. 2839–2849, <https://doi.org/10.1093/brain/awp202>
17. The presence of pyruvate carboxylase in the human brain and its role in the survival of cultured human astrocytes / E. Gondáš, A. Kráľová Trnčíková, J. Šofranko, [et al] // *Physiol Res.* – 2023. – Vol. 72, N 3. – P. 403-414. doi: 10.33549/physiolres.935026. PMID: 37449752; PMCID: PMC10669001.
18. Tkáč. I. Developmental and regional changes in the neurochemical profile of the rat brain determined by in vivo ¹H NMR spectroscopy // I. Tkáč, R. Rao, M. K. Georgieff // *Magn Reson Med.* – 2003. Vol. 50, N 1. – P. 24-32. doi: 10.1002/mrm.10497. PMID: 12815675.
19. Waagepetersen, H. S. Energy and Amino Acid Neurotransmitter Metabolism in Astrocytes / H. S. Waagepetersen, U. Sonnewald, A. Schousboe. -

Astrocytes in (Patho)Physiology of the Nervous System. – 2008. -P.177-200
https://doi.org/10.1007/978-0-387-79492-1_7

20. Zilberter, Y. A unique array of neuroprotective effects of pyruvate in neuropathology / Y. Zilberter, O. Gubkina, A. I. Ivanov // Front Neurosci. – 2015. – Vol. 9:17. doi: 10.3389/fnins.2015.00017. PMID: 25741230; PMCID: PMC4330789.

БИОМАРКЕРЫ В ДИАГНОСТИКЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Волчкевич О.М.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) остаются одной из основных причин смертности во всем мире, вызывая значительные экономические и социальные потери. По данным Всемирной организации здравоохранения, в 2021 году ССЗ стали причиной почти 18 миллионов смертей, что составляет около 32% всех случаев летального исхода [17]. Эффективная диагностика и прогнозирование этих заболеваний имеют важное значение для снижения заболеваемости и улучшения качества жизни пациентов.

Биомаркеры, которые представляют собой молекулы, выявляемые в организме, играют значимую роль в клинической практике, позволяя проводить раннюю диагностику, оценивать прогрессирование заболевания и определять эффективность терапии. Эти молекулы могут варьироваться от белков и нуклеиновых кислот до метаболитов, каждый из которых имеет свои уникальные характеристики и клиническое применение [15].

Существующие биомаркеры, такие как тропонины, натрийуретические пептиды и С-реактивный белок, уже нашли широкое применение в практике и значительно улучшили возможности ранней диагностики инфаркта миокарда и сердечной недостаточности [8]. Однако, несмотря на успехи, многие аспекты взаимодействия биомаркеров и патофизиологии ССЗ все еще требуют дальнейшего изучения.

В последние годы наблюдается активный рост интереса к новым биомаркерам, таким как микроРНК и метаболиты, которые могут предложить дополнительные возможности для диагностики и мониторинга сердечно-сосудистых заболеваний [3]. Это открывает новые горизонты для персонализированного подхода в лечении, позволяя более точно прогнозировать риск развития ССЗ у различных групп населения.

Таким образом, изучение биомаркеров в контексте сердечно-сосудистых заболеваний представляет собой важную область науки, способствующую улучшению клинической практики и повышению эффективности лечения.

Классификация биомаркеров.

Биомаркеры можно классифицировать по различным критериям, что позволяет более четко определить их применение в клинической практике.

Одним из основных критериев является их химическая природа. В этом контексте биомаркеры могут быть разделены на белковые, нуклеиновые кислоты и метаболиты.

Белковые биомаркеры, такие как тропонины и натрийуретические пептиды, используются для диагностики острых и хронических сердечно-сосудистых заболеваний, позволяя быстро оценивать состояние пациента и необходимость в экстренной помощи [9]. Нуклеиновые кислоты, включая микроРНК, представляют собой перспективное направление для диагностики и прогноза, поскольку они могут отражать изменения на клеточном уровне, связанные с развитием ССЗ [3]. Метаболиты, такие как липиды и аминокислоты, также могут служить важными индикаторами метаболических изменений, которые предшествуют развитию сердечно-сосудистых заболеваний [5].

По функциональному назначению биомаркеры можно разделить на диагностические, прогностические и предиктивные. Диагностические биомаркеры, такие как тропонин Т, используются для подтверждения наличия заболевания, в то время как прогностические биомаркеры, такие как уровень С-реактивного белка, помогают оценить риск развития осложнений или рецидива заболевания [11]. Предиктивные биомаркеры позволяют прогнозировать ответ на определенные терапевтические вмешательства, что является ключевым элементом персонализированной медицины.

Еще одним важным аспектом классификации биомаркеров является их специфичность и чувствительность. Специфичные биомаркеры способны точно указывать на конкретные заболевания, в то время как чувствительные биомаркеры могут выявлять даже минимальные изменения в уровнях, что важно для ранней диагностики. Например, тропонин обладает высокой специфичностью к повреждению сердечной мышцы, что делает его незаменимым инструментом в экстренной кардиологии [9]. Однако следует отметить, что высокая чувствительность не всегда сопровождается высокой специфичностью, что может приводить к ложноположительным результатам.

Таким образом, классификация биомаркеров по различным критериям позволяет более глубоко понять их роль в диагностике и лечении сердечно-сосудистых заболеваний, а также способствует развитию новых подходов к их использованию в клинической практике.

Основные биомаркеры ССЗ.

Важность биомаркеров в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний сложно переоценить. Определенные молекулы, выявляемые в крови, имеют значительное клиническое применение и помогают в раннем обнаружении, мониторинге и прогнозировании различных сердечно-сосудистых состояний.

Тропонин – белок, находящийся в сердечной мышце – является одним из наиболее специфичных и чувствительных биомаркеров для диагностики острого коронарного синдрома, включая инфаркт миокарда. Изменение уровня тропонина в крови наблюдается уже через 3-6 часов после повреждения сердечной мышцы и может оставаться повышенным до двух недель [9,10]. Высокие уровни тропонина указывают на повреждение миокарда, что позволяет врачам принимать решения о необходимости госпитализации и

дальнейшего лечения. Исследования показывают, что раннее определение уровня тропонина может значительно снизить смертность и улучшить исходы у пациентов с острым коронарным синдромом [15,10].

Натрийуретические пептиды, такие как BNP и его N-терминальный предшественник (NT-proBNP), играют важную роль в диагностике и мониторинге сердечной недостаточности. Эти пептиды выделяются сердцем в ответ на растяжение миокарда и повышенное давление в камерах сердца. Уровень BNP и NT-proBNP в крови может быть использован для дифференциации сердечной недостаточности от других причин одышки [12].

Исследования показывают, что высокие уровни этих пептидов связаны с ухудшением прогноза и повышенным риском сердечно-сосудистых событий [8,12]. В клинической практике их измерение становится стандартным методом для оценки состояния пациентов с сердечной недостаточностью.

C-реактивный белок (CRP) является маркером воспаления и используется для оценки риска сердечно-сосудистых заболеваний. Повышенный уровень CRP связан с воспалительными процессами, что может способствовать атеросклерозу и другим сердечно-сосудистым заболеваниям [15]. Исследования показывают, что уровень CRP может предсказывать риск сердечно-сосудистых событий у пациентов с уже установленными заболеваниями, а также у здоровых людей [4]. Это делает CRP важным инструментом в оценке сердечно-сосудистого риска, однако его уровень может повышаться и при других воспалительных состояниях, что требует осторожного интерпретирования результатов [15].

Новые биомаркеры.

В последние годы наблюдается значительный интерес к новым биомаркерам, которые могут улучшить диагностику и прогнозирование сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Эти молекулы, включая микроРНК и метаболиты, открывают новые горизонты в понимании патофизиологии ССЗ и создания более персонализированных подходов к лечению.

МикроРНК (микроРНК) представляют собой небольшие некодирующие молекулы РНК, которые играют важную роль в регуляции генов. Исследования показывают, что микроРНК могут служить биомаркерами для различных сердечно-сосудистых заболеваний. Например, изменения в уровнях микроРНК-1 и микроРНК-133 были связаны с развитием и прогрессированием сердечной недостаточности и ишемической болезни сердца [14]. Эти молекулы могут не только указывать на наличие заболевания, но и предсказывать его прогрессирование, что делает их перспективными инструментами для ранней диагностики и мониторинга [16].

Метаболитомика, изучающая маломолекулярные метаболиты в биологических жидкостях, также открывает новые возможности для диагностики ССЗ. Например, уровень определенных аминокислот, таких как треонин и гистидин, может быть связан с риском развития коронарной болезни [15]. Исследования показывают, что изменения в метаболических путях могут предшествовать клиническим проявлениям заболеваний, что делает метаболиты важными кандидатами для использования в качестве биомаркеров [1].

Кроме того, исследование липидного профиля может помочь в оценке сердечно-сосудистого риска. Например, соотношение различных фракций липидов, таких как липопротеины низкой и высокой плотности, может дать более точную информацию о состоянии сосудов и риске атеросклероза [5]. В последние годы также наблюдается рост интереса к метаболитам, связанным с воспалением, которые могут служить индикаторами общего воспалительного статуса организма и предсказывать развитие ССЗ [1].

Несмотря на многообещающие результаты исследований, использование новых биомаркеров в клинической практике сталкивается с определенными проблемами. Во-первых, необходимо проводить стандартизированные исследования для проверки их специфичности и чувствительности. Во-вторых, требуется большая выборка данных, чтобы установить четкие пороговые значения для диагностики и прогноза. Тем не менее, текущие исследования показывают, что интеграция новых биомаркеров в практику может значительно улучшить результаты лечения и качество жизни пациентов с ССЗ.

Будущие направления исследований.

Будущее исследований в области биомаркеров сердечно-сосудистых заболеваний обещает значительные изменения в подходах к диагностике, лечению и профилактике. С учетом быстрого развития технологий и углубленного понимания молекулярных механизмов заболеваний можно выделить несколько основных направлений, которые могут изменить клиническую практику.

Одним из наиболее перспективных направлений является переход к персонализированной медицине, основанной на уникальных биомаркерных профилях пациентов. Это подход позволяет учитывать индивидуальные генетические, метаболические и физиологические характеристики каждого человека, что, в свою очередь, может привести к более эффективным методам диагностики и лечения. Например, анализ генетических маркеров у пациентов с коронарной болезнью может помочь в определении оптимальной терапии и предупреждении осложнений. Исследования показывают, что индивидуализированные подходы могут значительно повысить эффективность лечения и улучшить качество жизни пациентов [13].

Другое важное направление – это интеграция различных методов для комплексной оценки состояния сердца. Использование комбинации биомаркеров, таких как тропонины, натрийуретические пептиды, микроРНК и метаболиты, позволит создать многофункциональные профили, которые помогут более точно оценить риск и тяжесть сердечно-сосудистых заболеваний. Такой подход может включать в себя также использование современных технологий, таких как машинное обучение и искусственный интеллект, для анализа больших объемов данных и предсказания сердечно-сосудистых событий [6].

Развитие технологий мониторинга, таких как носимые устройства, предоставляет новые возможности для долгосрочного наблюдения за пациентами с ССЗ. Эти устройства могут непрерывно отслеживать уровень биомаркеров, что позволит врачам своевременно реагировать на изменения состояния пациента. Например, использование носимых технологий для

мониторинга уровня сердечных биомаркеров может помочь в раннем выявлении рецидивов и ухудшения состояния [7].

Будущие исследования также будут сосредоточены на выявлении новых молекул, которые могут служить биомаркерами. Современные методы, такие как секвенирование нового поколения и протеомика, позволяют исследовать сложные биологические системы и находить ранее неизвестные молекулы, обладающие диагностическим потенциалом. Например, исследование экзосом, которые содержат микроРНК и другие биомолекулы, может открыть новые горизонты для диагностики и мониторинга ССЗ [3].

Не менее важным направлением является изучение этических и социальных аспектов использования биомаркеров в клинической практике. Обеспечение конфиденциальности данных, доступность новых технологий для всех слоев населения и информирование пациентов о рисках и преимуществах новых методов – все это требует тщательной проработки и обсуждения [2].

Таким образом, будущее исследований биомаркеров в области ССЗ выглядит многообещающе. Интеграция новых технологий, подходов и молекул в клиническую практику может значительно улучшить диагностику и лечение, а также повысить уровень здоровья населения в целом.

Заключение. Исследования биомаркеров в области сердечно-сосудистых заболеваний продолжают развиваться, открывая новые горизонты для диагностики, лечения и профилактики. На основе текущих данных можно утверждать, что биомаркеры, такие как тропонин, натрийуретические пептиды, С-реактивный белок, а также новые молекулы, включая микроРНК и метаболиты, играют важную роль в клинической практике. Их использование позволяет не только улучшить точность диагностики, но и повысить эффективность терапии, что в конечном счете приводит к улучшению качества жизни пациентов.

Перспективы дальнейших исследований в этой области выглядят многообещающе. Разработка персонализированных подходов к лечению, интеграция новых технологий и методов, а также внимание к этическим аспектам использования биомаркеров создают уникальные возможности для улучшения здоровья населения. Тем не менее, необходимо продолжать работу по стандартизации методов определения биомаркеров и проведению клинических испытаний для оценки их эффективности и безопасности.

В заключение, биомаркеры представляют собой мощный инструмент в арсенале клинической медицины. Их дальнейшее изучение и интеграция в практику способны значительно изменить подходы к управлению сердечно-сосудистыми заболеваниями и улучшить исходы для миллионов пациентов по всему миру.

ЛИТЕРАТУРА

1. Beuchel, C. Whole Blood Metabolite Profiles Reflect Changes in Energy Metabolism in Heart Failure / C. Beuchel, J. Dittrich, J. Pott [et al.] // *Metabolites*. – 2022. – Vol. 12(3). – P. 216.

2. Botkin, J. R. Ethical issues in pediatric genetic testing and screening / J. R. Botkin // *Curr Opin Pediatr.* – 2016. – Vol. 28(6). – P. 700-704.
3. Cheng, Y. The role of microRNAs in cardiovascular disease / Y. Cheng, J. Zhang // *Cardiovascular Research.* – 2020. – Vol. 116(3). – P. 563-576.
4. Cui, C. Joint association of TyG index and high sensitivity C-reactive protein with cardiovascular disease: a national cohort study / C. Cui, L. Liu, Y. Qi [et al.] *Cardiovasc Diabetol.* – 2024. – Vol. 23(1). – P. 156.
5. Ekroos, K. Lipid-based biomarkers for CVD, COPD, and aging – A translational perspective / K. Ekroos, O. Lavrynenko, B. Titz // *Prog Lipid Res.* – 2020. – Vol. 78. – P. 101030.
6. Esteva, A. A guide to deep learning in healthcare / A. A. Esteva // *Nature Medicine.* – 2019. – Vol. 25(1). – P. 24-29.
7. Hughes, A. Wearable Devices in Cardiovascular Medicine / A. Hughes, M. M. H. Shandhi, H. Master [et al.] // *Circ Res.* – 2023. – Vol. 132(5). – P. 652-670.
8. Januzzi, J. L. Natriuretic peptides in the diagnosis and management of heart failure / J. L. Januzzi, A. Camacho // *Journal of the American College of Cardiology.* – 2018. Vol. 71(1). – P. 1-14.
9. Kavsak, P.A. Cardiac troponin testing in cardiac surgery / P.A. Kavsak, E.P. Belley-Cote, R.P. Whitlock // *Expert Rev Cardiovasc Ther.* – 2023. Vol. 21(11). – P. 729-731.
10. Lazar, D.R. High-Sensitivity Troponin: A Review on Characteristics, Assessment, and Clinical Implications / D. R. Lazar, F. L. Lazar, C. Homorodean [et al.] // *Dis Markers.* – 2022. – Vol. 2022. – P. 9713326.
11. Plebani, M. Why C-reactive protein is one of the most requested tests in clinical laboratories? / M. Plebani // *Clin Chem Lab Med.* – 2023. Vol. 61(9). – P. 1540-1545.
12. Su, X. NT-proBNP in Different Patient Groups of COPD: A Systematic Review and Meta-Analysis / X. Su, T. Lei, H. Yu [et al.] // *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* – 2023. – Vol. 18. – P. 811-825.
13. Tzeng, Y.-C. Personalized medicine in cardiovascular disease / Y.-C. Tzeng // *Journal of the American College of Cardiology.* – 2021. Vol. 74(8). – P. 1035-1044.
14. Wang, J. MicroRNA-1 and microRNA-133: key regulators of cardiac hypertrophy / J. Wang // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology.* – 2016. – Vol. 90. – P. 32-42.
15. Wong, Y-K. Circulating Biomarkers for Cardiovascular Disease Risk Prediction in Patients With Cardiovascular Disease/ Y-K. Wong, H-F. Tse// *Front. Cardiovasc. Med.* – 2021. – Vol. 8. – P. 713191.
16. Wu, Y. Circulating microRNAs: Biomarkers of disease / Y. Wu, Q. Li, R. Zhang [et al.] // *Clin Chim Acta.* – 2021. – Vol. 516. – P. 46-54.
17. Всемирная организация здравоохранения. Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)). Дата доступа: 13.03.2025.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОПУХОЛЕВОЙ КЛЕТКИ И ПУТИ ИХ МОДУЛЯЦИИ

Гусаковская Э. В., Павлючук А. Ю., Семенюк С-М. С.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Способность опухолевой клетки адаптироваться к изменениям окружающей среды во многом обусловлена особенностями метаболизма. Характеризуясь автономностью, злокачественная клетка не только программирует свой собственный метаболизм в зависимости от условий микросреды, но также изменяет метаболизм здоровых клеток [2]. Возникновение мутаций, развитие гипоксии и иммунных нарушений в условиях канцерогенеза модулируют метаболические свойства опухоли, приводя к накоплению токсичных метаболитов, истощению питательных веществ, супрессии противоопухолевого иммунного ответа и снижению эффективности цитостатической терапии [15]. Тщательное изучение механизмов метаболического перепрограммирования опухолевых клеток имеет определяющее значение для разработки эффективных антибластомных препаратов. Однако до настоящего времени остается открытым вопрос о первичности метаболических нарушений в патогенезе опухолевой прогрессии, а биохимические пути этого процесса недостаточно изучены [9]. В представленной работе обобщены сведения о метаболических особенностях опухолевых клеток, поддерживающих их прогрессию, а также освещены разрабатываемые перспективные способы антиметаболической терапии опухолей.

Цель. Аналитический обзор данных научно-медицинской литературы о метаболических особенностях опухолевой клетки и путях их модуляции.

Материалы и методы исследования. Поиск актуальных литературных данных осуществлен с использованием баз данных PubMed и Cochrane Library.

Результаты и обсуждение. Широко обсуждаемой особенностью раковых клеток, характеризующей их метаболизм, является повышенная зависимость от глюкозы как основного энергетического субстрата [10]. При этом образующийся в процессе гликолиза аденозинтрифосфат активно потребляется опухолью для обеспечения ее роста и пролиферации. Интенсивность гликолиза в опухолевой клетке возрастает пропорционально процессу дифференцировки опухоли. Предпочтительность анаэробного гликолиза аэробному дыханию даже при достаточном содержании кислорода приводит к образованию значительных количеств лактата, дизрегуляции генной экспрессии, активации определенных сигнальных путей, формированию метаболических нарушений в клетке и опухолевой прогрессии, что носит название эффекта Варбурга [1]. В результате использования этого более примитивного пути энергообразования, раковые клетки становятся способными производить энергию независимо от уровня кислорода и значительно увеличивать скорость метаболизма. В свою очередь,

закисление внеклеточного пространства лактатом способствует метастазированию злокачественных опухолей [9].

Кроме того, эффект Варбурга подчеркивает значение лактирования – формы посттрансляционной модификации белка – в прогрессировании рака. Регулируя транскрипцию генов и функцию белка, лактирование облегчает метаболическое перепрограммирование, позволяя опухолям адаптироваться к ограниченному поступлению питательных веществ и поддерживать быстрый рост [6]. Подтверждением значимости лактирования в прогрессии рака является обнаружение участков лактирования во всем опухолевом протеоме, а также вовлечение лактирования в прогрессирование целого ряда опухолей: рака мочевого пузыря, простаты, молочной железы, эндометрия, шейки матки, пищевода, колоректального рака, панкреатической протоковой аденокарциномы, холангиокарциномы, светлоклеточной почечноклеточной карциномы, глиомы, гепатоцеллюлярной карциномы, глазной меланомы [6].

Хотя гликолиз является основным процессом энергообеспечения опухолевой клетки, ее существование поддерживается путем реализации окислительного фосфорилирования. Интересно, что при некоторых видах рака этот процесс является доминирующим, несмотря на более низкую скорость продукции аденозинтрифосфата. Также обеспечение опухолевой клетки необходимыми метаболитами возможно за счет образования восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата в пентозофосфатном пути как одном из путей катаболизма глюкозы [5].

В свою очередь, содержание кислорода в ткани опухоли уменьшается от периферии к центру, вплоть до формирования аноксической зоны [3]. Вследствие воздействия продуктов жизнедеятельности злокачественной опухоли и химиотерапевтических препаратов на организм, а также разобщения опухоли процессов окислительного фосфорилирования в клетках накапливаются токсины, развивается гипоксия, снижается окислительно-восстановительный потенциал тканей [15]. Одновременно происходящее увеличение антиокислительной активности как способности угнетать образование свободных радикалов в ходе ферментативных реакций и непосредственного взаимодействия кислорода и биологического субстрата, прямо пропорционально массе злокачественной опухоли. В свою очередь, биологическим субстратом окислительных процессов выступают липиды, и их перекисное окисление приводит к подавлению клеточной пролиферации. Цитостатики инициируют изменение антиокислительной активности липидов опухоли и липидов здоровых тканей, при этом выраженность токсичности химиопрепаратов пропорциональна степени снижения антиокислительной активности липидов здоровых тканей.

Для функционирования, быстрого роста и деления раковые клетки требуют поступления большого количества аминокислот, например, глутамина. После поступления глутамина под действием фермента глутаминазы происходит его превращение в глутамат, который в последующем подвергается деаминации с образованием интермедиата цикла трикарбоновых кислот – альфа-кетоглутарата либо переаминируется в аспартат, необходимый для

биосинтеза нуклеотидов. Одним из путей метаболизма глутамина является его превращение в лактат или аланин, что наблюдается в случае экспорта митохондриального малата в цитозоль и декарбоксилирования малик-ферментом в пируват. Метаболизм глутамина непосредственно регулируется фактором транскрипции Мус через повышение экспрессии мембранных переносчиков глутамина и глутаминазы-1 [1].

Правильное определение основных метаболических путей раковой клетки может способствовать разработке адекватных методов противоопухолевой метаболической терапии, что является важным не только для контроля пролиферации и размножения опухоли, но и для полного ее уничтожения.

Разрабатываемые системы «нанодоставки», основанные на стратегии перепрограммирования опухолевого метаболизма путем истощения глюкозы, лактата, глутамина и глутатиона, а также изменения метаболизма металлов и ингибирования липидного обмена в сочетании с химио-, радио-, фотодинамической терапией и другими методами, могут улучшить терапию опухолей путем специфической доставки к опухоли [14; 15]. Наноматериалы в диапазоне 1-100 нм обладают уникальными оптическими, магнитными и электрическими свойствами, нацеленными на метаболизм раковых клеток, их микросреду, а также иммунную систему. Использование наноматериалов обусловлено их широким спектром действия в отношении раковой опухоли, специфичностью, низкой токсичностью, высокой эффективностью и биодоступностью. Их применение при терапии злокачественных опухолей возможно в виде наночастиц, липосом, твердых липидных наночастиц, наноструктурированных липидных носителей, наноэмульсий, дендримеров, графена, металлических наночастиц, полиэтиленгликоля [4].

Важным направлением в разработке противобластомных препаратов, модулирующих метаболизм опухолевых клеток, является нацеливание на ферменты лактирования путем использования антилактирующих препаратов [6]. Так, ингибирование пути «гликолиз-лактирование» возможно в условиях использования 2-DG (2-deoxy-glucose), предотвращающей превращение глюкозы в глюкозо-6-фосфат за счет подавления активности гексокиназы [12]. Ингибирование гликолиза также может быть достигнуто путем введения CircXRN2 [13]. Секретируемая гипофарингеальными и мандибулярными железами рабочих пчел *Apis mellifera* кислота маточного молочка ингибирует фермент лактатдегидрогеназу, предотвращая превращение пирувата в лактат [8]. Введение селективного конкурентного ингибитора гистонацетилтрансферазы p300 – C646 – подавляет активность фермента записи лактирования гистонов p300 [12]. В свою очередь, экстракт коры магнолии хонокиол повышает активность фермента стирания модификации гистонов SIRT (selective internal radiation therapy) [7].

Примером селективной трансляции в клетках млекопитающих является ATF4 (activating transcription factor 4), способствующий экспрессии генов, участвующих в реализации антиоксидантного ответа, биосинтеза и транспорта аминокислот и рассматриваемый в качестве фактора выживания раковых клеток. В свою очередь, истощение цистеина, полунезаменимой аминокислоты,

необходимой для синтеза антиоксиданта глутатиона, запускает процесс ферроптоза, неапоптотической гибели клеток, вызванной перекисным окислением и катализируемой железом, и индукцию ATF4 на уровне транскрипции. При этом адаптивный ответ ATF4 вызывается дефицитом лизосомального цистина, а не цитозольного цистеина. С целью потенцирования ферроптоза при злокачественных новообразованиях разрабатывается синтетический реагент мРНК CysRx, вводимый в форме липидных наночастиц, способный преобразовать цитозольный цистеин в лизосомальный цистин и максимизировать ферроптоз раковых клеток, эффективно подавляя рост опухоли *in vivo* [11].

Выводы. Таким образом, измененный метаболизм опухолевых клеток напрямую влияет на канцерогенез. Возникающий дефицит глюкозы, являющейся основным источником энергии, не является лимитирующим фактором для опухолевой прогрессии, что обуславливает одну из проблем метаболической терапии. Дополнительные трудности лечения злокачественных опухолей сопряжены с двойственностью эффектов антиокислительной защиты, снижение которой, с одной стороны, приводит к подавлению роста и пролиферации опухолевых клеток, а с другой – повышает скорость протекания свободнорадикальных реакций и потребление кислорода в здоровых тканях.

Правильное определение основного метаболического пути раковой клетки может способствовать разработке адекватных методов терапевтического воздействия, что важно не только для контроля пролиферации и размножения опухоли, но и для полного ее уничтожения. Стимулирование инновационных исследований в отношении перепрограммирования опухолевого метаболизма путем истощения глюкозы, лактата, глутамина и глутатиона, а также изменения метаболизма металлов и ингибирования липидного обмена является перспективным направлением медицинской науки. В свою очередь, разработка ингибиторов лактирования, наноматериалов и активаторов ферроптоза является частным примером многообещающего подхода в терапии опухолей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Куликов, В. А. Метаболизм раковой клетки как терапевтическая мишень / В. А. Куликов, Л. Е. Беляева // Вестник ВГМУ. – 2016. – Том 15, №6. – С. 7–20.
2. Кушлинский, Н.Е. Молекулярно-биологические характеристики злокачественных новообразований / Н. Е. Кушлинский, М. В. Немцова // Вестник РАМН. – 2014. – Т. 1, № 2. – С. 5–15.
3. Cassileth, B. Oxygenotherapy / B. Cassileth // Oncology (Williston Park). – 2009. – Vol. 23, № 13. – P. 1182.
4. Cheng, Z. Nanomaterials for cancer therapy: current progress and perspectives / Z. Cheng, M. Li, R. Dey, Y. Chen // J Hematol Oncol. – 2021 – Vol. 14, № 1. – P. 85.

5. Coy, J. F. Mutations in the transketolase-like gene TKTL1: clinical implications for neurodegenerative diseases, diabetes and cancer / J. F. Coy [et al.] // Clin. Lab. – 2005. – Vol. 51. – P. 257–273.
6. He, Y. Lactylation in cancer: Mechanisms in tumour biology and therapeutic potentials / Y. He [et al.] // Clin Transl Med. – 2024ю – Vol. 14, № 11. – P. e70070.
7. Jin, J. SIRT3-dependent delactylation of cyclin E2 prevents hepatocellular carcinoma growth / J. Jin // EMBO Rep. – 2023. – Vol. 24, № 5. – P. e56052.
8. Melliou, E. Chemistry and bioactivity of royal jelly from Greece / E. Melliou, I. Chinou // J Agric Food Chem. – 2005. Vol. 53, № 23. – P. 8987-92.
9. Ortega, A. D. Glucose avidity of carcinomas / A. D. Ortega, M. San-chez-Arago, D. Giner-Sanches // Cancer Lett. – 2009. – Vol. 276, № 2. – P. 125–135.
10. Pavlova, N. N. The emerging hallmarks of cancer metabolism / N. N. Pavlova, C. B. Thompson // Cell Metab. – 2016. – № 23. – P. 27–47.
11. Swanda, R.V. Lysosomal cystine governs ferroptosis sensitivity in cancer via cysteine stress response / R. V. Swanda [et al.] // Mol Cell. – 2023. – Vol. 83, № 18. – P. 3347-3359.
12. Wang, X. BRAFV600E restructures cellular lactylation to promote anaplastic thyroid cancer proliferation / X. Wang [et al.] // Endocr Relat Cancer. – 2023. – Vol. 30, № 8. P. e220344.
13. Xie, B. CircXRN2 suppresses tumor progression driven by histone lactylation through activating the Hippo pathway in human bladder cancer / B. Xie [et al.] // Mol Cancer. – 2023. – Vol. 22, № 1. – P. 151.
14. Zhang, Z. Advances in nanodelivery systems based on metabolism reprogramming strategies for enhanced tumor therapy / Z. Zhang [et al.] // ACS Appl Mater Interfaces. – 2024. – Vol. 16, № 6. – P. 6689-6708.
15. Zhou, Y. Nanotechnology reprogramming metabolism for enhanced tumor immunotherapy / Y. Zhou [et al.] // ACS Nano. – 2024. – Vol. 18, № 3. – P. 1846-1864.

НАНОТОКСИКОЛОГИЯ: МЕХАНИЗМЫ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК И НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА, КОБАЛЬТА И СЕРЕБРА

***Заводник И.Б.¹, Коваленя Т.А.¹, Лапина Е.А.¹, Ильич Т.В.¹,
Савко А.И.¹, Ануфрик С.С.¹, Анучин С.Н.¹, Заводник Л.Б.¹,
Климович И.И.²***

¹*Гродненский государственный университет имени Янки Купалы;*

²*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Загрязнения взвешенными частицами микро- и наноразмеров окружающей среды стало все возрастающей проблемой во всем мире за последние несколько десятилетий. Взвешенные вещества в атмосферном воздухе, воде, почве представляют собой смесь множества соединений (элементарного и органического углерода, переходных металлов,

нитратов, сульфатов и др.) и могут напрямую высвободиться как из разнообразных источников или образовываться из газов (например, диоксида серы) посредством химических реакций в атмосфере, превращаясь во вторичные аэрозоли.

Одним из критериев, определяющим степень негативного влияния взвешенных частиц на организм, является степень их дисперсности на основе их диаметра. Окружающий воздух содержит аэрозольные частицы разных размеров, включая крупные частицы с аэродинамическим диаметром меньше 10 мкм (PM_{10}), мелкие частицы меньше 2,5 мкм в диаметре ($PM_{2,5}$) и ультрамелкие частицы меньше 0,1 мкм ($PM_{0,1}$) – нанополлютанты (наночастицы, НЧ, – частицы разнообразной формы, которые в любом из размеров не превышают 100 нм [2].

Углеродные нанотрубки, продукты современных нанотехнологических производств, в основном состоят из элементарного углерода, обладают высокой поверхностной реакционной способностью, токсичностью, исключительными механическими, химическими свойствами и имеют множество применений во многих научных и технологических сферах [3]. Наноразмерные частицы-загрязнители фактически обходят защитный механизм человеческого организма, преодолевают гематоэнцефалический и другие барьеры, проникают в дыхательную систему организма, пищеварительный тракт, а оттуда всасываются в системный кровоток. При отсутствии естественного механизма очистки от микро- и нанозагрязнителей организм не может эффективно удалять эти частицы, что приводит к увеличению риска многих кардио-респираторных расстройств, включая легочный и системный окислительный стресс, иммунологические изменения, гипоксемию, атеросклероз, быстрое прогрессирование хронической обструктивной болезни легких, сердечно-сосудистые заболевания. Присутствуя в наноразмерном состоянии, многие вещества могут приобретать новые свойства, что делает их значительно более активными в физическом, химическом, биологическом, фармакологическом и токсическом отношении.

Выявление клеточных и молекулярных механизмов токсичности НЧ позволяет обосновать биохимические маркеры токсичности, которые необходимо использовать для оценки воздействия НЧ и эффективности фармакологической профилактики и терапии заболеваний, вызываемых НЧ.

Цель. Цель настоящей работы – выяснить молекулярные и мембранные механизмы и маркеры повреждающего действия многослойных углеродных нанотрубок и наночастиц селена, кобальта и серебра *in vitro* и при острой интоксикации в эксперименте *in vivo*, рассматривая в качестве основной мишени воздействия митохондрии печени.

Материалы и методы исследования. Многостенные углеродные нанотрубки (МУНТ) (диаметр – 50–90 нм, длина – 1–2 мкм, площадь поверхности – 60–300 м²/г, >95%) (Guangzhou Hongwu Material Technology Co., Ltd., Jiangsu, Китайская Народная Республика). МУНТ вводили однократно внутрижелудочно в дозе 50 мг/кг массы животного. В работе использовали: сахарозу, трис(гидроксиметил)аминометан (Трис-HCl), этиленгликоль-бис (2-

аминоэтиловый эфир)-N,N,N', N'-тетрауксусная кислота (ЭГТА), аденозиндифосфат (АДФ), сукцинат натрия гексогидрат, калия хлорид, кальция хлорид производства Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, США или Steinheim, Германия). Используемые наночастицы серебра, кобальта, селена были синтезированы методом лазерной абляции в жидкости по предложенной ранее методике [1].

Результаты и обсуждение. На первом этапе мы рассмотрели механизм действия наночастиц серебра, кобальта, селена на изолированные митохондрии печени крыс *in vitro*. Эффекты наночастиц на функциональную активность митохондрий отличались по выраженности и характеру влияния на параметры дыхания митохондрий. В наших экспериментах в среде, не содержащей хелатор ионов кальция, ЭГТА, наночастицы серебра, кадмия, селена (0,1–10 мкг/мл) эффективно ингибировали респираторную активность изолированных митохондрий печени крыс при использовании сукцината в качестве субстрата дыхания: скорость АДФ-стимулируемого потребления кислорода V_3 , коэффициент дыхательного контроля V_3/V_2 и коэффициент фосфорилирования АДФ/О выражено уменьшались, свидетельствуя о дозозависимом нарушении сопряжения окисления и фосфорилирования. Наиболее выражено, в концентрации 0,1–0,5 мкг/мл, наночастицы серебра, характеризующиеся наименьшим из исследуемых наночастиц размером, нарушали респираторную активность митохондрий, скорость субстрат-зависимого потребления кислорода V_2 при этом не изменялась. Наночастицы неметалла селена, помимо уменьшения скорости V_3 , коэффициентов V_3/V_2 и фосфорилирования АДФ/О, увеличивали значение скорости V_2 . Наночастицы кобальта, уменьшали значения скорости V_3 , коэффициентов V_3/V_2 и фосфорилирования АДФ/О, не изменяя значения V_2 .

Для оценки механизмов острой интоксикации многослойными углеродными нанотрубками крыс подвергали однократному токсическому воздействию. Уровень окислительного стресса в эритроцитах крыс достоверно возрастал как результат токсического воздействия НЧ (мы наблюдали рост содержания продуктов перекисного окисления липидов и истощение восстановленного глутатиона в эритроцитах крыс). Острое токсическое воздействие не приводило к выраженным нарушениям функциональной активности изолированных митохондрий печени крыс: скорость потребления кислорода митохондриями, коэффициенты дыхательного контроля и фосфорилирования, мембранный потенциал, содержание восстановленного глутатиона достоверно не изменялись.

Выводы.

В результате острой интоксикации крыс нанотрубками мы не обнаружили достоверного повышения в плазме крови уровня маркеров поражения печени (содержание билирубина и активности аминотрансфераз), но продемонстрировали развитие окислительного стресса в эритроцитах. В эксперименте *in vitro* наночастицы металлов серебра, кобальта, неметалла селена (0,1–10 мкг/мл) эффективно ингибировали респираторную активность изолированных митохондрий печени крыс. Мы предполагаем, что

разобшающий эффект наночастиц связан с переносом электронов от электрон-транспортной цепи митохондрий на положительно заряженную поверхность наночастиц и зависит от размеров наночастиц.

ЛИТЕРАТУРА

1. Морфология поверхностных наноструктур цветных металлов, осажденных из растворов аблированных наночастиц / С. С. Ануфрик, С. Н. Анучин, И. Г. Сергиенко // Веснік Гродзенскага дзяржаўнага ўніверсітэта імя Янкі Купалы. Сер. 6, Тэхніка. – 2021. – Т. 11, № 1. – С. 59–65.

2. Nanoparticle Effects on Stress Response Pathways and Nanoparticle-Protein Interactions / S. J. Cameron [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – V. 23, № 14. – P. 7962.

3. *In vitro* study of carbon black nanoparticles on human pulmonary artery endothelial cells: Effects on calcium signaling and mitochondrial alterations / J. Deweirdt [et al.] // Archives of Toxicology. – 2020. – V. 94, № 7. – P. 2331–2348.

МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ НАРУШЕНИЙ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА И ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Кузьменко А.Т., Батуревич Л.В., Алехнович Л.И., Инаишвили М.

*Институт повышения квалификации и переподготовки кадров
здравоохранения УО «Белорусский государственный медицинский
университет», Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. Стремительный рост числа пациентов с сахарным диабетом (СД) во всем мире предопределяет приоритетность и социальную значимость данной проблемы. Согласно данным Международной диабетической федерации в мире насчитывается более 425 млн. пациентов с СД, подавляющее большинство которых имеет 2 тип. При этом каждый второй человек, живущий с сахарным диабетом 2 типа (СД 2 типа), не знает о его наличии [12-13].

СД 2 типа – нарушение углеводного обмена, вызванное преимущественной инсулинорезистентностью (ИР) и относительной инсулиновой недостаточностью или преимущественным нарушением секреции инсулина с ИР или без нее.

Согласно современным представлениям, объединяющей основой многих клинических проявлений СД 2 типа выступает ИР и гиперинсулинемия (ГИ). С одной стороны, ГИ является компенсаторной, необходимой для преодоления ИР и поддержания нормального транспорта глюкозы в клетки; с другой – патологической, способствующей возникновению и развитию метаболических, гемодинамических и органных нарушений, приводящих в конечном итоге к развитию СД 2 типа, ИБС и других проявлений [2].

Важную роль в развитии и прогрессировании ИР и связанных с ней метаболических расстройств играет жировая ткань абдоминальной области,

нейрогормональные нарушения, сопутствующие абдоминальному типу ожирения, повышенная активность симпатического отдела нервной системы.

Инсулинорезистентность (ИР) – это снижение реакции инсулинчувствительных тканей на инсулин при его достаточной концентрации. В развитии нарушений чувствительности к инсулину могут иметь значение мутации генов субстрата инсулинового рецептора (СИР-1), гликогенсинтетазы, гормончувствительной липазы, β_3 -адренорецепторов, фактора некроза опухолей- α , разобщающего протеина (UCP-1), а также молекулярные дефекты белков, передающих сигналы инсулина (увеличение экспрессии Rad-белка и UPC-1 – ингибитора тирозинкиназы инсулинового рецептора в мышечной ткани, снижение мембранной концентрации и активности внутриклеточных транспортеров глюкозы – GLUT-4 в мышечной ткани).

В последние годы опубликовано много научных публикаций, посвященных изучению патогенетических механизмов развития СД, а также установлению различных его подтипов, при которых аутоиммунные процессы, поражение клеток поджелудочной железы и недостаточная выработка инсулина сочетаются с инсулинорезистентностью. Установление данных подтипов СД является определяющим фактором в выборе оптимальной персонифицированной терапии. Поэтому углубленная оценка углеводного статуса с использованием ряда лабораторных тестов является актуальным направлением современной диабетологии.

Определение уровня инсулина/проинсулина крови.

Инсулин синтезируется β -клетками островков Лангерганса поджелудочной железы в виде предшественника – препроинсулина, из которого после отщепления пептида образуется проинсулин. Проинсулин – предшественник инсулина и С-пептида. После синтеза проинсулин заключается в секреторные гранулы, где под действием прогормонов конвертаз (PC1/3 и PC2) и карбоксипептидазы Е превращается в инсулин и С-пептид. При нормальном углеводном обмене в системный кровоток попадает минимальное количество проинсулина (от 1 до 3% проинсулина остаются в неизменном виде). Однако вследствие того, что проинсулин имеет более длительный период полураспада, чем инсулин, уровень проинсулина в крови составляет 5–30% от уровня инсулина. Содержание проинсулина по отношению к инсулину повышается после еды, а также у пациентов с резистентностью к инсулину в начальных стадиях СД 2 типа. Проинсулин может связываться с рецептором инсулина, проявляя около 5–10% активности инсулина.

В значительных количествах проинсулин высвобождается только при патологических состояниях. Например, значительные его количества попадают в кровоток при тяжелой гипогликемической гиперинсулинемии (избыточная выработка инсулина при недостатке глюкозы) и во время терапии препаратами с производными сульфонилмочевины. Инсулиномы стимулируют выделение в кровоток инсулина, С-пептида и проинсулина. В отдельных случаях повышается только уровень проинсулина. Поэтому с целью постановки точного диагноза важно выполнять комплекс исследований.

Главным фактором, регулирующим секрецию инсулина, является содержание глюкозы в сыворотке крови. При увеличении содержания глюкозы инсулин выделяется в кровь в течение 3 – 5 минут. При снижении содержания глюкозы до уровня ниже 1,6 ммоль/л выделение инсулина прекращается. Недостаток инсулина способствует возникновению СД. Определение содержания инсулина не является обязательным для диагностики СД, но является уточняющим исследованием функционального состояния β -клеток при дифференцировке разных форм СД. При диагностировании инсулиномы повторный анализ на определение содержания инсулина достаточно информативен, особенно вместе с анализом на С-пептид.

Анализ на определение содержания инсулина не имеет смысл проводить пациенту, получающему инсулинотерапию. Определение инсулина применяется для дифференциации различных форм диабета и для подтверждения диагноза у людей с пограничными нарушениями толерантности к глюкозе. При этом следует иметь в виду, что однократно проведенный анализ на определение инсулина не является информативным ни для диагностики диабета, ни для определения его типа.

Инсулин крови определяется натощак. Для получения достоверных результатов необходимо исключить прием любых медикаментозных препаратов влияющих на уровень данного гормона, вести обычный образ жизни: режим питания, труда и отдыха.

Повышенный уровень инсулина при высоком уровне глюкозы характерен для СД 2 типа. Ориентироваться на определение уровня инсулина в крови у пациента с СД 1 типа нельзя, т. к. в ходе лечения инсулином к нему образуются антитела, способные исказить достоверность результатов, получаемых с использованием ряда традиционно применяемых методов исследования [4]. Поэтому для суждения о секреции инсулина β -клетками необходимо определять уровень С-пептида крови.

Определение С-пептида в крови.

С-пептид (от англ. connecting peptide, «соединяющий пептид») – это фрагмент молекулы проинсулина, в результате отщепления которого образуется инсулин.

При увеличении уровня глюкозы в крови проинсулин ферментативно расщепляется на инсулин и С-пептид, которые секретируются в кровь в эквимольных количествах. Время полураспада С-пептида в крови «длиннее», чем у инсулина. Поэтому соотношение С-пептид/инсулин составляет 5:1. С-пептид биологически неактивен и подвергается относительно меньшей трансформации в печени.

Уровень С-пептида является более стабильным индикатором секреции инсулина, чем быстро меняющийся уровень самого инсулина. Еще одно преимущество определения С-пептида заключается в том, что он позволяет отличить эндогенный инсулин от инъекционного инсулина, так как в отличие от инсулина, С-пептид не вступает в перекрестную реакцию с антителами к инсулину. Учитывая, что лечебные препараты инсулина не содержат С-пептид,

его определение в сыворотке крови позволяет оценивать функцию β -клеток поджелудочной железы у пациентов с СД, получающих инсулин.

У пациента с СД величина базального уровня С-пептида и, особенно, его концентрация после нагрузки глюкозой (при проведении глюкозотолерантного теста) позволяют установить наличие резистентности или чувствительности к инсулину, определить фазы ремиссии и тем самым скорректировать терапевтические мероприятия. При обострении СД, особенно СД 1 типа, уровень С-пептида в крови снижается, что свидетельствует о недостаточности эндогенного инсулина. Учитывая все эти факторы, можно сделать вывод о том, что исследование концентрации С-пептида позволяет оценить секрецию инсулина в различных клинических ситуациях.

Определение содержания С-пептида в крови также дает возможность интерпретации колебаний уровня инсулина при задержке его в печени.

У пациентов с диабетом, имеющих антитела к инсулину, связывающие проинсулин, иногда наблюдаются ложноповышенные уровни С-пептида за счет перекрёстно реагирующих антител с проинсулином.

У пациентов с инсулиномой концентрация С-пептида в крови значительно увеличена, а мониторинг содержания С-пептида особенно важен после оперативного лечения инсулиномы. Обнаружение повышенного содержания С-пептида в крови указывает на метастазы или рецидив опухоли.

Показания к назначению:

- дифференциальная диагностика диабета 1-го и 2-го типов
- дифференциальная диагностика гипогликемических состояний (диагностика инсулиномы, подозрение на искусственную гипогликемию)
- выбор тактики лечения СД.

Диагностика инсулинорезистентности

Как правило, диагностика ИР применяется преимущественно в научных целях. При этом возможно использование как прямых, так и непрямых методов оценки действия инсулина [1, 2, 3].

Непрямые методы диагностики ИР направлены на оценку эффектов эндогенного инсулина. К ним относятся:

- пероральный глюкозотолерантный тест (ПГТТ),
- внутривенный глюкозотолерантный тест (ВВГТТ).

Прямые методы основаны на внутривенном введении экзогенного инсулина с последующим анализом его эффективности на обмен глюкозы. К ним относятся:

- инсулиновый тест толерантности (ИТТ),
- эугликемический гиперинсулинемический клэмп тест (ЭГК),
- инсулиновый супрессивный тест (ИСТ).

Пероральный глюкозотолерантный тест (ПГТТ) – самый доступный лабораторный метод определения нарушения чувствительности тканей к инсулину. Методика проведения теста состоит в измерении уровней глюкозы и инсулина в крови натощак, а также через 30, 60, 90 и 120 минут после приема внутрь пациентом 75 г сухой глюкозы, растворенной в 250 мл воды [2, 7, 11].

Определение уровня плазменной концентрации инсулина широко используется как косвенный способ оценки инсулиночувствительности тканей. Оценивается уровень инсулина как натощак, так и после нагрузки глюкозой. Значимая ИР приводит к возрастанию уровня инсулина в плазме крови.

Расчетные индексы

В ряде исследований с целью изучения действия инсулина, выявления ИР используются расчетные индексы: гликемический индекс (НОМА-IR), индекс Саго, инсулиноглюкозный индекс, представляющий собой отношение площади под кривой инсулина к площади под кривой глюкозы.

Индекс НОМА-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance). Для расчета данного индекса используют формулу:

$$\text{НОМА-IR} = \frac{\text{инсулин натощак (мкЕд/мл)} \times \text{глюкоза натощак (ммоль/л)}}{22,5}$$

Для лиц от 20 до 60 лет индекс НОМА-IR в норме составляет от 0 до 2,7.

Если у пациента повышен уровень глюкозы или инсулина натощак, то данный индекс повышается, что соответствует росту ИР клеток и тканей, а также свидетельствует о повышенном риске развития СД 2-го типа и его осложнений. Пороговое значение ИР, рассчитанное с помощью индекса НОМА-IR, определяется как 70-75 перцентили его кумулятивного популяционного распределения.

Данный индекс информативен в качестве показателя нарушенной толерантности к глюкозе и развития СД у пациентов с уровнем глюкозы ниже 7 ммоль/л. Индекс НОМА-IR может быть использован при подозрении на развитие ИР при синдроме поликистозных яичников, гестационном СД, хронической почечной недостаточности, хронических гепатитах В и С, стеатозе печени неалкогольной этиологии, ряде инфекционных, онкологических, аутоиммунных заболеваний, а также терапии рядом лекарственных препаратов (глюкокортикостероиды, оральные контрацептивы и др.).

Индекс Саго – также расчетный показатель:

$$\text{индекс Саго} = \frac{\text{глюкоза натощак (ммоль/л)}}{\text{инсулин (мкМЕ/мл)}}$$

Индекс Саго у здорового человека составляет не менее 0,33. Снижение этого показателя – верный признак резистентности к инсулину.

Внутривенный глюкозотолерантный тест (ВВГТТ) – это инсулин-модифицированный тест толерантности к внутривенно вводимой глюкозе [5, 6, 10].

Основные преимущества ВВГТТ по сравнению с ПГТТ заключаются в том, что абсорбция глюкозы происходит быстрее и не зависит от функционирования кишечной стенки. ВВГТТ является динамическим тестом, который позволяет воспроизвести нормальную физиологическую модель

действия инсулина. В отличие от эугликемического гиперинсулинемического клэмп теста ВВГТТ позволяет оценить обе фазы секреции инсулина. Наряду с преимуществом, данный тест имеет и недостатки в виде сложности выполнения – требуется 2 внутривенных доступа и частый забор крови (15 раз на протяжении 3-х часов).

Проведение теста начинают в период с 8.30 до 9.00 часов утра после 30 минут отдыха в положении лежа. Во время проведения теста пациенты должны находиться в расслабленном состоянии, исключается курение, прием пищи и воды, физические нагрузки. Тест проводится не менее чем через 12 часов после последнего приема пищи.

Для выполнения теста устанавливаются 2 кубитальных венозных катетера. В один из них с целью стимуляции эндогенной секреции инсулина болюсно вводят 40% раствор глюкозы в течение 2-х минут из расчета 0,3 г/кг массы тела с последующим забором крови для определения уровней глюкозы, инсулина и С-пептида (15 раз за 3 часа). На 20-ой минуте от введения глюкозы внутривенно болюсно вводят инсулин короткого действия из расчета 0,03 Ед/кг массы тела. Схема забора крови: -10, -5, 2, 4, 8, 19, 22, 25, 27, 30, 40, 50, 70, 90 и 180 минут (за 0 точку принимают время введения глюкозы). Образцы крови центрифугируют со скоростью 3000 оборотов в минуту в течение 30 минут.

Интерпретация полученных результатов осуществляется с использованием модели, предложенная Bergman и соавторами. Данная модель предполагает, что концентрация глюкозы в плазме крови снижается благодаря одному из двух механизмов: независимо от уровня инсулина (индекс эффективности глюкозы SG) и под действием инсулина (индекс чувствительности к инсулину SI).

Индекс SI характеризует способность инсулина снижать концентрацию глюкозы во внеклеточной жидкости (уменьшая эндогенную продукцию глюкозы и увеличивая утилизацию последней).

Индекс SG характеризует снижение уровня глюкозы под действием базального уровня инсулина, независимо от повышения его концентрации. После болюсного введения глюкозы инфузия экзогенного инсулина улучшает оценку индекса SI, но изменяет позднюю фазу эндогенного синтеза инсулина.

Для расчета индексов SI, SG, оценки фаз инсулинового ответа используется компьютерная программа MINMOD или ее модификации.

За нормальную чувствительность к инсулину принимаются значения индекса $SI = 4,0 - 8,0 \times 10^{-4} \text{ мин}^{-1} (\text{мкЕд/мл})^{-1}$.

Индекс $SI < 2,0 \times 10^{-4}$ характерен для пациентов с СД.

Панкреатический ответ описывается параметрами Ф1 (первая фаза инсулинового ответа) $= 2,0 - 4,0 \text{ мин}^{-1} (\text{мкЕд/мл})^{-1}$ и Ф2 (вторая фаза инсулинового ответа) $= 20 - 35 \text{ мин}^{-1} (\text{мкЕд/мл})^{-1}$.

Эугликемический гиперинсулинемический клэмп тест (ЭГК) – «золотой стандарт» определения чувствительности тканей к инсулину [8, 9].

В основе теста лежит прерывание физиологической взаимосвязи уровня глюкозы и инсулина в организме путем контролируемого поддержания

концентрации глюкозы в крови на заданном нормо- или гипергликемическом уровне.

Методика проведения состоит в постоянной внутривенной инфузии инсулина со скоростью 1 МЕ /мин на 1 кг массы тела и повторных инфузиях глюкозы (каждые 5 минут определяется уровень глюкозы крови с целью определения необходимой скорости ее инфузии, для поддержания состояния эугликемии). Не ранее чем через 120 минут, устанавливается равновесие, когда скорость инфузии глюкозы равна ее периферической утилизации. В настоящее время для выполнения теста используется компьютерная программа PACBERG, встроенная в специальную систему для инфузий (Биостатор).

Техника ЭГК по сравнению с другими методиками имеет ряд преимуществ: точная количественная оценка индекса чувствительности к инсулину SI в условиях стабильного уровня гликемии, корректное сравнение показателей у различных групп пациентов, что позволяет дифференцированно изучать влияние различных концентраций инсулина и глюкозы на состояние чувствительности к инсулину.

Недостатками метода являются его сложность, дороговизна, необходимостью наличия специальной технической поддержки и обученного персонала. Кроме того, создаваемые экспериментом условия не являются физиологичными. В связи с этим широкое применение теста ограничено рамками специальных научных исследований.

Инсулиновый тест толерантности (ИТТ)

Принцип ИТТ состоит в болюсном внутривенном введении инсулина в дозировке 0,1 Ед на 1 кг массы тела [8]. Тест может выполняться в 2-х модификациях:

- короткий (принцип теста состоит в ежеминутном определении уровня глюкозы крови в течение 15 минут с момента введения инсулина) и
- длинный (уровень глюкозы измеряется каждые 5 минут с 10-й по 40-ю минуту от момента введения инсулина).

Для расчета чувствительности к инсулину используется формула:

$$\text{Чувствительность к инсулину} = \frac{\text{глюкоза (0)} \times \text{глюкоза (15)}}{\text{глюкоза (0)}}$$

где глюкоза (0) – базальный уровень глюкозы;

глюкоза (15) – уровень глюкозы на 15-й минуте от введения инсулина.

В норме при выполнении теста должно наблюдаться линейное снижение уровня глюкозы крови. Для расчета угла наклона линии пользуются формулой:

$$\text{угол наклона} = \frac{0,693}{\text{период полувыведения глюкозы плазмы}}$$

По линии наклона судят о чувствительности к инсулину: с увеличением угла наклона чувствительность к инсулину растет.

Достоинством данного метода является простота в выполнении, а также экономичность. Недостатками метода являются отсутствие возможности дать количественную оценку ИР, а также невозможность определить, какие ткани участвуют в нарушении действия инсулина. Кроме того, в ходе выполнения теста у пациента возможно развитие инсулининдуцированной гипогликемии.

Заключение

Выявление ИР на раннем этапе её развития является одним из методов первичной профилактики СД 2 типа, а также развития его осложнений. Поэтому крайне важно внедрение методов оценки инсулинорезистентности в практику научно-клинических исследований.

Исходя из сравнительного анализа имеющихся методов оценки действия инсулина, в качестве скринингового теста в клинической практике чаще всего используется пероральный глюкозо-толерантный тест, что обусловлено простотой, экономичностью и четкой корреляцией результатов с данными, полученными при использовании клэмп-теста [3]. При необходимости выявления ИР возможно использование внутривенного теста толерантности к глюкозе, поскольку данный метод позволяет рассмотреть обе фазы секреции инсулина и дать количественную оценку ИР, а в сравнении с золотым стандартом оценки ИР «клэмп-тестом» метод более прост, экономичен и не требует специального оборудования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алишева, Е.К. Методы диагностики инсулинорезистентности / Е.К. Алишева, Е.И. Красильникова, Е.В. Шляхто // Артериальная гипертензия. – 2002. – №1. – С.29–34.
2. Зимин, Ю.В. Происхождение, диагностическая концепция и клиническое значение синдрома инсулинорезистентности или метаболического синдрома Х / Ю.В. Зимин // Кардиология. – 1998. – № 6. – С.71–81.
3. Инсулинорезистентность и методы ее диагностики / М.Г. Творогова [и др.] // Лабораторная медицина. – 2003. – №6. – С.71–81.
4. Клинические протоколы диагностики и лечения взрослого населения с заболеваниями эндокринной системы при оказании медицинской помощи в амбулаторных условиях: постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь 21 июня 2021 г. № 85 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – Режим доступа: https://minzdrav.gov.by/upload/dadvfiles/CProtokol/1КП_Диагностика_и_лечение_пациентов_сахарным_диабетом_взр_население_пост_МЗ_21_06_2021_№85.pdf – Дата доступа: 25.03.2025.
5. Bergman, N. MINMOD: a computer program to calculate insulin sensitivity and pancreatic responsivity from the frequently sampled intravenous glucose tolerance test. / Bergman N. // Computer methods and programs in biomedicine. – 1986. – Vol. 23. – P. 113–122.

6. Bergman, R. Assessment of insulin sensitivity in vivo / R. Bergman, D. Finegood, M. Ader // *Endocrine Rev.* – 1985. – Vol. 6. – P. 45–86.
7. Caro, F. Insulin resistance in obese and nonobese man. / Caro F. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1991. – Vol. 73. – P. 691–695.
8. DeFronzo, R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance / R. DeFronzo, J. Tobin, R. Andres // *Am. J. Physiol.* – 1979. – Vol. 237. – P. 214–223.
9. Ferrannini, E. Physiological and metabolic consequences of obesity / E. Ferrannini // *Metabolism.* – 1995. – Vol. 44 (9 Suppl 3). – P. 7–15.
10. Mari, A. Assessment of insulin sensitivity with minimal model: role of model assumptions. / A. Mari // *Am. J. Physiol.* – 1997. – Vol. 272. – P. 925–934.
11. Seltzer, M., Insulin secretion in response to glycemic stimulus: relation of delayed initial release to carbohydrate intolerance in mild diabetes mellitus / M. Seltzer, W. Allen, A. Herron // *J. Clin. Invest.* – 1969. – Vol. 46. – P. 323–330.
12. Summary of Revisions: Standards of Care in Diabetes – 2024 // *Diabetes Care* 2024; Vol 47 (Supplement 1): P. 111–125. Mode of access: https://diabetesjournals.org/care/article/47/Supplement_1/S5/153943/Summary-of-Revisions-Standards-of-Care-in-Diabetes – Дата доступа: 25.03.2025.
13. Worldwide trends in diabetes prevalence and treatment from 1990 to 2022: a pooled analysis of 1108 population-representative studies with 141 million participants // *Lancet.* – 2024. – Vol 404. – P. 2077–2093. Mode of access: [https://www.thelancet.com/action/showPdf?pii=S0140-6736\(24\)02317-1](https://www.thelancet.com/action/showPdf?pii=S0140-6736(24)02317-1) – Дата доступа: 25.03.2025.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АЛКОГОЛЬНОЙ МИОПАТИИ

Лелевич В.В., Лихван Д.С.

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

Хроническая алкогольная интоксикация (ХАИ) является классическим примером длительного экзогенного воздействия на организм. В обобщенном плане ее можно рассматривать как генерализованную патологию, затрагивающую большинство тканей организма. Многочисленные висцеральные изменения при ХАИ в ряде случаев могут играть ключевое значение в формировании клинического статуса алкогольной зависимости. В доступной литературе представлен обширный материал о медицинской и социальной значимости алкоголь-индуцированной висцеральной патологии [1]. При этом следует отметить интересную особенность – в общесоматической практике часто встречаются пациенты с заболеванием внутренних органов, которое обусловлено ХАИ, при отсутствии у них типичных признаков алкогольной зависимости. Как правило стадийность поражения внутренних органов синхронизирована с динамикой основного наркологического заболевания. В клинической и

экспериментальной практике изучению поражениям мышечной ткани при алкогольной интоксикации уделяется меньше внимания, чем патологии нервной системы, печени, почек [2]. Поражение скелетных мышц отмечается у 40-60% пациентов, злоупотребляющих алкоголем, и является более частым проявлением алкогольной болезни, чем цирроз печени (диагностируется у 15-20% пациентов), поражений желудочно-кишечного тракта (30-40%) [3]. Патогенез алкогольной миопатии (АМ) остается до настоящего времени неразрешенной проблемой.

Более 50 лет назад появились первые публикации, в которых обсуждались эффекты прямого токсического воздействия алкоголя и его метаболита ацетальдегида на мышечную ткань. Несколько позже вышли публикации, в которых АМ пытались объяснить как следствие алкогольной нейропатии. Впоследствии это предположение не получило четкого научного подтверждения. В настоящее время патогенез АМ представляет собой сложный многокомпонентный процесс, где этанол и его метаболиты выполняют роль триггерного фактора, включающего каскад патологических изменений.

Хорошо известно, что мышечная ткань отличается от других органов сильно выраженной потребностью в мощном энергообеспечении, поэтому здесь существуют специфические механизмы контроля метаболизма таких субстратов, как глюкоза и гликоген. Поражения скелетной мускулатуры отмечаются нередко даже при острой алкогольной интоксикации (ОАИ). При этом снижается масса мышечной ткани, что клинически проявляется болями, увеличением маркерных биохимических показателей в крови и моче, и признаками некроза [4]. Экспериментальных работ по изучению метаболизма глюкозы в мышечной ткани при действии этанола крайне мало. Установлены некоторые метаболические нарушения в скелетной мускулатуре крыс при действии малых доз этанола. Они проявляются в снижении уровня гликогена, усилении активности ферментов анаэробного гликолиза, жировой инфильтрации [4]. Относительно недавно были проведены комплексные исследования метаболизма глюкозы в мышечной ткани при различных вариантах алкогольной интоксикации [5]. На фоне слабовыраженной ОАИ (1 г/кг массы тела) в скелетной мускулатуре не отмечалось существенных сдвигов в функционировании гликолиза. Увеличение дозы вводимого алкоголя (2,5 г/кг) приводило к снижению активности ключевого фермента гликолиза-фосфофруктокиназы. При этом в мышечной ткани снижалось содержание глюкозо-6-фосфата и гликогена.

Этанол в дозе 5 г/кг массы тела вызывал наиболее существенные изменения гликолиза в скелетной мускулатуре: снижалась активность ключевых ферментов – гексокиназы, фосфофруктокиназы и пируваткиназы, а также повышалась скорость лактатдегидрогеназы. При ОАИ изменяется и активность ферментов ПФП в мышечной ткани. На фоне небольшой дозы этанола снижается активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, а при средней дозе (2,5 г/кг) а активность возрастает. На фоне выраженной ОАИ отмечаются разнонаправленные сдвиги активности ферментов ПФП – у глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы она увеличивается, а у транскетолазы снижается. Эффекты ХАИ на состояние углеводного обмена в мышечной ткани отличаются от таковых при ОАИ [6].

Введение алкоголя в течение 14-ти суток не оказывало существенного влияния на функционирование гликолиза и ПФП в скелетной мускулатуре. Увеличение сроков алкоголизации до 29-ти суток сопровождалось более выраженными сдвигами показателей гликолиза и ПФП в мышечной ткани. При этом отмечается снижение активности гексокиназы и транскетолазы, уменьшение содержания глюкозо-6-фосфата, пентоз и гликогена. Данные изменения указывают на то, что при ХАИ нарушается функционирование основных путей метаболизма глюкозы в мышечной ткани. Они создают предпосылки к более детальному и обстоятельному изучению метаболизма глюкозы, а также ряда регуляторных параметров именно при непродолжительных (субхронических) сроках алкоголизации. Это обусловлено, с одной стороны, многочисленностью и разнонаправленностью метаболических эффектов этанола при его более длительном введении (6-8 месяцев), а с другой – отсутствием информации о динамическом формировании этих нарушений при более коротких сроках алкоголизации.

В ряде экспериментальных исследований было показано снижение содержания белка в мышечной ткани при АМ [3], что связывали с уменьшением уровня рибосомальной РНК вследствие увеличенной активности фермента РНКазы. Уменьшение скорости синтеза белка в мышечных волокнах при АМ обусловлено в первую очередь снижением интенсивности трансляционных процессов на рибосомах. Это сопровождается как уменьшением концентрации основных системных регуляторов синтеза белка – инсулиноподобного фактора роста I и соматотропного гормона, а также снижением чувствительности ткани к их действию. Нарушается также процесс стимуляции синтеза белка при суммарном повышении пула аминокислот. При АМ в скелетных мышцах отмечается снижение скорости образования таких сократительных и цитоскелетных белков, как актин, десмозин, тропонин, отдельных изоформ тяжелых цепей миозина. Обсуждается роль основного метаболита этанола в нарушениях синтеза белков миокарда и скелетных мышц. В норме ацетальдегид превращается в печени в ацетат под действием альдегиддегидрогеназы и его содержание в крови поддерживается на низком уровне [7]. При ХАИ отмечается снижение активности альдегиддегидрогеназы в печени, что сопровождается повышением уровня ацетальдегида в крови. Предполагается, что этанол и ацетальдегид оказывают прямое повреждающее действие на мышечную ткань, приводят к избыточному образованию свободных радикалов и развитию окислительного стресса [5]. Нарушение целостности мембранных структур, повышение активности кальциевой АТФазы в условиях хронической алкоголизации приводит к изменению гомеостаза кальция и нарушению сократительной функции мышц.

Обсуждается роль апоптоза в повреждении мышечной ткани при ХАИ. Это связано с установлением факта активизации процесса гибели клеток у пациентов с клиническими проявлениями АМ. Однако не обнаружено выраженной связи между активизацией апоптоза миоцитов и длительностью алкоголизации. Это, в определенной степени, подтверждает, что апоптоз является общебиологическим процессом программированной гибели различных клеток организма и его роль в

специфическом для АМ повреждении мышечной ткани является недоказанной. На обширном клиническом материале установлено, что при длительной алкоголизации отмечается проградийентный характер течения АМ с постепенным вовлечением в патологический процесс различных групп скелетных мышц, сопровождающихся прогрессирующим снижением мышечной массы [3]. В случаях тяжелой АМ даже через 5 лет после отмены алкоголя не происходит регресса клинических и морфологических признаков заболевания.

Тактика лечения АМ до конца не разработана, что связано с отсутствием единой теории патогенеза этого патологического состояния. Выявление нарушений функционирования энергопроизводящих процессов в мышечной ткани при ХАИ будет способствовать оптимизации существующих методов ранней диагностики и коррекции метаболических нарушений при алкоголизме, а также позволит корректировать сроки начала лечебных мероприятий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сидоров П.И. Соматогенез алкоголизма / П.И. Сидоров, Н.С. Ишеков, А.Г. Соловьев. – Москва: Медпресс-информ, 2003. – 224 с.
2. Иванец Н.Н. Наркология: национальное руководство / Н.Н. Иванец, И.П. Анохина, М.А. Винникова. – Москва: ГЭОТАР – Медиа, 2008. – 720 с.
3. Ангельчева О.И. Нервно-мышечные нарушения при хроническом алкоголизме / О.И. Ангельчева, О.Е. Зиновьева, Н.Н. Яхно. – М.: Медпресс-информ, 2009. – 80 с.
4. Зиновьева О.Е. Алкогольная миопатия / О.Е. Зиновьева, Б.С. Шенкман // Неврологический журнал. – 2007. - №5. – с. 4-8.
5. Лелевич С.В. Центральные и периферические механизмы алкогольной и морфиновой интоксикации / С.В. Лелевич. – Гродно: ГрГМУ, 2015. – 252 с.
6. Лелевич С.В. Влияние хронической алкогольной интоксикации на гликолиз и пентозофосфатный путь в мышечной ткани крыс / С.В. Лелевич, А.Н. Бородинский // Журнал ГрГМУ. – 2007. №4. – с. 34-36.
7. Зиматкин С.М. Роль ацетальдегида в патогенезе алкоголизма / С.М. Зиматкин // Наркология. – 2007. - №12. – с. 91-103.

МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ОЗОНА НА ОРГАНИЗМ

Меленец М.А., Зинчук В.В., Волошко П.Э.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Озон (O_3) представляет собой аллотропную модификацию молекулярного кислорода с трехатомарной структурой. Физико-химические свойства озона, а именно то, что он является мощным окислителем, намного более реакционно-способным, чем двухатомный кислород, и растворим в жидких средах, определяют спектр его физиологических эффектов на организм [4]. Применение озона способствует умеренной активации окислительных процессов, что и отражает его влияние на параметры функционального состояния организма.

В настоящее время наиболее изучены следующие свойства озона: бактерицидное, вирулицидное и фунгицидное действие; активация метаболизма; антигипоксический эффект; оптимизация про- и антиоксидантной систем; детоксикационный эффект; противовоспалительный эффект; обезболивающий эффект; иммуномодулирующие свойства [4].

В медицинской практике разработаны следующие методы применения озono-кислородной смеси: использование озонированного масла и дистиллированной воды, внутрисуставные и параартикулярные инъекции озона, большая и малая аутогемотерапия с озono-кислородными смесями, внутривенное введение озононасыщенного физиологического раствора, внутримышечные и подкожные инъекции, ректальные инфузии озono-кислородной смеси [3].

Механизм действия озона обусловлен его высоким окислительно-восстановительным потенциалом, что с одной стороны, обеспечивает дезинфицирующее действие отношении бактерий, вирусов и грибов, с другой – приводит к активизации метаболических процессов в тканях [3].

Применение озона в терапевтической практике основывается на принципе гормезиса, который подразумевает усиление защитных функций организма в ответ на небольшой стресс. Озон демонстрирует высокую эффективность при низких концентрациях, однако при увеличении дозы он может оказаться неэффективным или даже токсичным.

Из-за своих окислительных свойств, которые приводят к образованию окисленных молекул (озонидов) из биомолекул, таких как липиды (образующие продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ)) и белки (окисление -SH-группы или тиолов), озон представляет опасность при его вдыхании. Поскольку легкие обогащены липидными поверхностно-активными веществами и даже вдыхание O_3 низкой концентрации приводит к их разрушению, в следствии чего нарушается легочная функция [3]. В частности, O_3 даже в дозе около 2 ppm (2 мкг/мл) повреждает складчатую структуру легочного сурфактанта (SP-B), что приводит к нарушению дыхательного цикла. В связи с чем использование озона в качестве терапевтического средства ограничено несколькими путями введения, а именно парентеральной, внутримышечной и паравертебральной инъекциями инфузией аутологичной крови, ректальной инфузией и местным лечением (озонированные вода и масло) [2]. Кроме того, дозы озона, используемые при медикаментозном лечении, должны находиться в пределах буферной способности общей антиоксидантной системы в плазме, в диапазоне 20–75 мг/мл.

Контроль концентрации вводимого озона является ключевым аспектом озонотерапии, влияющим на ее безопасность и терапевтическую эффективность. Известно, что низкие концентрации озона не проявляют токсического действия, т.к. свободные радикалы нейтрализуются антиоксидантной системой защиты организма, тогда как высокие концентрации вызывают чрезмерное насыщение свободными радикалами – окислительный стресс, приводящий к токсическому эффекту. При дисбалансе между интенсивностью образования активных форм кислорода и активностью антиоксидантной системы защиты возникает опасность проявления токсического действия свободных радикалов на функциональное состояние организма [5].

В низких дозах, являясь мощным окислителем, озон стимулирует эндогенную антиоксидантную активность и выработку интерлейкинов и лейкотриенов, облегчая воспаление и боль [5]. В исследованиях Рабиновича И.М. и др. [11] отмечается влияние озона на клеточную и гуморальную иммунную систему, в результате стимулирования пролиферации иммунокомпетентных клеток и синтез иммуноглобулинов, активации функции макрофагов и повышения чувствительности микроорганизмов к фагоцитозу. По данным Naik S.V., Rajeshwari K., Kohli S. et al [1], применение озонотерапии, концентрация которой составляла 30–55 мкг/см³, вызывало увеличение выработки интерферона и выход фактора некроза опухоли и интерлейкина-2 [12].

При поступлении в кровь озон разрушается с высвобождением активных форм кислорода, которые активизируют окислительные процессы и повышают концентрацию продуктов перекисного окисления липидов. Этот процесс представляет собой пусковой стимул для одновременной активации биохимических реакций в эритроцитах, лейкоцитах и тромбоцитах, а также является основой бактерицидного, иммуностимулирующего, антиоксидантного и антиагрегантного действия озона [13].

Физиологические эффекты озона основаны на его реакциях с органическими соединениями: водорастворимыми и липофильными антиоксидантами, а также ненасыщенными жирными кислотами, в результате чего образуются активные формы кислорода (АФК) и липоперекиси, которые обладают свойствами мессенджеров, взаимодействуя с различными тканевыми структурами. Умеренный окислительный стресс, вызванный озоном, может создавать условия для цитопротективных реакций и нормализации редокс-статуса клеток, активируя экспрессию супероксиддисмутазы, глутатион пероксидазы, глутатион S-трансферазы, каталазы, гемоксигеназы-1, НАДФН-хинон-оксидоредуктазы, влияющих на гомеостаз клетки и оксигенацию тканей [9].

Эритроциты, вероятно, являются одним из основных объектов при взаимодействии озона с кровью, так как их мембрана содержит большое количество фосфолипидов с цепями полиненасыщенных жирных кислот. Озон воздействует на двойные и тройные связи жирных кислот, превращая их из длинноцепочечных в короткоцепочечные. В результате эритроцитарная мембрана становится более эластичной, что увеличивает деформабельность эритроцита и его подвижность, которая ведет к улучшению реологических свойств крови и микроциркуляции [7].

Одним из предполагаемых эффектов озона на реологические свойства крови является активация NO-синтазы, которая катализирует синтез монооксид азота (NO) [10], участвующего в регуляции тонуса кровеносных сосудов. NO-синтаза находится в эндотелиальных клетках, и его активация является результатом взаимодействия озона с сосудистой стенкой, что приводит к улучшению микроциркуляции, реологических свойств крови, уменьшению отека, снижению интенсивности болей и воспалительной инфильтрации.

NO является не только универсальным регулятором физиологических и метаболических процессов в отдельной клетке, но и осуществляет межклеточные взаимодействия, функционируя как сигнальная молекула

практически во всех органах и тканях человека [8]. Характерной особенностью NO является его способность быстро диффундировать через мембрану синтезировавшей его клетки в межклеточное пространство и также легко проникать в клетки мишени, что определяет нейротрансмиттерные свойства. Монооксид азота является мощнейшим вазодилататором, что приводит к эффективной микроциркуляции в тканях. Вследствие чего увеличивается количество транспортируемого к тканям кислорода за единицу времени и активируется ангиогенез (образование новых кровеносных сосудов) [10].

Озон увеличивает скорость гликолиза в эритроцитах, что приводит к увеличению образования 2,3-дифосфоглицерата. Он регулирует транспорт и высвобождение кислорода гемоглобином, тем самым рост его содержания приводит к увеличению доставки кислорода к тканям. Озон также увеличивает окислительное карбоксилирование пирувата, активируя цикл Кребса и, следовательно, увеличивает выработку АТФ [7].

Ранее в опытах *in vitro* было показано, что озон оказывает влияние на кислородтранспортную функцию крови: наблюдается увеличение pO_2 , SO_2 и уменьшение сродства гемоглобина крови, выраженность которых усиливается с увеличением концентрации этого газа и обусловлено ростом содержания таких газотрансмиттеров, как монооксид азота и сероводород [6]. В связи с чем можно предположить, что озон может оказывать влияние на механизмы транспорта кислорода кровью и в условиях воздействия в целом на организм.

Анализ научных исследований показывает, что физиологическое действие O_3 осуществляется через влияние на метаболические процессы организма, что способствует улучшению кислородтранспортной функции крови, умеренную активацию окислительных реакций ПОЛ с одновременным преобладанием антиоксидантной активности, активацию ферментных систем и восстановление энергетического потенциала клеток. Озонотерапия может быть использована для коррекции функционального состояния организма в условиях гипоксии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ozone a biological therapy in dentistry reality or myth? / S. V. Naik, K. Rajeshwari, S. Kohli // The open dentistry journal. – 2016. – №10 – P.196–206.
2. The oxygen–ozone adjunct medical treatment according to the protocols from the italian scientific society of oxygen–ozone therapy: how ozone applications in the blood can influence clinical therapy success via the modulation of cell biology and immunity / S. Chirumbolo, L. Valdenassi, U. Tirelli [et al.] // Biology. – 2023. – №12. – P. 1–20.
3. Therapy in Medicine and Dentistry: A Review of the Literature / O.A. Meligy, N.M. Elemam, I.M. Talaat // Dentistry Journal. – 2023. – № 11. – P. 1–16.
4. Ozone therapy in the management and prevention of caries / A.A. AlMogbel, M.I. Albarrak, S. F. AlNumair // Cureus. – 2023. – Vol. 4. – №15. – P. 1 – 4.
5. Therapy in Medicine and Dentistry: A Review of the Literature / O.A. Meligy, N.M. Elemam, I.M. Talaat // Dentistry Journal. – 2023. – № 11. – P. 1–16.

6. Зинчук, В.В. Влияние озона на кислородсвязывающие свойства крови и ее прооксидантно-антиоксидантный баланс в условиях воздействия на H₂S-генерирующую систему / В.В. Зинчук, Е.С. Билецкая // Российский физиологический журнал им. Сеченова. – 2023. – Т.109. – №6. – С. 760–770.

7. Ковальчук, Л.С. Современная оздоровительная технология в реабилитации больных ишемической болезнью сердца /Л.С. Ковальчук, В.Я. Латышева, П.Н. Ковальчук // Проблемы здоровья и экологии. – 2010. – №2. – 33–37.

8. Обоснование применения озонотерапии в комплексном лечении больных геморроидальной болезнью / Л.Е. Бубнова, Н.В. Алексеева Н.В., Л.Н. Иванов [и др.] // Медицина в Кузбассе. – 2024. – №1. – С. 65–72.

9. Озонотерапия злокачественных новообразований / П.Ю. Андреев, И.П. Мошуров, Н.В. Коротких [и др.] // Вестник РУДН. Серия: МЕДИЦИНА. – 2024. – Т. 28. – № 4. – С. 466-487.

10. Патогенетическое значение озонотерапии в комплексном лечении воспалительных заболеваний репродуктивной системы / Л.Е. Бубнова, Н.В. Алексеева Н.В., Л.Н. Иванов [и др.] // Медицина в Кузбассе – 2024. – №3. – С. 51–57.

11. Результаты клинко-лабораторного применения озонотерапии в эндодонтической практике / И.М. Рабинович, М.В. Снегирев, Н.Б. Петрухина [и др.] // Эндодонтия Today. – 2011. – Т.9 – №1. – С.59–63.

12. Старикова, И.В. Современный взгляд на применение озона в терапевтической стоматологии / И.В. Старикова, Е.М. Чаплиева, Н.В. Питерская // Вестник волгоградского государственного медицинского университета. – 2024. – Т.21. – С.1–6.

13. Цветкова, А.В. Роль системной озонотерапии в реабилитации пациентов, перенесших COVID-19 // А.В. Цветкова, Е.С. Конева, А.А. Костенко // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2022. – Т.99. – №4-2. – С. 22-24.

КОНЦЕПЦИЯ «D₃ + 12 ВИТАМИНОВ»: ОТ ОСНОВАТЕЛЕЙ СОВЕТСКОЙ ВИТАМИНОЛОГИИ К ПЕРСПЕКТИВАМ БУДУЩЕГО

Мойсеёнок А.Г.¹, Коденцова В.М.²

¹*Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, г. Гродно, Беларусь*

²*Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии безопасности пищи", г. Москва, Российская Федерация*

В 2025 г. исполняется 100 лет со дня рождения академика Ю.М.Островского, автора выдающихся трудов «Механизмы межвитаминовых взаимоотношений. Тиамин, пиридоксин, пантотеновая и никотиновая кислоты» (редактор и автор, 1973), «Экспериментальная витаминология» (редактор и

автор, 1979) и «Метаболические эффекты недостаточности функционально связанных В-витаминов» (редактор и автор, 1987), которые не утратили своей значимости до сих пор. Именно эти исследования послужили дальнейшему развитию теоретических и практических основ использования витаминов в лице выдающегося отечественного витаминолога профессора В.Б. Спиричева, которому в 2025 г. исполняется 95 лет со дня рождения, в виде концепции «D₃ + 12 витаминов». Со временем этот подход не только не утрачивает своего значения, но и приобретает новые очертания, а именно концепция была распространена и на минеральные вещества (магний и др.) [1]. В литературе только теперь, спустя много десятилетий, стали появляться аналитические обзорные статьи, в которых авторы практически воспроизводят мысли наших выдающихся ученых. В качестве примера приведем несколько современных утверждений.

К микронутриентам, имеющим большое значение для здоровья и поддержки иммунных функций, относятся все витамины, фосфор, натрий, калий, магний, хлорид, сера, а также микроэлементы — железо, цинк, медь, марганец, селен, йод, молибден, хром и фтор [2, 3]. Витамины и эссенциальные минеральные вещества являются критически значимыми участниками функционирования и регуляции всех звеньев иммунных процессов. Ни один отдельный микронутриент не является более важным, чем другие [4]. Микронутриенты в организме действуют согласованно, взаимодействуя друг с другом и другими нутриентами («метаболическая сеть микронутриентов»), и может потребоваться время ожидания (от короткого до длительного), чтобы проявилось влияние на биохимические и физиологические процессы в организме, в зависимости от микронутриента [1].

Накопление фактических данных позволило обосновать использование многокомпонентных витаминно-минеральных комплексов (ВМК) и сформулировать основные принципы их эффективного применения для устранения множественной недостаточности микронутриентов у населения. Обоснованием применения ВМК служит широкая распространенность сочетанного недостатка микронутриентов в рационе населения, недостаточная (неоптимальная) обеспеченность организма детей и взрослых, повышенная потребность в ряде микронутриентов у пациентов, наличие ассоциативных связей между недостаточным потреблением микронутриентов и риском развития заболеваний и их осложнений, а также невозможность довести потребление микронутриентов до адекватного уровня только за счет натуральных продуктов, и наконец, функциональное взаимодействие и синергизм микронутриентов в организме.

Депо витаминов С, В₂, В₆, РР и К в организме людей может сохраняться не более 2-4 недель, витамина В₁ — 4-10 дней. После прекращения приема ВМК происходит возврат к исходному недостатку в организме, который обеспечивало реальное содержание в дефицитном рационе [6]. Для достижения максимальной пользы предпочтительнее ежедневное, постоянное поступление физиологических витаминов, а не прерывистое воздействие болюсных доз витамина D [7]. Это означает, прием ВМК должен быть круглогодичным без

перерывов. Необходимым условием осуществления витамином D своих многочисленных, а значит и его некальцевых (внескелетных) функций, является полноценная обеспеченность организма всеми витаминами, участвующими в образовании гормонально активной формы витамина D и осуществлении его физиологических функций [8-10].

Дефицит каждого из микронутриентов является фактором риска развития того или иного заболевания, а одновременная множественная микронутриентная недостаточность создает «сеть причинности» причем не одного, а сразу нескольких заболеваний. Это означает, что восполнение недостаточного потребления с пищей дефицитных микронутриентов является важным способом поддержания здоровья и долголетия.

Заключение.

Исходя из вышесказанного ясно, что многокомпонентные ВМК представляют собой эффективный способ не только устранения дефицита микронутриентов в рационе питания или достижения их адекватного потребления, но и снижения риска различных заболеваний. ВМК должен содержать полный набор витаминов и основные минеральные вещества, комплементарные существующим дефицитам. Дозы микронутриентов должны быть сопоставимы с возрастными потребностями.

Для достижения максимального эффекта при выборе ВМК следует учитывать набор микронутриентов, дозы (около 100 от рекомендуемого потребления), возраст и физиологическое состояние организма человека, степень исходного дефицита микронутриентов, наличие заболеваний, применяемой лекарственной терапии, использование различных диет.

ЛИТЕРАТУРА

1 Dai, Q. Magnesium status and supplementation influence vitamin D status and metabolism: results from a randomized trial. /Q. Dai [et al.] //The American Journal of Clinical Nutrition. – 2018. – Vol. 108, № 6. – P.1249-1258. doi: 10.1093/ajcn/nqy27

2 Essential Minerals and Metabolic Adaptation of Immune Cells. / M.Alghamdi [et al.] // Nutrients. 2022. Vol.15, № 1. P.123. doi: 10.3390/nu15010123

3. Gombart, A.F. A review of micronutrients and the immune system–working in harmony to reduce the risk of infection. / A.F. Gombart [et al.] // Nutrients. 2020. Vol. 12, № 1. P. 236. doi: 10.3390/nu12010236

4. Ghazzawi, H.A. Exploring the Relationship between Micronutrients and Athletic Performance: A Comprehensive Scientific Systematic Review of the Literature in Sports Medicine. / H.A. Ghazzawi [et al.] / Sports (Basel). 2023. Vol.11, № 6. P.109. doi: 10.3390/sports11060109

5. Mathias, M. G. Clinical and vitamin response to a short-term multi-micronutrient intervention in Brazilian children and teens: From population data to interindividual responses. / M. G. Mathias // Mol Nutr Food Res. 2018. Vol. 62, № 6. P. 1700613. doi: 10.1002/mnfr.201700613

6. Коденцова, В. М. Алгоритм эффективного применения витаминно-минеральных комплексов. / В. М. Коденцова [и др.] // Журнал Гродненского

государственного медицинского университета. 2024. Т. 22. № 2. С. 177-184.
<https://doi.org/10.25298/2221-8785-2024-22-2-177-184>

7. Торшин, И.Ю. Об эффективных и безопасных дозировках витамина D₃: мегаанализ клинически результативных исследований как основа доказательности. / И.Ю. Торшин [и др.] // Медицинский совет. 2021. № 13. С.112–120. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-13-112-120>

8. Спиричев, В.Б., Громова О.А. Витамин D и его синергисты / В.Б.Спиричев, О.А.Громова // Земский врач. 2012. № 2. С. 33-38.

9. Коденцова В. М., Рисник Д. В., Мойсеёнок А. Г. (ред). Концепция Спиричева В. Б. «D₃+12 витаминов». Развитие и внедрение // Издательский дом БИБЛИО-ГЛОБУС, Москва, 2020. – 235 с.

10. Мойсеёнок А.Г., Янковская Л.В., Мойсеёнок Е.А., Морголь А.С., Хвесько И.С. Применение поливитаминного комплекса для повышения эффективности D-витаминопрофилактики // Питание и обмен веществ: сборник научных статей, выпуск № 5; науч. ред. А.Г. Мойсеёнок. – Минск: Беларуская навука, 2020. – С. 153–176.

БЕЛОРУССКИЕ КОРНИ ОРЕНБУРГСКОЙ ХИМИЧЕСКОЙ И БИОХИМИЧЕСКОЙ ШКОЛЫ

Павлова М.М., Лебедева Е.Н., Карнаухова И.В.

*ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет»
Минздрава России, г. Оренбург. Российская Федерация*

*«Я уверен, что ни один из тех, кто заинтересуется
химией, не пожалеет о том, что выбрал
эту науку в качестве своей специальности»
Н.Д. Зелинский*

Актуальность. Советская химическая наука имеет не только исторические корни, идущие от классических работ А.М. Бутлерова, Н.Н. Зинина, Д.И. Менделеева, но и свои отличительные черты, обусловленные удивительным взлетом целой плеяды выдающихся научных исследователей за сравнительно короткий исторический период – с 1917 по 1991 гг.

Это казанская школа А.Е. Арбузова, школа физико-химиков Н.Н. Семенова – первого, и единственного, химика СССР, удостоенного Нобелевской премии в 1956 году за открытие разветвленных химических реакций, школа химиков-органиков на химическом факультете МГУ, основанная академиком АН СССР Н.Д. Зелинским.

Именно в этот исторический период формировались республиканские научные химические школы СССР, история которых тесно переплетена между собой.

Цель. Показать историческую связь между химическими школами Белоруссии и России на примере представителей советской химической науки:

Н.С. Козлова (1907-1993) – директора Института химии АН БССР и Л.Е. Олифсона (1912-1998) – организатора кафедры общей химии Оренбургского (Чкаловского) медицинского института, учеников академика Н.Д. Зелинского.

Материалы и методы исследования. Изучение личных и научных биографий советских ученых-химиков Н.С. Козлова и Л.Е. Олифсона.

Обсуждение. В своё время академик А.Е. Арбузов написал о выдающемся учёном Николае Дмитриевиче Зелинском следующие слова: «Его можно отнести к химикам-романтикам, к той категории ученых, которые не ограничиваются какой-либо одной, хотя бы и важной областью, а захватывают целый ряд вопросов или даже проблем, часто не имеющих между собой непосредственной связи». Наверное, химиком-романтиком был и Н.С. Козлов – ученик Н.Д. Зелинского, ставший в 26 лет директором Института химии АН БССР и одновременно профессором и заведующим кафедрами органической химии Белорусского государственного университета и Минского медицинского института [1].

Талантливый юноша поступил в 1930 году в аспирантуру Московского государственного университета по специальности «Органическая химия – органический катализ». Его научным руководителем был великий химик академик Николай Дмитриевич Зелинский. Николай Козлов стал одним из его любимых учеников, защитил в 1932 году кандидатскую диссертацию и стал работать в МГУ под началом Зелинского. Он принимал участие в разработке методов полимеризации ацетилена в винилацетилен, на основе которых был осуществлён синтез хлоропренового каучука. Ещё в ту пору, когда Н.С. Козлов был аспирантом, он начал работать по смежной тематике на биологическом факультете МГУ под руководством профессора Александра Николаевича Реформатского. Энергия, талант и востребованность молодого учёного позволили ему параллельно читать также самостоятельный доцентский курс на физико-математическом факультете МГУ.

С 1933 года Н.С. Козлов продолжает свои исследования уже в Минске, в Институте химии АН БССР. В довоенные годы деятельность Института химии была направлена на изучение проблем органического синтеза и катализа, адсорбции, кинетики химических реакций, строения высокомолекулярных соединений, решение задач, связанных с рациональным использованием минерального и органического сырья БССР [2].

В январе 1959 г. Институт химии был реорганизован и на его базе были созданы Институт физико-органической химии (ИФОХ) и Институт общей и неорганической химии. В 1966 году, когда профессор Н.С. Козлов работал на Урале, его избрали действительным членом Академии наук Белорусской ССР. На следующий год руководство республики предложило ему должность директора академического Института физико-органической химии – того самого, который он, тогда 26-летний профессор, впервые возглавил 34 года тому назад.

В 1960-70 годах в Институте физико-органической химии под руководством академика Н.С. Козлова интенсивно развиваются работы в области каталитических методов синтеза органических соединений.

Учёный разработал новую реакцию гидроаминирования органических веществ азотистыми соединениями, зарегистрированную в мировой науке в 1979 году как «реакция Козлова». Результаты этих работ опубликованы автором в 7-ми монографиях и более чем 800-ста научных статьях. Совместно со своими коллегами и учениками он получил 190 авторских свидетельств на изобретение новых методов синтеза органических соединений, методов приготовления высокоэффективных катализаторов риформинга, а также на впервые синтезированные биологически активные соединения. Среди синтезированных им органических соединений вещества с высокой антиферментной, антивирусной, бактерицидной, гипотензивной, антидиабетической, кардиотропной, люминесцентной активностью.

Н.С. Козловым получен ряд красителей для использования в качестве активных сред в оптических квантовых генераторах, им разработаны и внедрены в промышленность новые антистатические препараты.

Награды, которыми отмечена деятельность академика Н.С. Козлова: Орден «Знак Почета» (1961), Орден Трудового Красного Знамени (1967), Орден Дружбы народов (1977), Звание «Заслуженный деятель науки и техники РСФСР» (1965), Государственная премия БССР (1984).

Николая Семёновича Козлова вспоминают как человека, которого отличала глубина проникновения в сущность изучаемых химических проблем, необыкновенно широкая эрудиция, трудолюбие, умение сконцентрироваться на главном, находить нестандартные решения. Он знал художественную прозу и поэзию, сам являлся прекрасным рассказчиком. Химиками стали его сын, а также внук Николай Гельевич, доктор химических наук, продолживший работу в Институте физико-органической химии в Минске [3].

Химиком-романтиком с полным правом можно назвать и Л.Е. Олифсона, принадлежавшего, как и его учитель Н.С. Козлов, к научной школе академика Зелинского.

Лев Ефимович Олифсон (1912-1998) родом из г. Витебска, где после окончания вечерней школы рабочей молодёжи поступил на химико-технологический факультет Витебского индустриально-педагогического института. После перевода на химфак Белорусского государственного университета успешно его окончил и остался на кафедре органической химии в должности ассистента. Пятого мая 1941 г. в Совете БГУ защитил кандидатскую диссертацию «О действии щелочей на кетоны».

В начале войны эвакуировался с семьёй из Минска в Оренбург, а с 1944 года его жизнь связана с Чкаловским государственным медицинским институтом (ныне Оренбургский государственный медицинский университет) одним из основателей которого он являлся, входя в инициативную группу из четырех человек по организации вуза.

Льву Ефимовичу было интересно работать в различных сферах химической науки, и во многих из них он добивался значительных результатов. В первые годы

после организации медицинского института и кафедры общей химии интересы ученого были направлены на решение многих проблем народно-хозяйственного значения. Так, была организована лаборатория по получению химически чистого хлорида натрия для обеспечения тыловых госпиталей, разработана рецептура и налажено производство антипаразитарного мыла, а также ряда других химических веществ оборонного значения [1].

Одним из важнейших направлений работы кафедры химии, начиная с 1951 года, были работы по изучению химического состава минеральных вод г. Оренбурга и Оренбургского района. Научные исследования кафедры под руководством Л.Е. Олифсона в период 1960-1990 гг. были посвящены изучению химического состава злаковых культур. На основании полученных данных был разработан способ получения пищевого красителя и установлена структура биологически активного вещества, выделенного из просяной мучели – милиацина.

Проводимое под руководством Л.Е. Олифсона исследование отходов медеплавильных производств Оренбургской, Челябинской и Свердловской областей (1984-1992 гг.), завершилось созданием комплексной технологической схемы их переработки и получением четырёх авторских свидетельств на изобретения.

Лев Ефимович Олифсон был влюблен в химию, трепетно относился к чистоте эксперимента, щедро делился своими знаниями и идеями не только с соратниками из преподавательской среды, но и с молодежью. Он много лет стоял во главе Оренбургского отделения Всесоюзного Химического Общества им. Д.И. Менделеева. Особое внимание Лев Ефимович уделял преподавательской деятельности. Бывшие студенты до сих пор помнят его яркие, эмоционально окрашенные лекции, имевшие медицинскую направленность и сопровождавшиеся интересными демонстрационными опытами. Им была составлена книга для юных химиков «Занимательные опыты по химии», которая была очень востребована и переиздавалась несколько раз.

Итоги научной деятельности профессора Л.Е. Олифсона демонстрирует его библиография, насчитывающая более 370 наименований. Он – автор свыше 300-от научных и учебно-методических работ. Имеет на счету 20 изобретений и большое число рационализаторских предложений. Подготовил 3-х докторов и 15 кандидатов наук. Является соавтором 2-х монографий, организатором многочисленных научных конференций.

Выводы. Что же роднит этих двух ученых? Их роднит неукротимый дух исследователя и преданность науке. Несмотря на то, что каждый из них прошел через большой круг сложностей и проблем, им было присуще сохранять преданность не только делу, избранному в далекой юности, но и своей стране. Каждый из них создал свою научную школу, являющуюся продолжением школы Н.Д. Зелинского.

Очень хотелось бы, чтобы светлые имена наших профессоров не были забыты, а их жизни стали примером для нового поколения ученых-химиков и биохимиков Беларуси и России.

ЛИТЕРАТУРА

1. Олифсон Лев Ефимович (к 100-летию со дня рождения): биобиблиографический указатель / сост.: Т. В. Цирюльник, Т. В. Дементьева; ред., авт. вступ. ст. и науч. консультант О. Д. Авшистер; ОрГМА. – Оренбург, 2014. – 77 с. – (Ученые Оренбургской государственной медицинской академии).
2. Козлов Николай Семенович //Белорусская ССР: Краткая энциклопедия. – Мн., 1982. - Т. 5: Биографич. справочник. – С. 304-305.
3. Скригин, А. И. Николай Семенович Козлов / А. И. Скригин // ВесціАН БССР. Серыя хім. навук. - 1967. - №. 2. - С. 124-127.

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛУТАТИОНА И ФЕРМЕНТОВ ЕГО МЕТАБОЛИЗМА ПРИ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

Петушок Н.Э.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Достаточно большое число метаболических процессов, обеспечивающих физиологические функции клеток, связано с реакциями переноса электронов. Это окислительное фосфорилирование, ферментативный катализ, обезвреживание ксенобиотиков, повреждения ДНК и ряд других. Прямым следствием таких реакций является генерация активных форм кислорода или азота. Помимо окислительного метаболизма, активные формы кислорода (АФК) образуются для передачи клеточного сигнала при действии на клетку ксенобиотиков, бактерий и цитокинов [1]. Образование избыточного количества АФК в биологических системах обычно обозначают термином «окислительный стресс» [2]. В настоящее время принято рассматривать 2 варианта окислительного стресса: эу- и дистресс. Окислительным эустрессом считается состояние, опосредованное присутствием физиологических концентраций АФК. Это диапазон от 10^{-12} М до 10^{-6} М. Именно такие количества обеспечивают внутри- и межклеточную сигнализацию [3]. Окислительный же дистресс (содержание АФК более 10^{-6} М) может приводить к повреждению биомолекул [4]. Маркёрами окислительного стресса являются ксантиноксидаза, миелопероксидаза, карбонилы белков, окисленные липопroteины низкой плотности, 4-гидроксиноненаль, малоновый диальдегид (ТБК-реагирующий продукт), F_2 -изопростаны, 3-нитротирозин [1].

Именно окислительный дистресс является общей чертой целого ряда заболеваний: рак, неврологические расстройства, сердечно-сосудистые заболевания, болезни легких [5]. Одной из молекулярных основ всех этих патологий является повреждение клеток активными формами кислорода. Механизмы нарушений различаются. Это может быть повреждение биомолекул путем их прямого окисления такими активными соединениями как

гидроксильный радикал или пероксинитрит. Другим важным механизмом является сбой окислительно-восстановительной сигнализации. Повреждение сигнальных путей, вызванное окислительным стрессом, нарушает индукцию апоптоза, функционирование митохондрий, процессы модификации белков. Примером патологии, при которой задействованы оба этих механизма является сахарный диабет [1].

До сих пор нет единого мнения, является ли окислительный стресс причиной или следствием заболевания. Есть факты, свидетельствующие, как в пользу первого, так и второго. Например, было показано, что окислительный стресс является причиной атеросклероза, ряда радиационно-индуцированных повреждений, последствий отравления гербицидом паракватом [6]. В то же время установлено, что окислительный стресс является следствием воспаления, вызванного травмой. Окислительный стресс как вторичный фактор прогрессирования заболевания наблюдался при хронической болезни легких, сахарном диабете II типа, болезни Альцгеймера, раке.

Организмы выработали сложную и многоуровневую систему защиты от окислительного стресса. Она заключается не только в способности к обезвреживанию оксидантов, но и в восстановлении окислительных повреждений. Основная и наиболее эффективная часть первой линии этой защиты представлена ферментами-антиоксидантами (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза (ГПО), каталаза). В индукции этих ферментов участвуют транскрипционный фактор AP-1, ядерный фактор каппа В (NF-κB), фактор 2, подобный ядерному фактору эритроидного происхождения 2 (Nrf2) [7, 8]. Другую часть составляют низкомолекулярные антиоксиданты. Это витамины С, Е, глутатион, каротиноиды, флавоноиды, эрготионеин, селен, мелатонин [9].

Вторая линия антиоксидантной защиты представлена тиоредоксиновой системой, в которой белок тиоредоксин обеспечивает восстановление дисульфидов, глутатионредуктазой (ГР), регенерирующей восстановленный глутатион из его окисленной формы с использованием НАДФН. Обе линии антиоксидантной защиты важны для обеспечения редокс-сигнализации в клетке и поддержания окислительно-восстановительного гомеостаза. Третья линия защиты отвечает за удаление поврежденных окислением молекул [10]. Консолидированное действие всех элементов антиоксидантной защиты обеспечивает устойчивость организма в ситуациях, характеризующихся избыточной нагрузкой АФК и активацией свободнорадикального окисления.

Внутриклеточный трипептид глутатион (GSH) принимает участие во многих биологических процессах: защищает клетки от активных форм кислорода, восстанавливает дисульфидные связи белков и пептидов, влияет на активность ряда ферментов, поддерживает функции мембран, выполняет коферментные функции, является резервом цистеина, влияет на биосинтез нуклеиновых кислот и белка, клеточную пролиферацию, участвует в метаболизме ксенобиотиков, повышает устойчивость клеток к вредным воздействиям [11]. Глутатионовая редокс-система (GSH, ГПО, ГР) является одним из важнейших инструментов поддержания нормального функционирования и выживания клетки [12, 13]. Данная система представляет

собой тиольные группы, которые способны обратимо изменять свой редокс-статус, тем самым вызывая конформационные и каталитические перестройки белка. Ферменты сохраняют оптимальное соотношение восстановленного и окисленного глутатиона, что позволяет ему выполнять свои основные функции: поддержку системы детоксикации, синтез эйкозаноидов, регуляция механизмов клеточной сигнализации (экспрессия генов, апоптоз), минимизация прооксидантного действия активных форм кислорода и азота.

Многочисленные данные показывают, что достаточные концентрации глутатиона защищают клетки от повреждений и предотвращают дегенерацию тканей при различных заболеваниях. Изменения гомеостаза GSH обнаружены при белково-энергетической недостаточности, канцерогенезе, болезнях Альцгеймера и Паркинсона, ВИЧ-инфекции, заболеваниях печени и сердца, старении, сахарном диабете, ожирении и других [14].

Представленные в последнее время результаты исследований метаболизма опухолевых клеток продемонстрировали связь редокс-процессов в них с этиологией, прогрессированием и лечением рака. Существует ряд причин, по которым при изучении неопластического роста особое внимание уделяется восстановленному глутатиону и связанным с ним ферментам. В первую очередь – это способность данного трипептида участвовать не только в поддержании баланса между про- и антиоксидантными процессами, но также и в процессах детоксикации и репарации [15]. Кроме этого, благодаря реакциям образования нитрозоглутатиона, и способности к взаимодействию с рядом белков, глутатион рассматривается как один из регуляторов развития опухолевых клеток и их ответа на терапию [16].

В канцерогенезе глутатион играет двойственную роль. С одной стороны, он исключительно важен для детоксикации и удаления канцерогенов, а с другой – высокий уровень глутатиона защищает опухолевые клетки от действия химиотерапевтических препаратов [17], а также может способствовать метастазированию (в частности, при меланоме и раке печени). Повышенное содержания глутатиона обнаружено во многих типах опухолей. Этот рост объясняется не только более интенсивной продукцией активных форм кислорода в опухолевых клетках, но тем, что ряд онкопромоторов активируют механизмы синтеза и оборота GSH.

Оценка уровня восстановленного глутатиона и содержания тиобарбитурат-реагирующих продуктов в печени мышей в динамике роста асцитной опухоли Эрлиха показала, что в фазу активного роста опухоли идет накопление ТБК-РП, свидетельствующее об интенсификации процессов ПОЛ в печени мышей-опухоленосителей. Возможной причиной этого может быть нарушение функциональной активности глутатионовой системы, проявляющееся в снижении уровня GSH. [18]. У пациентов с раком желудка выявлено, что уровень GSH в опухоли превышает его содержание в интактной ткани. Причем в случаях низкодифференцированных и недифференцированных опухолей содержание GSH в ткани опухоли и перитуморальной зоны выше, чем в высоко- и умеренно дифференцированных опухолях. Эта же тенденция прослеживается и в эритроцитах пациентов [19].

Глутатион синтезируется *de novo* в ходе двух реакций. Первая катализируется глутаматцистеинлигазой (ГЦЛ), вторая – глутатионсинтетазой (ГСЦ). Скорость синтеза GSH зависит от экспрессии ГЦЛ, её активности и доступности цистеина. ГЦЛ представляет собой гетеродимер, состоящий из каталитической и регуляторной субъединиц. Нуль-мутация, ведущая к полному прекращению экспрессии гена регуляторной субъединицы и существенному снижению содержания GSH, не отражается на жизнеспособности экспериментальных животных. Высокий же уровень экспрессии данного гена обнаружен при резистентном к терапии раке молочной железы. Показано, что мутации в гене регуляторной субъединицы ведут к задержке возникновения опухоли в моделях саркомы, рака молочной железы и лимфомы у мышей, что позволяет назвать ген регуляторной субъединицы ГЦЛ перспективной мишенью для борьбы с резистентностью этих видов рака. В норме активность гетеродимера ГЦЛ регулируется уровнем GSH по принципу отрицательной обратной связи. Однако при окислительном стрессе или других патологических состояниях количество ГЦЛ возрастает из-за действия транскрипционных факторов Nrf2 и NF-κB. Рост количества каталитических субъединиц ГЦЛ или их активности обнаружен у пациентов с меланомой, раком легкого и почечно-клеточной карциномой. Экспрессия гена каталитической субъединицы ослабляется Мус-индуцированной микроРНК, поэтому эти опухоли очень восприимчивы к окислительному стрессу. Мус также регулирует экспрессию каталитической субъединицы ГЦЛ в Т-клетках, а это может модулировать иммунотерапевтические ответы у онкологических пациентов. Подавление синтеза глутатиона путем необратимого ингибирования активности ГЦЛ бутионин сульфоксимином способствует апоптозу в клетках рака молочной железы и яичников, а также ослабляет рост клеток при раке пищевода.

Возрастание наработки GSH может быть следствием перепрограммирования метаболизма в опухолевых клетках. В частности, сигнальный путь PI3K (фосфоинозитид-3-киназа) стимулирует синтез GSH в клетках рака молочной железы, а в случае нейробластомы или лимфомы Беркитта такой же эффект достигается за счет активации экспрессии транспортеров аминокислот, необходимых для синтеза глутатиона, протоонкогенным белком Мус.

γ-Глутамилтрансфераза – фермент γ-глутамильного цикла, переносящий глутамильную группу глутатиона на транспортируемую аминокислоту. Высокая активность этого фермента коррелирует с химиорезистентностью и плохим прогнозом у пациентов с раком молочной железы, саркомой или светлоклеточной почечноклеточной карциномой (ccRCC).

Суперсемейство глутатионтрансфераз (GST) использует глутатион для обезвреживания широкого спектра ксенобиотиков путем конъюгации (II фаза детоксикации). В дополнение к этому они демонстрируют достаточно широкий спектр функций: глутатиопероксидазную активность, участие в синтезе простагландинов, реакциях тиолиза и изомеризации, а также передача сигнала в пути MAPK (митоген-активируемая протеинкиназа) для модуляции апоптоза. Важно отметить тот факт, что при канцерогенезе GST изначально защищают от

развития рака, но как только это не удастся, они становятся необходимыми для обеспечения выживаемости опухолевых клеток, так как активность GST напрямую связана с множественной лекарственной резистентностью опухолей. Ряд полиморфизмов GST, влияющих на их экспрессию или активность, предложены в качестве биомаркеров риска рака и прогноза [20].

Глутатионпероксидазы (ГПО) являются членами мультиферментного семейства, которые катализируют восстановление H_2O_2 или органических гидропероксидов за счет окисления GSH. Повышенный уровень активных форм кислорода, характерный для опухолевых клеток, требует адекватной реакции со стороны антиоксидантной системы, в том числе и роста активности ГПО. На экспериментальных животных показано, что потеря активности ГПО из-за генетических дефектов ведет к развитию опухолей желудочно-кишечного тракта. Есть сообщения, что изофермент ГПО – GPx3 – может действовать и как супрессор опухолей, соответственно, снижение его активности связано с плохим прогнозом для пациента. Существуют так же исследования, показывающие, что экспрессия GPx3 при некоторых видах рака (светлоклеточная аденокарцинома, колоректальная карцинома, рак яичников, лейкемия) увеличивается. То есть роль GPx3 в прогрессировании опухоли представляется спорной.

Таким образом, глутатион и связанные с ним ферменты играют важную роль в иницировании, прогрессировании и лекарственной резистентности опухолей. Соответственно, определение как содержания самого GSH, так и активности или экспрессии ферментов его метаболизма имеет несомненные перспективы в качестве диагностических или прогностических критериев. В частности, это могут быть исследования степени агрессивности опухоли и её резистентности к терапии. Изучение генотипов полиморфизмов генов системы глутатиона может стать весьма информативным инструментом выявления генетической предрасположенности к развитию целого ряда патологий. Модуляция уровня GSH путем воздействия на различные этапы его метаболизма в перспективе может стать одним из способов эффективного ограничения роста опухоли и её чувствительности к химиотерапевтическим препаратам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging / K. Jomova [et al.] // Archives of Toxicology. – 2023. – Vol. 97. – P. 2499–2574.
2. Guidelines for measuring reactive oxygen species and oxidative damage in cells and *in vivo* / M. P. Murphy [et al.] // Nature Metabolism. – 2022. – Vol. 4, № 6. – P. 651– 662.
3. Finkel, T. Signal transduction by reactive oxygen species / T.Finkel // Journal of Cell Biology. – 2011. – Vol. 94, № 1. – P. 7–15.
4. Azzi, A. Oxidative stress: what is it? Can it be measured? Where is it located? Can it be good or bad? Can it be prevented? Can it be cured? / A. Azzi // Antioxidants. – 2022. – Vol. 11, № 8. – P. 1431.
5. Halliwell, B. Free radicals in biology and medicine / B. Halliwell, J. M. C. Gutteridge // Oxford University Press. – 2015. – P. 896.

6. Tampo, Y. Superoxide production from paraquat evoked by exogenous NADPH in pulmonary endothelial cells / Y. Tampo, M. Tsukamoto, M. Yonaha // *Free Radical Biology and Medicine*. – 1999. – Vol. 27, № 5–6. P. 588–595.
7. Matés, J. M. Antioxidant enzymes and human diseases. / J. M. Matés, C. Pérez-Gómez, I. Núñez de Castro // *Clinical Biochemistry*. – 1999. – Vol. 32, № 8. – P.595–603.
8. Bandyopadhyay, U. Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis / U. Bandyopadhyay, D. Das, R. K.Banerjee // *Current Science*. – 1999. – Vol. 77, № 5. – P. 658–666.
9. Никитина, О.А. Система антиоксидантной защиты: регуляция метаболических процессов, генетические детерминанты, методы определения / О.А. Никитина [и др.] // *Сибирский научный медицинский журнал*. – 2022. – Т.42. – № 3. – С. 4–17.
10. Sies, H. Strategies of antioxidant defense / H. Sies // *European Journal of Biochemistry*. – 1993. – Vol. 215, № 2. – P. 213–219.
11. Кулинский, В.И. Система глутатиона. II. Другие ферменты, тиол-дисульфидный обмен, воспаление и иммунитет, функции / В.И. Кулинский, Л.С. Колесниченко // *Биомедицинская химия*. – 2009. – Т. 55, вып. 4. – С. 365–379.
12. Кулинский, В.И. Система глутатиона. I. Синтез, транспорт, глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы / В.И. Кулинский, Л.С. Колесниченко // *Биомедицинская химия*. – 2009. – Т. 55, вып. 3. – С. 255–277.
13. Brigelius-Flohé, R. Glutathione peroxidases / R. Brigelius-Flohé, M. Maiorino // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2013. – Vol. 1830, № 5. – P. 3289–3303.
14. Lushchak, V. Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions / V. Lushchak // *Journal of Amino Acids*. – 2012;2012:736837.
15. Kennedy, L. Role of Glutathione in Cancer: From Mechanisms to Therapies / L.Kennedy [et al.] // *Biomolecules*. – 2020. – Vol. 10. – Is. 10. – P. 1429.
16. Zhang, M-Li. Involvement of glutathione peroxidases in the occurrence and development of breast cancers / Man-Li Zhang [et al.] // *Journal of Translational Medicine*. – 2020. – Vol. 18, № 1. – P. 247.
17. Bansal, A. Glutathione metabolism in cancer progression and treatment resistance / A. Bansal, M.C. Simon // *Journal of Cell Biology*. – 2018. – Vol. 217, № 7. – P. 2291-2298/
18. Петушок, Н.Э. Глутатионовая система в печени мышей при росте асцитной опухоли Эрлиха / Н. Э. Петушок // *Сборник трудов молодых ученых Национальной академии наук Беларуси. Том II. Отделение аграрных наук. Отделение биологических наук. Отделение медицинских наук*. – Мн.: ИООО «Право и экономика». – 2003. – С. 311-313.
19. Редокс формы глутатиона при злокачественном поражении желудка разной степени агрессивности / И.А. Горошинская [и др.] // *Бюллетень сибирской медицины*. – 2020. – Т.19(4). – С. 53-60. doi.org/10.20538/1682-0363-2020-4-53-60.

20. Kennedy, L. Role of Glutathione in cancer: from mechanisms to therapies / L. Kennedy [et al.] // Biomolecules. – 2020, 10, 1429; doi:10.3390/biom10101429.

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, СОДЕРЖАЩИХСЯ В ПРОДУКТАХ ПЧЕЛОВОДСТВА

Семененя И.Н., Переверзев В.А.

*Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Республика Беларусь*

О противоопухолевых свойствах продуктов пчеловодства (*мед, прополис, маточное молочко, пчелиный яд, перга и др.*) известно не менее 40 лет. Научными исследованиями доказана способность продуктов пчеловодства влиять на возникновение и течение злокачественных новообразований. Есть наблюдения за животными, свидетельствующие о том, что длительный ежедневный прием меда предупреждает развитие у них некоторых видов злокачественных новообразований. Приводятся данные о почти 2000 столетних жителей Болгарии, которые постоянно употребляли мед и у которых не отмечено ни одного случая развития злокачественных опухолей [3].

При сравнении противоопухолевой активности различных образцов меда в отношении клеток рака молочной железы различных линий обнаружено, что цитотоксический эффект возрастает в ряду мультицветочный–сосновый–кедровый–каштановый, что прямо коррелирует с увеличением в них общего содержания фенольных соединений и более темным цветом меда. Кроме того, в таком же порядке возрастает и антиоксидантная активность образцов меда [5].

В опытах на мышах и крысах было изучено влияние меда, разведенного водой в соотношении 1:4 и вводимого животным через зонд в желудок, на развитие некоторых прививаемых экспериментальных злокачественных опухолей – лимфосаркомы Плисса, саркомы 180 Крекера, карциномы 3LL, асцитной карциномы Эрлиха и меланомы В-16. Установлено, что введение меда до прививки опухолей приводило к торможению роста новообразований на 29-48%, значительному подавлению метастазирования и увеличению продолжительности жизни животных-опухоленосителей на 21-27%. Введение разведенного меда после прививки опухолей оказывало более значительный эффект. Рост опухолей тормозился на 27-47%, значительно подавлялся процесс метастазирования, а продолжительность жизни животных увеличивалась до 75% (у мышей с асцитной карциномой Эрлиха). У крыс с лимфосаркомой Плисса, которым вводился мед, метастазы обнаруживались только у 20% животных, а в контрольной группе – у 100%. Противоопухолевая активность меда более выражена на ранних стадиях развития экспериментальных опухолей. Установлено также, что совместное применение меда и противоопухолевых лекарственных средств (5-фторурацила и циклофосфана) оказывало более выраженный противоопухолевый эффект. Так, у мышей с

меланомой В-16 5-фторурацил задерживал рост опухоли на 10%, а в сочетании с медом – на 47%. Число метастазов у этих животных было в 2 раза меньше, чем у животных, которым вводился только 5-фторурацил. Кроме того, введение меда снижало токсичность противоопухолевых препаратов [3, 12, 17].

Таким образом, накопленные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что мед обладает противоопухолевой активностью, тормозит рост опухолей и метастазирование, усиливает действие противоопухолевых лекарственных средств, уменьшает их токсичность и увеличивает продолжительность жизни животных с опухолями.

Высокую противоопухолевую активность проявляет и прополис. Так, введение экстракта прополиса через зонд в желудок экспериментальным животным на 27% замедляет рост карциномы легких Льюиса у мышей, на 45% снижает количество метастазов и на 74% – их общую массу. Под влиянием прополиса на 38% тормозился рост карциносаркомы Уокера 256 у крыс. Прополис, также как и мед, усиливал противоопухолевую активность циклофосфана. Получены неплохие результаты при использовании препаратов прополиса в терапии пациентов с раком кожи, губы, гортани, легких, пищевода, желудка, кишечника, матки, сарком разной локализации, лейкозов [3, 15, 18].

Из прополиса и меда выделено немало химических веществ с выраженной противоопухолевой активностью – фенилэтиловый эфир кофейной кислоты, мангифероловая кислота, неморозон, галангин, карданол, пиноцембрин, лютеолин, артепиллин С, хризин, 3-метиловый эфир кверцетина, пара-кумаровая кислота и др. [3, 10, 14, 15, 18]. Клеродановый дитерпеноид, имеющий эмпирическую формулу $C_{20}H_{32}O_3$, подавляет синтез нуклеиновых кислот в ядрах опухолевых клеток, не влияя при этом на нормальные клетки в отличие от классических противоопухолевых лекарственных средств. Это вещество, например, предупреждает возникновение рака кожи у мышей при действии на них сильного канцерогена – 7,12-диметилбензантрацена [3, 15].

Флавоноиды прополиса (кемпферид, эрманин, кверцетин и др.) тормозят рост многих линий раковых клеток в культуре. Кофейнохинные кислоты оказывают профилактическое действие в отношении возникновения рака кожи и толстого кишечника при действии некоторых химических канцерогенов на экспериментальных животных. Фенилэтиловый эфир кофейной кислоты прополиса дозозависимо ингибирует рост клеток злокачественных опухолей, вызывает, в частности, значительную супрессию транскрипционного b-катенин/Tcf4 фактора, снижает экспрессию циклина D1, c-myc и индуцирует апоптоз в культуре клеточных линий колоректального рака (HCT116 и SW480). Мангифероловая кислота, например, значительно увеличивает в опухолевых клетках уровень экспрессии генов COX2 и NFκB, связанных с воспалением и путями гибели клеток, что сопровождается повышенной экспрессией генов CASP3 и CASP7, участвующих в механизмах апоптоза. Химические компоненты прополиса воздействуют на различные сигнальные пути, связанные с повреждением опухолевых клеток, включая также пути, опосредованные p53, β-катенином, фосфоинозитид 3-киназой (PI3K)/Akt, ERK1/2, MAPK (митоген-активируемой протеинкиназой),

NF- κ B, Fas, TLR4, ANXA7, потенциалзависимыми Na⁺-каналами и др. Противоопухолевый эффект прополиса может быть также связан с регулированием его компонентами экспрессии микроРНК в опухолевых клетках, в частности, отмеченным значительным увеличением количества тех микроРНК, которые являются супрессорами клеток глиобластомы [3, 8, 9, 14, 16-18].

Таким образом, химические вещества прополиса через различные механизмы могут тормозить пролиферацию опухолевых клеток, активировать их апоптоз, подавлять инвазивный рост опухолей, их метастазирование, а также усиливать аутофагию в опухолях.

В составе маточного молочка обнаружены более 30 деценовых кислот (*представители непредельных жирных кислот*), у которых выявлена противоопухолевая активность в отношении клеток лимфом, лимфосарком, рака молочной железы, легких, толстой кишки, экспериментальной карциномы Эрлиха и др. Эти кислоты подавляют пролиферацию опухолевых клеток, активируют их апоптоз, снижают токсическое действие противоопухолевой химиотерапии на организм. Наиболее выраженный противоопухолевый эффект отмечен у 10-гидрокси-2-деценовой кислоты, причем введение в структуру молекулы кето- или амидной группы значительно уменьшает или полностью устраняет противоопухолевую активность. Установлено, например, что 10-гидрокси-2-деценовая кислота *in vitro* оказывает мощное цитотоксическое действие на клетки гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2 без существенного повреждающего действия на нормальные клетки. При этом уровни экспрессии генов каспазы-3, Вах и miR-34a в опухолевых клетках были значительно повышены. Эта кислота активирует каскадные пути комплемента и коагуляции, которые могут играть важную роль в ее противоопухолевом эффекте [3, 7].

Можно привести исследования, в которых показана способность маточного молочка значительно подавлять жизнеспособность клеток линии Nalm-6, полученной из клеток острого лимфобластного лейкоза человека, но не оказывать повреждающего действия на нормальные клетки. Маточное молочко индуцировало ROS-опосредованный апоптоз (через FOXO4, Sirt1 и p21) путем повышения регуляции проапоптотических генов при одновременном снижении экспрессии антиапоптотических генов. При этом наблюдалась также BECN1-опосредованная аутофагия в клетках Nalm-6 [19].

Высокую противоопухолевую активность показывает и пчелиный яд. Среди его компонентов наиболее выраженные канцеролитические свойства демонстрируют полипептид мелиттин (26 аминокислотных остатков) и фосфолипаза A₂, разрушающая мембраны опухолевых клеток. Антибластомное действие меллитина обнаружено на клетках рака легких, молочной железы, желудка, печени, толстого кишечника, поджелудочной и предстательной желез, мочевого пузыря, шейки матки, яичников, меланомы, на клетках остеосаркомы, а также в клеточных линиях глиом. Этот полипептид эффективно подавляет ангиогенез в опухолях, вызывает апоптоз опухолевых клеток, тормозит их пролиферацию и метастазирование путем ингибирования сигнальных путей

mTOR, SDF-1 α /CXCR4, WNT/ β -катенин, VEGFR-2 и др. В настоящее время в качестве противоопухолевых средств созданы синтетические аналоги мелиттина – MEL-пер и др. [2, 3].

Прямое угнетающее влияние на жизнедеятельность злокачественных клеток (опухолевых В-лимфоцитов, выделенных из крови пациента с лимфолейкозом) установлено и у экстрактов перги [3].

Обнаруженный в экспериментальных и клинических исследованиях противоопухолевый эффект продуктов пчеловодства связан не только с прямым повреждающим действием их химических компонентов на опухолевые клетки, но и с повышением устойчивости организма к возникновению злокачественных опухолей в результате увеличения активности системы противоопухолевой защиты организма, в частности, противоопухолевого иммунитета. Как известно, регулярное употребление продуктов пчеловодства повышает иммунореактивность организма при ее снижении, а угнетение иммунной системы сопряжено с увеличением риска развития онкологических заболеваний. Применение продуктов пчеловодства приводит к понижению вязкости и свертываемости крови. В то же время эти показатели увеличиваются при развитии злокачественных опухолей и применение фармакологических средств, уменьшающих вязкость и свертываемость крови, например, гепарина, тормозит рост опухолей и метастазирование. Использование продуктов пчеловодства ослабляет проявления психической депрессии, а психическая депрессия, как известно, повышает риск развития злокачественных опухолей. Пчелопродукты могут оказывать противоопухолевое действие и за счет усиления антитоксической функции печени и других органов, нормализации работы толстого кишечника, в котором из поступающей в организм пищи в результате гнилостно-бродильных процессов образуется много токсинов, мутагенов, канцерогенов, и др. [3, 12, 15, 17].

Очевидно, что продукты пчеловодства являются важными природными факторами сохранения и укрепления здоровья человека, которые при длительном и рациональном применении могут снизить риск развития злокачественных опухолей за счет повышения эффективности функционирования системы противоопухолевой защиты организма и непосредственного повреждающего влияния некоторых их химических компонентов на образующиеся в организме опухолевые клетки.

Особенно показано применение продуктов пчеловодства в тех случаях, когда пациент принимает лекарственные средства, у которых установлена возможность проявления канцерогенной активности [1, 4, 6, 11, 13, 20]:

- **антигипертензивные средства** (блокаторы кальциевых каналов, ингибиторы ангиотензин-I-превращающего фермента, блокаторы рецепторов ангиотензина II, атенолол, резерпин);
- **антидиабетические средства** (пиоглитазон);
- **антиинфекционные средства** (пенициллины, цефалоспорины, фторхинолоны, сульфаниламиды, азитромицин, левомицетин, гризеофульвин, вориконазол, изониазид, метронидазол);
- **антипсихотические средства;**

- **антитиреоидные средства** (тиоурацил, метилтиоурацил);
- **гиполипидемические средства** (статины, фибраты) и др.
- **гормональные и антигормональные средства** (оральные контрацептивы, анаболические стероиды, тамоксифен, летрозол, финастерид, дутастерид);
- **иммунодепрессанты и иммуностимуляторы** (абатацепт, циклоспорин А, азатиоприн, рапамицин, этанерцепт, тималин);
- **мочегонные средства;**
- **нестероидные противовоспалительные средства** (парацетамол, фенилбутазон);
- **противоаритмические средства** (амиодарон);
- **противоопухолевые средства** (бусульфан, дакарбазин, даунорубицин, доксорубицин, ибритумомаб, изофосфамид, мелфалан, 6-меркаптопурин, регорафениб, ритуксимаб, тиотэф, тресульфан, хлорамбуцил, циклофосфамид, цисплатин, этопозид и др.);
- **противоподагрические средства** (аллопуринол);
- **противоязвенные средства** (ранитидин);
- **слабительные средства** (фенолфталеин, средства на основе экстракта листьев Сенны, содержащих диантроновые и антрахиноновые гликозиды).

Заключение. Продукты пчеловодства, особенно прополис, маточное молочко, пчелиный яд и мед, обладают достаточно выраженным потенциалом противоопухолевой активности. Это связано с наличием в их составе природных биологически активных соединений, способных оказывать как прямое цитотоксическое влияние на опухолевые клетки, так и системное общеукрепляющее действие на организм, выражающееся, в частности, в значительном повышении активности системы противоопухолевой защиты организма. Прикладная разработка этого направления может оказать существенное подспорье в решении проблемы профилактики злокачественных новообразований и терапии пациентов с онкологическими заболеваниями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белицкий, Г. А. Лекарственный канцерогенез: факторы риска и возможности предотвращения / Г. А. Белицкий, К. И. Кирсанов, Е. А. Лесовая, М. Г. Якубовская // Успехи биол. химии. – 2020. – Т. 60. – С. 173–226.
2. Караматов, И. Д. Противоопухолевые свойства пчелиного яда (обзор литературы) / И. Д. Караматов, Р. С. Баймурадов // Биол. интегратив. мед. – 2023. – С. 158–180.
3. Современные проблемы пчеловодства и апитерапии / А. З. Брандорф [и др.]. – Рыбное : ФГБНУ “НИИ пчеловодства”, 2019. – 338 с.
4. Allopurinol and the incidence of bladder cancer: a Taiwan national retrospective cohort study / C. J. Chen [et al.] // Eur. J. Cancer Prev. – 2016. – Vol. 25, N 3. – P. 216–223.
5. Anatolian honey is not only sweet but can also protect from breast cancer: Elixir for women from artemis to present / M. F. Seyhan [et al.] // IUBMB Life. – 2017. – Vol. 69, N 9. – P. 677–688.

6. Antibiotic therapy is associated with an increased incidence of cancer / C. Roderburg [et al.] // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* – 2023. – Vol. 149, N 3. – P. 1285-1293.
7. Antitumor effects and the potential mechanism of 10-HDA against SU-DHL-2 cells / Y. Tian [et al.] // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2024. – Vol. 17, N 8. – P. 1088.
8. Antitumor effects of poplar propolis on DLBCL SU-DHL-2 cells / X. Liu [et al.] // *Foods*. – 2023. – Vol. 12, N 2. – P. 283.
9. Chinese propolis exerts anti-proliferation effects in human melanoma cells by targeting NLRP1 inflammatory pathway, inducing apoptosis, cell cycle arrest, and autophagy / Y. Zheng [et al.] // *Nutrients*. – 2018. – Vol. 10, N 9. – P. 1170.
10. In vitro cytotoxic activity on KATO-III cancer cell lines of mangiferolic acid purified from Thai *Tetragonula laeviceps* propolis / T. Meemongkolkiat [et al.] // *Heliyon*. – 2024. – Vol. 10, N 9: e30436.
11. Friis, S. Statin use and cancer risk: an epidemiologic review / S. Friis, J. H. Olsen // *Cancer Invest.* – 2006. – Vol. 24, N 4. – P. 413–424.
12. Ghramh, H. A. Study of anticancer, antimicrobial, immunomodulatory, and silver nanoparticles production by Sidr honey from three different sources / H. A. Ghramh, E. H. Ibrahim, M. Kilany // *Food. Sci. Nutr.* – 2019. – Vol. 8, N 1. – P. 445–455.
13. Grossman, E. Carcinogenicity of antihypertensive therapy / E. Grossman, F. H. Messerli, U. Goldbourt // *Curr. Hypertens. Rep.* – 2002. – Vol. 4, N 3. – P. 195–201.
14. Moskwa, J. Bee products and colorectal cancer-active components and mechanism of action / J. Moskwa, S. K. Naliwajko, D. Dobiecka, K. Socha // *Nutrients*. – 2023. – Vol. 15, N 7. – P. 1614.
15. Patel, S. Emerging adjuvant therapy for cancer: propolis and its constituents / S. Patel // *J. Diet. Suppl.* – 2016. – Vol. 13, N 3. – P. 245–268.
16. Potential antitumor mechanism of propolis against skin squamous cell carcinoma A431 cells based on untargeted metabolomics / J. Wang [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2024. – Vol. 25, N 20. – P. 11265.
17. Premratanachai, P. Review of the anticancer activities of bee products / P. Premratanachai, C. Chanchao // *Asian. Pac. J. Trop. Biomed.* – 2014. – Vol. 4, N 5. – P. 337–344.
18. Propolis: A detailed insight of its anticancer molecular mechanisms / S. Altabbal [et al.] // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2023. – Vol. 16, N 3. – P. 450.
19. Royal jelly induces ROS-mediated apoptosis in acute lymphoblastic leukemia (ALL)-derived Nalm-6 cells: Shedding light on novel therapeutic approaches for ALL / S. Yazdanparast [et al.] // *Iran. J. Basic. Med. Sci.* – 2024. – Vol. 27, N 7. – P. 801–812.
20. Zelmat, Y. Drug-induced tumoral disease: A global pharmacovigilance database analysis / Y. Zelmat, F. Despas // *Therapie*. – 2023: S0040–5957(23)00185-3.

ЭНДОГЕННЫЙ СЕРОВОДОРОД: ЕГО РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ (ОБЗОР)

Семененя И.Н., Переверзев В.А.

*Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Республика Беларусь*

В последнее время большое внимание биохимиков, физиологов и патологов привлечено к изучению биологических и медицинских эффектов эндогенных низкомолекулярных газообразных регуляторов (*газотрансмиттеров*), которые до сравнительно недавнего времени рассматривались лишь как экологические токсиканты – монооксид азота (NO), монооксид углерода (CO) и сероводород (H₂S). Количество публикаций о роли этих эндогенных факторов в регуляции процессов жизнедеятельности в норме и в условиях патологии стремительно нарастает. Уже трудно назвать области биохимии, физиологии и патологии, где не “наследили” бы эти газы. В настоящей работе мы коснемся роли эндогенного сероводорода (H₂S) в регуляторных процессах, который известен как бесцветный газ со сладковатым вкусом, имеющий запах тухлых яиц (тухлого мяса) в достаточных для восприятия концентрациях.

Впервые способность клеток организма (*головного мозга*) синтезировать H₂S, как регулятор клеточных функций, показана в 1996 году японскими исследователями, хотя обнаружен этот газотрансмиттер в ткани головного мозга еще в 1980-х годах, но принят был тогда за артефакт (*его появление связывали с высвобождением H₂S из дисульфидных соединений во время препарирования тканей*) [2].

Синтез H₂S в клетках организма осуществляется тремя ферментативными путями (*указывается еще и неферментативное образование H₂S из тиоцистеина*) с участием 2-х цитозольных пиридоксаль-5'-фосфат-зависимых ферментов (*цистатионин-β-синтазы и цистатионин-γ-лиазы*), использующих в качестве субстрата L-цистеин, и Zn²⁺-зависимой 3-меркаптопируватсульфотрансферазы, локализованной в цитоплазме и митохондриях, катализирующей образование H₂S из 3-меркаптопирувата, который, в свою очередь, образуется с участием *цистеинаминотрансферазы*. Для синтеза H₂S могут использоваться и другие субстраты – метионин и цистин. Причем образование H₂S в мозге регулируется в основном цистатионин-β-синтазой, а в сердце и сосудах – цистатионин-γ-лиазой (*следует отметить, что в гладкомышечных клетках сосудов H₂S образуется под влиянием цистатионин-γ-лиазы, а в эндотелии – с участием 3-меркаптопируватсульфотрансферазы*) [1, 2, 12]. Цистатионин-β-синтаза и цистатионин-γ-лиаза обнаружены и в других органах и тканях (*печень, почки, поджелудочная железа, репродуктивные органы и др.*), а 3-меркаптопируватсульфотрансфераза выявляется в мозге, сердце, сосудах (*особенно в коронарных артериях*), легких, печени, почках, мышцах, селезенке.

Наибольшая активность этого фермента сосредоточена в сердце и гиппокампе [2, 4].

H₂S также синтезируется из L-цистеина под влиянием L-цистеин-десульфгидразы некоторыми кишечными микроорганизмами (*Salmonella Typhimurium*, *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, а также бактериями, принадлежащими к родам *Clostridium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Streptococcus*, *Desulfovibrio* и др.) [15].

Основной путь утилизации H₂S – его окисление в митохондриях до сульфита при помощи тиосульфатредуктазы, затем – до тиосульфата и сульфата сульфитоксидазой с последующим выделением сульфатов из организма с мочой [1, 2].

H₂S легко диффундирует через клеточные мембраны, хотя плохо растворим в воде (*в 5 раз хуже, чем в липидах*). Физиологические концентрации H₂S в различных органах и тканях варьируют в диапазоне от 1 до 100 нмоль/г [1, 2].

Один из наиболее ярких эффектов H₂S – его сосудорасширяющее действие, касающееся преимущественно мелких сосудов. В механизмах этого эффекта наибольшее значение имеет открытие АТФ-чувствительных калиевых каналов, что приводит к гиперполяризации клеточных мембран лейомиоцитов с понижением их функциональной активности, и одновременная инактивация потенциалзависимых кальциевых каналов L-типа, обеспечивающих поступление ионов кальция в клетку, что также обеспечивает расслабление лейомиоцитов сосудов. С учетом вазодилататорного действия H₂S вполне объяснимым выглядит значительное снижение его содержания в крови у пациентов с артериальной гипертонией, у спонтанно гипертензивных крыс, а также экспериментальных животных с различными моделями артериальной гипертензии. Участвуя в расширении сосудов, H₂S способствует эрекции полового члена. Причем улучшение кровоснабжения тканей под влиянием H₂S связано не только с его сосудорасширяющим действием, но и способностью газотрансмиттера активировать новообразование сосудистой сети (ангиогенез) в тканях [1, 2, 17]. Известно также, что дефицит образования H₂S является одним из патогенетических факторов развития портальной гипертензии [12].

Однако избыточное образование H₂S может способствовать развитию сосудистых катастроф. Так, при уровне H₂S в пуповинной крови выше 35 мкмоль/л отмечается высокий риск развития кровоизлияний в желудочки головного мозга у новорожденных (*патент «Способ прогнозирования внутрижелудочковых кровоизлияний у новорожденных»*) [3].

Установлено также, что H₂S ингибирует связывание эндотелина-1 (*самого мощного из известных в настоящее время эндогенных вазоконстрикторов*) с рецепторами эндотелина типа А, персульфидируя последние. Это установлено на модели человеческих лейомиоцитов легочных артерий. При этом отменялись индуцированные эндотелином-1 пролиферация лейомиоцитов и структурное ремоделирование легочных сосудов [7].

Установлена физиологическая роль H_2S как регулятора сродства гемоглобина к кислороду, заключающаяся в увеличении под влиянием H_2S степени диссоциации оксигемоглобина, что способствует улучшению оксигенации тканей организма в условиях гипоксии [1]. Однако избыточное образование H_2S приводит к увеличению содержания в организме метгемоглобина и сульфгемоглобина, что, в свою очередь, может способствовать развитию гипоксии.

Увеличение образования H_2S под влиянием цистатионин- γ -лиазы в гломусных клетках I типа каротидных клубочков при падении напряжения O_2 в крови связывают с участием этого газотрансмиттера в возбуждении хеморецепторов каротидных клубочков и последующей рефлекторной регуляцией дыхания и кровообращения. H_2S при этом обеспечивает закрытие калиевых каналов утечки и кальций-активируемых калиевых каналов в плазматических мембранах гломусных клеток I типа, возникновение деполяризации мембран этих клеток с последующей активацией синаптической передачи от них (*с помощью нейромедиаторов дофамина, ацетилхолина, норадреналина, АТФ, аденозина и мет-энкефалина*) на афферентные волокна нерва Геринга, являющегося частью языкоглоточного нерва [1, 2].

Как сигнальная молекула H_2S тормозит агрегацию тромбоцитов и активирует их аутофагию через сигнальный путь PDGFR- α /PI3K/Akt/mTOR [11].

H_2S подавляет индуцированный окисленными липопротеинами низкой плотности каспаза-1-зависимый пироптоз макрофагов (*пироптоз – воспалительная форма клеточной гибели*). При этом H_2S увеличивает S-сульфогидратацию про-каспазы-1, снижая активность каспазы-1 и образование провоспалительных цитокинов (IL-1 β и IL-18). Тем самым, H_2S может подавлять развитие сосудистого воспаления и, соответственно, атеросклероза [10].

В ЦНС H_2S необходим для формирования нейронных сетей, обеспечения эффективного функционирования систем обучения и долговременной памяти, в частности, путем активации NMDA-опосредованной нейротрансмиссии. H_2S участвует в поддержании баланса между процессами возбуждения и торможения в мозге, регулирует проводимость различных ионных каналов клеточных мембран (*кальциевые каналы T- и L-типа, АТФ-зависимые, потенциал-зависимые и кальций-активируемые калиевые каналы, тетродотоксин-устойчивые натриевые каналы*), изменяя возбудимость клеток, участвует в механизмах экзоцитоза пресинаптических везикул, связанных с трансформацией белков SNARE-комплекса, усиливает ГАМК-ергическое торможение в ЦНС, увеличивает содержание внутриклеточного кальция в клетках микроглии путем выделения его из внутриклеточных депо и поступлением в клетку через кальциевые каналы плазматической мембраны, защищает нейроны от токсического действия глутамата, высокие концентрации которого наблюдаются при ишемии мозга, травмах и др. Установлено, что уровень H_2S в мозге у самцов крыс выше, чем у самок, что связывают с активацией синтеза H_2S тестостероном [2, 4, 16].

H_2S вырабатывается в различных тканях и клетках мужской репродуктивной системы, включая яички (клетки Лейдига и Сертоли, сперматозоиды), эпидидимис, простату, половой член. H_2S стимулирует выработку тестостерона, способствует созреванию сперматозоидов, модулирует их подвижность, оказывает цитопротекторное действие, улучшает качество спермы, участвует в поддержании целостности гематотестикулярного барьера [9]. H_2S также способствует созреванию ооцитов [20].

В специальных экспериментах было установлено, что в физиологических концентрациях H_2S может оказывать защитное действие в отношении сохранения структуры и функций митохондрий и увеличивать продолжительность жизни нематод через регулирование экспрессии генов *elt-6* и *elt-3*, кодирующих факторы транскрипции (семейство GATA) и управляющих процессами старения [14].

При инфаркте миокарда выявляется существенный дефицит эндогенного H_2S , что может уменьшать коронарные резервы для ограничения очага ишемии. Дефицит H_2S способствует также угнетению активности синтазы монооксида азота, снижению образования NO, расширяющего коронарные сосуды, и еще большему накоплению в очаге ишемии свободных кислородных радикалов. Таким образом, H_2S повышает потенциал жизнеспособности миокардиоцитов в очагах ишемии миокарда, оказывая кардиопротективное действие. В частности, H_2S увеличивает образование глутатиона в клетках, тем самым, защищая их от окислительных повреждений. Кроме того, H_2S выступает ловушкой супероксид-аниона и снижает его продукцию НАДФН-оксидазой [1, 17].

Установлено, что флавоноид изорамнетин, выделенный из растения Гинкго Билоба, тормозит развитие фиброза почек путем индукции синтеза H_2S за счет увеличения экспрессии ферментов цистатионин- γ -лиазы и цистатионин- β -синтазы. H_2S подавляет окислительный стресс, в частности, способствует проникновению в ядро клеток Nrf2 (*редокс-чувствительный транскрипционный фактор, защищающий клетки и ткани от токсинов, канцерогенов, окислительного стресса*) и др. [13]. В физиологических концентрациях H_2S снижает образование мочевой кислоты из ксантина [2, 20].

При некоторых нейродегенеративных заболеваниях (*болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона*) уровень H_2S в головном мозге резко снижен. Введение доноров и прекурсоров H_2S экспериментальным животным с моделью болезни Паркинсона значительно улучшало состояние животных, вплоть до исчезновения симптомов [15, 16].

Избыточное количество H_2S вырабатывается при синдроме Дауна, сахарном диабете 1-го типа (*синтезируя избыток H_2S , β -клетки островков Лангерганса уничтожают сами себя, – своего рода “гидросероптоз”*) [4].

Установлено, что H_2S способствует заживлению пародонтита при сахарном диабете путем усиления аутофагии в мезенхимальных стволовых клетках периодонта, модуляции функциональной активности макрофагов, увеличения притока ионов кальция в очаг поражения, усиления остео- и ангиогенеза и др. [18].

Обнаружено, что повышенное образование эндогенного H_2S способствует aberrантной остеогенной активности стволовых клеток, полученных из сухожилий, и ускоряет образование очагов гетеротопической оссификации,

вызванной травмой, в результате активации сероводородом сигнального пути $\text{Ca}^{2+}/\text{ERK}$ [6].

Избыточное образование H_2S толстокишечной микрофлорой является одним из факторов развития ряда болезней толстой кишки, включая неспецифический язвенный колит и рак. В то же время имеются данные и о противоопухолевом действии H_2S . Так, в клетках колоректального рака выявлена сверхэкспрессия ферментов, продуцирующих H_2S . С учетом сведений о противоопухолевой активности данного газотрансмиттера, предполагается, что усиленное образование H_2S в опухолевых клетках может быть защитной реакцией, направленной на уничтожение опухолевых клеток [5].

Известно, например, что многие доноры H_2S подавляют пролиферацию, апоптоз и метастазирование клеток злокачественных опухолей, ангиогенез в опухолях. Часть этих эффектов реализуется через изменение сероводородом экспрессии микроРНК в опухолевых клетках [19].

С помощью доноров и ингибиторов образования H_2S в организме можно влиять на эффективность действия лекарств. Об этом, например, свидетельствует тот факт, что одним из механизмов повреждающего действия нестероидных противовоспалительных средств на слизистую желудка является подавление в ней образования H_2S [17].

Обсуждаются вопросы использования доноров H_2S в терапии пациентов со злокачественными гематологическими заболеваниями (*лейкозы, лимфомы, миеломы*) [8].

Заключение. Накопленные к настоящему времени данные о роли H_2S в регуляции процессов жизнедеятельности в норме и патологии, свидетельствуют о его обширном влиянии на различные метаболические реакции и физиологические (патофизиологические) процессы в здоровом и больном организме. Серьезного внимания заслуживают такие эффекты H_2S как расширение сосудов и стимуляция ангиогенеза, подавление воспаления, пироптоза и развития фиброза органов, торможение развития атеросклероза, регулирование активности инфекционного процесса и опухолевого роста, подавление избыточных окислительных процессов, апоптоза, индукция аутофагии и многое другое.

В то же время избыточное образование H_2S может способствовать развитию сердечно-сосудистых заболеваний, болезней центральной нервной системы, сахарного диабета, онкологических и других заболеваний.

Все эти вопросы заслуживают серьезного внимания и детального изучения с тем, чтобы использовать подходы, направленные на усиление или подавление образования H_2S в организме, в целях коррекции различных нарушений жизнедеятельности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зинчук, В. В. Кислородтранспортная функция крови и газотрансмиттер сероводород / В. В. Зинчук // Успехи физиол. наук. – 2021. – Т. 52, № 3. – С. 41–55.

2. Колесников, С. И. Сероводород как третья эссенциальная газовая молекула живых тканей / С. И. Колесников, Б. Я. Власов, Л. И. Колесникова // Вестник РАМН. – 2015. – Т. 70, № 2. – С. 237–241.
3. Содержание газотрансмиттеров в пуповинной крови и крови новорожденных, родившихся у матерей с преэклампсией / И. Г. Попова [и др.] // Рос. вестн. перинатол. и педиатрии. – 2021. – Т. 66, № 4. – С. 53–57.
4. Яковлев, А. В. Физиологическая роль сероводорода в нервной системе / А. В. Яковлев, Г. Ф. Ситдикова // Гены и клетки. – 2014. – Т. 9, № 3. – С. 1–7.
5. Emerging roles of hydrogen sulfide in colorectal cancer / Z. L. Jiang [et al.] // Chem. Biol. Interact. – 2024. – Vol. 403:111226.
6. Endogenous hydrogen sulfide accelerated trauma-induced heterotopic ossification through the Ca^{2+} /ERK pathway-enhanced aberrant osteogenic activity / Z. Yuan [et al.] // Redox Biol. – 2024. – Vol. 75:103265.
7. Endogenous hydrogen sulfide persulfidates endothelin type A receptor to inhibit pulmonary arterial smooth muscle cell proliferation / Y. Zhang [et al.] // Redox Biol. – 2025. – Vol. 80:103493.
8. Exploring the impact of hydrogen sulfide on hematologic malignancies: a review / S. Lou [et al.] // Cell. Signal. – 2024. – Vol. 120:111236.
9. Hydrogen sulfide and its potential as a possible therapeutic agent in male reproduction / Z. Pilsova [et al.] // Front. Endocrinol. (Lausanne). – 2024. – Vol. 15:1427069.
10. Hydrogen sulfide mitigates ox-LDL-induced NLRP3/caspase-1/GSDMD dependent macrophage pyroptosis by S-sulphydrating caspase-1 / Z. Jia [et al.] // Mol. Med. Rep. – 2024. – Vol. 30, N 2. – P. 135.
11. Hydrogen sulfide promotes platelet autophagy via PDGFR- α /PI3K/Akt signaling in cirrhotic thrombocytopenia / H. X. Yang [et al.] // J. Clin. Transl. Hepatol. – 2024. – Vol. 12, N 7. – P. 625–633.
12. In vivo monitoring of endogenous hydrogen sulfide and evaluation of natural protectants in liver injury mice using a highly selective bioluminescent probe / C. Hu [et al.] // Biosens. Bioelectron. – 2025. – Vol. 278:117343.
13. Isorhamnetin alleviates renal fibrosis by inducing endogenous hydrogen sulfide and regulating thiol-based redox state in obstructed kidneys / Z. Zhang [et al.] // Biomolecules. – 2024. – Vol. 14, N 10. – P. 1233.
14. Mitochondrial sulfide promotes life span and health span through distinct mechanisms in developing versus adult treated *Caenorhabditis elegans* / A. R. Vintila [et al.] // PNAS. – 2023. – Vol. 120, N 32: e2216141120.
15. Murros, K. E. Hydrogen sulfide produced by gut bacteria may induce Parkinson's disease / K. E. Murros // Cells. – 2022. – Vol. 11, N 6. – P. 978.
16. Paul, B. D. Neuroprotective signaling by hydrogen sulfide and its dysregulation in Alzheimer's disease / B. D. Paul, A. A. Pieper // Curr. Opin. Chem. Biol. – 2024. – Vol. 82:102511.
17. Pharmacology of hydrogen sulfide and its donors in cardiometabolic diseases / H. J. Sun [et al.] // Pharmacol. Rev. – 2024. – Vol. 76, N 5. – P. 846–895.

18. Polyphenol-mediated redox-active hydrogel with H₂S gaseous-bioelectric coupling for periodontal bone healing in diabetes / X. Fang [et al.] // Nat. commun. – 2024. – Vol. 15, N 1. – P. 9071.
19. Role of hydrogen sulfide-microRNA crosstalk in health and disease / M. R. Jing [et al.] // Nitric oxide. – 2024. – Vol. 152. – P. 19–30.
20. The functions of hydrogen sulfide on the urogenital system of both males and females: from inception to the present / S. Salehiyeh [et al.] // Naunyn schmiedebergs arch. pharmacol. – 2024. – Vol. 397, N 9. – P. 6391–6415.

РОЛЬ БИОХИМИЧЕСКОГО СКРИНИНГА В ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ХРОМОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

***Соколова О.В.¹, Горчакова О.В.¹, Болондзь М.Е.¹,
Добрук Е.Е.¹, Бизунова О.П.²***

¹Гродненский областной клинический перинатальный центр,

*²Гродненская клиническая больница скорой медицинской помощи,
Гродно, Республика Беларусь*

В комплексе мероприятий по ранней профилактике инвалидизирующей патологии большое внимание уделяется программам пренатального скрининга.

Основная цель пренатального скрининга — выявление риска рождения детей с ВПР и наследственными заболеваниями, с последующим анализом состояния плода дополнительными лабораторными и инструментальными методами исследования.

Согласно рекомендациям Европейской ассоциации пренатальной медицины существует 5 видов пренатального скрининга:

1. Ультразвуковой скрининг
2. Биохимический скрининг маркерных белков в сыворотке крови беременной.
3. Цитогенетический скрининг.
4. Молекулярный скрининг.
5. Иммунологический скрининг.

Ни один из видов скрининга не является универсальным и не дает стопроцентной гарантии рождения здорового ребенка, не смотря на высокую чувствительность и специфичность каждого отдельного вида скрининга [1].

Результат любого первичного скрининга представляется в виде расчета риска рождения ребенка с определенным видом хромосомной или генетической патологии, однако скрининговые программы не могут учесть экзогенные и эндогенные факторы, приводящие к возникновению патологии у плода.

Целью биохимического скрининга у беременных является определение риска некоторых трисомий (синдром Дауна – трисомия по 21 паре хромосом, синдрома Эдвардса – трисомия по 18 паре хромосом, синдром Патау – трисомия по 13 паре хромосом) у плода. Данные биохимического скрининга

могут использоваться не только в расчете риска рождения детей с хромосомной или генетической патологией, но и оценке риска развития тяжелой акушерской патологии, такой как преэклампсия и эклампсия.

Биохимический скрининг проводится дважды в период беременности: в I и II триместрах. Биохимический скрининг основан на определении иммуноферментным методом специфических белков в сыворотке беременной. К этим маркерным сывороточным белкам относят эмбрионспецифичные белки, вырабатываемые самим плодом или плацентой и поступающие в кровоток матери, или белки, ассоциированные с беременностью [1]. Концентрация этих белков меняется от срока и состояния плода.

Биохимический скрининг I триместра

Проводится с 10 по 14 неделю беременности, но наиболее достоверные результаты можно получить на 11-12 и 12-13 неделях беременности.

Биохимический скрининг основан на определении в сыворотке беременной женщины белков PAPP-A и свободной бета-субъединицы хорионического гонадотропина.

Белок PAPP-A – гликопротеин, входящий в состав димерного белкового комплекса, который секретируется трофобластом и децидуальными клетками на протяжении всей беременности (от момента имплантации до родов). Предполагается, что ему принадлежит важная роль в регуляции процессов клеточного роста и межтканевых контактов между клетками трофобласта и децидуальной ткани [1]. Содержание белка увеличивается по мере прогрессирования беременности. При трисомиях 21 и 18 у плода уровень маркера в крови беременной снижается.

Свободная бета-субъединица хорионического гонадотропина продуцируется клетками трофобласта. Концентрация свободной бета-субъединицы в крови беременной очень низка и составляет только 1-3 % общего содержания ХГЧ, снижаясь к концу беременности до 0,5 % [1, 2]. При беременности, осложненной синдромом Дауна у плода или преэклампсией, а также при трофобластических болезнях содержание свободной бета-субъединицы возрастает.

При расчете риска учитываются как уровни содержания PAPP-A и свободной бета-ХГЧ в сыворотке крови беременной, так и результаты УЗИ-исследования плода. При этом основное внимание обращается на такие показатели как копчико-теменной размер, толщина воротникового пространства (ТВП), число плодов, наличие и размер носовой косточки, вес женщины, ее расовая принадлежность и некоторые анамнестические данные (рождение детей с болезнью Дауна, наличие сахарного диабета) [3]. Таким образом, отличительной особенностью биохимического скрининга в первом триместре беременности является расчет риска с обязательным учетом данных УЗИ плода.

Биохимический скрининг II триместра

К МСБ, которые тестируются во II триместре (15-18 недель), относятся альфафетопротеин (АФП), хорионический гонадотропин человека (ХГЧ), свободный (неконъюгированный) эстриол (НЭ), ингибин А и некоторые другие.

АФП вырабатывается желточным мешком, затем печенью плода, экскретируется в амниотическую жидкость с мочой плода, проникает в кровь матери через плаценту. Белок выявляется в сыворотке крови матери начиная с 5-6 недель. Его концентрация повышается от 5-6 до 150-200 нг/мл в течение беременности. Открытые дефекты зародка нервной трубки, такие как анэнцефалия или открытая спинно-мозговая грыжа (*spina bifida*) ведут к излитию фетальной жидкости в амниотическую полость, вследствие чего концентрация АФП в крови матери резко (в 5-10 раз) возрастает [1]. Повышение уровня АФП регистрируется и при других патологических состояниях плода (гастрошизис, омфалоцеле, аномалии почек), а также при угрозе прерывания беременности и пр. В то же время, примерно в 30 % случаев синдрома Дауна у плода, а также при триплоидии, уровень АФП в эти диагностические сроки оказывается сниженным [1,2].

ХГЧ – гликопротеин, состоящий из двух субъединиц – альфа и бета, секретируется клетками трофобласта, выявляется в сыворотке крови беременной, начиная с 10-12-го дня после оплодотворения, т. е. на 3-5-й день после имплантации. Его концентрация быстро нарастает и достигает максимума к 8-11 неделям беременности. Уровень ХГЧ при угрозе прерывания беременности, а также при синдроме Дауна у плода обычно повышается, а при синдроме Эдвардса и триплоидии – снижается [1, 2].

Свободный (неконъюгированный) эстриол (НЭ) – стероидный гормон, продуцируется фетоплацентарным комплексом, печенью плода и надпочечниками, проникает в материнский кровоток. Неконъюгированная форма лучше характеризует состояние фетоплацентарного комплекса, чем общий эстриол. В норме уровень НЭ нарастает от 4 нмоль/л в 15 недель беременности до 40 нмоль/л к родам. По концентрации НЭ в сыворотке крови беременной можно судить о функциональном состоянии плаценты и плода [2]. Сниженный уровень НЭ наблюдается при врожденной гиперплазии коры надпочечников, при дефиците плацентарной сульфатазы, анэнцефалии, некоторых хромосомных болезнях (Дауна, Эдвардса), внутриутробной инфекции, при угрозе прерывания беременности.

Ингибин А – гетеродимерный гормон белковой природы, синтезируется плодом, плацентой, плодными оболочками и яичниками. Уровень ингибина А нарастает до 10 недель, затем снижается, держится на одном уровне до 25 недель и достигает максимума перед родами [1, 5]. При болезни Дауна у плода содержание ингибина А в сыворотке крови матери во втором триместре беременности повышается почти вдвое. При нормальном кариотипе плода отклонения уровня ингибина А указывают на повышенный риск преэклампсии.

Скрининг проводится путем тестирования сразу трех маркерных сывороточных белков («тройной тест») или только двух из них – АФП и ХГЧ («двойной тест»). Эффективность биохимического скрининга при исследовании трех белков по сравнению с определением двух маркерных белков повышается на 4-5% [1, 5]. В настоящее время существует квадро-тест (АФП, ХГЧ, НЭ и ингибин А), при котором одновременно формируется группа риска хромосомных болезней у плода и беременных с риском преэклампсии.

Таким образом, биохимический скрининг во время беременности является одним из основных инструментов для оценки риска рождения детей с хромосомной патологией и тяжелыми врожденными пороками развития. Исследование позволяет определить функциональное состояние плаценты, сделать прогноз о развитии жизнеугрожающих для матери и плода акушерских состояний. На основании полученных данных от результатов биохимического скрининга возможно подобрать акушерскую тактику и адекватную терапию для благоприятного течения беременности и родов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов, В. С. Цитогенетика эмбрионального развития человека / В.С. Баранов, Т. В Кузнецова. – Санкт-Петербург : Издательство Н-Л, 2007. – С. 298– 307.
2. Лукина, Н. В. Эффективность комбинированного пренатального скрининга во II триместре беременности в диагностике хромосомных аномалий у плода / Н.В. Лукина, Е.А. Степанькова, Л.А. Жученко // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2012. – Т. 12, № 4. – С. 59– 65.
3. Приказ МЗ РБ №396 от 25.03.2022 года «О проведении комбинированного скрининга беременных 1 триместра».

ОРГАНИЗАЦИЯ КОМБИНИРОВАННОГО СКРИНИНГА I ТРИМЕСТРА БЕРЕМЕННОСТИ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

***Соколова О.В.,¹ Горчакова О.В.,¹ Болондзь М.Е.,¹ Добрук Е.Е.,¹
Бизунова О.П.²***

¹Гродненский областной клинический перинатальный центр,

²Гродненская клиническая больница скорой медицинской помощи

Комбинированный скрининг I триместра беременности состоит из ультразвукового и биохимического скринингов.

Целью проведения скрининга являются:

1. Оценка УЗ маркеров, повышающих риск рождения ребёнка с хромосомными аномалиями;
2. Уточнение срока беременности;
3. Ранняя диагностика многих пороков развития плода;
4. Выявление группы высокого риска по развитию преэклампсии при беременности;
5. При многоплодной беременности позволяет установить хориальность, что является важнейшим фактором, определяющим программу ведения многоплодной беременности.

Риски рождения детей с хромосомной патологией рассчитываются с помощью специальной компьютерной программы для пренатального скрининга. В Республике Беларусь принята программа ASTRAIA. Это модуль расчета рисков трисомии 21 (синдром Дауна), трисомии 18 (синдром Эдвардса)

и трисомии 13 (синдром Патау) в первом триместре. Программа создана при поддержке Международного фонда медицины плода (FMF). Исключительно, те специалисты, которые сертифицированы FMF, проходящие ежегодный аудит и имеющие действующую лицензию на измерение таких показателей, как толщина воротникового пространства (ТВП), носовая кость (НК), кровоток в венозном протоке и трикуспидальная регургитация, применяют модуль расчета рисков по программе ASTRAIA.

На основании требований инструкции «О проведении комбинированного скрининга беременности I триместра», утвержденной приказом Министерства Здравоохранения Республики Беларусь №396 от 25.03.2022 года, устанавливается следующая программа обследования:

1. Для проведения ультразвуковых исследований при беременности (далее - ультразвуковой скрининг) направляются все беременные в следующие гестационные сроки: не менее 11 недель 0 дней и не более 13 недель 6 дней, при копчико-теменном размере (далее - КТР) плода от 40 мм до 80 мм.

2. Ультразвуковой скрининг беременным проводится по направлению врачей-акушеров-гинекологов женских консультаций по месту жительства (пребывания) беременной.

3. Для проведения комбинированного скрининга беременных биохимические исследования крови (с использованием маркеров PAPP-A и β -ХГЧ) выполняются беременным с КТР плода не менее 40 мм и не более 70,4 мм.

4. Забор венозной крови для проведения лабораторного этапа комбинированного скрининга беременных I триместра осуществляется в день проведения ультразвукового исследования или не позднее 48 часов после него.

5. Забор и транспортировка биологических образцов производятся в соответствии с Инструкцией о порядке организации преаналитического этапа лабораторных исследований, утвержденной приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 10 ноября 2015 г. № 1123.

6. Расчет риска наличия хромосомной патологии у плода по результатам ультразвуковых и биохимических исследований проводится с помощью зарегистрированных компьютерных программ, предназначенных для комбинированного скрининга беременных I триместра.

7. При КТР 71-80 мм расчет риска по хромосомным болезням выполняется только по ультразвуковым маркерам (толщина воротникового пространства и КТР плода) и возрасту беременной.

8. В результате исследований выделяется группа высокого риска по хромосомной патологии плода при расчетном значении риска 1:360 и выше для синдрома Дауна, 1:2000 и выше для синдрома Патау и синдрома Эдвардса.

9. Беременные группы высокого риска по хромосомным болезням плода направляются для медико-генетического консультирования и определения объема дальнейшей пренатальной диагностики.

10. Инвазивная пренатальная диагностика выполняется в соответствии с инструкциями:

- Инструкцией о порядке проведения медико-генетического консультирования и диагностики граждан в государственных организациях здравоохранения, утвержденной постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 28 марта 2007 г. № 26; Инструкцией «Метод инвазивной пренатальной диагностики хромосомной патологии плода», утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь от 6 июня 2014 г. № 153-1113;
- Инструкцией «Метод инвазивной пренатальной диагностики хромосомной патологии плода», утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь от 6 июня 2014 г. № 153-1113.

11. Аудит проводится не реже 1 раза в 6 месяцев областными медико-генетическими центрами (отделениями, консультациями), для женского населения г. Минска и Минской области - РНПЦ «Мать и дитя», с использованием опций, предусмотренных зарегистрированными компьютерными программами, предназначенными для комбинированного скрининга беременных.

12. Расчетная диагностическая чувствительность скрининга должна составлять не менее 75% при частоте ложноположительных результатов не более 3,5% (величина группы риска).

13. Контрольный аудит проводит РНПЦ «Мать и дитя» не реже 1 раза в год.

Частью программы комбинированного скрининга I триместра беременности является выполнение иммунохимических методов исследования: определение свободной бета-субъединицы хорионического гонадотропина (β -ХГЧ) и гликопротеина, входящего в состав димерного белкового комплекса (РАРР-А).

Допустимые значения лабораторного этапа комбинированного скрининга I триместра:

Таблица 1 – допустимые значения β -ХГЧ лабораторного этапа комбинированного скрининга I триместра

Срок беременности, акуш. нед.	Диапазон нормальных значений ХГЧ, мЕд/мл, x – полученный результат
9 - конец 10	$20000 \geq x \leq 95000$
11 - конец 12	$20000 \geq x \leq 90000$
13 - конец 14	$15000 \geq x \leq 60000$

Повышенные показатели β -ХГЧ могут свидетельствовать о хромосомных нарушениях у плода (синдроме Дауна), многоплодной беременности, неверном определении предварительной даты родов. Влияет на количество гормона в крови тяжелое течение токсикоза у матери и некоторые хронические заболевания.

Пониженные значения сигнализируют о возможности внематочной беременности, нарушении функционирования плаценты и угрозе выкидыша.

Количество белка РАРР-А плавно увеличивается на протяжении всего срока беременности. Синтезируется плазмой крови, отвечает за нормальное развитие и функционирование плаценты. Наряду с ХГЧ является значимым маркером биохимического анализа до 14 недели беременности, после этого срока значения РАРР-А не будут информативны в плане выявления хромосомных отклонений.

Таблица 2 – допустимые значения РАРР-А лабораторного этапа комбинированного скрининга I триместра

Срок беременности, акуш. нед.	Диапазон нормальных значений РАРР-А, мЕд/мл, где x – это полученное значение
с 10 по 11	$0,46 \geq x \leq 3,73$
с 11 по 12	$0,7 \geq x \leq 4,76$
с 12 по 13	$1,03 \geq x \leq 6,01$
с 13 по 14	$1,47 \geq x \leq 8,54$

Пониженные количественные значения РАРР-А могут быть в случае хромосомных мутаций у плода, внутриутробной гибели ребенка, высокого риска самопроизвольного аборта.

Таким образом, комбинированный скрининг I триместра беременности позволяет сформировать группы высокого риска по выявлению числовых нарушений хромосом, таких как синдром Дауна (трисомия 21), синдром Эдвардса (трисомия 18), синдром Патау (трисомия 13), обнаружить множественные пороки развития плода и скорректировать программу ведения такой беременности.

ЛИТЕРАТУРА

Баранов, В. С. Цитогенетика эмбрионального развития человека / Баранов, В.С., Кузнецова, Т. В – Санкт-Петербург : Издательство Н-Л, 2007. – С. 298–307.

Лукина, Н. В. Эффективность комбинированного пренатального скрининга во II триместре беременности в диагностике хромосомных аномалий у плода / Н.В. Лукина, Е.А. Степанькова, Л.А. Жученко // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2012. – Т. 12, № 4. – С. 59–65.

Приказ МЗ РБ № 396 от 25.03.2022 года «О проведении комбинированного скрининга беременных 1 триместра».

НЕДОНОШЕННЫЕ ДЕТИ И СЕРОТОНИН ПУПОВИННОЙ КРОВИ

Шейбак Л.Н.¹, Протасевич Т.С.¹, Гаманович О.В.², Каткова Е.В.³

¹Гродненский государственный медицинский университет,

²УЗ «ГК БСМП г. Гродно», отделение новорожденных,

³УЗ «ГОДКБ», отделение реанимации новорожденных,
Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Достижения неонатальной медицины, стремительно развивающейся в нашей стране, привели к значительному повышению выживаемости недоношенных детей. При этом, у выживших новорожденных наблюдается повышенный риск развития неврологических расстройств, как в неонатальном периоде, так и отдаленном периоде. Особое значение в эволюции нервной системы имеют регулирующие факторы развития головного мозга.

В экспериментальных работах показано, что обмен серотонина во внутриутробном и раннем неонатальном периоде влияет на формирование и дальнейшее развитие структур центральной нервной системы [2, 3]. В эмбриональный период онтогенеза серотонинергические нейроны контролируют процессы развития нервной ткани. В экспериментах со снижением концентрации серотонина в разные критические сроки внутриутробного развития, были выявлены общие закономерности реакций эмбриональных тканей на воздействия повреждающих факторов. Снижение уровня эндогенного серотонина на ранних постимплантационных стадиях активного органогенеза приводило к недоразвитию плодов, образованию мозговых грыж, поражению глаз, расщелинам твердого нёба, кровоизлияниям в разные отделы головного мозга.

В более поздние стадии развития зародышей, когда происходит активное формирование отделов мозга, снижение уровня эндогенного серотонина приводило к нарушению деления клеток, изменению числа и направлений их миграции к генетически обусловленным участкам развивающегося мозга. У них задерживалось превращение клеток предшественников в зрелые нервные и глиальные клетки. В результате этого происходило, в большей или меньшей мере, выраженное недоразвитие одного или многих отделов мозга, формирование аномалий или патологических очагов.

Актуальность обеспеченности серотонином плода и новорожденного не утрачивается в процессе родов и течении периода ранней неонатальной адаптации. Известно, что серотонин оказывает влияние на пролиферацию нейроглии, дифференцировку нейронов, миелинизацию аксонов, ускорение созревания нервной системы. С его участием в раннем неонатальном периоде происходит запуск дендритного ветвления, образование новых межнейронных связей, на базе которых в дальнейшем будут формироваться новые функциональные системы. Одновременно с этим, серотонин и его производные оказывают трофическое действие на развивающуюся нервную ткань [1, 3]. А

его способность влиять на гладкую мускулатуру в сторону усиления перистальтики кишечника, сосудосуживающий эффект, потенцирование агрегации тромбоцитов с последующей нормализацией микроциркуляции и легким бронхоспастическим действием определяет течение ранней неонатальной адаптации у младенцев.

При выхаживании недоношенных детей является весьма значительным сохранение функции ЦНС и профилактика возможных неврологических расстройств. Известно, что под влиянием гипоксии происходит повреждение нейронов и выброс нейромедиаторов, избыточно синтезируемых в результате чрезмерной активации серотонинергических структур гипоталамуса. Негативный эффект серотонина может проявиться, в виде влияния через гипоталамус, снижением артериального давления, а избыток его в ликворе может непосредственно влиять на сосуды мозга, вызывая их спазм. Нарушая кровообращение в микроциркуляторном русле головного мозга, серотонин усугубляет гипоксию и его ишемию [1, 2, 3].

Цель – определение и анализ показателей серотонина, его предшественников и метаболитов, в сыворотке пуповинной крови недоношенных новорожденных детей.

Материалы и методы исследования. Было обследовано 88 детей, из них 24 доношенных и 64 недоношенных новорожденных. Среди недоношенных в сроке гестации 35-36 недель родились 12 детей, 32-34 недели – 36 детей, менее 31 недели – 15 детей. Средняя масса тела недоношенных новорожденных детей 1799 ± 147 г, длина тела $42,7 \pm 1,0$ см. Контрольную группу составили 24 доношенных новорожденных ребенка, родившихся естественным путем и, имевших физиологическое течение раннего неонатального периода.

Известно метаболическое преобразование серотонина в виде цепочки превращений: триптофан $\rightarrow$ 5-гидрокситриптофана (5-НТР), $\rightarrow$ серотонин (5-НТ) $\rightarrow$ 5-гидроксииндолуксусная кислота (5-НІАА). В данном варианте превращений триптофан и 5-гидрокситриптофан являются предшественниками серотонина, а 5-гидроксииндолуксусная кислота – продукт метаболизма.

Проведено определение, как предшественников, так и метаболитов серотонина в сыворотке пуповинной крови. Забор пуповинной крови выполняли после отделения ребенка от матери из материнского конца пуповины в объеме 3 мл. Содержание серотонина, его предшественников и метаболита, определялось ВЭЖХ с детектированием по флуоресценции. Идентификация определяемых соединений и количественная обработка хроматограмм проводилась с использованием метода внутреннего стандарта (ванилиновой кислоты). Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение. Получено значительное снижение содержания, как предшественников серотонина, так и самого серотонина, в сыворотке пуповинной крови недоношенных новорожденных детей, в сравнении с контрольной группой доношенных новорожденных детей. Содержание 5-НТР в сыворотке пуповинной крови у преждевременно родившихся детей составило – 7,13 [3,73; 13,6] нмоль/л (в контроле – 25,75

[18,5; 45,45], $p=0,000001$). Содержание серотонина в сыворотке пуповинной крови у недоношенных детей также было значительно меньше, чем у доношенных и составило 18,4 [7,73; 60,8] нмоль/л (в контроле – 122,9 [86,3; 207] нмоль/л, $p=0,000000$). Вероятно, у преждевременно родившихся детей серотониновая активность, и, соответственно, биохимические процессы его образования значительно угнетены.

Содержание триптофана, одного из источников серотонина, у недоношенных новорожденных детей, было несколько снижено (67,02 [44,7; 89,07] нмоль/л у недоношенных и 77,6 [67,3; 94,6] у доношенных детей, $p=0,047$).

Снижение содержания серотонина может быть связано с истощением его запасов в виду участия в различных патологических реакциях, повышенной инактивацией, уменьшением синтеза в условиях нарушения метаболических процессов, а также снижением функции регуляторных структур головного мозга. По данным литературы, значительное повышение содержания серотонина в спинномозговой жидкости имеет место у пациентов с субарахноидальным кровоизлиянием, осложненным отсроченным вазоспазмом и развитием инфаркта мозга.

Содержание 5-НІАА в сыворотке пуповинной крови при преждевременном рождении, также было снижено, но достоверно не отличалось при сравнении с показателями у доношенных детей. У недоношенных детей содержание 5-НІАА в сыворотке крови составило 74,65 [15,25; 189,35] нмоль/л (в группе сравнения 109,5 [70,8; 177] нмоль/л, $p=0,27$).

Интенсивность образования и превращения серотонина мы оценили по коэффициентам 5-НТР/5-НТ и 5-НТ/5-НІАА и получили достоверные отличия, по сравнению с группой доношенных новорожденных. Так, соотношение 5-НТР/5-НТ у преждевременно родившихся детей было достоверно выше, чем у доношенных и составило 0,28 (в контроле – 0,19, $p=0,013$). Деградация серотонина с образованием 5-гидроксииндолуксусной кислоты в виде соотношения 5-НТ/5-НІАА составила 0,39 (в контроле – 1,36, $p=0,00024$). У преждевременно родившихся детей имеет место недостаточная активность обмена биологически активных веществ, в частности серотонина.

Следует отметить, что на показатели серотонинового обмена у недоношенных детей оказывал влияние способ родоразрешения. При практически не отличающемся содержании триптофана и 5-НТР в сыворотке пуповинной крови недоношенных детей, родившихся естественным путем и кесаревым сечением, мы получили достоверное снижение значений серотонина в случае рождения естественным путем (12,1 [6,64; 41,6] нмоль/л, $p=0,041$). При этом, содержание 5-НІАА также было достоверно повышено (156,5 [15,7; 250] нмоль/л, $p=0,05$). По данным литературы, серотонинергическая система участвует в обеспечении интранатальной гомеостазии плода во время родов [2, 3]. Учитывая то, что при рождении доношенного новорожденного ребенка содержание серотонина в сыворотке пуповинной крови достаточно высокое и практически мало отличается от показателей у недоношенных детей, родившихся оперативно, вероятно, следует считать данный способ

родоразрешения при преждевременных родах более щадящим и адекватным по обеспеченности серотином в ранний неонатальный период.

Выводы:

1. У детей, родившихся преждевременно, наблюдается снижение содержания и замедленная метаболизация серотонина по показателям содержания предшественников и метаболита в пуповинной крови, что, вероятно, является признаком незрелости биохимической защиты.

2. При преждевременном родоразрешении, операция кесарево сечение является наиболее благоприятным способом, поскольку обеспеченность биологически активными веществами у ребенка, в этом случае, является приближенной к физиологическим нормам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шейбак, Л. Н. Показатели серотонинового обмена в сыворотке пуповинной крови и клинические особенности недоношенных детей / Л. Н. Шейбак, Е. В. Каткова, В. А. Лискович // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2012. – Т. 19, № 1. – С. 102-107.

2. Шейбак, Л. Н. Катamnестический анализ развития детей до года с различным серотониновым статусом сыворотки пуповинной крови / Л. Н. Шейбак, Т. С. Шерешик (Протасевич), Л. С. Бут-Гусаим // Охрана материнства и детства. – 2012. – Т. 19, № 1. – С. 57-61.

3. Шейбак, Л. Н. Особенности обеспечения серотином недоношенных новорожденных детей при рождении / Л. Н. Шейбак // Актуальные вопросы педиатрии : сб. материалов межрегиональн. науч.-практ. конф. с междунар. участием – Гродно : ГрГМУ, 2018. – С. 298-302.

НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПРОТИВОВИРУСНОГО ЭФФЕКТА ЦИНКА

Шейбак В.М., Горецкая М.В.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Бактерицидные эффекты наночастиц металлов увеличили интерес к механизмам их действия. Хотя полагают, что это влияние носит во многом неспецифический характер, некоторые из катионов глубоко интегрированы в метаболизм разных форм жизни. Так, цинк входит в структуру огромного количества цинк-фингерных факторов транскрипции, и является каталитическим компонентом приблизительно 2000 ферментов, охватывающих все 6 классов. Свободные ионы цинка (Zn^{2+}) составляют минимальную долю общего клеточного цинка ($\sim 0,0001\%$). Подавляющее количество связано с цинк-связывающими белками, такими как сывороточный альбумин или внутриклеточные металлотионеины, откуда по мере необходимости он может быть перенесен на цинк-зависимые ферменты и факторы транскрипции.

Транспорт цинка, главным образом, осуществляется при участии 2 групп белков: семейство *ZnT*, которое отвечает за отток цинка за пределы клетки или приток в органеллы, и *ZIP* - семейство белков, которое выполняет противоположную роль, транспортируя цинк в цитоплазму из внеклеточных источников или клеточных органелл. У человека существует >30 белков, ответственных за гомеостаз цинка, это в совокупности минимизирует токсичность в случае его избытка в пище и тормозит развитие дефицита при пищевой недостаточности. Рекомендуемая суточная доза цинка зависит от нескольких факторов, таких как возраст, пол, вес и содержание фитатов в рационе. Совет по пищевым продуктам и питанию США (FDA) рекомендует дозу для взрослых 11 мг/день для мужчин и 8 мг/день для женщин. Однако, добавки цинка необходимо оценивать индивидуально, учитывая случаи дефицита цинка, низкого потребления микроэлемента с пищей и наличия заболеваний. Согласно исследованиям, в которых оценивали добавки цинка в различных дозах и продолжительности, 20-40 мг/день представлялись безопасной и эффективной дозой [1].

О важности цинка для функционирования иммунного ответа известно с открытия цинк-зависимого нонапептида тимулина, участвующего в развитии *T*-лимфоцитов в тимусе. С тех пор стала очевидной важная роль цинка для иммунной функции. Помимо своей роли в пролиферации клеток, как незаменимого компонента факторов транскрипции и ферментов репликации ДНК, *Zn* оказывает прямое влияние на иммунные клетки. Связывание Zn^{2+} с остатками цистеина и гистидина белков зависит от степени окисления этих последних, при этом окисление приводит к высвобождению Zn^{2+} , тем самым изменяя функцию белка. Например, таким образом активируются или ингибируются ферменты, связанные с окислительно-восстановительной регуляцией. В некоторых случаях высвобожденный Zn^{2+} может связываться с другими белками и влиять на них, действуя как окислительно-восстановительный медиатор. *T*-клетки как часть адаптивной иммунной системы особенно чувствительны к дефициту *Zn*, который необходим для их созревания и поддержания баланса между различными субпопуляциями *T*-клеток. Дефицит *Zn* способствует воспалительным реакциям, проявляющихся повышением секреции провоспалительных цитокинов. Цинк также важен для клеток врожденной иммунной системы, особенно для моноцитов и макрофагов, за счет своего регулирующего воздействия на продукцию цитокинов и высвобождение АФК во время респираторного взрыва. Хелатирование делает недоступными катионы Zn^{2+} , что подавляет функции нейтрофильных гранулоцитов, такие как хемотаксис, фагоцитоз, дегрануляция, окислительный взрыв и секреция цитокинов. Стимуляция иммунных клеток вызывает изменения в экспрессии различных транспортеров *Zn*, которые контролируют его внутриклеточную концентрацию. Это подчеркивает важность гомеостаза цинка для оптимального функционирования иммунного ответа. [2, 8, 17].

В обсуждениях вопросов, касающихся иммунитета и инфекций, часто отсутствуют стратегии питания, поддерживающие оптимальное функционирование иммунной системы. Между тем, важность адекватного

питания для иммунной функции хорошо известна. Ряд витаминов, включая витамины A, B₆, B₁₂, C, D, E и фолиевую кислоту, а также микроэлементы, включая цинк, железо, селен, магний и медь, играют важную и дополняющую роль в поддержке как врожденной, так и адаптивной иммунной системы. Недостаток или субоптимальный статус питательных микроэлементов отрицательно влияет на иммунную функцию и может снизить сопротивляемость инфекциям. Даже незначительный дефицит цинка может повлиять на иммунитет. Цинк важен для поддержания и развития клеток как врожденной, так и адаптивной иммунной системы. Дефицит цинка приводит к нарушению образования, активации и созревания лимфоцитов, нарушает межклеточную коммуникацию через цитокины и ослабляет врожденную защиту хозяина. Люди с дефицитом цинка, особенно дети, склонны к увеличению диарейных и респираторных заболеваний [13].

Глобальная распространенность дефицита цинка оценивается в диапазоне от 17% до 20% населения, при этом наиболее часто она регистрируется в развивающихся странах. Недостаточность цинка встречается чаще у пожилых людей, веганов/вегетарианцев и лиц с хроническими заболеваниями, такими как цирроз печени или воспалительное заболевание кишечника. Выраженный дефицит цинка приводит к нарушению функционирования иммунной системы, о чем свидетельствуют атрофия тимуса, лимфопения и нарушения иммунного ответа на патогены. Очевидно, что в силу такой распространенности в биологических системах цинк важен для генерирования как врожденных, так и приобретенных (гуморальных) противовирусных реакций. Понимание механизма положительного действия цинка осложняется тем, что он одновременно является неотъемлемым компонентом многих вирусных ферментов. Это указывает сложность регуляции клеточного и системного распределения цинка для ингибирования репликации и распространения вируса [3, 17].

Секвестрация и накопление токсичных металлов являются хорошо известными антибактериальными иммунными реакциями. Кальпротектин, связывающий и изолирующий внеклеточный кальций и цинк, предотвращает размножение бактерий и грибов. И наоборот, накопление токсических количеств эндосомального цинка может ингибировать внутриклеточный рост микобактерий в макрофагах. Эти механизмы недостаточно хорошо описаны в случае вирусных инфекций. Кальпротектин, например, не обладает доказанной противовирусной активностью. Это отсутствие цинк-опосредованного противовирусного ответа может отражать «паразитарную» природу вирусной инфекции. Изменения внутриклеточных концентраций цинка, необходимые для ингибирования репликации вируса, также могут оказаться токсичными для эукариотических клеток.

Низкая обеспеченность Zn (в сыворотке <0,7 мг/л) представляет собой фактор риска иммунодефицита, что усиливает воспаление и влияет на функцию Т-клеток. У пожилых людей снижение концентрации свободного цинка коррелировало с повышенным уровнем провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-8 и TNF-α). Металлотионеины (MT) - это небольшие, богатые цистеином

белки, способные связывать двухвалентные катионы, такие как цинк и медь (депо). Экспрессия генов МТ чрезвычайно чувствительна к уровням цинка и служит идеальным индикатором обеспеченности цинком организма человека. Окислительный стресс индуцирует высвобождение цинка из металлотионеинов как механизм снижения активных форм кислорода, в том числе как результат вирусной инфекции. Продукция металлотионеины стимулируется интерферонами (IFN). IFN представляют собой цитокины, секретируемые в инфицированных и резидентных иммунных клетках, которые вызывают экспрессию сотен противовирусных генов. Помимо прямой противовирусной активности, они стимулируют приток цинка в клетку-мишень, аналогично некоторым воспалительным цитокинам, таким как IL-6, которые, в свою очередь, регулируют экспрессию металлотионеина [1, 19].

Вирусы также инициируют синтез металлотионеинов. Этот эффект наблюдается в ответ на вирусы кори, гриппа, ВИЧ, гепатита С (HCV), вируса Коксаки и другие. В частности, в ВИЧ-инфицированных моноцитах существенно увеличена как экспрессия гена МТ, так и концентрация внутриклеточного цинка. Металлотионеины обеспечивают цинком белковые факторы, необходимые для связывания NF-κB. NF-κB являются мощными активаторами репликации ВИЧ и вируса простого герпеса, а также некоторых других вирусов. Металлотионеины обладают либо непосредственно противовирусной функцией, возможно, путем секвестрации цинка от вирусных металлопротеинов, либо являются косвенно противовирусными, функционируя в качестве шаперонов цинка и способствуя передаче противовирусных сигналов. Сверхэкспрессия МТ ингибировала репликацию флавивирусов, включая вирус желтой лихорадки и HCV, а также вируса венесуэльского энцефалита лошадей. Но, эффект отсутствовал в отношении вируса лихорадки Западного Нила и вируса Чикунгунья. Эти данные указывают на то, что металлотионеины обладают селективным противовирусным эффектом, возможно, отражая специфические потребности вируса в цинке во время репликации [10].

Ретровирусы названы в честь их способности транскрибировать РНК в ДНК с помощью их обратной транскриптазы (RT), что позволяет интегрировать ретровирусную ДНК в геном хозяина. Интегрированный провирус может затем создать скрытую инфекцию и является основным препятствием для лечения вируса, особенно для ВИЧ-1. Цинк является ингибитором ретровирусных RT. Катионы Zn^{2+} могут вытеснять ионы Mg^{2+} из RT ВИЧ-1, способствуя образованию чрезмерно стабильного, но невероятно медленного и неэффективного репликационного комплекса. ВИЧ может стимулировать приток цинка в моноциты, но в отличие от большинства $CD4^+$ T-клеток, низкие уровни репликации в макрофагах не приводят к гибели клеток, что делает их жизнеспособным резервуаром, в дополнение к долгоживущим $CD4^+$ T-клеткам, для вирусного рецидива после прекращения антиретровирусного лечения. Дефицит цинка часто встречается у ВИЧ-инфицированных, где он связан с воспалением и иммунологической недостаточностью, хотя считают, что добавки цинка не оказывают никакого влияния на вирусную нагрузку ВИЧ.

Однако, дефицит цинка может способствовать иммунодефицитному состоянию, нарушить равновесие оксидантно-антиоксидантной системы и повысить смертность от ВИЧ [6].

При оценке эффективности цинка как противовирусного агента *in vitro*, используемые концентрации часто намного превышают физиологические. Хотя внутриклеточные концентрации цинка колеблются от 10 до 100 мкМ, но они забуферены цинк-связывающими белками, в частности, металлотионеинами, что делает реальные концентрации свободного цинка пикомолярными или наномолярными [11].

Противовирусные свойства цинка, безусловно, вирус-специфичны. Цинк ингибирует практически во все этапы жизненного цикла герпес-вируса: функцию вирусной полимеразы, продукцию белка и его процессинг, а также инактивирует свободный вирус. У пациентов применение препаратов цинка показало достоверное снижение рецидивов и продолжительности инфекции. Эффективность местного применения вместе с результатами *in vitro* позволяют предположить, что свободный цинк действительно может воздействовать на вирионы ВПГ, предотвращая тем самым инфекцию. Показано, что ионы цинка ингибируют вирус ветряной оспы *in vitro* путем инактивации свободного вируса [7].

Цинк оказывает ингибирующее действие на процессинг полипротеинов пикорновируса, полиовируса и вируса ящура путем торможения активности вирусной протеазы. Аналогичным образом, цинк ингибирует создание третичной структуры вирусного полипротеина вируса энцефаломиокардита путем нарушения фолдинга и/или прямым воздействием на вирусную протеазу [14].

Оптимальное потребление цинка или соответствующие добавки следует рассматривать как часть стратегии по снижению эффектов COVID-19. Цинк может ингибировать репликацию SARS-CoV-1, блокируя его полимеразную активность. Важно отметить, что цинк-зависимые вирусные ферменты осуществляют весь процесс инфекции. Кроме того, препараты, протестированные против SARS-CoV-2, такие как хлорохин, вызывают повышение внутриклеточной концентрации этого цинка. Следовательно, препараты цинка (отдельно или в качестве адъюванта к другим лекарствам) в настоящее время проходят клинические испытания при коронавирусной инфекции. В тяжелых случаях COVID-19 сопровождается чрезмерной активацией врожденной иммунной системы с прогрессирующим воспалением, что приводит к цитокиновому шторму. Репликация *in vitro* вируса гриппа, SARS-CoV-2 и респираторно-синцитиального вируса ингибируется добавлением цинка, возможно, путем ингибирования РНК-зависимой РНК-полимеразы (RdRp) [3, 4, 9, 15].

Повышение внутриклеточной концентрации цинка с помощью цинк-ионофоров, таких как пиритион или хлорохин, может напрямую снижать репликацию различных РНК-вирусов в клетках *in vitro* за счет ингибирования их активности РНК-полимеразы. Комбинированное введение цинка и пиритиона даже в низких концентрациях ингибировало репликацию

коронавируса SARS (SARS-CoV) *in vitro*. Следовательно, добавка цинка может оказывать влияние не только на чрезмерно активное воспаление, связанное с COVID-19, но, предположительно, также на сам агент SARS-CoV-2. Что касается используемых профилактических доз, было отмечено, что на долгосрочной основе рекомендуется прием ≤ 25 мг / день, поскольку чрезмерное потребление цинка может нарушить баланс меди [5].

Флавивирuses включают вирусы Денге и Западного Нила, а также гепатотропный вирус HCV. Влияние цинка на флавивирuses незначительное, хотя определенный эффект высоких концентраций микроэлемента *in vitro* был отмечен. Между тем, отмечен положительный эффект добавок цинка при HCV: снижается воспалительный процесс и усиливаются реакции на противовирусное лечение. Одновременно значительно повышается скорость клиренса вируса [20].

Тогавирuses в основном переносятся членистоногими, таких как вирус Семлики, вирус западного конского энцефалита и вирус Чикунгунья. Вирусная инфекция возникает в результате рецептор-опосредованного эндоцитоза, за которым следует слияние вируса и эндосомальных мембран и высвобождение частиц в цитоплазму. Ионы цинка препятствуют слиянию, путем связывания остатков гистидина в вирусном белке E1 при низком эндосомальном pH. Высокие концентрации цинка присутствуют в везикулярных цинкосомах и слияние цинкосом с вирусными эндосомами может ингибировать ключевые аспекты жизненного цикла вируса. [12].

Вирусы папилломы человека (HPV) – это онкогенные вирусы, которые заражают базальные эпителиальные клетки, где они стимулируют пролиферацию, приводящую к папилломам. Экзогенный цинком может ингибировать наработку вирусных онкогенных белков E6 и E7, что приводит к апоптозу клеток карциномы шейки матки, так как восстанавливается функция супрессоров опухолей p53 и pRb [18]. Хотя противовирусная модуляция гомеостаза цинка у людей остается недоказанной, вирусы папилломы выработали механизмы изменения гомеостаза цинка, способствующие репликации и персистенции вируса. Белок E5 HPV может взаимодействовать с транспортером цинка ZnT-1, стимулируя тем самым накопление цинка в ядре. Клинические испытания показали эффективность препаратов в лечении вирусных папиллом. Местное и системное назначение препаратов цинка эффективно при кожных и генитальных папилломах. Пациенты с вирусными папилломами часто имеют дефицит цинка. От 78% до 100% пациентов увеличивали клиренс вируса в ответ на пероральный прием сульфата цинка (от 10 мг/кг до 600 мг/сут) [16].

Выводы.

Таким образом, жесткая регуляция гомеостаза цинка как системная, так и внутриклеточная указывает на то, что эффекты цинка во многом носят специфический характер и, одновременно, этот катион имеет общебиологическое значение, в том числе для формирования антивирусного иммунитета человека. Цинк является компонентом примерно 10% протеома человека, и может стимулировать различные сигнальные механизмы, включая

противовирусный ответ. Цинк-связывающие белки, такие как металлотионеины, могут выполнять противовирусные функции, хотя их специфичность функции остается неопределенной. Очевидно, что лечение препаратами цинка, применяемыми в терапевтических дозах и в «правильной» форме, может значительно снизить вирусную нагрузку как при хронических, так и острых вирусных инфекциях, а также связанных с ними сопутствующих патологиях и симптомах. В целом, роль катионов цинка как противовирусного средства можно разделить на 2 категории:

- 1) добавки цинка, применяемые для улучшения противовирусного ответа и системного иммунитета у пациентов с дефицитом цинка, и
- 2) препараты цинка, используемые для специфического ингибирования репликации вируса или связанных с инфекцией симптомов.

Механизмы, с помощью которых цинк вмешивается в цикл репликации вируса включают:

- 1) инактивацию свободных вирусов,
- 2) ингибирование вирусного покрытия,
- 3) транскрипцию вирусного генома,
- 4) трансляцию вирусных белков
- 5) процессинг полипротеина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шейбак, В.М. Биологическая роль цинка и перспективы медицинского применения цинксодержащих препаратов/ В.М. Шейбак, Л.Н. Шейбак. – Гродно: ГрГМУ, 2003. – 82 с.
2. Шейбак, В.М. Количественные и функциональные изменения лейкоцитов при введении таурина, лейцина и цинка сульфата/ В.М. Шейбак, М.В. Горецкая, Л.Е. Виноградова // Иммунология, аллергология, инфектология. – 2007. – № 2. – С. 22-27.
3. Шейбак, В.М. Цинк – противовирусное действие/ Шейбак В.М., Горецкая М.В. //Актуальные вопросы микробиологии, вирусологии и инфектологии: сб. материалов межвузовской научно-практической конференции (30 октября 2020 г.) – Гродно: ГрГМУ, 2020. – С.60-63.
4. Шейбак, В.М. Разработка вакцин от SARS-COV-2 / В.М. Шейбак, М.В. Горецкая// Журнал ГрГМУ. – 2022. – №1, Т. 20. – С. 5-12.
5. Alexander, J. Early Nutritional Interventions with Zinc, Selenium and Vitamin D for Raising Anti-Viral Resistance Against Progressive COVID-19 / J. Alexander, A. Tinkov, T.A. Strand // Nutrients. – 2020. – V.12, № 8. – P. 2358.
6. Apoptotic killing of HIV-1-infected macrophages is subverted by the viral envelope glycoprotein. / S. Swingle [et al.] //PLoS Pathog. – 2007. – V.3, № 9. – P. 1281–1290.
7. Arens, M. Zinc salts inactivate clinical isolates of herpes simplex virus in vitro. / M. Arens, S. Travis //J Clin Microbiol. – 2000. – V.38, №5. – P. 1758–1762.
8. Elmadfa, I. The role of the status of selected micronutrients in shaping the immune function / I. Elmadfa, A.L.Meyer // Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. – 2019. – V.19, № 8. – P. 1100-1115.

9. Galmés, S. Current State of Evidence: Influence of Nutritional and Nutrigenetic Factors on Immunity in the COVID-19 Pandemic Framework / S. Galmés, F. Serra, A. Palou // *Nutrients*. – 2020. – V.12, №9. – P. E2738.
10. Increased metallothionein gene expression, zinc, and zinc-dependent resistance to apoptosis in circulating monocytes during HIV viremia. / A.D. Raymond [et al.] // *J Leukoc Biol*. – 2010. – V.88, № 3. – P. 589-596.
11. Insights into Zn^{2+} homeostasis in neurons from experimental and modeling studies. / R.A. Colvin [et al.] // *Am J Physiol Cell Physiol*. – 2008. – V.294, № 3. – P. C726-C742.
12. Liu, C.Y. Identification of a specific region in the E1 fusion protein involved in zinc inhibition of Semliki Forest virus fusion. / C.Y. Liu, M. Kielian // *J Virol*. – 2012. – V.86, № 7. – P.3588-3594.
13. Optimal Nutritional Status for a Well-Functioning Immune System Is an Important Factor to Protect against Viral Infections / P.C. Calder [et al.] // *Nutrients*. – 2020. – V.12, № 4. – P. 1181.
14. PDTC inhibits picornavirus polyprotein processing and RNA replication by transporting zinc ions into cells / K. Lanke [et al.] // *J Gen Virol*. – 2007. – V.88, № 4. – P. 1206-1217.
15. Suara, R.O. Effect of zinc salts on respiratory syncytial virus replication. / R.O. Suara, J.E. Jr.Crowe // *Antimicrob Agents Chemother*. – 2004. – V.48, № 3. – P. 783-790.
16. Yagboobi, R. Evaluation of oral zinc sulfate effect on recalcitrant multiple viral warts: a randomized placebo-controlled clinical trial. / R. Yagboobi, A. Sadighha, D. Baktash // *J Am Acad Dermatol*. – 2009. – V.60, № 4. – P. 706-708.
17. Zinc in antiviral immunity / S. A. Read [et al.] // *Adv Nutr*. – 2019. – V.10, N4. – P. 696-710.
18. Zinc induces apoptosis on cervical carcinoma cells by p53-dependent and -independent pathway. / S.N. Bae [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2017. – V.484, № 1. – P. 218-223.
19. Zinc is a potent and specific inhibitor of IFN- λ 3 signalling. / S.A. Read [et al.] // *Nat Commun*. – 2017. – V.8. – P. 15245.
20. Zinc supplementation enhances the response to interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. / H. Takagi [et al.] // *J Viral Hepat*. – 2001. – V.8, № 5. – P. 367–371.

ЦИНК: ФУНКЦИИ, МЕТАБОЛИЗМ, ПОТРЕБНОСТЬ И ВЛИЯНИЕ НА КИШЕЧНИК

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

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Важность и значимость цинка впервые была обнаружена в 19 веке. Так в 1869 году *Jules Raulin* продемонстрировал важность цинка для

микроорганизмов. В последующем (в 1926 году) была показана незаменимость цинка для высших растений. В 1950-1960 годах показано, что цинк является незаменимым микронутриентом для животных. По результатам обследования жителей Ирана с гипогонадизмом/карликовостью в 1963 году *A.S. Prasad* с сотрудниками описали дефицит цинка у пациентов. В 1974 году *E.J. Moynahan* выявил тяжелый дефицит цинка, как причину энтеропатического акродерматита, врожденного аутосомно-рецессивного дефекта метаболизма цинка. Очень быстро был достигнут консенсус о необходимости включения цинка в рекомендуемые нормы потребления микронутриентов [6].

Под руководством проф. В.М. Шейбака более двух десятилетий изучается биологическая активность различных соединений цинка и их комбинаций с аминокислотами в норме и патологии, их влияние на активность иммунной системы, метаболизм печени, функционирование кишечника [1-4].

Цинк является вторым по распространенности микроэлементом после железа. Он участвует в различных процессах как на клеточном, так и на системном уровне, способствуя пролиферации, дифференцировке и апоптозу клеток, синтезу и репарации нуклеиновых кислот, стабилизации клеточных мембран [6, 8, 15, 19]. Цинк также регулирует иммунологические процессы, влияет на образование клеток в костном мозге, созревание и дифференцировку лимфоцитов, продукцию антител [17]. Цинк обнаруживается в 10% протеома человека, является кофактором более 300 ферментов (всех 6 классов), цинк-фингерные факторы транскрипции участвуют в регуляции экспрессии генов [6, 17, 19]. Катионы цинк необходимы для нейротрансмиссии, модулируют процессы обучения и памяти [13]. Кроме того, они участвуют в поддержании нормального уровня глюкозы, формируя гексамеры инсулина и повышая чувствительность клеток к гормону. Цинк также играет важную роль в синтезе оксида азота, таким образом воздействуя на процессы вазодилатации и вазоконстрикции [10].

Эпидемиологические исследования показали, что гипоцинкемия связана с повышенным риском развития рака [15]. Доказано участие цинка в патогенезе онкологических заболеваний, таких как рак легких, поджелудочной железы, молочной железы и гепатоцеллюлярной карциномы [13, 18]. Недостаточность цинка, провоцируя иммунодефицитные состояния, ведет к более тяжелому течению инфекционных заболеваний, включая ВИЧ и гепатит С [8, 17, 18], а также ускоряет проявления атеросклероза, шизофрении, депрессии, болезни Альцгеймера и рассеянного склероза [8, 10, 13, 18].

Общее содержание цинка в организме человека составляет около 1,5-3 г [6, 13, 18]. При этом наибольшие концентрации тканевого *Zn* обнаруживаются в скелетных мышцах (около 60%), костях (около 30%), коже (около 5%, преимущественно в эпидермисе) и печени (около 5%). Сравнительно небольшое количество *Zn* определяется в сыворотке крови (около 0,1% от общих запасов цинка). В организме человека нет депо этого элемента, хотя некоторые исследователи считают таковой костную ткань [8]. Транскрипционные механизмы на уровне экспрессии генов и активность трансмембранного транспорта модулируют гомеостаз цинка и в некоторой

степени защищают организм от воздействия избытка поступающего с пищей данного микроэлемента или своей активностью корректируют его дефицит [17]. В организме животных и человека цинк всасывается в двенадцатиперстной кишке и проксимальном отделе тощей кишки, а выводится преимущественно с фекалиями и в меньшей степени путем почечной фильтрации и поверхностных потерь с потом или эпидермисом (при ожогах потери цинка многократно возрастают). Скорость абсорбции зависит от концентрации микроэлементов в кишечнике и повышается с увеличением содержания цинка в пище. Общий запас микроэлемента в организме также влияет на кишечную абсорбцию, которая усиливается у лиц с дефицитом цинка [10, 16, 20].

В клинической практике наиболее часто используемым анализом Zn является определение концентрации Zn в сыворотке крови. Предполагается, что нормальные значения находятся в диапазоне 80-100 мкг% (12-15 мкмоль/л) [6, 13, 18]. Хотя тестирование сыворотки технически несложно, интерпретация результатов имеет некоторые ограничения. Так, внутриклеточное содержание ионов цинка может быть низким, несмотря на нормальные значения в сыворотке. Это связано с возможностью высвобождения Zn из клеток. С другой стороны, низкое содержание цинка в крови не обязательно указывает на его общий дефицит, но может отражать физиологическую реакцию на воспалительные процессы, происходящие в организме. Например, во время острой фазы иммунного ответа цинк транспортируется из сыворотки крови в печень, что приводит к гипоцинкемии. Имеет значение с степень связывания тканевого цинка металл-связывающими белками, в первую очередь, металлотионеинами. Разрешение воспаления приводит к выходу Zn из тканей в кровь [8, 10, 16, 18].

В сыворотке крови цинк связывается с альбумином, $\alpha 2$ -макроглобулином и трансферрином [17, 18]. Свободные ионы Zn^{2+} в сыворотке составляют лишь около 0,0001% от общих запасов Zn в организме [13, 17]. Альбумины связывают примерно 70-80% пула цинка, циркулирующего в крови. Уровни цинка в сыворотке крови снижаются при гипоальбуминемии, в частности, за счет увеличения экскреции свободного цинка с мочой [17]. Подобный эффект возникает при гормональном лечении глюкокортикостероидами, когда Zn транспортируется в клетки в результате стимуляции экспрессии импортеров цинка. Концентрация цинка в сыворотке крови увеличивается в результате внутрисосудистого и внесосудистого гемолиза после его высвобождения из эритроцитов [7]. Уровни Zn в сыворотке также подвержены суточным колебаниям, которые могут достигать 20%. Кроме того, цинкемия быстро увеличивается после еды и затем снижается через 2-4 ч. После этого концентрация Zn в сыворотке постепенно увеличивается до следующего приема пищи. При этом самые высокие значения Zn в сыворотке крови обнаруживаются утром, после нескольких часов голодания [6, 7, 10].

Анализ обеспеченности организма цинком, учитывая вышеприведенные данные, является относительно сложной проблемой. Для определения содержания цинка в моче необходимо провести суточный сбор мочи. Предполагается, что суточное количество цинка, выводимого с мочой, должно

находиться в пределах 300-600 мкг, т.е. 4,6-9,2 мкмоль/24 ч. Уровни цинка в моче могут меняться в течение дня и зависят как от диуреза, так и от количества цинка в рационе. Гиперцинкурия может возникнуть из-за высокого поступления цинка с пищей или нарушения абсорбции в тонком кишечнике, что, в свою очередь, может быть обусловлено алкоголизмом, циррозом печени, острой порфирией, сахарным диабетом II типа, отравлением свинцом, протеинурией и лечением хелатирующими соединениями. Голодание, интенсивные физические упражнения и травмы также могут увеличить выведение цинка с мочой [6, 10]. Напротив, у большинства людей с дефицитом цинка экскреция с мочой снижается, чтобы ограничить чрезмерные потери [7]. Однако следует отметить, что при таких состояниях, как цирроз печени, хроническое заболевание почек или серповидно-клеточная анемия, именно гиперцинкурия парадоксальным образом проявляется как признак дефицита цинка. Следовательно, определение уровня Zn в моче иногда может быть сложным для интерпретации.

Волосы – еще один субстрат, который потенциально можно использовать для оценки содержания цинка в организме человека. Концентрация цинка в волосах более точно отражает запасы цинка в тканях и может представлять долгосрочную картину содержания цинка. Однако этот анализ не подходит для оценки текущего статуса цинка у пациента. Кроме того, на содержание цинка в волосах также влияют такие факторы, как возраст, пол, скорость роста волос и время года и используемые моющие средства. Кроме того, в условиях замедленного роста волос, например, при недостаточном питании или тяжелом дефиците цинка концентрация Zn в волосах может парадоксальным образом быть нормальной или даже высокой. Поскольку не разработано стандартизированных процедур сбора, подготовки и анализа волос [6, 10], его клиническая ценность и референтные значения остаются неясными.

По оценкам нутрициологов, дефицит цинка может иметь место у 17% людей во всем мире [13, 17]. Дефицит цинка редко диагностируется в развитых странах и в основном наблюдается у пожилых людей с множественными сопутствующими заболеваниями, особенно аутоиммунными или воспалительными или у детей раннего возраста на молочно-растительной диете [10, 17, 18]. Состояние может быть вызвано повышенной потребностью, снижением предложения, нарушением абсорбции или чрезмерными потерями [13]. Очевидно, что наибольшая потребность в Zn возникает у беременных и кормящих женщин, у детей и пожилых людей. Дефицит цинка также может быть результатом недостаточного питания с ограниченным содержанием животного белка, высоким содержанием в растительных продуктах фитиновой кислоты, а также у людей с воспалительными заболеваниями кишечника или циррозом печени. Хроническая диарея, парентеральное питание или злоупотребление алкоголем также могут способствовать развитию дефицита цинка [10, 17].

Легкий и умеренный дефицит цинка характеризуется неспецифическими симптомами: огрубением кожи, алопецией, дистрофией ногтей, потерей аппетита, нарушением заживления ран, расстройствами вкуса и обоняния или светобоязнью. Лица с дефицитом цинка демонстрируют повышенную восприимчивость к

инфекциям, связанным с лимфопенией, нарушением функции лимфоцитов, атрофией тимуса и окислительным стрессом [17, 18, 19]. Важно отметить, что у детей дефицит *Zn* связан с задержкой роста и полового созревания [10, 13].

Из-за низкой токсичности цинка, особенно при пероральном применении, передозировка встречается сравнительно редко. Избыток *Zn* может вызвать тошноту, рвоту, головную боль, головокружение и утомляемость, а при значительном превышении рекомендуемой дозы может привести к анемии, нейтропении или снижению уровня липопротеинов высокой плотности [10]. Парадоксально, что нарушения кожных покровов и иммунной функции может быть следствием как дефицита, так и избытка *Zn* [15, 18]. Хронически высокое потребление цинка также может привести к дефициту меди, поскольку оно ухудшает всасывание меди в желудочно-кишечном тракте [17]. У людей с оптимальной концентрацией цинка в организме потребление в количестве 40 мг/день (с учетом коэффициента абсорбции в желудочно-кишечном тракте) считается верхним пределом, переносимым взрослыми [10, 13].

В настоящее время рекомендуемое ежедневное потребление цинка здоровыми людьми четко не определено. Тем не менее, ВОЗ рекомендует прием цинка (по катиону цинка) в дозах 3-14 мг/день для взрослых в зависимости от возраста, пола и содержания фитатов в рационе [8, 13].

Наиболее распространенные источники пищевого цинка включают рыбу и морепродукты (особенно устрицы), красное мясо, птицу, бобовые, семена тыквы и подсолнечника, яйца, молочные продукты и орехи [8, 13, 18]. Форма поступления цинка и состав диеты играют очень важную роль, поскольку в пище биодоступность цинка значительно ниже, чем в водном растворе [17]. С другой стороны, количество белка в пище положительно коррелирует с абсорбцией цинка, за исключением казеина молочного белка [12]. Кроме того, поскольку цинк из продуктов животного происхождения усваивается более эффективно, вегетарианцы и веганы чаще страдают от дефицита цинка [8].

Фитаты представляют собой соли фитиновой кислоты и являются важным депо фосфатов и минералов. Являясь хелаторами ионов цинка, они ограничивают его всасывание из желудочно-кишечного тракта, образуя труднорастворимые комплексы [12, 17, 18]. Семена и злаки бобовых – продукты, богатые фитатами [17]. Цельнозерновые продукты особенно богаты фитатами, которые содержатся в алейроновом слое и зародыше. Однако помол, термическая обработка, закваска хлеба, проращивание и ферментация уменьшают неблагоприятное воздействие фитатов, тем самым повышая биодоступность цинка [10, 12].

Большие количества железа (*Fe*), особенно в растворах на водной основе, могут препятствовать абсорбции цинка при одновременном введении и при высоком соотношении *Fe/Zn*. Для железа, содержащегося в пищевых продуктах, такого эффекта не наблюдается. Даже длительное применение препаратов железа не влияет на всасывание цинка при соответствующих дозах и интервалах их приема [6, 12]. Добавки кальция и продукты, обогащенные кальцием, также могут оказывать негативное влияние на усвоение цинка. Однако механизм сложен и, вероятно, связан не с самим кальцием, а с потенциальным усилением ингибирующего воздействия фитатов [6].

Учитывая благоприятное действие добавок цинка при диареях неинфекционного и инфекционного генеза в настоящее время предлагается несколько теорий относительно антибактериального механизма действия катионов цинка. Показана высокая эффективность наночастиц цинка – особенно ZnO. Среди основных механизмов – продукция активных форм кислорода (АФК) и прямое воздействие на мембраны бактериальных клеток [14]. АФК могут вызывать окислительный стресс и разрушать клеточные компоненты патогенов, тем самым влияя на их гомеостаз и вызывая бактерицидные эффекты, вследствие окисления функциональных групп белков и повреждения ДНК. Так, скорость роста *E. coli* снижалась с увеличением уровня АФК. Прямой контакт Zn^{2+} с мембранами бактериальных клеток также является возможным механизмом бактерицидного действия [5, 11, 14]. Zn^{2+} вмешивается в электронно-транспортную цепь, локализованную на цитоплазматических мембранах, тем самым препятствуя клеточному энергетическому метаболизму и вызывая разрушение мембраны.

Антибактериальные свойства соединений Zn делают их эффективными против патогенных бактерий. Штаммы комменсальных *E. coli*, в основном включающие энтеротоксигенные *E. coli*, энтероагрегационные *E. coli*, продуцирующие токсины Vero или Shiga. Энтерогеморрагические *E. coli*, энтеропатогенные *E. coli*, диффузно адгезивные *E. coli* и энтероинвазивные *E. coli*, являются основными патогенными бактериями, вызывающими диарею [5, 11, 14]. Относительная численность микробов, продуцирующих лактат, в частности *Streptococcus* и *Lactobacillus*, в просвете подвздошной кишки значительно увеличивалась, когда в рацион поросят были добавлены высокие дозы ZnO [9]. Одновременно, относительная численность *Clostridium* и *Campylobacteriales*, снижалась [10]. Кроме того, соединения Zn могут повышать уровень короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) в просвете кишечника. КЦЖК (бутират, пропионат, ацетат) в основном вырабатываются посредством микробной ферментации и поддерживают целостность эпителиальных клеток, регуляцию иммунных функций и подавляют рост патогенных микроорганизмов [14, 20]. Таким образом, эффективность соединений цинка при нарушениях функции кишечника тесно связана с его способностью модулировать пролиферацию кишечной микробиоты, увеличивая количество полезных бактерий, уменьшая количество патогенов и повышая выработку КЦЖК. Важным достижением явилось доказательство эффективности назначения препаратов цинка при лечении диареи у детей, подавлении накопления меди при болезни Вильсона, торможении развития возрастной макулярной дегенерации и печеночной энцефалопатии [10, 17, 18].

Среди механизма действия фармакологических доз соединений цинка следует отметить [10, 20]:

- увеличение высоты ворсинок, уменьшению глубины крипт и повышение соотношения высота ворсинок/глубина крипт;
- увеличение количества бокаловидных клеток в тонком кишечнике, а также стимуляция активности кишечных пищеварительных ферментов;

- повышение экспрессии белков, связанных с функцией физической компонентой кишечного барьера, таких как *zonula occludens-1*, *claudin 1* и *occludin*.

Бокаловидные клетки являются секреторными клетками, которые секретируют муцины. Добавки *Zn* в рацион заметно увеличивает популяцию бокаловидных клеток в ворсинках и криптах тонкого кишечника [9, 10]. Уровни мРНК и экспрессии белков плотных контактов, а также концентрации диаминооксидазы и *D*-молочной кислоты в крови служат надежными маркерами функциональности кишечного барьера. Добавление *Zn* в рацион может повысить экспрессию белков плотных контактов и снизить проницаемость кишечника [20].

Добавки *Zn* увеличивают концентрацию сывороточного *IgA* и *IgM* и снижают концентрации провоспалительных цитокинов *IL-1β* и *IL-6* [9].

Механизмы взаимодействия цинка и иммунной системы включают [9, 15, 18, 19]:

- повышение фагоцитарной активности;
- увеличение $CD3^{+}$ *T*-клеток и $CD3^{+}CD4^{+}Foxp3^{+}$ *Treg*-клеток в периферической крови;
- повышение секреции (*sIgA*, который помогает нейтрализовать патогены и предотвратить их адгезию к эпителию кишечника;
- подавление экспрессии провоспалительных цитокинов, таких как *IFN-γ*, *IL-1β*, *IL-6* и *TNF-α*.

Иммуномодулирующие эффекты *Zn* могут варьировать в зависимости от формы химического соединения и дозировки, при этом более низкие концентрации хелатированного или нано-*Zn* потенциально усиливают определенные субпопуляции *T*-клеток более эффективно, чем более высокие дозы стандартных соединений *Zn* [10, 15, 18, 19].

Выводы.

Таким образом, потенциальные механизмы благоприятного действия соединений цинка включают следующие элементы:

1). Выраженные антибактериальные свойства, которые проявляются подавлением роста кишечных патогенов, и положительным регуляторным воздействием на кишечную микрофлору.

2). Усиление Zn^{2+} физической барьерной функции кишечника, характеризующиеся положительными морфологическими изменениями плотных соединений кишечника, увеличением секреции *Zn*-содержащих ферментов, усилением дифференцировки бокаловидных клеток.

3). Улучшение иммунной защиты кишечника, воздействием как на компоненты врожденного, так и адаптивного иммунитета, включающие повышение секреции *IgA* и противовоспалительных цитокинов, а также ингибирование продукции провоспалительных цитокинов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шейбак, В.М. Биологическая роль цинка и перспективы медицинского применения цинксодержащих препаратов/ В.М. Шейбак, Л.Н. Шейбак. – Гродно: ГрГМУ, 2003. – 82 с.

2. Шейбак, В.М. Количественные и функциональные изменения лейкоцитов при введении таурина, лейцина и цинка сульфата/ В.М. Шейбак, М.В. Горецкая, Л.Е. Виноградова // Иммунология, аллергология, инфектология. – 2007. – № 2. – С. 22-27.
3. Шейбак, В.М. Оценка влияния курсового введения крысятам цинка аспартата и цинка сульфата на показатели метаболизма аминокислот в тканях и состояние тонкого кишечника/ В.М. Шейбак, М.В. Горецкая // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – № 8. – С. 31 –34.
4. Шейбак, В.М. Цинк – противовирусное действие/ Шейбак В.М., Горецкая М.В. //Актуальные вопросы микробиологии, вирусологии и инфектологии: сб. материалов межвузовской научно-практической конференции (30 октября 2020 г.) – Гродно: ГрГМУ, 2020. – С.60-63.
5. Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escherichia coli* O157:H7. / Y. Liu [et al.] //J. Appl. Microbiol. – 2009. – V. 107. – P. 1193-1201.
6. Biomarkers of nutrition for development (BOND)-zinc review / J.C. King [et al.] // J. Nutr. – 2015. – V.146. – P. 858S-885S.
7. Effects of antimicrobial peptide cathelicidin-BF on diarrhea controlling, immune responses, intestinal inflammation and intestinal barrier function in piglets with postweaning diarrhea / J. Feng [et al.] //Int. Immunopharmacol. –2020. – V.85. – P. 106658.
8. Gammoh, N. Zinc in Infection and Inflammation / N. Gammoh, L. Rink // Nutrients. – 2017. – V.9. – P. 624.
9. Growth performance, immune status, gastrointestinal tract ecology, and function in nursery pigs fed enzymatically treated yeast without or with pharmacological levels of zinc / B. Christensen [et al.] //J. Anim. Sci. – 2022. – V.100. – P. skac094.
10. Hawrysz, Z. Zinc: an undervalued microelement in research and treatment. / Z. Hawrysz, A.Woźniacka //Postepy Dermatol Alergol. – 2023. – V.40, №2. – P. 208-214.
11. Intestinal microbiota mediates Enterotoxigenic *Escherichia coli*-induced diarrhea in piglets / P. Bin [et al.] //BMC Vet. Res. – 2018. – V. 14. – P.385.
12. Lönnerdal, B. Dietary factors influencing zinc absorption / B. Lönnerdal //J. Nutr. – 2000. – V. 130 (5S Suppl). – P. 1378S-1383S.
13. Recent aspects of the effects of zinc on human health / C.T. Chasapis [et al.] // Arch. Toxicol. – 2020. – V.94. – P.1443-1460.
14. Relationship between structure and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles: An overview / B. Lallo da Silva [et al.] // Int. J. Nanomed. – 2019. – V.14. – P. 9395-9410.
15. Skrajnowska, D. Role of zinc in immune system and anti-cancer defense mechanisms. / D. Skrajnowska, B. Bobrowska-Korczak // Nutrients. – 2019. –V.11. – P. 2273.
16. The physiological, biochemical, and molecular roles of zinc transporters in zinc homeostasis and metabolism. / T. Kambe [et al.] //Physiol. Rev. – 2015. – V.95. – P. 749-784.

17. The role of zinc in antiviral immunity / S.A. Read [et al.] // Adv Nutrition. – 2019. – V.10. – P. 696-710.
18. Wessels, I. Zinc as a gatekeeper of immune function / I. Wessels, M. Maywald, L. Rink // Nutrients. – 2017. – V.9 – P. 1286.
19. Zinc in wound healing modulation. / P.H. Lin [et al.] // Nutrients. – 2017. – V.10. – P. 16.
20. ZnO modulates swine gut microbiota and improves growth performance of nursery pigs when combined with peptide cocktail / X. Wei [et al.] // Microorganisms. – 2020. – V.8. – P. 146.

ХРОНИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ ПОЧЕК – ПРОМОУТЕР «БОЛЕЗНЕЙ ЦИВИЛИЗАЦИИ»: РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА ПАТОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ БИОФИЗИЧЕСКИМИ ТЕХНОЛОГИЯМИ

Яковлева А.В., Слейман М., Дюсупова К., Везо О.С., Эмануэль В.Л.

*Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова Министерства здравоохранения Российской
Федерации, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация*

Актуальность исследования. Беспрецедентные меры защиты систем жизнеобеспечения общества в период пандемии новой коронавирусной инфекции, причем, вне зависимости от государственной принадлежности, отчетливо продемонстрировало основную проблему цивилизации – низкий уровень популяционного здоровья, которое нужно рассматривать как «пандемию болезней цивилизации»: атеросклероз и различные варианты сердечно-сосудистых осложнений (инфаркт, инсульт), сахарный диабет, метаболический синдром, гипертоническая болезнь, деменция, депрессия и т.д. При этом существенное увеличение продолжительности жизни общества, во многом, обеспечивается высокотехнологичными медицинскими технологиями, но, предоставляемыми, по существу, в последние десятилетия жизни населения. Иначе говоря, только профилактика заболеваний как трансформация парадигмы системы здравоохранения сформирует общественное здоровье как основной ресурс цивилизации.

Такая стратегия развития медицины «5П»: профилактическая, предсказательная, прецизионная, партисипативная и персонализированная становится реальной благодаря прогностической информативности современных лабораторных технологий, позволяющих осуществлять доклиническую диагностику на клеточном, молекулярном уровне. Ярким проявлением роли лабораторных технологий в формировании системного представления о «болезнях цивилизации» являются доказательства «кардиоренального континуума», т.е. взаимосвязи на молекулярном уровне сердечно-сосудистой патологии атеросклеротического генеза и хронической болезни почек (ХБП). [5]. Во всем мире распространенность ХБП составляет около 11%,

особенно в странах с высоким уровнем дохода, и, вероятно, к 2040 году по распространенности ХБП займет 3-4 место в мире среди ведущих причин смерти [1]. Бессимптомность течения этого недуга способствует поздней верификации ХБП, что приводит к потере трудоспособного населения. Верификация начальных стадий ХБП позволяет замедлить ее течение на десятилетия достижениями фармакологической нефропротекции, а также просветительской деятельностью медицинского персонала с осведомленным населением о рисках развития осложнений ХБП [13].

Среди основных маркеров ХБП - скорость клубочковой фильтрации (СКФ) и соотношение альбумина и креатинина в моче [10]. Однако оба эти маркера зависят от таких переменных, как питание, мышечная масса и функции печени, и могут неточно отражать степень повреждения канальцев, которое играет решающую роль в прогрессировании ХБП [2]. Применение клиренсовых методов оценки СКФ при введении нефротропных аналитов, например, инулина, абсолютно не выполнимо как скрининговая технология в амбулаторном звене оказания медицинской помощи, хотя бы по трудозатратам и времени исследования для одного обследуемого. Использование цистатина С для мониторинга уровня СКФ в популяции для выявления ранних стадий ХБП экономически не выполнимо. Но последствия экстраренального резонанса ренальных дисфункций, связанных со снижением СКФ, обусловленных кардиоренальным континуумом, обуславливают актуальность поисков биомаркеров ранних стадий ХБП. В этой связи, в последние годы все чаще рассматривается роль ренального протеома – уромодулина (UMD), известного с середины прошлого столетия [12]. Апогей исследований этого гликопротеида в конце XX столетия связан тоже с важной медико-социальной проблемой - мочекаменной болезнью (МКБ), которая развивается на протяжении жизни примерно у 5% женщин и 12% мужчин. Имеются неоспоримые доказательства тому, что у пациентов с МКБ при посттрансляционном процессинге формируются десалирированные изоформы UMD, что нарушает коллоидную устойчивость мочи, провоцируя кристаллогенез в мочевых путях [11].

При повреждениях разнообразными ксенобиотиками метаболически активных почечных структур, прежде всего, эпителиоцитов, т.е. при дебюте ХБП, последующий каскад биохимических процессов, приобретает черты патологической адаптации, т.е. проявляются патогенетическими последствиями при наличии биологических дефектов ренального протеома UMD, как при постгеномном внутриклеточном процессинге с накоплением модифицированных изоформ, так и при снижении его синтеза. Необратимый характер ХБП приобретает в джунглях интерстициального фиброза при пересечении врожденного и адаптационного иммунитета, реализуемого содружеством дендритных клеток, лимфоцитов и макрофагов, с привлечением миофибрилл и неизбежным расширением внеклеточного плацдарма филогенетически апробированного сценария.

Цель исследования: Изучение информативности биофизических технологий верификации модифицированных изоформ UMD для скрининга ранних стадий ХБП.

Материал и методы. Контрольную группу составили 30 практически здоровых добровольцев в возрасте от 24 до 56 лет. В группе сравнения представлены результаты лабораторных исследований 142 494 человек при диспансеризации в сетевой лаборатории в Санкт-Петербурге в рамках ДМС, предоставленных в обезличенном виде. Возраст лиц этой группы составил от 18 до 74 лет, мужчин - 42%, женщин – 58%.

Методы лабораторных исследований:

1. Химико-микроскопические исследования для выполнения «общего анализа мочи» согласно «Стандартизированной технологии клинического лабораторного анализа мочи. Анализ мочи общий».

2. Оценка функционального состояния почек проводилась в рамках комплекса «КФО» [4] и включали 24 биохимических показателей состава крови и мочи и 36 расчетных параметров парциальных функций почек.

3. Измерение показателя преломления выполнено на цифровом рефрактометре Abbemat WR/MW (Anton Paar GmbH, Австрия). Диапазон измерений от 1,3 до 1,72. с прецизионным контролем температуры, длины волны и измерением критического угла полного отражения. Также использован малогабаритный рефрактометр СНЕЛ РП 203 (НПФ «Полисервис», Россия) в режиме «диагностики в месте лечения».

4. Измерение плотности проводилось плотномером DMA 5000M (Anton Paar GmbH, Австрия) с помощью осцилляционной U-образной ячейки с учетом температуры, вязкости и нелинейности в диапазоне от 0 до 3 г/см³.

5. Измерение осмотической концентрации осуществлялось на осмометре ОСКР-1М (Россия): диапазон измерений от 0 до 2000 ммоль/кгН₂О с относительной погрешностью ±0,5%.

Результаты исследования. При наличии в ультрафильтрате не физиологичных продуктов – ксенобиотиков, инициирующих синдром ХБП, констатируем, во-первых, что наиболее уязвимыми к агрессивным факторам являются структуры с интенсивным метаболизмом – эпителиоциты почечных канальцев, обеспечивающие масштабные процессы реабсорбции и секреции, в том числе, синтез ренального протеома – UMD [9].

Филогенетически адаптационная реакция для обеспечения основной функции – гомеостаза организма, интенсифицирует процессы оксидации в системе энергообеспечения и включают механизм воспаления для клиренса организма. Совокупный метаболический каскад приобретает черты патологической адаптации, т.е. с патогенетическими последствиями при наличии биологических дефектов, прежде всего, в системе ренального протеома - UMD и/или при снижении его синтеза [8]. Оксидативный стресс формирует пул модифицированных белков, в том числе изоформ UMD, а перекисное окисление липидов, нарушая фосфолипидный слой базальной мембраны эпителиоцитов приводит к их проникновению в интерстиций, что активизирует дендритные клетки и инициирует клеточную инфильтрацию лимфоцитами и макрофагами. В итоге, развивается интерстициальный фиброз.

Анализируя патогенез этого наднозологического прогрессирующего процесса, обратимся к описанию биофизических механизмов мочеобразования.

Система гемодинамической ауторегуляции обеспечивает в приносящей артериоле почечного клубочка стабильное гидродинамическое давление в размере 45 мм.рт.ст., что обеспечивает постоянство клиренса организма вне зависимости от существенных колебаний системного артериального давления. Однако, конечное фильтрационное давление в капиллярах клубочка уменьшается на 20 мм.рт.ст., которое присуще ингредиентам плазмы крови, обладающим онкотическим давлением и не переходящим в первичный ультрафильтрат, а также на 10 мм.рт.ст. присущей системе дальнейшей циркуляции мочи в канальцах нефрона. В итоге суммарное фильтрационное давление, обеспечивающее образование около 180 литров первичной мочи за сутки, составляет всего 15 мм.рт.ст. Снижение СКФ безусловно возникает при нарушении гидродинамического баланса. Ярким примером критического влияния на первичный процесс мочеобразования является развитие анурии при гидронефрозе, при обтурации мочевыводящих путей.

При ХБП повышение гидродинамического давления происходит из-за структурно-функциональных нарушений в интерстиции, представляющего собой не жестко структурированное пространство, в отличие от канальцев нефрона, капиллярной сети *vasa vasorum* или капсулы Боумена и т.д. Это межклеточное пространство является плацдармом основного массообмена при реабсорбции ультрафильтрата, в том числе функционирования противоточно-множительной системы (активный транспорт NaCl, пассивный транспорт мочевины), обеспечивающей осмотический гомеостаз. Энергообеспечение этого механизма поглощает около 30% ежесуточного количества глюкозы. Суммарная емкость концентрационного механизма обеспечивает выделение осмотически активных компонентов в минимальном объеме воды, что соответствует максимальной осмотической концентрации ≈ 1300 мОсм/кг H_2O [6]. Так в интерстиции почек реализуется важнейшая биофизическая функция жизнеобеспечения – изоосмия секторов организма. Однако, именно эти биофизические процессы являются наиболее уязвимыми к структурным нарушениям этого фрагмента нефрона.

Поэтому диагностический поиск признаков дебюта ХБП был методологически переключен с конкретизации молекулярной структуры - биомаркера, на констатацию функционального дефекта, как проявления структурных нарушений в почке. Поскольку механизмы повреждения почек при ХБП затрагивают структуры, обеспечивающие важнейшую биофизическую константу – изоосмолярность, то и диагностическим критерием эффективности этой функции почек является интегральный биофизический параметр - осмотическая концентрация мочи. Последующие исследования были направлены на лабораторные методы измерения этой характеристики мочи при наиболее физиологических условиях оценки этой функции.

Физиологически обоснованным является изучение концентрационной функции почки по величине осмотической концентрации мочи в условиях ограничения приема жидкости, т.е. выделения метаболитов из организма в минимально возможном объеме мочи, с максимально возможной ее относительной плотностью.

На этом этапе необходимо пояснить, что в медицинских организациях при исследовании мочи давно устоялась практика оценивать биофизическую характеристику – осмотическую концентрацию более доступным «эквивалентом»: относительной плотностью или «удельным весом».

Однако объем мочи, который испытуемый выделяет при ограничении приема жидкости, очевидно, очень небольшой. Традиционный метод измерения плотности мочи с использованием урометра имеет ряд недостатков: необходим относительно большой объем мочи, оказывают влияние капиллярные силы на погружение цилиндрического поплавка, необходимо учитывать температуру в момент измерения и температуру, при которой проводилась калибровка урометра.

При появлении тест-полосок для анализа мочи по широкому спектру параметров, от гравиметрического метода (урометр), практически отказались. Однако, принцип работы тест-полосок для измерения удельного веса мочи основан на ионном обмене между полиэлектролитом и ионами мочи, т.е. при этом измерении не учитывается вклад не диссоциирующих веществ, т.е. в моче это, прежде всего, мочевины. Кроме того, данный тест оптимизирован для $pH = 6.0$, при том, что диапазон pH мочи варьирует от 4,5 до 8,0 ед. Измерение тест-полосками является полуколичественным с дискретной шкалой с шагом 0,003 г/мл. В целом, измерения удельного веса тест-полосками не применимы для ранней диагностики ренальных дисфункций.

Измерение осмотической концентрации мочи криоскопическим методом не автоматизировано, трудоемко и, практически не применяется в медицинских организациях.

Для измерения осмотической концентрации небольшого объема мочи апробирован метод рефрактометрии на модели мобильного рефрактометра СНЕЛ РП 203 (НПФ «Полисервис», Россия), который можно рассматривать как индикатор для исследования небольшого объема мочи в формате «point of care testing», т.е. «диагностики в месте лечения».

Конструкция модели рефрактометра позволяет проводить измерения преломления монохроматического пучка света с последующим расчетом значений осмотической концентрации и плотности растворов (14)

Алгоритм оценки осморегулирующей функции базируется на следующих физиологических параметрах:

1. $C_{осм}$ – клиренс осмотически активных веществ отражает объем крови ежеминутно «очищенной» от осмотически активных веществ; рассчитывается традиционно по формуле «клиренса»: $C_{осм} = U / P_{осм} \times V$, где $U_{осм}$ и $P_{осм}$ – осмотическая концентрация мочи и крови, соответственно.

2. Если, $U_{осм} = P_{осм}$, то $C_{осм}$ становится равным минутному диурезу. Иначе говоря, минутный диурез (V) рассматриваем как величину клиренса осмотически активных веществ или как объем крови, содержащей осмотически активные вещества, перешедшие в мочу в той же концентрации.

3. При выделении мочи с осмотической концентрацией большей или меньшей осмотической концентрацией крови ($P_{осм}$), минутный диурез

рассматриваем как объем мочи к которому или «добавлено» некоторое количество «осмотически свободной» воды при разбавлении мочи или «изъята» «осмотически свободная» вода при концентрировании мочи: $V = C_{осм} - C_{H_2O}$. Эта величина - C_{H_2O} в условиях антидиуреза отражает объем реабсорбированной воды из изоосмолярной первичной мочи: $T_{H_2O}^c$.

Диагностический алгоритм:

а) Исследуемый получает от медперсонала индивидуальный контейнер для сбора мочи и «Инструкцию по проведению исследования», в которой отмечена масса пустого контейнера, например - 100г.

б) Исследование проводится в условиях обычного двигательного режима; с послеобеденного времени ограничивается прием жидкостей и богатых водой продуктов (фрукты, овощи).

в) Непосредственно перед сном мочевого пузыря опорожняется в унитаз и фиксируется это время, например: 23ч 30 мин.

г) Утром после сна, моча собирается в сосуд для сбора мочи и это время фиксируется, например: 7ч.45 мин.

д) Контейнер с мочой транспортируется в медицинскую организацию, например ФАП.

е). Проводится взвешивание контейнера с мочой и расчет массы собранной мочи (Р) за весь период сбора - как разница массы контейнера с мочой минус масса пустого контейнера, например: 270г-100г=170г.

ж) Проводится измерение биофизических параметров на рефрактометре и расчет осмотической концентрации ($U_{осм}$) и относительной плотности мочи (d), например: $U_{осм}=900$ мОсм/л; $d=1,024$ г/мл.

и). Производится расчет объема мочи собранного в контейнер по формуле: P/d , например, $170 \text{ г} / 1,024 \text{ г/мл} = 166 \text{ мл}$.

к) Проводится расчет минутного диуреза с учетом продолжительности сбора мочи, например: время начала сбора мочи в контейнер (время последнего мочеиспускания в унитаз) - 23ч30 мин, время окончания сбора мочи в контейнер - 7ч.45 мин. Общее время сбора мочи в контейнер составляет 8 час 15 мин, или 495 мин. Общий объем мочи 166 мл за 495 инут, следовательно, минутный диурез = $166 \text{ мл} / 495 \text{ мин} = 0,33 \text{ мл/мин}$.

л) Проводится расчет величины клиренса осмотически активных веществ: $C_{осм} = \frac{U_{осм}}{P_{осм}} \times V$, например, осмолярность мочи=900 мОсм/л; Осмолярность крови ($P_{осм}$) - это параметр гомеостаза с биологической вариацией менее 0,3%, поэтому, принимаем среднее значение верхней границы референтного интервала ≈ 300 мОсм/л. При диурезе в 0,33 мл/мин, $C_{осм} \approx 1$ мл/мин.

м) Проводится расчет величины реабсорбции осмотически свободной воды, например: $T_{H_2O}^c = C_{осм} - V = 1,0 - 0,33 = 0,67 \text{ мл/мин}$.

Интерпретация результатов. $U_{осм}=900$ мОсм/л; $d 1,024$ г/мл и $T_{H_2O}^c = 0,67$ мл/мин соответствуют физиологическим значениям пробы Фольгарта с 16-часовой водной депривацией [7].

Валидация предлагаемого диагностического алгоритма проведена на 10 испытуемых из контрольной группы в возрасте от 18 до 30 лет, мужчин – 6,

женщин-4 человека. Результаты исследований соответствуют литературным источникам, характеризующих исследования функционального состояния почек в условиях нагрузочной пробы [6]. Переносимость ограниченного периода дегидратации удовлетворительная при наличии осознанной мотивации. Информированное согласие на исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Обсуждение. Доказательством эффективности этого диагностического алгоритма является наблюдение за обширной когортой лиц, которые в течение ряда лет наблюдались в программе диспансеризации по полюсу ДМС в сетевой лаборатории Санкт-Петербурга. Программа лабораторного обследования включала широкий перечень параметров липидного обмена, уровень глюкозы и креатинина в крови, а также выполнение «общего анализа мочи» с измерением относительной плотности методом рефрактометрии.

Интерпретируя результаты измерения относительной плотности мочи, необходимо отметить, что исследовалась утренняя порция мочи, доставленная в лабораторию пациентом, пришедшим утром для сбора проб крови. Для исследования липидного спектра крови пациенты были ориентированы на необходимость соблюдения определенного периода голодания, поэтому эти условия можно считать эквивалентными 16-часовому ограничению приема жидкости по пробе Фольгарта.

Традиционно принято считать, что в пробе мочи, собранной утром после ночного сна, величина относительной плотности мочи 1,020 г/мл отражает сохранную концентрационную функцию почек. Нами зафиксировано в качестве cut off значение относительной плотности в 1,018 г/мл, т.е. характеризующее безусловное снижение концентрационной функции почек.

Среди лиц с верифицированным снижением СКФ, рассчитанной по концентрации креатинина в крови в 98,7% наблюдались значения относительной плотности мочи ниже 1,018 г/мл, принятой нами на точку отсечения. Наличие в 1,3 % случаев значений относительной плотности выше этого значения нельзя рассматривать как ложноотрицательную характеристику предлагаемого диагностического алгоритма. Во-первых, потому что нами выбрана очень низкая величина cut off для обеспечения высокой чувствительности диагностического алгоритма. Кроме того, в этой обширной популяции могут наблюдаться лица с гликемией, превосходящей порог реабсорбции глюкозы (≈ 10 ммоль/л) как алиментарного характера, так и проявлением беременности, наконец, и наличием сахарного диабета. Глюкозурия существенно повышает значение относительной плотности: увеличение на 0,001 г/мл происходит при наличии 0,25% глюкозы в моче. Кроме того, в период наблюдения уже широко применялись ингибиторы реабсорбции глюкозы, которые могли тоже обусловить наличие глюкозурии.

Анализировались данные пациентов с разделением возрастным категориям: I - молодой возраст (18-44 лет), II - средний возраст (45-59 лет) и III - пожилой возраст (60-74 лет). Проведено сравнение информативности выявления лиц с ХБП по снижению СКФ <60 мл/мин (СКФ) и снижению концентрационной функции почек по величине относительной плотности -

$d < 1,018 \text{ г/мл}$ в различных возрастных группах. Критерием информативности является частота выявления лиц с ХБП по указанным лабораторным признакам: I гр. СКФ -10%, d -34%; II гр. СКФ -15%, d -39%; III гр. СКФ -25%, d -42%.

Как видно из представленных данных, частота верификации лиц с ХБП по результатам функциональной пробы в 2-3 раза выше, чем при классическом критерии по уровню креатининемии. Статистически достоверная большая частота выявления снижения концентрационной функции почек в популяции над частотой верификации снижения СКФ отражает факт большей чувствительности функционального теста, характеризующего концентрационную функцию почек, как интегральной характеристики сохранности структурного ансамбля противоточно-множительной системы нефрона. Иначе говоря, функциональный тест верифицирует структурно-функциональные нарушения на ранних стадиях ХБП, нежели ориентация на СКФ, рассчитанной по уровню креатининемии.

Выводы.

Результаты проведенного исследования демонстрируют эффективность смены парадигмы поиска биомаркеров структурных повреждений на верификацию дисфункций адаптационных механизмов саногенеза, в частности, предложен диагностический алгоритм верификации начальных стадий патоморфогенеза ХБП.

Продемонстрирована целесообразность проведения скрининговых исследований, направленных на верификацию доклинических стадий заболеваний, в условиях нагрузочных проб при модуляции гомеостаза.

Благодарности. Исследование проводилось с использованием оборудования «Центра диагностики функциональных материалов для медицины, фармакологии и наноэлектроники» Научного парка СПбГУ в рамках проекта 125021702335-5.

Авторы выражают благодарности ООО «НПФ «Полисервис» в лице ведущего инженера Макарова Дмитрия Аркадьевича за предоставление портативного рефрактометра СНЕЛ-105 и карманного рефрактометра СНЕЛ РП 203, а также за техническую поддержку, оказанную в ходе проведения исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Котенко, О. Н. Хроническая болезнь почек: проблемы и решения / О. Н. Котенко. - Московская Медицина, 2018. – 1, [22], 21–24.
2. Ланда, С. Б. Патохимические особенности олигомерных форм белка Тамма-Хорсфалла при уролитиазе / С. Б. Ланда, С. Х. Аль-Шукри, М. И. Горбачев, В. В. Егоров, Ю. В. Эмануэль, В. Л. Эмануэль. - Клиническая лабораторная диагностика. - 2016. – Т. 61, № 6. – С. 335-341.
3. Национальная ассоциация нефрологов. Хроническая болезнь почек (ХБП). Клинические рекомендации. – 256с. URL: https://rusnephrology.org/wp-content/uploads/2024/06/КР_ХБП_от_10.06.2024.pdf (дата обращения 01.03.2025)

4. Смирнов, А. В. Нефрология: фундаментальная и клиническая / А. В. Смирнов, Ю. В. Наточин. – Нефрология. - 2019. – Т. 23, № 4. – С. 9-26. doi: 10.24884/1561-6274-2019-23-4-9-26.
5. 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. doi: 10.24884/1561-6274-2011-15-2-11-19.
6. Эмануэль, В. Л. Лабораторная диагностика заболеваний почек: учебное пособие / В. Л. Эмануэль. - Изд. 2-е, испр. и доп. – Санкт-Петербург; Тверь: Триада, 2006. - 248с.
7. Эмануэль, В. Л. Пособие для семейного врача по лабораторным технологиям и интерпретации исследования мочи: учебное пособие / В. Л. Эмануэль. – Санкт-Петербург; Тверь: Триада – 2007.- 128с.
8. Canki, E. Urinary biomarkers in kidney disease / E. Canki, E. Kho, JGJ. Hoenderop // Clin Chim Acta. - 2024. – Vol. 555, 117798. doi: 10.1016/j.cca.2024.117798. Epub 2024 Jan 26. PMID: 38280489.
9. Jager, K. J. A single number for advocacy and communication – worldwide more than 850 million individuals have kidney diseases / K. J. Jager, C. Kovesdy, R. Langham [et al.] // Nephrol. Dial. Transplant. - 2019. – Vol. 34, N 11]. – P. 1803–1805. doi: 10.1093/ndt/gfz174.
10. Kovesdy, C. P. Epidemiology of chronic kidney disease: an update 2022 / C.P. Kovesdy // Kidney International Supplements. - 2022. – Vol. 12, N 1. – P. 7-11. doi: 10.1016/j.kisu.2021.11.003.
11. Maxfield, M. A molecular abnormality of urinary mucoprotein in cystic fibrosis of the pancreas / M. Maxfield, W. Wolins // J Clin Invest. - 1962 – Vol. 41, N 3. – P. 455-462. doi: 10.1172/JCI104498. PMID: 14471622; PMCID: PMC290938.
12. Tamm, I. Characterization and separation of an inhibitor of viral hemagglutination present in urine / I. Tamm, F.L. Horsfall Jr. // Proc Soc Exp Biol Med. - 1950 – Vol. 74, N 1. – P. 106-108. PMID: 15430405.
13. Vestergaard, A. H. S. Risk factor analysis for a rapid progression of chronic kidney disease / A. H. S. Vestergaard, S. K. Jensen, U. Heide-Jorgensen [et al.] // Nephrology Dialysis Transplantation. - 2024. – Vol. 39, N 7. – P. 1150-1158. doi: 10.1093/ndt/gfad271.
14. Wolf, A. V. Aqueous Solutions and Body Fluids. Their Concentrative Properties and Conversion Tables / A. V. Wolf. - New York: Hoeber Medical Division, Harper & Row, 1966. - 182 pp.

NEONATAL THROMBOCYTOPENIA: AN OVERVIEW OF PATHOPHYSIOLOGY, DIAGNOSTICS AND CURRENT MANAGEMENT

Pratasevich T.S., Weragala Dulanya Suhansi, Perera Sheneli Dewmini, Jayakody Sanjula Gihan

*Grodno State Medical University,
Grodno, Belarus*

Introduction. The most common haematological disorder characterized by low platelet count in neonates is known as neonatal thrombocytopenia. In approximately 1-5% of all live births and in 20-35% in neonates we often see the general prevalence of neonatal thrombocytopenia [11]. These neonates will be admitted to the neonatal intensive care unit (NICU). The frequency of this condition is more often seen in critically ill babies or preterm babies and less often seen in healthy term babies. The normal range of platelets in healthy neonates is 150,000 to 450,000 μl [5]. The risk of being associated with neonatal thrombocytopenia increases with the decreasing of gestational age, in other words preterm babies have higher risk. Considering the fact that platelets are associated with coagulative function, the chance of bleeding would increase with the decrement of the platelet count. Therefore, there is a correlation between the numbers of platelets present in the circulation with the risk of bleeding. According to different platelet counts, the risk of bleeding may vary. When the platelet count is more than 100,000 μl , there is no risk of bleeding. If the platelet counts ranges between 20,000-100,000 μl , there is a mild risk of bleeding. Platelet counts which are less than 20,000 μl , there is moderate risk of bleeding. Severe risk along with spontaneous bleeding is often seen when the platelet counts is less than 5000 μl [5].

Classification. Neonatal thrombocytopenia maybe classified according to the severity, according to the time at which it appears/onset, etiology, underlying mechanism. According to severity of thrombocytopenia, it may be categorized into mild thrombocytopenia (100,000-149,000 μl), moderate thrombocytopenia (50,000-99,000 μl) and severe thrombocytopenia (<50,000 μl). Neonatal thrombocytopenia can furtherbe classified according to the time at which it appears/onset, early onset thrombocytopenia and late onset thrombocytopenia. Early onset thrombocytopenia is when thrombocytopenia occurs within 72 hours of birth, while late onset thrombocytopenia is when thrombocytopenia occurs after 72 hours from birth. Neonatal thrombocytopenia can also be classified according to the type of etiology. There may be maternal causes, perinatal causes and neonatal causes.

According to the underlying mechanism of pathophysiology, we can classify thrombocytopenia due to increased obliteration of platelets, increased consumption of platelets and decreased platelet production [3].

Physiology. Normal production of platelets in newborns. Platelets also known as thrombocytes are anuclear cell fragments, which are around 1.5 to 4.5 μm in diameter. These fragments are derived from protoplatelets which arise from mature megakaryocyticcells. Mature megakaryocytic cells are derived from

promegakaryocyte cells, which are differentiated from common myeloid progenitor cells. The process of production of these megakaryocytic cells from stem cells present in bone marrow is called thrombopoiesis. The regulation and the stimulation of the process called thrombopoiesis is performed by a hormone named thrombopoietin. Thrombopoietin production occurs mainly in the liver by parenchymal cells, but may also be produced in kidney, smooth muscle and bone marrow cells. Erythropoietin and other stem cell factors also stimulate the processes of megakaryopoiesis and thrombopoiesis. The half-life of a circulating platelet is approximately 7 to 10 days [5]. There are characteristic differences seen between neonatal and adult megakaryocytes. Neonatal megakaryocytes are smaller in size, less polyploid and in ex vivo cultures, they are hyperproliferative. Adult megakaryocytes are much larger more polyploid and less proliferative in ex vivo culture. Both types of megakaryocytes express maturation markers. Neonatal megakaryocytes form fewer proplatelets compared to adult megakaryocytes. High plasma thrombopoietin concentrations are seen in neonates than in adults. Megakaryocytic polyploidization in neonates is inhibited by the effect of thrombopoietin. The maintenance of a normal platelet count in neonates is done on the basis of increased proliferative potential of their megakaryocyte progenitors. In comparison with adult platelets, neonatal platelets have a lower level of response towards most agents of adhesion, activation and aggregation. This level of hyporeactivity results in a higher risk of bleeding and is more profoundly seen in pre-term infants.

Etiology. The mechanism of causes of thrombocytopenia can be classified into three major categories. This includes the destruction of platelets due to immune mediated processes, abnormal production or a decrement in production of platelets due to inherited disorders and consumption of platelets due to acquired disorders. Maternal or antenatal risk factors, which were associated with neonatal thrombocytopenia include infections, pre-eclampsia, rupture of membranes prematurely, and chronic diseases. Other antenatal risk factors may include gestational diabetes mellitus, autoimmune diseases, maternal thrombocytopenia, intrauterine growth restriction and less often pregnancy associated HTN, cholestasis, placental insufficiency, HELLP [hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet syndrome] and oligohydromnia [15]. Postnatal and neonatal risk factors for thrombocytopenia include meconium- stained amniotic fluid, respiratory distress syndrome, neonatal jaundice, glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, congenital heart diseases, and genetic mutations like trisomy 21 [15]. Overall, according to recent researches, the most likely causes for neonatal thrombocytopenia are idiopathic, autoimmune causes, placental insufficiency, birth, sepsis due to gram negative bacteria and chromosomal abnormalities due to mutations. Less likely causes may include necrotizing enterocolitis, preeclampsia and metabolic diseases[15].

Immune neonatal thrombocytopenia occurs due to the mechanism of passive transfer of maternal antibodies into the fetal circulation. It is understood that there is two main types of immune-mediated thrombocytopenia. This includes NAIT or neonatal alloimmune thrombocytopenia and neonatal autoimmune thrombocytopenia.

Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia (NAIT) is a very infrequently found disorder that causes pronounced thrombocytopenia in neonates, in which the platelet count may go below $50 \times 10^9/l$. Neonatal alloimmune thrombocytopenia occurs when antibodies produced in the mother passively transfers into the fetal circulation. These maternal antibodies were made against a specific antigen that the fetus receives from the father known as human platelet antigen/HPA, which is present in the fetus but not in the mother. The process of production of these maternal anti-platelet antibodies occurs when the fetal platelets cross over the placenta into the maternal circulation. The maternal anti-platelet antibodies would then cross over the placenta into the fetal circulation leading to destruction of fetal platelets and this would cause neonatal and fetal thrombocytopenia. Human platelet antigens 5b,1A and 15b are the three antigens, among 16, which were known to cause 95% of NAIT cases [5]. Clinical presentation of these infants with NAIT will often have signs and symptoms of mucocutaneous bleeding but there may also be infants who appear asymptomatic and healthy. Mucocutaneous bleeding may be seen by the appearance of petechiae, excessive bleeding, bruising and mucocutaneous purpuras. These symptoms, which can be seen within the first few hours of life of the infant, often occur only when the infant's platelet level decreases less than 20,000. Intracranial hemorrhage can be developed as a complication in 14%-20% of newborns with NAIT [5]. This complication mostly occurs in fetuses. Intracranial hemorrhage may be presented as seizures, lethargy, stupor, apnea, retinal hemorrhages, bradycardia and fontanelle tensing. Some infants with intracranial hemorrhage may be asymptomatic.

Neonatal autoimmune thrombocytopenia is a condition in which both the infant and the mother gets affected. This is due to the destruction of their platelets caused by the passage of maternal autoantibodies. Neonatal autoimmune thrombocytopenia mostly occurs when the mother has autoimmune disorders like idiopathic thrombocytopenic purpura, hypothyroidism, systemic lupus erythematosus and lymphoproliferative states. Neonatal autoimmune thrombocytopenia is often linked with platelet antigens, like GPIIb/IIIa and GPIb/IX, which are present in both fetal and maternal platelets. Unlike the platelet level changes seen in NAIT, thrombocytopenia is not very prominent in neonatal autoimmune thrombocytopenia. This is because within 2 to 8 weeks after birth the level of platelets would normalize due to the gradual elimination of the maternal autoantibodies from the baby's bloodstream [5].

Inherited thrombocytopenia is when there is a decrement of platelet levels due to a genetic syndrome or inherited conditions. The genetic syndrome that most oftenly causes neonatal thrombocytopenia is TARS syndrome also known as Thrombocytopenia with absent radii. Other common genetic causes may include: Fanconi Anemia [FA], Wiskott-Aldrich syndrome, Bernard-Soulier syndrome, Congenital Amegakaryocytic Thrombocytopenia and many others [7,8].

Thrombocytopenia absent radii syndrome is a condition in which the infant has low platelet levels along with the absence of radii in both hands. The tars syndrome is genetically passed on through an autosomal recessive manner. Normally both genders are affected but there is a higher prevalence among females. The clinical signs would usually appear earlier in life (usually during the first week after birth), and these

include hemorrhagic clinical manifestations in almost half of the infants affected. Infants who have tars syndrome most often develop thrombocytopenia by four months of their life. Fanconi anemia is a genetically inherited syndrome that occurs due to a genetic mutation and is often inherited through an autosomal recessive pattern. It often leads to bone marrow dysfunction causing thrombocytopenia and pancytopenia so therefore the newborn often presents with persistent decrement of platelet levels and reduction of RBC and WBC levels. Sometimes infants may only show dysmorphic features. Other congenital abnormalities present during FA may vary from hypo or hyperpigmented skin lesions, microcephaly or even morphological abnormalities of the radial side of the upper limbs [often seen in the thumb]. Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia or CAMT is condition inherited in an autosomal recessive pattern caused due to a genetic mutation. Babies present with CAMT often has severe isolated thrombocytopenia at birth and during the start of their childhood it can lead to failure for bone marrow [7,8].

Macro and Microthrombocytopenia. Macrothrombocytopenia is the decrement of platelet levels but with the presence of unnaturally large platelets. MYH9-Related disorders and Bernard-Soulier syndrome or BSS is often the most prevalent causes of Macrothrombocytopenia. MYH9 disorders are a type of syndromes that occur due to genetic mutations in the MYH9 gene, these syndromes include: May-Hegglin anomaly, Epstein syndrome, Sebastian syndrome and Fechtner syndrome. The inheritance of these conditions is autosomal dominant. Bernard-Soulier syndrome (BSS) is genetic syndrome in which the infants may have macrothrombocytopenia, platelet levels of mild or moderate level and increased bleeding time. BSS is a autosomal recessively inherited condition. Another common cause of macrothrombocytopenia is GPS also known as gray platelet syndrome [2].

Microthrombocytopenia is the decrement of the platelet level with the presence of abnormally small platelets. Microthrombocytopenia is most often caused by the WAS syndrome also known as the Wiskott-Aldrich syndrome. This syndrome is inherited by a X-linked recessive pattern. Other syndromes associated with microthrombocytopenia may include X-linked thrombocytopenia [XLT], congenital amegakaryocytic thrombocytopenia [17].

Infective causes of thrombocytopenia. Neonatal thrombocytopenia can be caused by an underlying infection, most commonly due to neonatal sepsis of bacterial etiology such as: E.coli or staphylococcus aureus, but there are many viruses that can lead to it as well. Therefore, all infants, after 72 hours of life, who develop neonatal thrombocytopenia, must be examined for any signs of sepsis. TORCH infections are a category of congenital infections that can also cause neonatal thrombocytopenia. This includes toxoplasmosis, other infections, rubella, cytomegalovirus and herpes simplex virus. TORCH infections can lead to the suppression and dysfunction of bone marrow leading to the decrement of platelet levels. These infants may be present with much more severe clinical manifestations such as microcephaly or hydrocephalus, hepatosplenomegaly, presence of rashes and most often fever and poor feeding. Human immunodeficiency virus (HIV) and parvovirus B19 may also lead to recurrent infections, thrombocytopenia and lymphadenopathy in infants. Other

causes may include: enterovirus, congenital tuberculosis, congenital syphilis or even congenital malaria [7,8].

Diagnostic and management algorithm for neonates with thrombocytopenia. Even a healthy appearing neonate should be assessed for any and all blood components. A simple CBC will give an understanding of whether it is mild to moderate thrombocytopenia or severe thrombocytopenia. Finding any physical signs makes it imperative to carry on with a detailed CBC. The blood smear should be assessed and the morphology of the platelets should be examined further. Once mild or moderate thrombocytopenia is diagnosed, the tests should be repeated after 2-3 days and again after 5-6 days. Upon discovering that levels of platelets are increasing, consider testing for maternal antiplatelet antibodies. Monitoring is advised till levels normalize. In severe thrombocytopenia, obtain a head ultrasound to check for ICH and send for NAIT testing in all patients. Start transfusions according to correct guidelines and consider intravenous immunoglobulin (IV Ig) at 1g/kg if multiple transfusions fail to normalize platelet levels. Send selected patients for other examinations like PCR or bone marrow biopsy [17].

Physical examination remains the mainstay of initial suspicion of thrombocytopenia. Petechiae and purpura are the most common signs of bleeding. TORCH infections may give signs of microcephaly, organomegaly and a specific blueberry muffin rash. A discolored, localised skin lesion or a palpable mass can indicate Kasabach-Merritt syndrome hemangioma. Upper limb abnormalities can both be associated with TAR syndrome and Fanconi anemia, although defects in fanconi anemia are easily missed. (Sillers et al., 2015a). Diagnosis of NAIT is based upon 2 factors: determined that the HPA antigen is present in only the baby and not the mother by genotyping, and second identifying maternal anti-HPA antibodies in the baby. Diagnosis of autoimmune thrombocytopenia is apparent from maternal medical anamnesis and thrombocytopenia. Infants that are affected seem healthy since it's only mild to moderate thrombocytopenia. Clinical manifestations are much less severe than in NAIT and chances of ICH are much lower [16].

Treatment is largely based upon the cause of the thrombocytopenia and a majority of the time platelet transfusions remain the first line management. However, strict guidelines and thresholds have been implemented to avoid over usage and adverse effects, especially in preterm neonates where transfusions remain the mainstay. Treatment of NAIT is the transfusion of processed maternal platelets, and IV Ig for autoimmune conditions. Maternal treatment with IV Ig (0.5-2g/kg per week) and steroids (0.5-1 mg/kg per day prednisone) can be recommended at approximately 20 weeks of gestation, depending on whether her previous baby had ICH. Management of ICH is crucial as well as septic conditions during TORCH. Antifibrinolytics are added onto the treatment regime of conditions like Wiskott-Aldrich and Bernard-Soulier syndrome [10].

Platelet indices and their role in diagnosing neonatal thrombocytopenia. Several indices can be used to assess the severity of the thrombocytopenia in the neonate and determine whether a platelet transfusion would be beneficial or not. The universal index would be platelet count, which is typically $<150000 \times 10^9/L$. Other indices include mean platelet volume (MPV), platelet distribution width (PDW) and

plateletcrit (PCT). The mean platelet volume indicates the average size of the circulating platelets. An elevated MPV will suggest an increased platelet turnover. The platelet distribution width reflects the variation in platelet sizes. The plateletcrit is an index used to measure the percentage of blood volume occupied by platelets. According to studies it appears that the normal ranges of each of the indices differs between term and preterm neonates, as well as between male and female genders. The mean platelet volume is 9.2-10.3 fL in late preterm neonates and 9.3 -10.3fL in term neonates, with the average values being 9.9fL and 9.7fL respectively. In term female neonates the average value is 9.8fL and in male neonates it is 9.7fL. In late preterm female neonates, the average value of MPV is 9.9fL and in male preterm neonates it is 9.8fL (Go et al., 2020). The plateletcrit range of term neonates 0.21-0.30% and late preterm neonates is 0.21-0.30%, average values are 0.26% and 0.25% respectively. Plateletcrit values in both male and female late preterm neonates os 0.25%. In term neonates, males had a plateletcrit of 0.24% and females, 0.27% (Go et al., 2020). The platelet distribution width of term neonates is 10.2-12.2 and in late preterm neonates it is 10.0-12.7, average value is 10.9 in both groups. Median PDW value of male term neonates are 10.8 and in females it is 11.1. In preterm neonates PDW is 10.9 in both male and female genders (Go et al., 2020). The immature platelet fraction is another index, which measures the quantity of young platelets that is circulating. An increased amount tells us that there is increased platelet production by the bone marrow. The value is 4.1 ± 1.8 in neonates [4].

Gene panels in neonatal thrombocytopenia. The thrombocytopenia panel is a critical diagnostic tool in assessing neonates with thrombocytopenia, especially when it's thrombocytopenia that is congenital or unexplained. It is advised genetic test which analyses several genes that are known to cause low platelet counts, at once (table 1). It assesses autosomal dominant, recessive, and X-linked forms of inherited thrombocytopenia and mutations.

Table 1 Genes, associated with the development of thrombocytopenia

GBA	Gaucher disease
ITGA2	Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia
MPL	Thrombocytopenia, Amegakaryocytic thrombocytopenia [CAMT]
RBM8A	Thrombocytopenia-absent radius
WAS/W1PF1	Wiskott-Aldrich syndrome
NBEAL2	Gray platelet syndrome
MYH9	Congenital macrothrombocytopenia

Some important genes and their clinical significance are listed below. There are several methods that are used for gene testing in thrombocytopenia. Next-generation sequencing (NGS), including whole genome and whole exome sequencing (WES) is one of the main methods of genetic testing [1].

Sanger sequencing usually follows as a confirmatory diagnosis method: it is a technique of chain termination during in vitro DNA replication. It reads small targeted regions of a genome.

Indications for the use of platelet transfusions in neonates and their thresholds. The need for platelet transfusions in neonates with both thrombocytopenia and active bleeding is considered appropriate, however transfusions for prophylaxis is still minimally used. Prophylactic use of platelet transfusions is done in very preterm neonates (with no active bleeding or WHO grade 1) and in neonates with NAIT (with no family history of ICH) with a threshold value of $25 \times 10^9/L$ for both occasions. In the presence of risk factors for bleeding [e.g.: sepsis], pre term neonates are transfused at a threshold value of $25 \times 10^9/L$ and a neonate with NAIT [With a family history of ICH] are transfused platelets at a threshold hold value of $50 \times 10^9/L$. [6]. In NAIT, since results of diagnostic serological tests cannot be made available immediately, platelets that are negative for HPA-1a/5b antigens are used. If these platelets are ineffective, random donor platelets and/or IV Ig can be used. Fresh frozen plasma (FFP) can benefit neonates with clinically significant bleeding (including massive loss) or before invasive surgeries with a high risk of significant bleeding.

Platelet transfusions done prior to certain surgical procedure have different threshold values. Threshold value indicating transfusions is $40 \times 10^9/L$ when conducting lumbar puncture especially in clinically unstable neonates. For major surgeries [e.g.; cardiac surgeries] and neurosurgery the threshold value is considered to be $100 \times 10^9/L$. Platelet transfusions are not indicated in procedures with low risk of bleeding. Platelet transfusions for therapeutic use is only indicated when there are bleeding under WHO grade 2 or above. Threshold remains $100 \times 10^9/L$ for severe bleeding, below which transfusions are commenced immediately [6]. Platelet transfusions that are given via intrauterine route are usually to correct fetal thrombocytopenia that is caused by platelet alloimmunization (NAIT). Fetal transfusions can be completely avoided often by treating the mother with intravenous immunoglobulin and/or corticosteroids. It is advised to have compatible platelets available at short notice. Platelets should be transfused at a slower rate than erythrocytes during intrauterine transfusions due to higher risk of fetal circulatory stasis and stroke [17]. However, recent studies have shown that platelet transfusions can be harmful, especially in preterm neonates. They are associated with a higher risk of sepsis, necrotizing enterocolitis and death, mainly due to the reason that platelets tend to be less active [14].

REFERENCES

1. Almazni, I. Inherited Thrombocytopenia: Update on Genes and Genetic Variants Which may be Associated With Bleeding / I. Almazni, R. Stapley & N. V. Morgan // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2019. – Vol. 6. – P. 80. <https://doi.org/10.3389/FCVM.2019.0008>.
2. Althaus, K. MYH-9 Related Platelet Disorders: Strategies for Management and Diagnosis / K. Althaus & A. Greinacher // *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. – 2010. – Vol. 37 (5). – P. 260. <https://doi.org/10.1159/000320335/>
3. Bleeding in neonates with severe thrombocytopenia: a retrospective cohort study / T. Peng, Y. Shan [et al.] // *BMC Pediatrics*. – 2022. – Vol. 22 (1) – P. 1–9. <https://doi.org/10.1186/S12887-022-03802-4/FIGURES/2>.
4. Cremer, M. The Immature Platelet Fraction (IPF) in Neonates / M. Cremer // *In Sysmex Journal International*. – 2011. – Vol. 21, Issue 1.

5. Fernández, K. S., & De Alarcón, P. (n.d.). Neonatal Thrombocytopenia.
6. Guidelines on transfusion for fetuses, neonates and older children / H. V. New, J. Berryman [et al.] // *British Journal of Haematology*. – 2016. – Vol. 175 (5). – P. 784–828. <https://doi.org/10.1111/BJH.14233>.
7. *Hematology: Basic Principles and Practice*. – 2023. – 2476 p.
8. *Hematology: Basic Principles and Practice// Medicine & Health Science Books*. – 2025. <https://www.amazon.com/Hematology-Principles-Practice-Ronald-Hoffman/dp/0323357628>
9. Immune neonatal thrombocytopenia – review / A. I. R. Sequeira, D. Rocha [et al.] // *NASCER E CRESCER – BIRTH AND GROWTH MEDICAL JOURNAL*. – 2020. – Vol. 29 (1). – P. 29–35. <https://doi.org/10.25753/BirthGrowthMJ.v29.i1.17587>
10. Maheshwari, Akhil. *Principles of neonatology*. – 2024. – 904 p.
11. Neonatal Thrombocytopenia and the Role of the Platelet Mass Index in Platelet Transfusion in the Neonatal Intensive Care Unit / T. Kasap, Ş. Takçı // *Balkan Med J*. – 2020. – Vol. 37. – P.150–156. <https://doi.org/10.4274/balkanmedj.galenos.2020.2019.7.47>
12. Neonatal Thrombocytopenia: Etiology and Diagnosis / L. Sillers, C. Van Slambrouck [et al.] // *Pediatric Annals* – 2015. – Vol. 44 (7). – e175. <https://doi.org/10.3928/00904481-20150710-11>.
13. Perinatal factors affecting platelet parameters in late preterm and term neonates / H. Go, H. Ohto [et al.] // *PLoS ONE*. – 2020. – Vol. 15 (11) – P. e0242539. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0242539>
14. Platelet transfusions in preterm infants: current concepts and controversies – a systematic review and meta-analysis / H. S. Ribeiro, A. Assunção [et al.] // *European Journal of Pediatrics* – 2023. – Vol. 182 (8) – P. 3433. <https://doi.org/10.1007/S00431-023-05031-Y>.
15. The Prevalence and Associated Risk Factors for Neonatal Thrombocytopenia Among Newborns Admitted to the Neonatal Intensive Care Unit / H. A. Al Ghadeer, R. A. Aldhahi, F. K. Al Dandan [et al.]. – 2024. <https://doi.org/10.7759/cureus.56108>.
16. Sequeira, A. I. R. Immune neonatal thrombocytopenia - review / A. I. Sequeira, D. Roch. - *NASCER E CRESCER - BIRTH AND GROWTH MEDICAL JOURNAL*.-2020.-Vol.29(1).-P.29–35. <https://doi.org/10.25753/BirthGrowthMJ.v29.i1.17587>.
17. Sillers, L., Van Slambrouck, C., & Lapping-Carr, G. (2015a). Neonatal Thrombocytopenia: Etiology and Diagnosis / L. Sillers, Van Slambrouck. - *G. Pediatric Annals*, 44(7), e175. <https://doi.org/10.3928/00904481-20150710-11>.

Раздел 3.

ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГАЗОВОГО СОСТАВА КРОВИ ВЫСОКОКВАЛИФИЦИРОВАННЫХ СПОРТСМЕНОВ В УСЛОВИЯХ СРЕДНЕГОРЬЯ

Акулич Н. В.

*Республиканский научно-практический центр спорта,
Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. Для подготовки высококвалифицированных спортсменов циклических видов спорта проводятся учебно-тренировочные сборы (УТС) в условиях среднегорья, где спортсмены в рамках плана УТС проживают и тренируются на высотах от 1100 до 2500 метров над уровнем моря. Продолжительность учебно-тренировочного сбора составляет не менее 15 дней. Принято считать, что увеличение высоты над уровнем моря приводит к снижению атмосферного давления и, соответственно, парциального давления кислорода во вдыхаемом воздухе. Соответственно, артериальная кровь будет менее насыщена кислородом по сравнению с уровнем моря, что приведет к снижению доставки кислорода к работающим мышцам.

При оценке биохимических механизмов адаптации спортсменов к условиям среднегорья показано [4], что одной из реакций на высотную гипоксию является накопление 2,3-дифосфоглицерата, стабилизация дезоксигенированного состояния гемоглобина и снижение рН цитоплазмы красных кровяных телец. Пребывание на высоте приводит к росту объема эритроцитов и обратимому росту общей гемоглобиновой массы через одну-две недели после пребывания на высоте.

Однако следует отметить, что акклиматизация спортсменов к условиям среднегорья изучена недостаточно, поскольку не определена оптимальная продолжительность пребывания на высоте и дальнейшая стратегия реадаптации, влияющие на сохранение спортивной формы. При этом сам факт пребывания на «высоте» еще не является гарантией успешного выступления и известны примеры, когда тренировочный процесс в условиях среднегорья не приводил к росту спортивных результатов.

Таким образом, **цель исследования** заключается в оценке газового и клеточного состава биатлонистов к условиям среднегорья.

Методы исследования. Исследование спортсменов (n=12) национальной команды по биатлону проводилось в условиях учебно-тренировочных сборов, проводимых на высоте 300 м над уровнем моря (Логойск) – контрольные условия, и на спортивной базе Цахкадзор (основная группа), высота 1900 м, давление 600 мм рт. ст., содержание кислорода в воздухе 17%.

Анализ венозной крови из вены локтевого сгиба производился в утреннее время до (контроль по воздействию) и спустя 3-и часа после выполнения

специализированной нагрузки на уровне максимального потребления кислорода (МПК) в течение 10 минут.

Исследования газового состава, рН крови производились с использованием портативного анализатора Ерос (Siemens AG, Канада). Оценка гематологических показателей производилась до и после пребывания на спортивной базе Цахкадзор с использованием полуавтоматического гематологического анализатора XN-350 Sysmex, Япония.

Статистический анализ данных выполнялся на свободно распространяемом программном обеспечении «JASP», версия 0.18.3.0 для Linux. для оценки различий между двумя выборками применялся критерий U-критерий Манна-Уитни.

Результаты исследования показали, что до проведения УТС концентрация гемоглобина (Hb) у спортсменов составляла $152,8 \pm 4,6$ г/л. Через 10-ть дней тренировочного сбора содержание гемоглобина выросло до $167,4 \pm 5,5$ г/л ($p < 0,05$), а на 15 день УТС, когда отмечался рост толерантности к физической нагрузке в условиях среднегорья, концентрация гемоглобина была $163,6 \pm 5,1$ г/л. Период реадаптации характеризовался снижением концентрации Hb до $159,5 \pm 6,8$ г/л, а особенностью эритроцитов спортсменов на этом этапе явилось высокое значение средней концентрации гемоглобина в эритроците, измеренное оптическим методом (MCHC-O), которое составило $355,8 \pm 51,1$ по сравнению с $320,2 \pm 41,6$ г/л (до УТС) у спортсменов основной группы ($p < 0,05$) и не превышала 334 г/л в группе контроле на протяжении всего периода наблюдения.

Для оценки механизмов адаптации к условиям среднегорья проведен сравнительный анализ газового состава крови и рН спортсменов (таблица).

Таблица - Газовый состав венозной крови спортсменов

Показатели	Высота над уровнем моря	Утро перед нагрузкой	3 часа после нагрузки
рН, о.е.	1950 м	$7.39 \pm 0.02\#$	7.39 ± 0.02
	300 м	$7.37 \pm 0.01^*$	7.40 ± 0.03
PCO ₂ , мм рт. ст.	1950 м	$42.98 \pm 3.07\#$	$43.99 \pm 6.03\#$
	300 м	$49.11 \pm 1.58^*$	40.07 ± 5.53
PO ₂ , мм рт. ст.	1950 м	$23.77 \pm 3.46\#$	$24.70 \pm 7.57\#$
	300 м	$19.43 \pm 4.01^*$	37.59 ± 11.33
SO ₂ , %	1950 м	$32.07 \pm 6.95^*$	$50.21 \pm 11.08\#$
	300 м	$30.23 \pm 4.01^*$	61.38 ± 9.48

Примечания: * – изменения достоверны по сравнению с нагрузкой и # – с контрольной группой

Из данных таблицы следует, что нахождение в условиях среднегорья (высота 1900 м над уровнем моря) характеризуется достоверно более высоким парциальным давлением кислорода и сатурации венозной крови в покое, рСО₂ – наоборот, имеет более низкое значение, что и приводит к росту рН крови. Через 3 часа после нагрузки рСО₂ в основной группе практически не изменился, а в

контрольной – достоверно снизился. Парциальное давление кислорода имело противоположные сдвиги. Сатурация выросла в обеих группах, но более значимо – в контрольной.

Таким образом, нахождение спортсменов в условиях среднегорья сопровождается ростом парциального давления кислорода, что вероятно связано с гипервентиляцией, поскольку $p\text{CO}_2$ – ниже чем на высоте 300 метров над уровнем моря. Нагрузка приводит к увеличению $p\text{O}_2$ в условиях равнины, но не оказывает значимого влияния на этот показатель в условиях среднегорья.

Возможными причинами, приводящими к росту МСНС-О является рост оксигенации клеток как в условиях среднегорья, так и по возвращении с УТС, поскольку по данным [3] повышение МСНС ассоциируется с более высокими значениями PO_2 и меньшим процентом тканей организма, имеющим признаки гипоксии. Фактом, подтверждающим эту гипотезу, является снижение концентрации гемоглобина, наблюдаемое у спортсменов в поздней фазе адаптации к условиям среднегорья.

С другой стороны, ранее нами было показано [2], что оптическая плотность эритроцитов связана как с конформацией внутриэритроцитарного гемоглобина, так и с парциальным давлением кислорода в микроокружении красных кровяных телец. Можно предположить, что успешность адаптации спортсменов к условиям среднегорья связана с фазными изменениями эритрона в ответ на изменение парциального давления. При этом рост количества эритроцитов, вероятно, обусловлен не столько дефицитом кислорода в крови (гипоксемией) в гипобарических условиях, сколько его избытком и, как следствие возможным токсическим эффектом в отношении мембран и митохондрий [1]. Рост количества эритроцитов в этих условиях является защитной реакцией, позволяющей гемоглобину не столько переносить, сколько запастись кислородом.

Выводы.

Проведен сравнительный анализ газового состава венозной крови спортсменов при выполнении физической нагрузки в условиях среднегорья. Установлено, что наибольший прирост гемоглобина выявлен на ранних этапах адаптации, а затем, несмотря на продолжающееся пребывание в условиях среднегорья содержание Hb снижается, достигая к стадии реадаптации наименьших значений гемоглобина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акулич, Н. В. Методика определения токсического порога кислорода / Н. В. Акулич, В.Э. Сяхович, С. А. Беляев // Свободные радикалы в химии и жизни: Тезисы докладов III Международной конференции, Минск, 10–11 октября 2019 года. – Белорусский государственный университет, 2019. – С. 43.
2. Содержание монооксида азота и кислородсвязывающие свойства эритроцитов при гипоксии/реоксигенации / Н. В. Акулич [и др.] // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики: рецензир. ежегод. сб. науч. тр. : в 2 т. – 2022. – № 12. – С. 115-128.

3. Preoperative Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC) as Indicators of Patients' Poor Prognosis for Renal Clear Cell Carcinoma. – 2022. – Vol. 7.

4. Red Blood Cell Metabolism In Vivo and In Vitro / A. D'Alessandro [et al.] // Metabolites. – 2023. – Vol. 13, № 7. – P. 793.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СПЕЦИФИЧЕСКОГО И НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА ОЗЕМПИКА

Александрович В.Д., Маглыш С.С.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Оземпик (Ozempic) – это торговое название инновационного препарата, содержащего активное вещество семаглутид. По химической природе семаглутид представляет собой аналог глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1) [2]. Оземпик был разработан компанией Novo Nordisk (Дания) для лечения сахарного диабета II-го типа. Его способность снижать уровень сахара в крови сделала его важным фактором в лечении этого заболевания. Однако вскоре стало известно, что препарат обладает необычным побочным эффектом – он вызывает потерю веса у пациентов, что особенно важно для людей с сахарным диабетом, у которых часто наблюдается избыточный вес или ожирение. В связи с этим эффектом препарат Оземпик начали применять не только для лечения сахарного диабета, но и для снижения массы тела. Он приобрел широкую популярность как средство для похудения, но вскоре стали появляться сообщения о его отрицательных побочных эффектах [4].

Цель. Проанализировать биохимические особенности специфического и неспецифического действия препарата Оземпика, выявить возможные риски для здоровья пациентов при использовании препарата только с целью снижения веса.

Результаты и обсуждение. Механизм специфического действия Оземпика реализуется через его связывание с рецепторами к GLP-1 на поверхности клеток поджелудочной железы. При гипергликемии в поджелудочной железе Оземпик стимулирует выработку инсулина бета-клетками и повышает чувствительность рецепторов тканей к гормону, что приводит к снижению уровня глюкозы в крови. Одновременно препарат подавляет выработку глюкагона, гормона, повышающего уровень глюкозы в крови. Во время гипогликемии Оземпик уменьшает секрецию инсулина и не снижает секрецию глюкагона. Неспецифическое действие препарата проявляется через его связывание с рецепторами на мембранах клеток желудка и мозга. Воздействуя на мышцы желудка, Оземпик замедляет его перистальтику и удлиняет время его опорожнения. Это приводит к более

длительному сохранению чувства насыщения после приема пищи. В головном мозге препарат воздействует на центры голода и насыщения гипоталамуса. Данный механизм затрагивает общее снижение аппетита, включая усиление сигналов насыщения и ослабление сигналов голода, а также улучшение контроля потребления пищи и снижение тяги к пище. Помимо этого, Оземпик снижает предпочтение к приему пищи с высоким содержанием жиров [3].

Оземпик назначают, в основном, при сахарном диабете II-го типа для контроля уровня глюкозы в крови через стимулирование выработки инсулина и увеличение чувствительности рецепторов к инсулину. Помимо этого, препарат начали назначать пациентам с индексом массы тела (ИМТ) 30 и выше. Но иногда его применяют даже при ИМТ 27 и ниже при наличии заболеваний, связанных с избыточным весом. Также прием Оземпика может быть назначен людям с ИМТ от 25, если традиционные методы похудения были неэффективны. В некоторых случаях препарат назначается для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов при метаболическом синдроме [3].

Несмотря на все преимущества нового препарата Оземпика по сравнению с традиционными средствами для похудения, врач должен быть осторожен при назначении его некоторым группам людей с этой целью [3]. К данной категории пациентов относятся пожилые люди, лица с сердечно-сосудистыми заболеваниями, пациенты с заболеваниями щитовидной железы, люди с депрессией или суицидальными наклонностями, т.к. у них повышен риск проявления побочных эффектов.

Помимо этого, существует ряд противопоказаний к приему Оземпика. Например, Оземпик нельзя назначать беременным и кормящим грудью женщинам из-за того, что неизвестно, как он может повлиять на развитие плода или новорожденного ребенка. Применение препарата может быть опасно при панкреатите, медуллярном раке щитовидной железы, заболеваниях желудочно-кишечного тракта, тяжелой почечной или печеночной недостаточности. Также его не назначают при сахарном диабете I-го типа, т.к. препарат не заменяет инсулин, поэтому не эффективен. При назначении Оземпика следует помнить также, что у пациента может возникнуть аллергическая реакция на действующее вещество [3].

Как показала практика, применение препарата Оземпика с целью похудения связано с определенными рисками проявления побочного действия. При приеме препарата замедляется прохождение пищи через желудок, что позволяет людям дольше чувствовать себя сытыми. Однако у некоторых людей это может привести к тому, что переваривание пищи в желудке может занять в 3-3,5 раза больше времени, чем обычно. Как следствие, очень частыми побочными эффектами лечения Оземпиком являются тошнота, рвота и нарушение пищеварения. Тяжелые желудочно-кишечные расстройства обычно начинаются с появления боли и серьезного дискомфорта в животе и, как правило, сопровождаются диарей, запорами, отрыжкой, газообразованием или кишечной непроходимостью. Диарея является одним из наиболее распространенных побочных эффектов Оземпика, встречающимся почти у 30% пациентов, принимающих препарат с целью похудения. Были диагностированы

случаи острого гастропареза (паралича желудка), который может стать причиной постоянной рвоты [3, 4].

Помимо этого, некоторые ученые предполагают наличие причинно-следственной связи между приемом препарата и последующим обнаружением у отдельных пациентов рака щитовидной железы. У некоторых людей, принимавших Оземпик для похудения, позже был обнаружен панкреатит или камни в желчном пузыре. Эти заболевания могли возникнуть в связи с тем, что пациент нерегулярно или редко принимал пищу из-за отсутствия чувства голода, что приводило к застою и сгущению желчи. Зачастую сильное снижение или отсутствие чувства голода приводило к тяжелым последствиям, вызванным недоеданием – снижению уровня энергии, головным болям, головокружению, снижению мышечной силы [4].

Если Оземпик принимать в комбинации с другими препаратами, снижающими уровень сахара в крови, такими как инсулин или производные сульфонилмочевины, то возникает риск гипогликемии и могут появляться головокружение, потеря сознания, судороги. Клиническое исследование, проведенное в 2020 году, показало, что Оземпик также может вызывать нарушения зрения, такие как нечеткое видение, измененная форма хрусталика, диабетическая ретинопатия.

При использовании Оземпика для снижения веса в ряде случаев у пациентов наблюдались перепады настроения, возникали раздражительность, депрессия, стресс или беспокойство. При одновременном приеме психотропных лекарств и Оземпика такие его эффекты могут изменить картину действия лекарств. У некоторых людей, принимавших Оземпик для похудения, наблюдалось уменьшение подкожной жировой клетчатки на лице, которое в просторечии называют «оземпическим лицом». Одной из серьезных проблем при приеме этого нового препарата для похудения является обвисание кожи на лице и теле из-за быстрой потери веса. У пациентов может появиться больше новых морщин в области подбородка, рта и возле глаз. Небольшой процент людей, принимавших Оземпик, сообщили о повышении выпадения волос [4].

Также у многих пациентов, использовавших препарат для снижения веса, но резко прекративших его прием, впоследствии наблюдалось резкое увеличение веса. Препарат имитирует гормон, который сообщает мозгу, что человек сыт, но он не перестраивает нейронные сети мозга для достижения и поддержания определенного заданного значения массы тела, поэтому любое снижение веса является непостоянным и может быть возврат к исходному или более высокому весу при отмене препарата [4].

Выводы. Таким образом, препарат Оземпик является пригодным для использования в качестве лекарственного средства при лечении диабета II-го типа, а также в некоторых случаях при лечении ожирения. Однако, исходя из вышеизложенных последствий нецелевого приема препарата, можно сделать вывод, что не стоит для снижения веса с помощью Оземпика рисковать своим здоровьем. Как и любой другой лекарственный препарат Оземпик должен приниматься строго по назначению и под контролем врача.

ЛИТЕРАТУРА

1. Карпов, Ю.А., Семаглутид (Оземпик) с точки зрения эндокринолога и кардиолога: возможности аналогов глюкагоноподобного пептида-1 далеко не исчерпаны / Ю.А. Карпов, Е.Г. Старостина // Актуальные вопросы кардиологии. – 2019. С. 3–17.
2. Lau, J. Discovery of the once-weekly glucagon-like peptide-1 (GLP-1) analogue semaglutide / La J, [et al.] // Journal of Medical Chemistry. – 2015. – Sep;58(18):7370-80.
3. Оземпик. Инструкция по применению / Видадь. Справочник лекарственных средств. – 2024.
4. 14 опасных рисков, связанных с приемом Оземпика для похудения. [Электронный ресурс] – Код доступа: eurobariatric.ru>ozempika-for-weight-loss/.

СРАВНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ Д-ДИМЕРОВ В РАЗЛИЧНЫХ АНАЛИТИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

*Алехнович Л.И.¹, Степанова Ю.И.¹, Кузьменко А.Т.¹,
Батуревич Л.В.¹, Державец Л.А.²*

¹Белорусский государственный медицинский университет;

²Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской
радиологии им. Н.Н. Александрова,
Минск, Республика Беларусь

Актуальность. На сегодняшний день исследование Д-димеров (ДД) при всей диагностической важности является нестандартизованным тестом. Известно около 30 коммерческих тест-систем для определения ДД, между которыми наблюдаются значительные различия, в основе чего лежит отсутствие международного референтного образца и стандартного калибратора, использование моноклональных антител различной специфичности и чувствительности, а также различных единиц измерения [1, 2]. Поэтому часто при количественном определении ДД у одного и того же пациента с использованием тест-систем разных производителей получаются различные результаты, сравнивать которые не корректно.

В связи с наличием в Республике Беларусь автоматических коагулометров многих производителей первостепенным является вопрос о сопоставимости получаемых результатов с использованием разных аналитических систем.

Целью работы явилась оценка аналитических характеристик тест-системы для определения ДД производства Diagon Kft на автоматическом анализаторе гемостаза Coag M (Венгрия).

Материалы и методы исследования. Для исследования случайным образом отобрали 30 образцов плазмы крови пациентов во время повседневной работы клинико-диагностической лаборатории ГУ «Республиканский научно-

практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова». Взятие крови проводилось путем кубитальной венопункции с помощью вакуумных систем, содержащих 3,2% цитрат натрия. Плазму получали путем центрифугирования при 1500g в течение 10 минут, исследовали не позднее 2 часов после получения. Для сравнительного анализа результатов параллельно определяли уровень ДД на коагулометре STA Compact (Diagnostica Stago S.A.S., Франция) с использованием реагентов Diagnostica Stago и на анализаторе Coag M (Diagon Kft, Венгрия) с применением оригинального реагента Dia-D-DIMER. Результат получали в концентрации фибриноген-эквивалентных единиц (мкгФЭЕ/мл). Пороговое значение для исключения тромбоза составляло 0,5 мкгФЭЕ/мл.

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась на программе Statistica v.10.0. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Для учета сопоставимости результатов разных диагностических систем использовали тест Манн-Уитни, силу взаимосвязей оценивали с помощью корреляционного анализа Спирмена, отличия результатов измерений на разных аналитических системах представлены на графике по Бланду-Альтману.

Результаты и обсуждение. Результаты оценки воспроизводимости или степени близости данных, полученных на анализаторах Coag M и STA Compact, представлены в таблице. Значимых различий выявлено не было, коэффициент корреляции по всей исследованной выборке составил 0,95 (таблица 1).

Таблица 1 – Средние значения ДД на анализаторах STA Compact и Coag M

Характеристика образцов	N	STA Compact	Coag M	Уровень значимости	Коэффициент корреляции
Все образцы	30	3,43	3,32	$p > 0,05$	0,95*
Нормальные образцы ($\leq 0,5$ мкгФЭЕ/мл)	12	0,30	0,34	$p > 0,05$	0,85*
Патологические образцы ($> 0,5$ мкгФЭЕ/мл)	18	5,52	5,30	$p > 0,05$	0,94*

*Отмеченные корреляции значимы на уровне $p < 0,05000$.

Для детальной оценки показателей, все образцы разбили на 2 группы – нормальные (ДД не выше 0,5 мкгФЭЕ/мл) и патологические (ДД выше установленного предела). Следует отметить, что между анализаторами Coag M и STA Compact выявлено 100% соответствие при ранжировании значений ДД на нормальные и патологические, то есть все образцы пациентов с результатом до 0,5 мкгФЭЕ/мл на анализаторе STA Compact попали в соответствующую группу нормальных значений анализатора Coag M. Для низких и нормальных показателей ДД корреляционная связь была ожидаемо ниже ($r = 0,85$, $p < 0,05$), в области патологических значений корреляция в целом не отличалась от таковой для всей выборки образцов ($r = 0,94$, $p < 0,05$). Степень согласия между изучаемыми аналитическими системами, согласно графику Бланда-Альтмана (рисунок 1), оказалась достоверной. Сходимость (качество измерений, отражающее близость друг к другу результатов измерений, выполняемых в одинаковых условиях) исследования ДД на анализаторе Coag M оценивали

путем десятикратного повторного измерения двух плазм пациентов с умеренными (0,84 мкгФЭЕ/мл) и выраженными (1,46 мкгФЭЕ/мл) патологическими значениями ДД. Полученные коэффициенты вариации составили 1,86% и 1,76% соответственно. Данные значения полностью удовлетворяют установленному производителем Diagon критерию приемлемости 2,7%.

Следует отметить, что в исследовании не ставилась цель оценить уровень ДД в связи с клинической картиной пациента и наличия у него тромботических событий, диагностическая чувствительность и специфичность исследования не оценивались. Однако сравнение лабораторных аналитических возможностей измерения содержания ДД на системах Diagon и Stago с использованием соответствующих тест-наборов реагентов показало полную согласованность и взаимозаменяемость данных тестов.

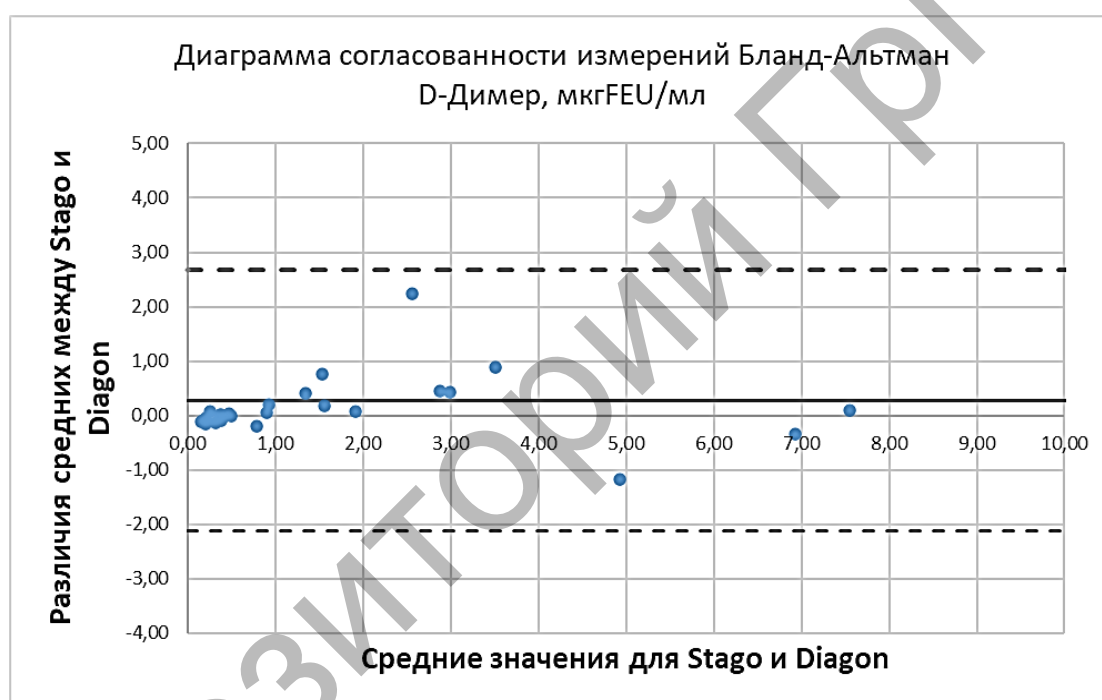


Рисунок 1 – График Бланда-Альтмана парного сравнения уровня ДД на анализаторах гемостаза Stago и Coag M (пунктирными линиями показан 95% доверительный интервал различий средних величин)

Согласно современным исследованиям, результаты измерения уровня ДД, полученные с помощью различных аналитических систем, значительно различаются [3]. До сих пор отмечаются коэффициенты вариации для различных методов в диапазоне от 6,4% до 17,7%, а расхождения измерений между различными системами могут достигать 20-кратных размеров. В настоящее время точность, надежность и сравнимость детекции уровня ДД различными методами не могут быть гарантированы. Однако полученные нами результаты измерения ДД на анализаторах Coag M и STA Compact однозначно демонстрируют возможность их равнозначного использования врачами-клиницистами благодаря единому порогу принятия решений и близким аналитическим характеристикам.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что аналитические характеристики (воспроизводимость, сходимость, коэффициенты вариации) автоматического анализатора гемостаза Coag M обладают высокой диагностической эффективностью при определении уровня ДД в клиничко-диагностических лабораториях учреждений здравоохранения.

Выводы. Сравнение воспроизводимости и точности определения содержания ДД с помощью аналитических систем Coag M (Diagon Kft, Венгрия) и STA Compact (Diagnostica Stago S.A.S., Франция) не выявило различий между ними. Высокая степень корреляционных взаимосвязей между концентрациями ДД, измеренными на этих аналитических системах, свидетельствует о возможности применения результатов, полученных от обоих приборов, не только для диагностики, но и для оценки динамики состояния пациента независимо от того, на каком из анализаторов получен результат.

ЛИТЕРАТУРА

1. Плазменный гемостаз: лабораторные методы исследования / Л.И. Алехнович [и др.] – Минск: БелМАПО, 2023. – 45 с.
2. Riley R.S. Widely Used Types and Clinical Applications of D-Dimer Assay/ Riley R.S., Gilbert A.R., Dalton J.B., Pai S., McPherson R.A. // Laboratory Medicine.– 2016. – Vol. 47, № 2. – P. 90–102.
3. Zhao R. Advances in D-dimer testing: progress in harmonization of clinical assays and innovative detection methods. / Zhao R., Li M., Xiao P., Song D., Li H.// Anal. Bioanal. Chem. – 2024.– Vol. 416. – P. 3737–3750.

ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ ФРАГМЕНТОВ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА МЫШЕЙ

Белоус Е.М., Логвинович О.С.

*Гомельский государственный медицинский университет,
Гомель, Республика Беларусь*

Актуальность. Тканевое дыхание – процесс, направленный на обеспечение клеток энергией и имеющий первостепенное значение для активно обновляющихся и метаболизирующих тканей. В ответ на разного рода воздействия - физические, химические, физиологические – может происходить изменения темпа пролиферации вплоть до ее торможения (ионизирующее излучение). Вероятно, подобного рода изменения связаны с нарушениями в энергетике клеток органов и тканей [1,6]. Низкоэнергетические состояния способствуют развитию патологических состояний, сопровождающихся окислительным стрессом.

Тонкий кишечник относится к активно пролиферирующим тканям, что делает его чувствительным для факторов стресса. Однако его целостность и способность к регулярному обновлению – необходимые условия для функционирования тонкого кишечника и здоровья его обладателя.

Согласно данным ВОЗ (европейский портал информации здравоохранения), число людей в мире с заболеваниями желудочно-кишечного тракта составляет 50-60%, а в больших городах достигает уровня 90%. Интерпретация подобных данных и поиск причин требуют дополнительных исследований всех возможных факторов риска, как внешнего, так и внутреннего генезиса.

Исследование тканевого дыхания активно пролиферирующих тканей перспективно с позиции понимания первопричин нарушения регенеративных процессов и поиска наиболее оптимальных фармакологических препаратов, направленных на восстановление энергетики клетки.

Цель - отработка полярографического метода исследования эндогенного дыхания тканевых фрагментов разных отделов тонкого кишечника мышей.

Материалы и методы исследования. В качестве объектов исследования использовали мыши линии Af, массой 5-6 г, содержащихся на стандартном рационе вивария. Все процедуры с животными проводились в соответствии с требованиями, регламентированными международными рекомендациями и правилами Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях от 22 сентября 2010 года.

После декапитации части тонкого кишечника (12-перстная кишка, тощая и подвздошная) извлекали, промывали в охлажденном растворе Хэнкса, выворачивали «наизнанку», освобождали от соединительных элементов и пищевых частиц. Подготовленные таким образом фрагменты кишечника нарезали в виде 3 колец размером 0,3–0,4 мм, которые помещали в раствор Хэнкса. Все операции с тканью осуществляли в емкостях, помещенных на лед.

Изучение параметров тканевого дыхания проводили полярографическим методом на устройстве «Record 4» (ИТЭБ РАН, Пущино) в ячейке объемом 3,6 мл в растворе Хэнкса, закрытым платиновым электродом. Состояние энергетического обмена фрагментов разных отделов тонкого кишечника оценивали путем определения скорости потребления кислорода на эндогенных субстратах (Vэнд) с применением разобшителя окислительного фосфорилирования 2,4-динитрофенола (Vднф). Скорость поглощения кислорода исследуемой тканью выражали в нмоль кислорода за 1 минуту на мг белка. Концентрацию белка в гомогенатах тонкого кишечника определяли биуретовым методом.

Обработку статистических данных проводили при помощи программы Statistica, 10.0. Оценку нормальности распределения числовых данных проводили с использованием критерия Шапиро-Уилка. Результаты экспериментальных исследований представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q1; Q3). Наличие статистически значимых отличий между группами оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Различия признавались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Исследование тканевого дыхания проводят на изолированных митохондриях. Однако в научной литературе содержится информация о взаимосвязи митохондрий с другими структурами клетки [7]. В

связи с этим нами [5,6] разрабатывается концепция исследования тканевого дыхания на тканях с минимальными повреждениями для возможности последующей аппроксимации на условия *in vivo*. В митохондриях транспорт электронов через дыхательные комплексы создаёт протонный градиент ($\Delta\mu\text{H}^+$), используемый ферментами для синтеза аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ). 2,4-динитрофенол (2,4-ДНФ), выступает протонофором, который связывает протоны в межмембранном пространстве, разрушает градиент и блокирует синтез АТФ. Процесс разобщает окисление и фосфорилирование, переводя энергию в тепло. Кроме того, 2,4-ДНФ способен взаимодействовать с белками митохондриальной мембраны, вызывая ингибирование цепи переноса электронов и проявляя токсический эффект. Однако в научных исследованиях добавление в среду разобщителя тканевого дыхания - 2,4-динитрофенола – оправдано и позволяет оценить интактность митохондрий исследуемых тканевых образцов и работу комплексов дыхательной цепи по скорости потребления кислорода (тканевое дыхание) методом полярографии. Скорость потребления кислорода отражает уровень аэробного обмена в тканях и может зависеть от каких параметров как: энергозависимость исследуемой ткани, запас эндогенных субстратов, уровня активности ферментативных комплексов митохондриальной дыхательной цепи.

Тонкий кишечник состоит из разных отделов: двенадцатиперстная кишка, тощая и подвздошная, каждый отдел вносит различный функциональный вклад в работу всего органа. Существует предположение, что разные отделы тонкого кишечника имеют разную энергообеспеченность и разные параметры тканевого дыхания, которые определяются функциями разных отделов [2-4]. Двенадцатиперстная кишка отвечает за активное переваривание пищи, выделение ферментов и секрецию желчи (происходит полостное и пристеночное пищеварение). Тощая кишка - интенсивное всасывание аминокислот, углеводов, липидов, что требует энергозатратной работы транспортных систем клеток. Основная функция подвздошной кишки – всасывание остаточных веществ, что, возможно, требует меньшего энергообеспечения по сравнению с предыдущими отделами тонкого кишечника.

Результаты экспериментальных исследований по исследованию параметров тканевого дыхания отражены в таблице 1.

Таблица 1 – Скорость поглощения кислорода тканевыми фрагментами разных отделов тонкого кишечника мышей линии Af

Показатель	Vэнд	Vднф	СДднф
12-перстная кишка n=6	0,74 (0,65; 0,88)	0,96 (0,69; 1,18)	СДднф=1,30
Тощая кишка n=5	0,83 (0,61; 1,51)	1,11 (1,10; 1,35)	СДднф=1,34
Подвздошная кишка n=5	1,35 (1,30; 1,67)	0,92 (0,76; 1,22)	Ингибирование

Примечание: данные представлены как Me (Q1; Q3), СДднф - коэффициент стимулирующего действия разобщителя 2,4-динитрофенола ($\text{СДднф} = \text{Vднф}/\text{Vэнд}$.)

При внесении в исследуемую среду с тканевыми фрагментами 2,4-ДНФ наблюдается увеличение скорости потребления кислорода в первых двух отделах тонкого кишечника - 12-перстной и тощей кишках, что подтверждает эффект разобщения окислительного фосфорилирования, интактность исследуемых образцов и адекватную работу всех митохондриальных комплексов дыхательной цепи. Тканевые фрагменты подвздошной кишки не отреагировали на добавление разобщителя, возможно, вследствие истощения уровня эндогенных субстратов.

Сравнительное исследование уровня эндогенного дыхания не показало достоверных различий между разными отделами тонкого кишечника, возможно следует увеличить объем экспериментальной выборки.

Выводы

1. Определена скорость поглощения кислорода фрагментами разных отделов тонкого кишечника интактных мышей линии Af на эндогенных субстратах.

2. Использование 2,4-динитрофенола показало разобщающий эффект на образцах ткани 12-перстной и тощей кишки с коэффициентом стимулирующего действия 1,30 и 1,34, соответственно. Тканевые фрагменты, полученные из образцов подвздошной кишки, не показали повышения уровня потребления кислорода, что говорит об отсутствии разобщающего эффекта 2,4-динитрофенола.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cell Cycle Parameters and Ornithine Decarboxylase Activity in the Red Bone Marrow of Hibernating Ground Squirrels *Urocyon undulatus* / G. E. Aksyonova, O. S. Logvinovich, V. N. Afanasyev [et al] // *Biophysics*. – 2023. – Vol. 68, No. 5. – P. 792-799.

2. Michael Boutros Ageing, metabolism and the intestine / Michael Boutros, Maja C Funk, Jun Zhou // *EMBO reports*. – 2020. – №21. – P. 1–22.

3. Rachel K. Zwick, Benjamin Ohlstein, Ophir D. Klein Intestinal renewal across the animal kingdom: comparing stem cell activity in mouse and *Drosophila* // *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. – 2019. – №316. – С. 313–322.

4. Белоус Е. М., Айснер А. Д. Характеристика интенсивности тканевого дыхания в отделах тонкого кишечника // *Актуальные проблемы общей и клинической биохимии*. – 2024: сборник материалов республиканской научно-практической конференции, Гродно, 24 мая 2024 года. – Гродно: Гродненский государственный медицинский университет, 2024. – С. 120-125.

5. Коваль, А. Н. Изменения энергетического метаболизма миокарда крыс при воздействии ионизирующих излучений / А. Н. Коваль // *Проблемы здоровья и экологии*. – 2024. – Т. 21, № 1. – С. 89-92. – DOI 10.51523/2708-6011.2024-21-1-11.

6. Лабильность системы окислительного фосфорилирования ткани тонкого кишечника при хроническом поступлении Cs^{137} / Н. С. Мышковец, А. С. Бабенко, О. С. Логвинович [и др.] // *Актуальные проблемы радиационной*

биологии. Модификация радиационно-индуцированных эффектов: Материалы международной конференции, Дубна, 16–18 октября 2024 года. – Дубна: Объединенный институт ядерных исследований, 2024 – С. 144-146.

7. Черненко, И. Н. Дисфункция митохондрий как критерий патогенеза заболеваний / Черненко И.Н., Михайлов А.О., Плехова Н.Г. // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2022. – № 24 (10). – С. 114-119.

УРОВНИ ТРИПТОФАНА И БИОГЕННЫХ АМИНОВ В БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ТРИПТОФАНА И ЕЁ КОРРЕКЦИИ

Блашко Т.Р., Дорошенко Е.М.

*УО «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы»,
Гродно, Республика Беларусь.*

Актуальность. Триптофан — незаменимая аминокислота, выполняющая ключевые функции в организме человека. Он служит предшественником для синтеза серотонина – нейромедиатора, мелатонина и никотиновой кислоты, влияя на регуляцию настроения, сна и энергетического обмена. Поскольку триптофан не синтезируется в организме, его поступление зависит исключительно от продуктов питания, такие, как творог, молоко, мясо, рыба, индейка, бананы, арахис и все продукты, богатые белком. Недостаточность триптофана и биогенных аминов может привести к серьезным нарушениям в физиологических процессах [1], таким как нарушения сна, психические расстройства, сбои в работе пищеварительной системы.

Цель. Исследовать влияние экспериментальной недостаточности триптофана и её коррекции на уровни триптофана и биогенных аминов в больших полушариях мозга крыс.

Материалы и методы исследования.

Исследования проводились на 52 белых крысах-самцах гетерогенной популяции массой в начале опыта 100-140 г. Недостаточность триптофана моделировали путем содержания животных на бестриптофановой диете (кукурузная крупа в качестве единственного источника белка) в течение 35 суток. Крысы контрольной группы находились на стандартном рационе вивария. Животные имели свободный доступ к воде.

Начиная с 29-х суток животным контрольной и опытных групп 2 раза в сутки вводили внутривенно воду в объеме 20 мл/кг, в продолжительности 7 суток. Использовались растворы SAM и ПАЛФ, SAM (коммерческий препарат ГептаВер) растворяли в аргининовом буфере (400 мг на 5 мл буфера), раствор замораживали при –18°C, перед введением раствор разводили 0,9% раствора хлорида натрия до конечной концентрации 5 г/л. ПАЛФ растворяли *ex tempore* 1,25 г/л в 0,9% растворе хлорида натрия. Оба приготовленных раствора использовали в течение одного введения.

Триптофан и его производные определяли с помощью ион-парной ВЭЖХ хлорнокислых экстрактов тканей с детектированием по природной флуоресценции [2-4]. Применение детектирования по природной флуоресценции позволяет достичь приемлемой чувствительности [2]. Колонку Zorbax Plus C₁₈ (Agilent Technologies) 2,1x150 мм термостатировали при 27°C. Подвижная фаза: 0,1 М NaH₂PO₄, 0,033 М CH₃COOH, pH 3,45; 110 мг/л октансульфоната натрия, 50 мг/л ЭДТА, 4,4% (об.) ацетонитрила, скорость потока 0,2 мл/мин. Детектирование по флуоресценции при длинах волн возбуждения 280 нм, излучения – 340 нм. Объем ввода проб (хлорнокислых экстрактов) 5-20 мкл. Идентификацию определяемых соединений и количественную обработку хроматограмм проводили с использованием метода внутреннего стандарта. Прием данных и обработка хроматограмм проводились с помощью программы Agilent ChemStation C.01.05 с ручной коррекцией базовой линии, в режиме расчета по внутреннему стандарту с использованием одноуровневой калибровки.

Результаты и обсуждение. Уровень триптофана через 35 суток содержания животных на бестриптофановой диете в больших полушариях не был снижен, хотя снижался уровень тирозина. Содержание производных триптофана, образующихся в мозге, также не имело отличий от контрольных значений.

Применение триптофана для коррекции его дефицита привело к снижению уровня глутамина. Проявления дисбаланса уровней серосодержащих соединений в значительной степени снижались при применении экзогенного триптофана: снижался до контрольных цифр уровень цистатинина, не регистрировался явный тауриновый дефицит. Кроме этого, на фоне экзогенно вводимого триптофана не происходило снижение уровня аргинина. Таким образом, введение триптофана на протяжении 7 суток способно снижать проявления аминокислотного дисбаланса в больших полушариях крыс.

Содержание биогенных аминов, их предшественников и метаболитов после введения таурина на фоне триптофанового дефицита не претерпевало значимых изменений, кроме того, что сохранялось снижение уровня тирозина, которое не сопровождалось изменениями в уровнях биогенных аминов и их метаболитов.

Уровень цистеата повышался, а цистеинсульфината снижался также при использовании SAM для коррекции триптофанового дефицита. Но при этом уровень таурина был ниже контроля, а гипотаурина – выше. Тем не менее, в этой группе животных уровень метионина не снижался. В этой же группе наблюдалось снижение уровней предшественников биогенных аминов – DOPA и 5-окситриптофана, тирозина и триптофана. Это сопровождалось снижением синаптического выброса норадреналина (снижение уровня норметанефрина), а также, предположительно, дофамина (снижение уровня DOPAC).

Применение композиции таурина, триптофана и аргинина одновременно с ПАЛФ также не вызывало нормализации уровня таурина, а уровни гипотаурина и цистатинина сохранялись повышенными. Наблюдалось

значимое повышение уровня гистидина и метилгистидинов, снижался уровень α -аминомасляной кислоты, хотя и не до контрольных значений.

Изменения в уровнях биогенных аминов, предшественников и метаболитов, вызванные композицией, были однонаправленными с наблюдавшимися после введения SAM, но введение композиции приводило к снижению также уровней серотонина и 5-оксииндолуксусной кислоты, т.е. ингибированию серотонинергических функций в больших полушариях.

Таким образом в ткани головного мозга исследуемые препараты вызывают более сложные эффекты, чем простая нормализация уровня недостающего соединения. С другой стороны, триптофановый дефицит, даже сопровождающийся выраженными нарушениями метаболического гомеостаза, не обязательно сопровождается абсолютным снижением уровня предшественника в синтезе медиатора, возможно, за счет изменений функционирования систем транспорта аминокислот в ЦНС, имеющих место при нарушении нормальных соотношений концентраций аминокислот.

Выводы. Результаты исследования демонстрируют, что 35-дневная бестриптофановая диета у крыс не приводит к снижению уровня триптофана в больших полушариях головного мозга, несмотря на уменьшение концентрации тирозина. Введение триптофана в течение 7 суток способствовало снижению проявлений аминокислотного дисбаланса, включая нормализацию уровней серосодержащих соединений. Применение таурина на фоне триптофановой недостаточности повышало уровень цистеата и нормализовало содержание гипотаурина и таурина. Введение композиции, состоящей из таурина, триптофана, аргинина и ПАЛФ, сопровождалось повышением уровней гистидина и метилгистидинов, а также снижением – α -аминомасляной кислоты.

Таким образом, различные подходы к коррекции триптофановой недостаточности оказывают неоднозначное влияние на аминокислотный баланс и уровень биогенных аминов в головном мозге крыс. Введение триптофана показало наибольшую эффективность в нормализации аминокислотного гомеостаза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гецина, М. Л. Роль общих для человека и микробиоты метаболитов триптофана при тяжелых заболеваниях и критических состояниях (обзор) / М. Л. Гецина, Е. А. Черневская, Н. В. Белобородова // Клиническая практика. - 2020. - Т. 11. - №1. - С. 92-102.
2. Дорошенко, Е. М. Модификация методов определения спектра свободных аминокислот и метаболитов триптофана для исследования биохимических факторов риска при ИБС с ХСН и желудочковых нарушениях ритма / Е. М. Дорошенко, В. Ю. Смирнов // Актуальные проблемы медицины. Материалы ежегодной итоговой научно-практической конференции 22 января 2013 г. Гродно: УО «ГрГМУ», 2013. – В 2-х частях. Ч. 1. – С. 239-242
3. Дорошенко, Е. М. Эффекты совместного введения триптофана, аминокислот с разветвленной углеводородной цепью и таурина на фонд нейроактивных соединений в отделах головного мозга крыс при синдроме

отмены этанола / Е. М. Дорошенко, Ю. Е. Разводовский // Биологически активные соединения в регуляции метаболического гомеостаза: Материалы междунар. науч. конф., 28–29 сент. 2000 г., Гродно. В 2 ч. Ч.1 / Под общ. ред. Л.И. Нефёдова. – Гродно: ГрГУ, 2000. – С.155-160.

4. Дорошенко, Е. М. Механизмы реализации антиатерогенных свойств таурина / Е. М. Дорошенко [и др.] // Ученые записки. – 1999. – № 2. – С. 66–71.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ ПУЛА АМИНОКИСЛОТ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ СУБТОТАЛЬНОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ОМЕГА-3 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

***Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Дорошенко Е.М., Смирнов В.Ю.,
Малыхина А.В.***

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты (Омега-3 ПНЖК) обеспечивают функционирование клеточных мембран, трансмембранных ионных каналов, участвуют в регуляции физиологических процессов и реализации основных функций нейронов – передаче импульсов и работе рецепторов. Как известно, нейроны головного мозга являются электрически активными клетками, богатыми ионными каналами, в связи с чем могут быть чувствительны к их дефициту.

Введение препарата Омега-3 ПНЖК «Омегамед» оказывает корригирующее действие на структуры гиппокампа в условиях субтотальной ишемии головного мозга, уменьшая количество клеток-теней и гиперхромных сморщенных нейронов, не оказывая при этом влияния на размеры и форму нейронов теменной коры головного мозга и способствуя меньшей выраженности проявлений неврологического дефицита. Изучение особенностей энергообмена нейронов головного мозга крыс с субтотальной церебральной ишемией на фоне введения препарата Омега-3 ПНЖК показало существенное улучшение параметров дыхания митохондрий и увеличение содержания АТФ-синтазы в нейронах гиппокампа у животных с СИГМ [1].

Кроме того, на фоне введения Омега-3 ПНЖК отмечалось корригирование показателей антиоксидантной защиты нейронов головного мозга, что проявилось повышением содержания общих SH-групп белков и глутатиона [2].

Цель. Оценить изменения пула аминокислот у крыс с ишемией головного мозга и введением омега-3 полиненасыщенных жирных кислот.

Материалы и методы исследования. Субтотальную ишемию головного мозга (СИГМ) моделировали путем одномоментной перевязки обеих общих сонных артерий (ОСА).

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.

Контрольную группу составили ложно оперированные крысы аналогичных пола и веса.

После извлечения головного мозга осуществляли забор фрагмента теменной коры и гиппокампа с его последующим замораживанием в жидком азоте.

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 °С 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 обсуждение. 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)

Проведено изучение особенностей пула аминокислот теменной доли и гиппокампа головного мозга крыс с односторонней субтотальной церебральной ишемией на фоне введения препарата Омега-3 ПНЖК в дозе 5 г/кг массы тела в течение недели.

Было установлено, что субтотальная ишемия головного мозга (СИГМ) приводит к изменению ряда аминокислот в головном мозге: повышению содержания L-аргинина и таурина, а также к снижению содержания метионина, цистеата и лизина.

По сравнению с показателями в группе «контроль», у крыс с СИГМ после введения Омега-3 ПНЖК сохранялось увеличение содержания L-аргинина на 14% – в ТД ($p < 0,05$) и на 36% – в Гп ($p < 0,05$), аланина – на 38% в ТД ($p < 0,05$) и на 36% – в Гп ($p < 0,05$) и уменьшение содержания валина как аминокислоты с разветвленной углеводородной цепью (АРУЦ) на 6% – в ТД ($p < 0,05$) и на 31% – в Гп ($p < 0,05$). Также содержание лизина оставалось меньше, чем в контроле на 50% – в ТД ($p < 0,05$) и на 43% – в Гп ($p < 0,05$), а серосодержащей АК «метионин» – на 19% ($p < 0,05$) и на 26%, соответственно ($p < 0,05$).

При этом, по сравнению с группой «СИГМ», после введения Омега-3 ПНЖК, различий в содержании АК не отмечалось ($p > 0,05$).

Выводы. Итак, введение Омега-3 ПНЖК в дозе 5 г/кг массы тела в течение недели крысам с СИГМ не оказывало корректирующего влияния на уровень АК таурина, метионина, L-аргинина и лизина, изменение которых происходило при СИГМ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коррекция ω -3полинасыщенными жирными кислотами нарушений энергетических процессов в тканях головного мозга крыс при субтотальной церебральной ишемии / Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович, И. К. Дремза, [и др] // Наука и инновация. – 2022. – Т. 231, №5. – – 78-83.
2. Bon, L. I. Effects of Neuroglobin in Cerebral Ischemia and Introduction of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids / L. I. Bon, N.Ye. Maksimovich, S.M. Zimatkin, [et al] // Journal of Psychiatry and Psychological Disorders. – 2023. – №1(2). –1-8.

ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ КОМПОЗИЦИЙ «ТРИТАРГ» И «ТИТАЦИН» НА ПУЛ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В СТРИАТУМЕ КРЫС НА ФОНЕ ПАИ-4 ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ 14 СУТОК

Гуща В.К., Лелевич С.В.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Проведение исследований по поиску новых лекарственных препаратов среди таких биологически активных соединений природного происхождения, как аминокислоты является важным направлением в исследовательской работе на сегодняшний день. Известно, что введение композиций биологически активных веществ в организм вызывает специфические эффекты, во многом определяемые составом и дозами входящих в них компонентов [1]. Использование в экспериментах в качестве корректирующих средств композиций «Тритарг» и «Титацин» обусловлено положительными эффектами в отношении метаболических нарушений, вызванных хронической алкогольной и прерывистой морфиновой интоксикациях, выявленными в ранее проведенных исследованиях [2,3].

Цель работы. Определить влияние аминокислотных композиций «Тритарг» и «Титацин» на пул нейромедиаторных соединений в стриатуме крыс на фоне прерывистой алкогольной интоксикации (ПАИ-4) длительноностью 14 суток.

Методы исследования. Эксперименты выполнены на белых беспородных крысах-самцах массой 180-220 г. Животные контрольной группы внутрижелудочно дважды в сутки получали эквивалентные количества воды. Прерывистая алкогольная интоксикация (ПАИ-4) моделировалась путем внутрижелудочного введения этанола в дозе 3,5 г/кг массы тела два раза в

сутки в виде 25%-го раствора по следующей схеме: 4 суток алкоголизации – 3 суток внутрижелудочное введение эквивалентного количества воды (ПАИ-4) с окончанием эксперимента на 14-е сутки от начала первого введения этанола.

Коррекция метаболических нарушений выполнялась с использованием аминокислотных композиций «Тритарг» (таурин, триптофан, аргинин, аспартат цинка) и «Титацин» (лейцин, изолейцин, валин, таурин, тиамин, пантотенат кальция, сульфат цинка). Животным группы ПАИ-4 + Тритарг в течение 3 суток внутрижелудочно вводили аминокислотную композицию «Тритарг» по 175 мг/кг массы тела в 2 % суспензии крахмала 2 раза в сутки, затем этанол в указанных ранее дозах в течение 4 суток. Цикл повторяли 2 раза. С такими же интервалами животным группы ПАИ-4 + Титацин вводили аминокислотную композицию «Титацин» по 250 мг/кг массы тела в 2 % суспензии крахмала внутрижелудочно в промежутках между введением этанола.

Декапитацию проводили через 1 час после последнего введения воды (контроль, ПАИ-4) или аминокислотной композиции (остальные группы).

Содержание свободных аминокислот и биогенных аминов в ткани головного мозга определяли методом ВЭЖХ.

Результаты и их обсуждение. Применение аминокислотной композиции «Тритарг» на фоне алкогольной интоксикации в режиме ПАИ-4 длительностью 14 суток привело к росту концентраций тирозина и триптофана в стриатуме экспериментальных животных в сравнении с контрольной группой ($p < 0,005$). По отношению к группе ПАИ-4 увеличилось содержание 3,4-ДОФУК ($p < 0,05$) и снизилась концентрация норадреналина ($p < 0,005$), которая была повышена при ПАИ-4 ($p < 0,05$). Кроме этого, выросли концентрации тормозных нейромедиаторных аминокислот ГАМК ($p < 0,05$) и глицина ($p < 0,005$). Полученные результаты позволяют предположить, что «Тритарг» оказывает модулирующее действие на норадренергическую и ГАМКергическую системы стриатума экспериментальных животных. Возможно, данный эффект может способствовать снижению тяги к алкоголю и уменьшению тревожности, что, конечно, требует дальнейшего изучения.

Концентрации тирозина и триптофана в сравнении с контрольной группой в стриатуме также увеличились при введении «Титацина» на фоне ПАИ-4 ($p < 0,005$). Примечательно, что рост концентраций тирозина и триптофана в сравнении с контрольными значениями наблюдается при введении обеих композиций (в состав «Тритарга» триптофан входит, а в состав «Титацина» нет). Можно предположить, что объяснение находится в опосредованном влиянии данных смесей на метаболизм аминокислот, а также на транспорт аминокислот через ГЭБ.

По отношению к группе ПАИ-4 уменьшилось содержание норадреналина ($p < 0,01$) и аспартата ($p < 0,05$), но увеличились уровни триптофана ($p < 0,05$) и глицина ($p < 0,05$).

При пошаговом дискриминантном анализе пула нейромедиаторов, их предшественников и метаболитов в стриатуме крыс при введении «Тритарга» и «Титацина» установлено, что наиболее значимыми для дискриминации экспериментальных групп были уровни норадреналина, триптофана и ГАМК.

(лямбда Уилкса=0,01927, $p<0,00001$). Расположение отдельных групп на плоскости двух главных компонент (корней дискриминантных функций) показывает, что основные различия между контролем и экспериментальными группами происходит вдоль корня 1 (58,62% общей дисперсии) (рисунок 1).

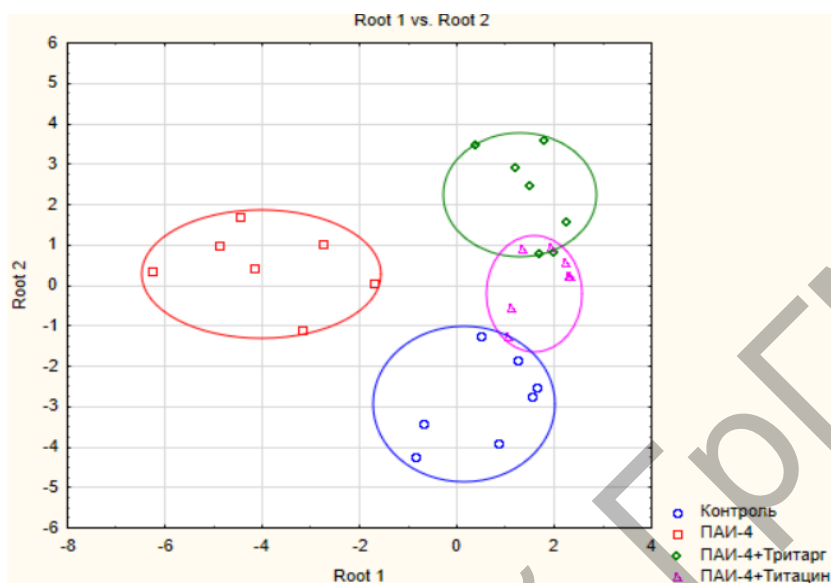


Рисунок 1 – Реализация исследованных показателей на плоскости двух главных компонент, стриатум (14-суточная алкоголизация)

Наибольший вклад в первую компоненту вносят показатели триптофан и ГАМК (положительно коррелируют с величиной корня 1), а также аспартат и дофамин (отрицательно коррелируют с величиной корня 1). Наибольшая отдаленность по 1-ой дискриминантной функции, в сравнении с контрольной группой, отмечена для группы ПАИ-4. Группы ПАИ-4+Тритарг и ПАИ-4+Титацин практически не отличаются от контрольной по 1-му корню, что может косвенно доказывать нормализующее действие «Тритарга» и «Титацина» в стриатуме крыс на фоне ПАИ-4. Наибольший вклад в величину корня 2 вносили параметры триптофан и гомованилиновая кислота (положительно коррелировали с величиной корня 2), а также дофамин (отрицательно коррелировал с величиной корня 2). По второму корню значительная дискриминация наблюдается между контрольной группой и группой ПАИ-4+Тритарг.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что как «Тритарг», так и «Титацин» оказывают модулирующее действие на нейротрансмиттерные системы стриатума крыс в условиях ПАИ-4. При этом эффект «Тритарга» более выражен. Данная аминокислотная композиция нормализует содержание норадреналина и увеличивает концентрации тормозных аминокислот в изученном отделе мозга. Проведенное исследование показывает потенциальную эффективность аминокислотных композиций «Тритарг» и «Титацин» в коррекции нейромедиаторных изменений, вызванных этанолом и дает предпосылки для дальнейшего изучения их действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Метаболические препараты при лечении алкоголизма и различных заболеваний центральной нервной системы / В. Кунес [и др.] // Врач. – 2016. – №3. – С. 25-28.
2. Шейбак, В. М. Некоторые итоги изучения биологической активности композиции Тритарг / В. М. Шейбак, А. Ю. Павлюковец // Актуальные проблемы медицины: материалы еж. итоговой науч.-практ. конф., Гродно, 25-26 января 2018 г. / Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Учреждение образования "ГрГМУ" ; редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.), С. Б. Вольф, Н. М. Курбат. – Гродно, 2018. – С. 841-844.
3. Лелевич, В. В. Эффективность композиций аминокислот при метаболической коррекции прерывистой морфиновой интоксикации // В. В. Лелевич, А. Г. Виницкая // Актуальные проблемы общей и клинической биохимии: мат. респ. науч.-практ. конф., Гродно, 26 мая 2023 г. / Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Учреждение образования "ГрГМУ" ; отв. ред. В. В. Лелевич. – Гродно, 2023. – С. 191-199.

ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРО- И НАНОФОРМ КУРКУМИНА И КВЕРЦЕТИНА В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Диковицкая К.Д.¹, Шутова Т.Г.², Потапович А.И.¹

¹ *Белорусский государственный университет;*

² *Институт химии новых материалов НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Актуальность. Рак груди является наиболее часто диагностируемым раком среди женщин во всем мире [1]. Современные химиотерапевтические препараты способны подавлять или убивать опухоли, однако существует проблема токсичности и побочных эффектов, что ограничивает клиническое применение этих препаратов. Поэтому природные соединения, способные воздействовать на раковые клетки, оказывая минимальное влияние на нормальные клетки, рассматриваются как перспективные для лечения рака. К таким соединениям относят флавоноид кверцетин и куркуминоид куркумин. Однако, терапевтическое применение куркумина и кверцетина ограничено низкой водорастворимостью и пероральной биодоступностью, поэтому получение микро- и наночастиц, повышающих биодоступность куркумина и кверцетина, и исследование их биологических эффектов в отношении раковых клеток представляется весьма актуальной задачей.

Цель исследования. Оценить влияние кверцетина и куркумина и их микро- и наноструктурированных форм на клетки рака молочной железы человека линии MCF-7.

Материалы и методы. Клетки культивировали во флаконах T25 (Sarstedt, США) в среде ДМЕМ, содержащей 10 % бычьей сыворотки в стандартных условиях (37 °C, 5 % CO₂). Экспозицию с исследуемыми

веществами проводили в 96- и 24-луночных планшетах (Sarstedt, США). Исследуемые препараты добавляли к среде инкубации, не содержащей сыворотки, и инкубировали с клетками 24 ч. Использовали свободный кверцетин и кверцетин загруженный в наночастицы желатина с диаметром 160-190 нм (Кв-ЖНЧ), свободный куркумин, комплекс куркумина с Mn^{2+} (Кур-Мн) и куркумин, покрытый оболочкой полиаллиламин гидрохлорид/полистиролсульфат (Кур-(ПАН/PSS)₄) или хитозан/декстран сульфат (Кур-(Hit/DS)₄) со средним размером $(1,1 \pm 0,3)$ мкм. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью реагента PrestoBlue™, повреждение кератиноцитов оценивали по выходу лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и методом двойного окрашивания (акридиновый оранжевый/этидиум бромид).

Результаты и обсуждение. Используя для оценки жизнеспособности клеток реагент PrestoBlue, установлено, что дозозависимое снижение количества метаболически активных клеток линии MCF-7, способных осуществлять энергозатратную реакцию восстановления индикатора жизнеспособности клеток резазурина в красный флуоресцентный пигмент резорурфин, выявлено только для куркумина и его комплекса с марганцем. Куркумин, включенный в микрочастицы Кур-(ПАН/PSS)₄ и Кур-(Hit/DS)₄, не оказывал цитотоксического действия через 24 ч инкубации (таблица 1).

Таблица 1 - Количество жизнеспособных клеток линии MCF-7 (в % к контролю), оцениваемое с помощью реагента PrestoBlue™ через 24 ч совместной инкубации с куркумином и его модифицированными формами

Препарат	Концентрация препаратов, мкмоль/л			
	25	50	100	200
Куркумин	97±8	32±8 [§]	0,0±0 [§]	н/о
Кур-(ПАН/PSS) ₄	103±8	115±21	118±15	н/о
Кур-(Hit/DS) ₄	110±22	111±15	106±13	н/о
Кур-Мн	94±11	70±10 [¥]	50±7 [§]	3±2 [§]

¥ - $p \leq 0,0001$; § - $p \leq 0,00001$ vs контроль

Цитотоксическое действие куркумина и его комплекса с марганцем в отношении клеток линии MCF-7 оценивали также по выходу из клеток в культуральную среду маркера повреждения плазматических мембран фермента ЛДГ. Установлено, что инкубация клеток в течении 24 ч с куркумином приводит к нарушению целостности мембран. При этом при концентрации куркумина 50 мкмоль/л количество клеток с поврежденной мембраной составляло 15 %, а при концентрации 100 мкмоль/л составляло 34 % (таблица 2). В тоже время при концентрации куркумина в среде инкубации 50 мкмоль/л количество метаболически активных клеток снижалось почти на 70 %, а при концентрации 100 мкмоль/л наблюдается полная потеря метаболической активности клеток MCF-7 через 24 ч (см. таблицу 1). Таким образом, можно сделать вывод, что метаболически мертвые клетки могут сохранять целостность плазматической мембраны. Этот вывод также подтверждают данные, характеризующие эффект комплекса Кур-Мн в концентрации

200 мкмоль/л на уровень метаболической активности и целостности клеток MCF-7, приведенные в таблицах 1 и 2, а именно полная метаболическая гибель клеток при сохранении целостности их мембран.

Таблица 2 - Количество неповрежденных клеток линии MCF-7 (в % к контролю), оцениваемое по выходу ЛДГ через 24 ч совместной инкубации куркумином и его комплексом с марганцем

Препарат	Концентрация препаратов, мкмоль/л			
	25	50	100	200
Куркумин	98±3	85±4 [¥]	66±11 [§]	5±8 [§]
Кур-Мн	н/о	103±3	103±1	100±1

[¥] - $p \leq 0,05$; [§] - $p \leq 0,0001$ vs контроль

О целостности плазматической мембраны клеток MCF-7 после их инкубации в течении 24 ч с куркумином (50 мкмоль/л) и Кур-Мн (200 мкмоль/л) свидетельствует и зеленая флуоресценция клеток при использовании метода двойного окрашивания (рисунок 1).

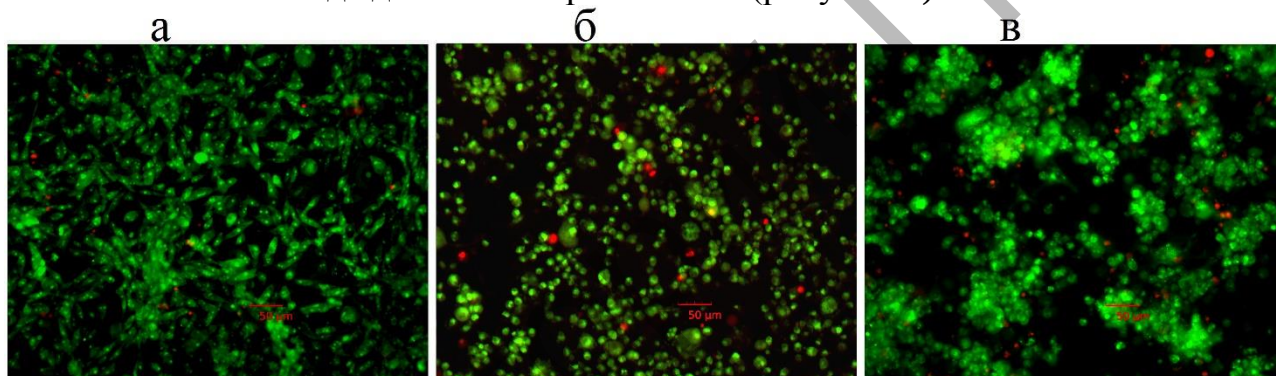


Рисунок 1 - Флуоресцентные микрофотографии клеток линии MCF-7, окрашенных системой акридиновый оранжевый/этидий бромид
(а) контрольные клетки; (б) клетки через 24 ч инкубации с куркумином (50 мкмоль/л);
(в) клетки через 24 ч инкубации с комплексом Кур-Мн (200 мкмоль/л)

В результате исследования цитотоксического действия свободного и включенного в желатиновые наночастицы кверцетина установлено, что инкубация клеток линии MCF-7 с этими препаратами в концентрации 50 мкмоль/л приводит через 24 ч к существенному снижению количества жизнеспособных клеток, при этом цитотоксическое действие этих агентов в отношении нормальных кератиноцитов человека линии HaCaT было незначительным (таблиц 3).

Таблица 3 - Количество жизнеспособных клеток (в % к контролю), оцениваемое с помощью реагента PrestoBlue™ через 24 ч совместной инкубации со свободным и наноструктурированным кверцетином

Условия эксперимента	Клеточная линия	
	MCF-7	Кератиноциты HaCaT
Контроль	100±6	100±9
Кверцетин, 50 мкмоль/л	38±6 [§]	83±5 [¥]
Кв-ЖНЧ, 50 мкмоль/л	31±5 [§]	91±8

[¥] - $p \leq 0,05$; [§] - $p \leq 0,00001$ vs контроль

Выводы. Установлено, что покрытие куркумина оболочкой (PAH/PSS)₄ или (Hit/DS)₄ повышает его водорастворимость, однако препятствует реализации цитотоксического действия. Включение кверцетина в наночастицы на основе желатина повышает его биодоступность при сохранении избирательного цитотоксического действия в отношении клеток рака молочной железы человека линии MCF-7.

ЛИТЕРАТУРА

1. GLOBOCAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012 International Agency for Research on Cancer (IARC). Available: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx

ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ МОДЕЛЕЙ СТРЕССА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Дробышевская А.А.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Влияние стресса на организм по сей день остается одной из актуальных проблем медицины [4]. Стрессоустойчивость является одним из основных критериев жизнеспособности организма и его приспособленности к изменению условий обитания, экстремальным ситуациям, а также при других стрессорных воздействиях [3]. Одним из широко используемых методов стрессирования крыс является метод принудительного плавания [1].

Цель. Проанализировать методики моделирования стресса у крыс.

Материалы и методы исследования. Были изучена и проанализирована литература, имеющая описание методов моделирования стресса у крыс и проведения эксперимента с использованием различных моделей стресса.

Результаты и обсуждение. Согласно литературным данным, основными моделями стресса являются комплексный, иммобилизационный, эмоционально-болевой, изоляционный, холодовой, радиационный, плавательный стресс, различные депривации, а также стресс, вызванный воздействием химических веществ [1].

Одним из самых популярных способов моделирования стресса является иммобилизация животных при разных способах обездвиживания (кассета из оргстекла, пластиковые клетки-пеналы), времени иммобилизации (от 90 минут до 20 часов) и сроков эксперимента (1, 3, 7, 10, 14, 15, 21, 30 суток). Иммобилизация на крыс спине проводится в течение 6 часов однократно или по 40 минут ежедневно в течение 21 дня [1, 5];

Часто в экспериментах применяются комплексные модели стресса, комбинируя физические стрессогенные факторы с десинхронозами или депривациями. При световом десинхронозе животных помещают в условия круглосуточного полного затемнения 2-3 LX на 10 суток [3]. Также популярна методика моделирования комплексного стресса у крыс со сменой разномодальных стрессоров (шум, вибрации, пульсирующий яркий свет) по стохастической схеме при гипокинезии и повышении температуры от 20—22 до 25—27°C по 30 минут в течение 7 дней [1];

При стрессировании крыс методом длительной или краткосрочной изоляции крысы в течение 2-3 месяцев содержатся в индивидуальных клетках с полной изоляцией от контактов с другими особями, в то время как животные контрольной группы содержатся по 4-5 особи на 1 клетку, то есть в нормальных для них условиях [1].

В исследуемой нами литературе при моделировании принудительного плавания крыс опускали в цилиндрическую пластиковую емкость высотой 60 см и диаметром 50 см, заполненную водой таким образом, чтоб животное не имело возможности опираться задними конечностями или хвостом на дно цилиндра [4].

При моделировании плавательного стресса животных могут помещать в бассейн (уровень воды — 30 см, температура воды +20°C), где они находились в течение 60 мин без возможности выбраться из воды. За сутки до стрессорного воздействия животные были лишены пищи при свободном доступе к воде. При плавании одновременно 3-4 крыс в одном бассейне увеличивается стрессорное воздействие [5].

Так же исследуемую методику используют в качестве модели физической нагрузки при плавании крыс до полного утомления, наступление которого считается после трех безуспешных попыток крысы всплыть на поверхность, либо отказ от таких попыток и опускание на дно бассейна, плавание проводили в течение 5 дней [3]. При плавании в воде при температуре 25°C время эксперимента сокращается до 3 минут [2].

Согласно исследованиям, плавание проводят в специальной боксированной установке, представляющей собой стеклянный аквариум прямоугольной формы размерами 100см×100см×20 см, разделенный на пять отсеков. Животным на хвост с помощью нитки одинарным узлом фиксируют утяжеляющий груз, равный по весу от 7 до 10% от массы тела конкретной особи, после чего крыс помещают в отсек по одной особи в каждый отсек в течение 5 суток. Использованный в исследованиях груз 10% от массы тела выбирают при моделировании анаэробной работы, в то время как нагрузка менее 5% считается моделью аэробной работы. Температуру воды

контролируют каждые 10 минут и поддерживают на уровне 26°-28°C. Крыса интенсивно плавает, обычно в течение 6–10 мин, до момента, после которого она в течение 5–10 с не способна подняться наверх со дна (потопление). При этом животное сачком подхватывают и извлекают из аквариума [3-4].

Так же, методика принудительного плавания крыс часто используется для моделирования эмоционально-холодового стресса. При таком воздействии крыс погружают в емкость с холодной ($t=+4 - +6^{\circ}\text{C}$, $\pm 1^{\circ}\text{C}$) водой от 10 минут до 1 часа в течение 1, 4, 5, 12 и 30 дней [6]. При $t=+1^{\circ}\text{C}$ время плавания крыс сокращают до 5 минут [1].

Выводы:

1) Методика принудительного плавания крыс является наиболее подходящей для дальнейшего применения нами в эксперименте и может применяться в различных модификациях при моделировании плавательного, физического и эмоционально-холодового стресса.

2) Время плавания крыс зависит от температуры воды: минимальная $t=+1^{\circ}\text{C}$ при времени плавания 5 минут, максимальная $t=+28^{\circ}\text{C}$ при времени плавания от 10 до 60 минут.

ЛИТЕРАТУРА

1. Геворкян, В.С. Современные исследования воздействия различных стресс-факторов на крыс и мышей / В.С. Геворкян, И.С. Геворкян // Электронное научное издание Альманах Пространство и Время. – 2017. – Т. 15, № 1. – С. 9.

2. Дубровина, Н.И. Эффекты принудительного плавания и стратегии поведения на устойчивость следа памяти к амнезическому воздействию / Н.И. Дубровина, Д.А. Савостьянова // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2003. – Т. 23, № 3. – С. 115-120.

3. Индивидуально-типологические особенности реагирования лабораторных крыс на многокомпонентный стресс / А.А. Гостюхина, Т.А. Замощина, А.В. Прокопова, К.В. Зайцев // Современные вопросы биомедицины. – 2022. – Т. 6, № 2(19).

4. Патент № 2617206 С Российская Федерация, МПК G09В 23/28. Способ моделирования физического переутомления у крыс в условиях десинхроноза: № 2015133700: заявл. 11.08.2015: опубл. 21.04.2017 / А. А. Гостюхина, К. В. Зайцев, Т. А. Замощина [и др.]; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение "Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства" (ФГБУ СибФНКИ ФМБА России).

5. Раваева, М.Ю. Адаптация тканевой микрогемодинамики к условиям комбинации стрессовых факторов / М.Ю. Раваева, Е.Н. Чуян // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия. – 2018. – Т. 4 (70), № 4. – С. 165-179.

6. Солодкова, О.А. Холодовой стресс и его коррекция гидролизатом кукумарии японской / О.А. Солодкова, В.Г. Зенкина // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 3-4. – С. 591-594.

ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ХИНОНСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Жуковская К. Г., Костюк В. А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Актуальность. Хиноны широко используются в качестве противораковых, антибактериальных или противомаларийных препаратов, а также в качестве фунгицидов. Результаты многочисленных исследований, выполненных в последние годы, свидетельствуют, что тимохинон – наиболее фармакологически активный ингредиент семян *Nigella sativa* (черные семена), проявляет противоопухолевую активность и обладает противовирусным действием, защищая от бактериальных коинфекций, действуя как антиоксидант и противовоспалительный агент, ослабляющий цитокиновый шторм [2]. Одним из механизмов цитотоксического действия хинонов, в том числе синтетических производных п-бензохинона триметил-п-бензохинона (кумохинон) и тетраметил-п-бензохинона (дурохинон), является инициирование в клетках окислительного стресса в результате их восстановления редуктазами до семихинонового радикала, взаимодействие которого с кислородом ведет к образованию анион-радикала кислорода. Кроме того, хиноны образуют конъюгаты с GSH, которые также подвергаются окислительно-восстановительным превращениям, ведущим к активации кислорода [1].

Цель исследования. Оценить эффективность цитотоксического действия хинонсодержащих соединений (рисунок 1) в отношении клеток аденокарциномы молочной железы.

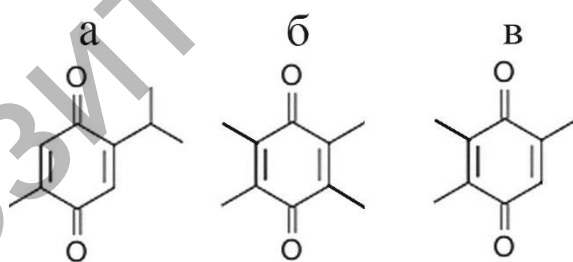


Рисунок 1 - Структура исследованных п – бензохинонов:

а – тимохинон, б - дуροхинон, в – кумохинон

Материалы и методы. В работе использовались тимохинон и синтетические аналоги фирмы *Sigma-Aldrich* (Германия). Объектом исследования являлись клеточные линии аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 и MDA-MB-231. Клетки растили в полной среде ДМЕМ с добавлением 10 % эмбриональной бычьей сыворотки, 2 ммоль/л L-глутамина и антибиотиков (100 МЕ/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина) при стандартных условиях (37 °C, 5 % CO₂). Действие препаратов на клетки определяли в среде инкубации без сыворотки. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью реагента PrestoBlue™, повреждение – по выходу

лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и методом двойного окрашивания (акридиновый оранжевый/этидиум бромид).

Результаты и обсуждение.

Используя для оценки жизнеспособности клеток реагент PrestoBlue, установлено, что исследуемые соединения в диапазоне концентраций 25–200 мкмоль/л вызывают через 24 ч инкубации дозозависимое снижение количества жизнеспособных клеток как линии MCF-7 (таблица 1), так и клеток MDA-MB-231 (таблица 2).

Таблица 1 - Количество жизнеспособных клеток линии MCF-7 (в % к контролю), оцениваемое с помощью реагента PrestoBlue™ через 24 ч совместной инкубации

Препарат	Концентрация п-бензохинонов, мкмоль/л				
	25	50	75	100	200
Тимохинон	93,2±11,2	66,1±10,4 ^{**}	45,3±6,8 ^{**}	н/о	н/о
Кумохинон	н/о	80,8±6,0 [*]	61,7±7,0 ^{**}	53,6±3,4 ^{**}	н/о
Дурохинон	н/о	92,1±7,2	н/о	80,0±6,3 [*]	41,8±10,0 ^{**}

^{*} - $p \leq 0,001$; ^{**} - $p \leq 0,0001$ vs контроль

Таблица 2 - Количество жизнеспособных клеток линии MDA-MB-231 (в % к контролю), оцениваемое с помощью реагента PrestoBlue™ через 24 ч совместной инкубации

Препарат	Концентрация п-бензохинонов, мкмоль/л		
	50	100	200
Тимохинон	75,3±8,4 ^{**}	34,1±3,6 [§]	н/о
Кумохинон	92,4±7,4	58,0±8,9 [§]	7,7±4,2 [§]
Дурохинон	95,5±8,7	93,5±11,9	88,3±10,8 [*]

^{*} - $p \leq 0,01$; ^{**} - $p \leq 0,0005$; [§] - $p \leq 0,00001$ vs контроль

Используя зависимость «доза-эффект» были рассчитаны концентрации препаратов в среде, при которых количество жизнеспособных клеток через 24 ч инкубации снижалось на 50 % (ЭД₅₀) (таблица 3).

Таблица 3 - Значения величин ЭД₅₀ исследованных п-бензохинонов

Препарат	ЭД ₅₀ , мкмоль/л	
	MCF-7	MDA-MB-231
Тимохинон	70	70
Кумохинон	101	120
Дурохинон	190	>>200

Цитотоксическое действие п-бензохинонов в отношении клеток аденокарциномы молочной железы подтверждено также по выходу ЛДГ (таблица 4) и методом двойного окрашивания (рисунок 2).

Таблица 4 - Степень повреждения п-бензохинонами клеток линии MCF-7 (в % к контролю), оцениваемая по выходу ЛДГ через 24 ч инкубации

Препарат	Концентрация п-бензохинонов, мкмоль/л			
	50	75	100	200
Тимохинон	4±4	13±9	н/о	64±9 ^{**}
Кумохинон	7±8	н/о	11±3	69±11 ^{**}
Дурохинон	1±4	н/о	3±1	33±5 ^{**}

* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,001$ vs контроль

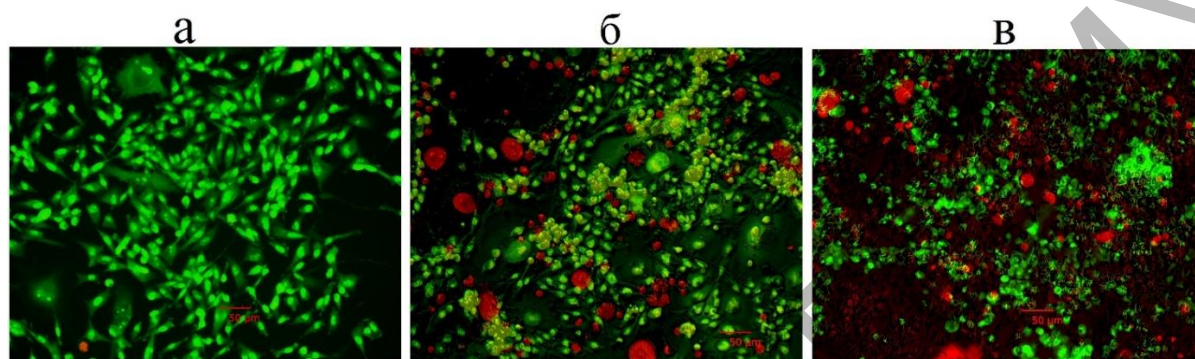


Рисунок 2 - Флуоресцентные микрофотографии клеток линии MCF-7, окрашенных системой акридиновый оранжевый/этидий бромид (а) контрольные клетки; (б) клетки через 24 ч инкубации с тимохиноном (50 мкмоль/л); (в) клетки через 24 ч инкубации с кумохиноном (75 мкмоль/л)

Выводы.

Цитотоксическое действие тимохинона подтверждено в отношении клеток аденокарциномы молочной железы MCF-7, экспрессирующих рецепторы эстрогена, так и гормон-независимых клеток MDA-MB-231. Установлено, что среди исследованных синтетических производных п-бензохинона дурухинон проявил в отношении раковых клеток низкую цитотоксическую активность, тогда как кумохинон по эффективности близок к тимохинону и представляет интерес как фармакологически перспективное соединение.

ЛИТЕРАТУРА

1. O'Brien, P.J. Molecular mechanisms of quinone cytotoxicity / P.J. O'Brien // Chem. Biol. Interact. – 1991. – Vol. 80, No 1. – P. 1–41.
2. Schneider-Stock, R. Thymoquinone: Fifty years of success in the battle against cancer models / R. Schneider-Stock, I.H. Fakhoury, A.M. Zaki, C.O. El-Baba, H.U. Gali-Muhtasib // Drug Discov. Today. – 2014. – Vol. 19. – P. 18–30.

МЕХАНИЗМ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ COVID-19

Зарецкая Д.О., Маглыш С.С.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Быстрое распространение и острое протекание синдрома коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 обусловлено широким диапазоном агрессивных инвазивных механизмов вируса. Коронавирус использует многоуровневую стратегию, чтобы избежать иммунного ответа. Считается, что тяжелое течение COVID-19 во многих случаях приводит к летальному исходу.

Патоген COVID-19, официально обозначенный как SARS-CoV-2, представляет собой β -коронавирусную РНК диаметром 60-140 нм. С генетической точки зрения, SARS-CoV-2 имеет сходство с SARS-CoV в пределах 79%. Из вирусных белков (S, M, E1, E2) структурный белок S имеет первостепенное значение в связи с функцией связывания фермента превращения ангиотензиногена в ангиотензин II и ролью рецептора для проникновения в клетку-хозяина. Коронавирусы проникают в клетку за счет рецепторного эндоцитоза и опосредованного рецептором слияния мембран при участии поверхностных гликопротеинов S и HE. Геном проникает в цитоплазму и, являясь мРНК, направляет синтез неструктурных белков, включая вирусную обратную транскриптазу, которая осуществляет синтез полноразмерного антигена [2]. Входные ворота новой коронавирусной инфекции, возбудителем которой является вирус SARS-CoV-2, это эпителий верхних дыхательных путей и эпителиоциты желудка и кишечника. Вирус проникает через клетки-мишени, которые имеют рецепторы ангиотензинпревращающего фермента II типа (АПФ2). Данные рецепторы находятся в цитоплазматической мембране альвеолярных клеток II типа в легких и энтероцитах тонкого кишечника, эндотелиальных клетках артерий и вен, клетках гладкой мускулатуры артерий, макрофагов [7].

Секрет успеха коронавируса кроется в применении многовекторной тактики обхода иммунитета. Вирус подавляет способность клетки производить необходимые белки, активно разрушает мРНК и мешает экспорту информационных РНК из ядра в цитоплазму клетки [3].

Коронавирусы изменяют работу ангиотензинпревращающего фермента в различных органах. Этот фермент представляет собой рецептор и точку входа для некоторых коронавирусов, в том числе SARS и SARS-CoV-2. Он присутствует практически во всех тканях организма человека, однако большое его количество локализуется в эндокринной части поджелудочной железы [1].

Цель. Изучить механизм нарушений метаболизма при COVID-19 на основе анализа научной литературы.

Результаты и обсуждение. Коронавирус использует фолатный и глюкозный метаболизм клетки для построения своей РНК. Было показано, что у

инфицированных клеток истощаются запасы глюкозы и фолата на фоне активации глюкозного и фолатного метаболических путей. Гликолиз дает АТФ и строительные блоки для синтеза нуклеотидов. Фолатный метаболизм также служит источником одноуглеродных фрагментов для нуклеотидного синтеза. Если же в среде культивирования клеток перед заражением глюкоза заменялась на галактозу, производство РНК и белков коронавируса сильно нарушалось. В совокупности это говорит о том, что SARS-CoV-2 перенаправляет глюкозный и фолатный обмен клетки на сборку пуриновых оснований для собственной РНК. Ученые предположили, что ингибирование фолатного метаболизма может снизить продукцию вирионов в инфицированных клетках. Они провели эксперимент с метотрексатом — широко используемым аналогом фолата, блокирующим фолатный путь и синтез нуклеотидов. Действительно, метотрексат уменьшал количество заразных вирионов, выделяемых клетками. Похожие результаты были получены в опытах с человеческими клетками A549, экспрессирующими рецептор коронавируса ACE2. В настоящее время метотрексат используется для лечения аутоиммунных расстройств. Авторы исследования считают, что его можно рассматривать в качестве кандидатного препарата против COVID-19. При этом необходимо подобрать такую стратегию терапии, чтобы увеличить противовирусные свойства метотрексата с учетом его иммуносупрессорных свойств [14].

Как известно, жировая ткань экспрессирует больше АПФ2, чем легкие [8]. Люди с ожирением имеют увеличенный объем жировой ткани и, следовательно, повышенное содержание АПФ2, что приводит к увеличению их восприимчивости к COVID-19. Ожирение способно вызывать гиперактивацию ренин-ангиотензин-альдостероновой системы: адипоциты потенцируют выработку циркулирующего в крови ангиотензиногена, под действием ренина и АПФ2 превращающегося в ангиотензин II (АТ II), который в свою очередь оказывает свое воздействие через связь с двумя подтипами рецепторов: АТ1 и АТ2. Преимущественно АТ II связывается с АТ1-рецепторами, что приводит к вазоконстрикторному, пролиферативному, провоспалительному эффектам и, в целом, к развитию склеротических изменений тканей и сосудов [4, 6].

С ожирением тесно связан сахарный диабет (СД) 2-го типа, ключевым признаком которого является гипергликемия. В ряде исследований доказано, что повышенный уровень глюкозы в сыворотке крови значительно увеличивает смертность от COVID-19 [15], прямо или косвенно нарушает функцию иммунных клеток через образование прооксидантов и продуктов гликирования [11]. Пациенты с СД 2-го типа чаще имеют серьезные осложнения, больше госпитализаций в отделения интенсивной терапии, более длительный срок пребывания в стационаре и более высокий риск смертности от COVID-19. Известно также, что связь между СД и COVID-19 является двунаправленной. Поскольку экспрессия АПФ2 на β -клетках поджелудочной железы может оказывать прямое влияние на их функцию, ученые предполагают, что не только СД может быть фактором риска тяжелой формы COVID-19, но и что инфекция может потенцировать дебют СД [13].

В результате данной вирусной инфекции отмечаются нарушения липидного обмена [5]. У пациентов с дислипидемией зачастую снижен уровень ЛПВП, которые участвуют в регуляции врожденного иммунного ответа через взаимодействие с транспортером ABCA1 или ABCG1, оказывая негативную регуляцию на активацию Т-клеток и экспрессию воспалительных медиаторов в макрофагах и дендритных клетках. По данным некоторых исследований, между содержанием СРБ и ЛПВП существует обратная корреляция [9]. Таким образом, уменьшение концентрации ЛПВП потенцирует развитие дисрегуляции врожденного иммунного ответа [10]. Также установлено, что индекс AIP (соотношение содержания триглицеридов и холестерина ЛПВП), связанный с сердечно-сосудистыми заболеваниями, атеросклерозом, сахарным диабетом, гипертонией, увеличен у пациентов с COVID-19 с пневмонией, а также нуждающихся в интенсивной терапии, проводимой с интубацией, и среди лиц с летальным исходом [12].

Выводы. По многочисленным исследованиям последних лет установлено, что ожирение, сахарный диабет и гипергликемия, увеличивают восприимчивость к заражению новой коронавирусной инфекцией и могут способствовать возникновению метаболических нарушений углеводного и липидного обменов, приводящих к осложнениям и негативным исходам у пациентов с COVID-19.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коленцова, О. Несладкая жизнь: COVID-2019 может вызвать отсроченный диабет / О. Коленцова, А. Урманцева. – 2020. [Accesat 12.04.2021] Disponibil: <https://iz.ru/1010423/olga-kolentcova-anna-urmantceva/nesladkaia-zhizn-covid-19-mozhet-vyzvat-otsrochennyidiabet>.
2. Новикова, Н.А. Молекулярные аспекты взаимодействия вирусов с клеткой: Учебное пособие / Н.А. Новикова // Нижний Новгород: Изд-во ННГУ им. Н.И. Лобачевского. – 2020. 87 с.
3. Ученые выяснили, как SARS-CoV-2 обманывает иммунитет пациентов. Disponibil: <https://www.interfax.ru/world/765760> (Accesat la 30.10.2021).
4. Шестакова, М.В. Роль тканевой ренин-ангиотензин-альдостероновой системы в развитии метаболического синдрома, сахарного диабета и его сосудистых осложнений / Шестакова М.В. // Сах. диабет. – 2010;13(3):14–19. doi: 10.14341/2072-0351-5481.
5. Abu-Farha, M. The role of lipid metabolism in COVID-19 virus infection and as a drug target / M. Abu-Farha, et al. // Int. J. Mol. Sci. – 2020;21(10):3544. doi: 10.3390/ijms21103544.
6. Cabandugama, P.K. The renin angiotensin aldosterone system in obesity and hypertension: roles in the cardiorenal metabolic syndrome / P.K. Cabandugama, M.J. Gardner, J.R. Sowers // Med. Clin. North. Am. – 2017;101(1):129 – 137. doi: 10.1016/j.mcna.2016.08.009.
7. Chai, X. Specific ACE2 expression in cholangiocytes may cause liver damage after 2019-nCoV infection / X. Chai, et al. // bioRxiv. – 2020.02.03.931766. doi: 10.1101/2020.02.03.931766.

8. Jia X. Two things about COVID-19 might need attention / X. Jia, et al. // Preprints. – 2020:2020020315. doi: 10.20944/preprints202002.0315.v1.
9. Kaji, H. High-density lipoproteins and the immune system / H. Kaji // J. Lipids. – 2013;2013:684903. doi: 10.1155/2013/684903.
10. McKechnie, J.L. The innate immune system: fighting on the front lines or fanning the flames of COVID-19? / J.L. McKechnie, C.A. Blish // Cell Host Microbe. – 2020;27(6):863– 869. doi: 10.1016/j.chom.2020.05.009.
11. Sheetz, M.J. Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications / M.J. Sheetz, G.L. King // JAMA. – 2002;288(20):2579–2588. doi: 10.1001/jama.288.20.2579.
12. Turgay Yıldırım, Ö. The atherogenic index of plasma as a predictor of mortality in patients with COVID-19 / Ö. Turgay Yıldırım, Ş. Kaya // Heart Lung. – 2021;50(2):329–333. doi: 10.1016/j.hrtlng.2021.01.016.
13. Yang, J.K. Binding of SARS coronavirus to its receptor damages islets and causes acute diabetes / J.K. Yang, et al. // Acta Diabetol. – 2010;47(3):193– 199. doi: 10.1007/s00592-009-0109-4.
14. Zhang, Y. SARS-CoV-2 hijacks folate and one-carbon metabolism for viral replication / Y. Zhang, et al. // Nature Communications, v. 12, article number: 1676. – 2021; DOI: [10.1038/s41467-021-21903-z](https://doi.org/10.1038/s41467-021-21903-z).
15. Zhu, L. Association of blood glucose control and outcomes in patients with COVID-19 and pre-existing type 2 diabetes / L Zhu, et al. // Cell Metab. – 2020;31(6):1068–1077.e3. doi: 10.1016/j.cmet.2020.04.021.

ЭКСПРЕССИЯ Р-ГЛИКОПРОТЕИНА В ЛИМФОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ СОЛЕЙ ЛИТИЯ В ТОКСИЧЕСКИХ ДОЗАХ *IN VITRO*

Зубрицкая Г.П., Слобожанина Е.И.

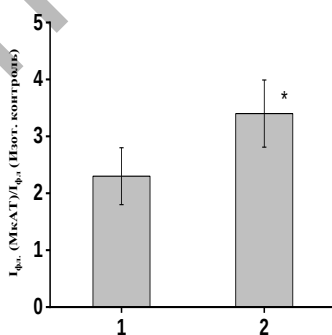
*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. Известно, что лекарственные средства, содержащие литий обладают «пороговым» эффектом воздействия, т.е. ниже определенной концентрации они не влияют на патологический процесс, а при накоплении высокой концентрации в организме проявляют токсический эффект. Механизмы токсического действия ионов лития на клетки крови и в частности на лимфоциты не выяснены. Так как клетки экспрессируют мембранные белки-транспортеры с помощью энергии АТФ, которые выводят их из цитоплазмы в наружную среду, нами предположено, что токсическое действие ионов лития на лимфоциты могут быть связаны с изменением функциональной активности мембранных белков-транспортеров (важнейшим переносчиком ксенобиотиков для лимфоцитов является Р-гликопротеин (Pgp)). Влияние лития в токсических дозах на экспрессию белка – транспортера Р-гр в лимфоцитах до наших исследований было не изучено.

Цель – выявить влияние ионов лития в высоких концентрациях на экспрессию белка-транспортера P-gr в лимфоцитах периферической крови человека *in vitro*.

Материалы и методы исследования. Лимфоциты получали из периферической крови доноров в градиенте плотности гистобака (Sigma). Для проведения исследования к клеточной суспензии лимфоцитов добавляли PE-конъюгированные моноклональные антитела (МкАТ) клон UIC2 (UIC2-PE), а также на клетки воздействовали сульфатом и хлоридом лития в токсической (10 мМ) концентрации в течении 15 ч. В качестве изотипического контроля использовали мышиные МкАТ IgG2a. Измерения проводили на проточном цитофлуориметре в FL1-H канале и по отношению интенсивности флуоресценции UIC2-PE к интенсивности флуоресценции изотипического контроля IgG2a-PE судили о степени экспрессии данного белка в исследуемых клетках.

Результаты и обсуждение. Из литературы известно, что литий снижает транспортную активность белка P-gr в мозговой ткани и повышает проникновение ряда лекарств в центральную нервную систему, но практически не влияет на активность P-gr в почках и печени [1]. Что касается лимфоцитов периферической крови, то ранее нами было обнаружено, что транспортная активность мембранных белков-транспортеров в лимфоцитах человека зависит от концентрации и латерального распределения холестерина в их мембранах [2]. Как показывают данные рентгеноструктурного анализа и компьютерного моделирования, внутренний цитоплазматический домен белка P-gr, помимо участков связывания для ксенобиотиков и для АТФ, имеет также участки для аллостерического связывания одно- и двух валентных ионов металлов-активаторов.



$I_{fl. (MkAT)}$ -интенсивность флуоресценции специфического моноклонального антитела против P-gr, $I_{fl. (Isot. control)}$ - интенсивность флуоресценции антитела IgG2a (изотипического контроля) для моноклональных антител против P-gr

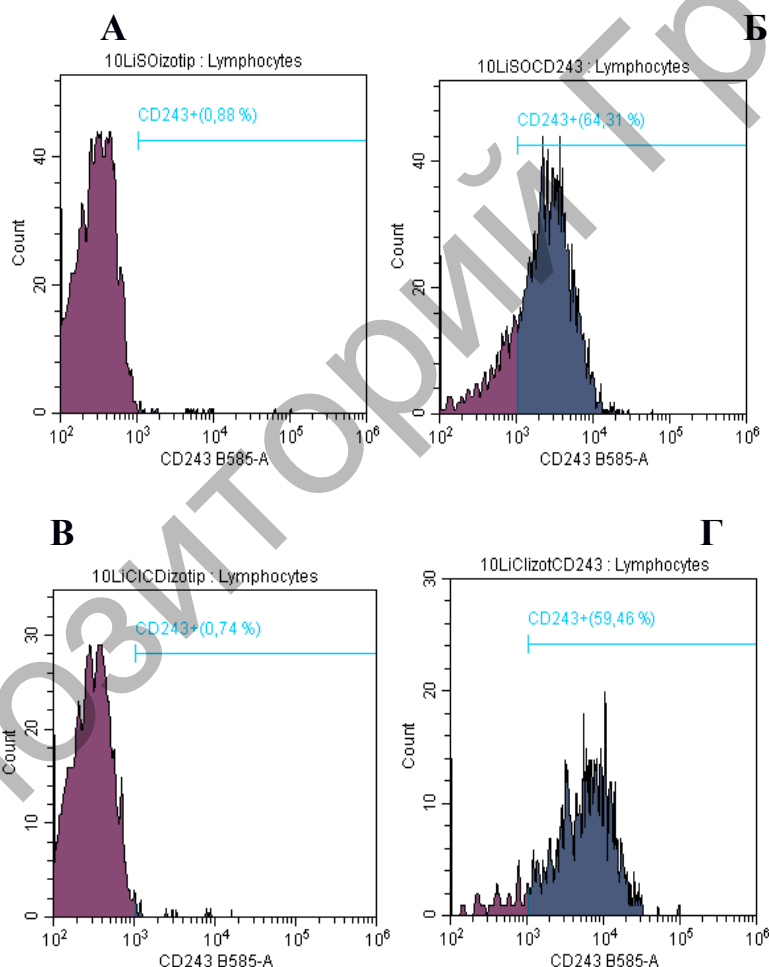
*- различия по сравнению с интактными лимфоцитами достоверны ($p < 0,05$)

Рисунок 1 – Экспрессия P-gr в суммарной популяции интактных лимфоцитов (1) и подвергшихся воздействию 10 мМ Li_2SO_4 (2).

Оценку экспрессии белка-транспортера P-gr рассчитывали по отношению интенсивности флуоресценции комплекса «P-gr-UIC2-PE» к интенсивности флуоресценции изотипического контроля IgG2a-PE. Нами было выявлено, что в

интактных лимфоцитах доноров (инкубация по времени с антителом и изотипическим контролем была одинаковая, как и для клеток, подвергшихся воздействию солей лития) отношение интенсивности флуоресценции комплекса «P-gr-UIC2-PE» к интенсивности флуоресценции изотипического контроля Ig2a-PE составляла в среднем $2,3 \pm 0,5$, а в лимфоцитах, подвергшихся 10 mM Li_2SO_4 – $3,4 \pm 0,59$ (рисунок1).

Полученные результаты демонстрируют, что степень экспрессии P-gr в среднем на 40% выше в лимфоцитах, подвергшихся воздействию сульфата лития в токсической концентрации. На рисунке 2 представлены интенсивности флуоресценции комплекса «P-gr-UIC2-PE» и изотипического контроля Ig2a-PE лимфоцитов при воздействии на них сульфата и хлорида лития в концентрации 10 mM. Интенсивность флуоресценции комплекса «P-gr-UIC2-PE» в лимфоцитах, обработанных хлоридом лития была ниже по сравнению с аналогичным комплексом, характерного для сульфата лития.



Репрезентативная гистограмма распределения интенсивности флуоресценции PE-меченных антител к P-gr (Б, Г) и IgG 2a-PE (изотипический контроль А, В) в общей популяции лимфоцитов подвергшихся воздействию 10 mM Li_2SO_4 (Б) и LiCl (Г)

Рисунок 2 – Цитофлуориметрический анализ лимфоцитов периферической крови доноров

Выводы. Таким образом обнаружено, что содержание Р-gr на поверхности плазматических мембран лимфоцитов доноров, подверженных воздействию токсической концентрации сульфата лития увеличено по сравнению с контролем (не обработанных солью лития), что может указывать на активацию экспрессии Р-gr, который способен участвовать в процессах детоксикации от токсических метаболитов, что является актуальным и полезным при решении вопроса для терапии препаратами лития.

Работа поддержана грантом БРФФИ Б23-107.

ЛИТЕРАТУРА

1. Yakusheva E. Functional activity of p-glycoprotein during experimental manipulations / E. Yakusheva, A. Shculkin, I. Chernych // I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald. –2024. Vol.22, – N 2, –P.76-79.

2. Тамашевский А.В., Гармаза Ю.М., Пасюков В.В., Слобожанина Е.И. Экспрессия транспортных и цитозольных белков при формировании множественной лекарственной устойчивости в клетках миеломы человека *in vitro* // А.В. Тамашевский Ю.М. Гармаза, В.В.Пасюков, Е.И. Слобожанина /Актуальные вопросы биологической физики и химии. –2020. – Т. 4. – С. 672-678.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И РОЛЬ ГУАНИНОВЫХ КВАДРУПЛЕКСОВ В РЕГУЛЯЦИИ БИОЭНЕРГЕТИКИ, АПОПТОЗА И ФЕРРОПТОЗА В МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК *KLUYVEROMYCES LACTIS*

**Коваль А. Н., Алексейко Л. Н., Логвинович О. С., Сергеенко С. М.,
Мышковец Н.С., Гринкевич М. В., Власенко А. О.**

*Гомельский государственный медицинский университет
Гомель, Республика Беларусь*

Актуальность. Гуаниновые квадруплексы (G4) – вторичные структуры ДНК, формирующиеся в участках, богатых гуанином, – играют важную роль в регуляции клеточных процессов. В митохондриальной ДНК (мтДНК) G4 влияют на транскрипцию и репликацию генов, обеспечивающих биоэнергетику клетки [3]. У *Kluyveromyces lactis*, модельного организма с активным дыхательным метаболизмом, эти структуры могут модулировать экспрессию генов дыхательной цепи, таких как COX2 и CYTB, что критично для синтеза аденозинтрифосфата (АТФ). Кроме того, G4 связаны с программированной клеточной смертью – апоптозом и ферроптозом, – оказывая влияние на окислительный стресс и метаболизм железа [1]. Их стабилизация или нарушение в мтДНК рассматривается как перспективная терапевтическая мишень в онкологии, где митохондриальная дисфункция способствует прогрессированию рака и устойчивости к химиотерапии [1]. Изучение G4 в мтДНК *K. lactis* открывает новые горизонты для понимания их регуляторных

функций и разработки подходов к управлению митохондриальными процессами в норме и патологии.

Цель. Сравнить эффективность биоинформатических алгоритмов (G4-PREDICTOR v.1, v.2 и gquad) [4, 5] для идентификации G4 в мтДНК *K. lactis* и оценить их потенциальную роль в регуляции биоэнергетики, апоптоза и ферроптоза, а также их значение как мишеней для терапевтического воздействия.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования служила мтДНК *K. lactis* (NC_006077.1, длина 40 291 пар оснований). Анализ проводили с использованием трёх методов: 1) G4-PREDICTOR версии 1 – алгоритм, оценивающий стабильность G4 по параметру cG/cC score, где учитывается соотношение гуанинов и цитозинов; 2) G4-PREDICTOR версии 2 – обновлённая версия с повышенной чувствительностью; 3) gquad (пакет R) [5] – вероятностная модель, использующая параметр "likeliness" для поиска как стабильных, так и нерегулярных G4. Шаблон для G4 определялся как последовательность вида $G_{3-5}N_{1-7}G_{3-5}N_{1-7}G_{3-5}N_{1-7}G_{3-5}$, где G – гуанин, N – любой нуклеотид (A, T, C, G), а числа обозначают количество нуклеотидов в G-трактах (3–5) и петлях (1-7). Результаты валидировали через базу данных G4IPDB [4]. Критериями анализа были количество G4, их длина, распределение по цепям (sense и anti-sense), позиций в геноме и совпадение с экспериментальными данными. Особое внимание уделялось близости G4 к генам дыхательной цепи (COX1, COX2, CYTB) и некодирующим регионам, включая D-петлю.

Результаты и обсуждение. Митохондриальный метаболизм *K. lactis* обеспечивает энергетический гомеостаз через цикл Кребса и окислительное фосфорилирование, зависящие от экспрессии генов мтДНК. Сравнение эффективности методов предсказания G4 представлено в таблице 1:

Таблица 1 - Сравнение биоинформационных методов нахождения G4 в митохондриальной ДНК *Kluyveromyces lactis*.

Метод	Количество G4	Длина (п.н.)	Совпадение с G4IPDB	Особенности
G4-PREDICTOR v.1	28 (16 sense, 12 anti-sense)	12–30	5 мотивов (~18%)	Жёсткий отбор, пропуск слабых G4
G4-PREDICTOR v.2	200 (103 sense, 97 anti-sense)	8–30	12 мотивов (6%)	Высокая чувствительность, много ложноположительных
gquad	121	12–54	18 мотивов (~15%)	Сбалансированная точность, оценка "likeliness"

G4-PREDICTOR v.1 выявил 28 стабильных G4 (16 на sense-цепи, 12 на anti-sense) длиной 12–30 п.н., включая мотив GGGGGGGGGGGG (позиции 6612–6623) в гене COX2, кодирующем субъединицу комплекса IV дыхательной цепи. Совпадение с G4IPDB составило 5 мотивов (18%), что отражает жёсткий отбор

алгоритма, пропускающего менее стабильные G4. G4-PREDICTOR v.2 обнаружил 200 G4 (103 sense, 97 anti-sense) длиной 8–30 п.н., но только 12 мотивов (6%) подтверждены G4IPDB. Высокая чувствительность метода привела к значительному числу ложноположительных результатов, требующих дополнительной верификации. gquad идентифицировал 121 G4 длиной 12–54 п.н., включая нерегулярные структуры с длинными петлями, с совпадением 18 мотивов (15%) с G4IPDB [5]. Этот метод показал сбалансированную точность, выявляя как классические, так и переменные G4, что важно для анализа динамических процессов в мтДНК.

G4 в генах COX2, COX1 и CYTB, как показано в исследованиях мтДНК [2], могут регулировать транскрипцию, влияя на сборку дыхательной цепи и синтез АТФ. Их стабильность зависит от внутриклеточной концентрации ионов K^+ , что связывает G4 с уровнем энергизации клетки [3]. При окислительном стрессе (например, под действием H_2O_2) нестабильность мтДНК, обусловленная G4, усиливает продукцию активных форм кислорода (АФК), инициируя апоптоз через митохондриальную дисфункцию и высвобождение проапоптотических факторов [3]. Вторичные метаболиты растений, такие как кверцетин и берберин, стабилизируют G4 в мтДНК, усиливая окислительный стресс и апоптоз в раковых клетках, что делает их перспективными агентами для онкологии [1]. Например, кверцетин нарушает репликацию мтДНК, повышая образование АФК и вызывая митохондриальную дисфункцию, что особенно эффективно против раковых клеток с повышенной метаболической активностью [1].

G4 также участвуют в ферроптозе – железо-зависимой клеточной смерти. Их стабилизация под действием окислителей нарушает работу дыхательной цепи, усиливая АФК и перекисное окисление липидов. Связь с метаболизмом железа проявляется через регуляцию генов синтеза Fe-S-кластеров (например, HEM1), где IRE-подобные элементы в мРНК увеличивают накопление Fe^{2+} , катализирующего реакции Фентона и ферроптоз [1]. Таким образом, G4 в мтДНК *K. lactis* выступают как многофункциональные регуляторы, связывающие биоэнергетику с запрограммированной клеточной смертью и открывающие возможности для терапевтического воздействия в онкологии и других патологиях, связанных с митохондриальной дисфункцией.

Выводы

1. G4-PREDICTOR v.1 эффективен для выявления стабильных G4 в промоторных и кодирующих регионах мтДНК, таких как COX2, регулирующих гены дыхательной цепи, но пропускает слабые структуры из-за жёсткого отбора.

2. G4-PREDICTOR v.2 обладает высокой чувствительностью, выявляя 200 G4, включая нестабильные мотивы, но требует верификации из-за ложноположительных результатов; gquad, идентифицируя 121 G4, включая нерегулярные структуры, обеспечивает сбалансированную точность и подходит для анализа динамической регуляции при стрессе.

3. G4 в мтДНК *K. lactis* регулируют биоэнергетику через влияние на транскрипцию генов дыхательной цепи, а также связаны с апоптозом и

ферроптозом, усиливая окислительный стресс и метаболизм железа, что делает их перспективной мишенью для воздействия растительными метаболитами в онкологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вторичные метаболиты растений и митохондриальные G-квадруплексы: терапевтический потенциал в лечении рака / А. Н. Коваль, А. В. Литвинчук, О. С. Логвинович [и др.] // Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине : сборник научных трудов 5-й Международной конференции, посвященной 155-летию со дня рождения профессора Е.С. Лондона, Санкт-Петербург, 05–06 декабря 2024 года. – Санкт-Петербург: Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, 2024. – С. 175-180.

2. Грицук, А. И. Роль гуаниновых квадруплексов как возможной мишени воздействия на митохондриальную днк при инкорпорации ^{137}Cs / А. И. Грицук, А. Н. Коваль // Радиобиология: актуальные проблемы : Материалы международной научной конференции, Гомель, 27–28 сентября 2018 года / Национальная академия наук Беларуси; Государственное научное учреждение «Институт радиобиологии национальной академии наук Беларуси; Международный научный центр минимизации радиационных рисков. – Гомель: Институт радиобиологии национальной академии наук Беларуси, 2018. – С. 50-53.

3. Содержание ионов калия в цитоплазме и гуаниновых квадруплексов в митохондриальной ДНК как показатели обеспеченности клетки энергией / А. Н. Коваль, Л. Н. Алексейко, О. С. Логвинович, Н. С. Мышковец // Биохимия и молекулярная биология. – 2024. – Т. 3, № S1(4). – С. 37-38.

4. G4IPDB: A database for G-quadruplex structure forming nucleic acid interacting proteins / Mishra S. K., Rawal K. K., Jha S. K. et al. // Scientific Reports. – 2016. – Vol. 6, № 1. – P. 38144.

5. gquad: Prediction of G Quadruplexes and Other Non-B DNA Motifs (ver. 2.1-2). – URL: <https://cran.r-project.org/package=gquad> (дата обращения: 28.03.2025).

ИНГИБИТОРЫ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ НА ОСНОВЕ ФТОРЗАМЕЩЕННЫХ 3-АРИЛ-5-КАРБОКСАМИД-2- ИЗОКАЗОЛИНОВ

*Ковганко Н.Н., Пархач М.Е., Борисевич С.Н., Глинник С.В.,
Принькова Т.Ю., Латушко Т.В., Галюк Е.Н.*

*Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Беларусь*

Актуальность. Несмотря на обширную фармацевтическую разработку лекарственных препаратов, направленных на борьбу с тромбозами, проблемы, вызываемые этим заболеванием, остаются крайне серьезными. Тромбы, отрываясь от места образования, могут переноситься током крови в различные органы, вызывая тяжелейшие осложнения. Закупорка сосудов приводит к

прекращению поступления кислорода и питательных веществ к тканям, что вызывает их повреждение и, в тяжелых случаях, гибель. Своевременная и адекватная профилактика, а также грамотное лечение тромбозов, критически важны для увеличения продолжительности и улучшения качества жизни пациентов. Кроме того, эффективное лечение способствует существенной экономии ресурсов здравоохранения. Однако, несмотря на достижения в этой области, поиск новых лекарственных средств остается крайне важной задачей. Существующие антиагреганты часто имеют существенные побочные эффекты [1]. Поэтому, разработка новых, более безопасных и эффективных лекарств – это приоритет современной фармацевтики. Одним из перспективных направлений в этом поиске является изучение производных изоксазола [1,2]. Среди этих соединений обнаружены вещества, способные блокировать рецепторы GPIIa/IIIb на поверхности тромбоцитов. Эти рецепторы играют центральную роль в процессе агрегации тромбоцитов. Изоксазолиновый цикл, структурный аналог изоксазольного, также демонстрирует потенциал в создании новых ингибиторов агрегации тромбоцитов [2]. Ранее нами показано, что метиловые эфиры производных 2-изоксазин-5-карбоновой кислоты продемонстрировали более выраженную способность подавлять активность рецепторов GPIIa/IIIb по сравнению с соединениями, имеющими свободную карбоксильную группу [3]. Это важно, потому что именно в активном состоянии эти рецепторы связываются с фибриногеном – белком, обеспечивающим адгезию тромбоцитов между собой.

Цель работы – изучить способность амидов моно- и дифторзамещенных 3-арил-2-изоксазолин-5-карбоновой кислоты ингибировать АДФ-зависимую агрегацию тромбоцитов.

Материалы и методы. В качестве потенциальных ингибиторов агрегации тромбоцитов исследованы соответствующие производные 3-арил-2-изоксазолин-5-амида (таблица 1), общая формула которых представлена ниже.

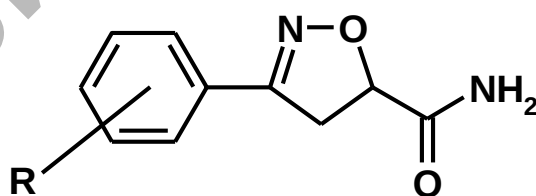


Таблица 1 – Название и структура веществ

Номер	Название	Заместители R
1	Амид 3-(2-фторфенил)-2-изоксазолин карбоновой кислоты	2-F
2	Амид 3-(3-фторфенил)-2-изоксазолин карбоновой кислоты	3-F
3	Амид 3-(4-фторфенил)-2-изоксазолин карбоновой кислоты	4-F
4	Амид 3-(2,3-дифторфенил)-2-изоксазолин карбоновой кислоты	2,3-FF
5	Амид 3-(2,4-дифторфенил)-2-изоксазолин карбоновой кислоты	2,4-FF
6	Амид 3-(3,4-дифторфенил)-2-изоксазолин карбоновой кислоты	3,4-FF

Агрегацию тромбоцитов контролировали по пропусканию света [2], используя агрегометр Solar 2111 (Solar, Belarus). Для этого 480 мкл плазмы, богатой тромбоцитами (содержание 200×10^9 тромбоцитов/л) в реакционном сосуде предварительно инкубировали с 20 мкл физиологического раствора (контроль) или исследуемым веществом. Через 3 минуты инкубации добавляли 20 мкл раствора АДФ (8 мкМ) для инициирования агрегации тромбоцитов, которую измеряли в течение 6 минут. Все измерения проводили в трех повторах. Ингибирование агрегации тромбоцитов выражалось в процентах по отношению к контролю (физиологический раствор). В качестве контроля использовали клопидогрел (конечная концентрация 5 и 10 мкмоль/л).

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 эффлекторов.

Таблица 2 – Ингибирующая активность полученных соединений

Вещество	Ингибирующая активность, %	
	При 5 мкмоль/л	При 10 мкмоль/л
1	27	34
2	29	37
3	24	31
4	39	46
5	42	49
6	37	43
контроль	67	77

Следует отметить, что соединения **4-6**, содержащие два атома фтора в ароматическом кольце в сравнении с веществами **1-3**, содержащих всего один атом фтора казанном фрагменте, проявили более сильную способность к связыванию с тромбоцитарными рецепторами GPIIa/IIIb, в котором они далее способны связываться с фибриногеном и, соответственно, в дальнейшем подвергаться агрегации.

Закключение. Производные 3-арил-5-карбоксамид-2-изоказолинов, содержащие два атома фтора в бензольном кольце, проявили способность к более активному ингибированию тромбоцитарных рецепторов GPIIa/IIIb, чем аналогичные соединения, содержащие всего один атом фтора в ароматическом фрагменте.

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 / M. Gutiérrez, et al // Platelets. – 2014. – Vol. 25, № 4. – P. 234-238.

3. Ингибиторы агрегации тромбоцитов на основе производных 3-арил-2-изоказолин-5-карбоновой кислоты / Н.Н. Ковганко и др. // Актуальные проблемы общей и клинической биохимии – 2024: сб. материалов республиканской научно-практической конференции, г. Гродно, 24 мая 2024 г. / отв. ред. В. В. Лелевич. – Гродно: ГрГМУ, 2024. – С. 185-188.

ВЛИЯНИЕ ПРОЛИНСОДЕРЖАЩИХ ДИПЕПТИДОВ НА ПОВЕДЕНИЕ «CLIMBING» ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ ICR В «FORCED SWIM TEST»

***Кравченко Е.В.¹, Ольгомец Л.М.¹, Саванец О.Н.¹, Бизунок Н.А.²,
Дубовик Б.В.², Зильберман Р.Д.¹***

¹*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси;*

²*Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. Тест FST (Forced Swim Test), первоначально разработанный Porsolt et al., доказал свою высокую эффективность для оценки эффектов большинства антидепрессантов, которые доступны в настоящее время. Основная проблема с традиционным FST связана с ненадежным обнаружением антидепрессантного эффекта селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗС). В связи с этим в последние годы введены некоторые изменения в протокол теста, которые позволили расчленить поведение, направленное на выход из стрессовой ситуации в FST, на две различные категории, а именно: 1) клаймбинг («climbing») с вертикальным движением передних лап; 2) плавание («swimming») с горизонтальными движениями лап по всей камере для проведения теста.

С помощью фармакологических и патологоанатомических исследований установлено, что активные формы поведения находятся преимущественно под контролем различных нейромедиаторных систем. В частности, катехоламинергические антидепрессанты избирательно повышают поведение «climbing», тогда как серотонинергические агенты избирательно повышают поведение «swimming» [2]. Например, было показано, что антидепрессантные свойства агонистов ГАМК-В рецепторов преимущественно опосредуются через серотонинергическую систему, поскольку они увеличивают долю поведения «swimming», и что такое поведение ослабляется последующим центральным истощением 5-НТ.

Одним из подходов к поиску средств фармакотерапии депрессии является изучение соединений, имеющих сходную структуру с активными фрагментами пептидов–регуляторов ЦНС из группы гипофизарных гормонов. Опубликованы данные о влиянии дипептида Pro-Leu (фрагмент окситоцина - ОТ) на поведение

«swimming» в тесте FST [1]. Вместе с тем, эффекты в отношении «climbing» для дипептидов Pro-Leu и B-111 (ретро-аналог фрагмента OT) не описаны.

Цель: оценка влияния дипептидов Pro-Leu и B-111 (внутрибрюшинно - в/б) в условиях «острой» стрессирующей ситуации (принудительное плавание) на поведение аутбредных мышей ICR.

Материалы и методы исследования. Исследования проведены в Институте биоорганической химии НАН Беларуси на аутбредных мышах – самцах ICR. В исследованиях использовали соединение B-111 и Pro-Leu – аутбредных половозрелых, самцах. В исследованиях использовали соединение B-111 и Pro-Leu – (P1130), сер. номер BCCB0437, «Sigma Aldrich», США.

Модель, предложенная Porsolt et al. (1977, 1978), используется в фармакологии на протяжении нескольких десятилетий; тест имеет высокую специфичность (Crawley J.N., 2007) и установленную предсказательную валидность [2] для депрессии, вызванной стрессом.

Эксперименты проводили с использованием установки «Kinder Scientific Company LLC Forced Swim Systems, Motor Monitor» (США). Животных помещали в прозрачный цилиндр, наполненный водой (25 °C). После неудачных попыток выбраться из воды животные принимают характерную неподвижную позу, что расценивается как проявление «отчаяния». Регистрировали активные попытки грызунов выбраться из воды на протяжении первых 6 мин после погружения в воду. Под влиянием антидепрессантов, независимо от механизма их действия, усиливается активное поведение животных (Андреева Н.И., 2000). В ходе эксперимента регистрировали длительность (в секундах) периодов активного плавания в варианте «climbing»; число и долю в популяции особей с поведением «climbing».

До введения образцов и начала тестирования проводили оценку зоосоциального статуса особи: регистрировали число зоосоциальных контактов (обнюхивание, аллогруминг, атаки, определяемые визуально согласно этологическому атласу) в условиях территориального конфликта, спровоцированного подсадкой «интродера» (мышь линии C57Bl/6) в «домашнюю клетку» к десяти аутбредным мышам ICR – «резидентам». Оценивали влияние дипептидов на поведение в FST мышей неранжированной популяции и особей с высокой зоосоциальной активностью (3 и более контактов).

Дипептиды B-111 и Pro-Leu вводили мышам внутрибрюшинно (в/б) в дозах 0,1 и 0,5 мг/кг за 20-45 мин до помещения животных в цилиндр с водой.

Результаты и обсуждение. В условиях проведенных нами экспериментов активное плавание в варианте «climbing» в контрольной и основных группах было отмечено в первую минуту эксперимента. Введение B-111 в дозе 0,5 мг/кг (но не 0,1 мг/кг) способствовало статистически значимому возрастанию числа особей в популяции с поведением «climbing». Доля особей с активным плаванием в указанном варианте возрастала в 3 раза ($p < 0,05$) после введения B-111. Продолжительность «climbing» у мышей неранжированной популяции, получавших B-111, увеличивалась в 4,4 раза ($p < 0,05$).

Чувствительность мышей с активным фенотипом зоосоциального реагирования к В-111 (0,5 мг/кг) в FST несущественно превышала таковую особей неранжированной популяции. У «социально активных» животных после назначения В-111 (0,5 мг/кг) доля в популяции особей с поведением «climbing» повышалась в 3,6 раз, а продолжительность «climbing» – в 6,25 раз ($p < 0,05$). Применение В-111 в дозе 0,1 мг/кг и Pro-Leu в дозах 0,1 и 0,5 мг/кг существенно не влияли на поведение «climbing» мышей ICR (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние однократного внутрибрюшинного введения дипептидов на активное плавание («climbing») мышей-самцов ICR в FST

Группа/доза (мг/кг)/число животных	Продолжительность, с	Доля особей с поведением «climbing», %	Число особей с поведением «climbing»
мыши ICR неранжированной популяции			
Контроль, n=20	0,5±0,2	20,0	4/20
Pro-Leu 0,1; n=10	0,6±0,3	30,0	3/10
Pro-Leu 0,5; n=10	0,8±0,4	30,0	3/10
В-111 0,1; n=10	1,4±0,8	40,0	4/10
В-111 0,5; n=10	2,2±0,9*	60,0	6/10 [@]
мыши ICR с высокой зоосоциальной активностью			
Контроль, n=17	0,4±0,2	17,6	3/17
Pro-Leu 0,1; n=10	0,6±0,3	30,0	3/10
Pro-Leu 0,5; n=9	0,9±0,5	33,3	3/9
В-111 0,1; n=9	1,6±0,9	44,4	4/9
В-111 0,5; n=8	2,5±1,1*	62,5	5/8

Примечание: различия с контролем статистически значимы, $p < 0,05$: * - критерий Манна-Уитни; [@] - точный критерий Фишера

Выводы. Введение В-111 (0,5 мг/кг, в/б) способствует повышению продолжительности активного плавания в варианте «climbing» и увеличению доли особей в популяции, у которых отмечена указанная категория активного плавания. Полученные данные позволяют предположить сходство потенциального механизма действия В-111 с катехоламинергическими антидепрессантами, которые избирательно усиливают «climbing».

ЛИТЕРАТУРА

1. Кравченко, Е.В. Влияние пролинсодержащих дипептидов на поведение лабораторных мышей в Forced Swim Test / Е.В. Кравченко [и др.] // Актуальные вопросы фармакологии и фармакотерапии : сборник материалов научно-практической конференции, посвящённой 100-летию со дня рождения профессора Михаила Васильевича Кораблёва, 24 января 2023 г. [Электронный ресурс] / отв. ред. С. Б. Вольф. – Электрон. текст. дан. (объем Мб). – Гродно : ГрГМУ, 2023. – С. 82-85.

2. Hao Y., Ge H., Sun M. [et al.] Selecting an Appropriate Animal Model of Depression // Int. J. Mol. Sci. – 2019. – V. 20. – P. 4827.

3. Rahman, H. Mechanisms of oral ciprofloxacin-induced depressive-like behavior and the potential benefit of lactulose: A correlation analysis / H. Rahman, K. Anggadiredja, L. Sasongko // Toxicology Reports. - 2025. - Vol. 14. - 101920.

ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛА И СУКЦИНАТА IN VITRO НА ДЫХАНИЕ ГОМОГЕНАТОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ХРОНИЧЕСКИ АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС

Лелевич А.В., Янковская Е.И.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Длительное поступление этанола в организм приводит к формированию физической зависимости [5]. До половины людей с длительным употреблением алкоголя испытывают состояние его отмены, когда потребление значительно снижается или прекращается. В наиболее тяжелой форме оно может быть опасным для жизни [6]. Предполагается, что основе проявления клинических признаков алкогольного абстинентного синдрома лежат нарушения метаболических процессов в митохондриях [4]. Показано, что краткие эпизоды умеренной гипоксии и реоксигенизации у экспериментальных животных в течение нескольких дней или недель уменьшают потребление алкоголя и признаки абстиненции [1]. Процессы, происходящие в клетках головного мозга при хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) и абстиненции требуют дальнейшего изучения. Невыясненным остается вопрос, как непосредственно влияет этанол на тканевое дыхание у алкоголизированных крыс.

Цель исследования – оценить скорость потребления кислорода гомогенатами коры больших полушарий и мозжечка головного мозга крыс в условиях хронической алкоголизации, отмены этанола, а также влияние на нее этанола и сукцината in vitro.

Материалы и методы исследования. Эксперименты были выполнены на 28 белых беспородных крысах-самцах. Эксперименты проведены в соответствии с принципами экспериментальной биоэтики.

ХАИ моделировали методом неполной водной депривации [2]. Опытная группа крыс в течение 8 месяцев потребляла 15% раствор этанола в качестве единственного источника жидкости. Животных содержали на сухом корме. Контрольная группа содержалась в аналогичных условиях и потребляла воду. Алкогольный абстинентный синдром моделировали у хронически алкоголизированных крыс путем замены раствора этанола на воду на периоды времени, равные 1-м и 3-м суткам. Животные были разделены на следующие группы: 1-я – контроль (n=7), 2-я – ХАИ (n=7), 3-я – одни сутки отмены этанола (n=7), 4-я – трое суток отмены этанола (n=7).

После декапитации на холоде выделяли кору больших полушарий и мозжечок, готовили гомогенаты. Определяли скорость потребления кислорода (СПК) гомогенатами мозга крыс. Методику осуществляли в полярографической закрытой термостатируемой ячейке, объемом 1,25 мл с помощью электрода

Кларка на полярографе LP-7e (Чехия) [3]. Последовательно регистрировали дыхание на эндогенных субстратах, при добавлении раствора этанола в конечной концентрации 50 мкмоль/л и затем после внесения 5 ммоль/л сукцината натрия.

Для сравнения величин использовались непараметрические критерии Краскела-Уоллиса, U Манна-Уитни и Т-критерий Вилкоксона. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистическую обработку данных осуществляли с применением пакета STATISTICA 10.0.

Результаты и обсуждение. При ХАИ в гомогенатах коры больших полушарий головного мозга крыс отмечается увеличение СПК по сравнению с контрольной группой с 0,006 (0,0046; 0,009) до 0,011 (0,0087; 0,014) мл $O_2 \times \text{мин/г}$ ткани, соответственно, $p=0,02$ (рисунок 3.1). В гомогенатах мозжечка крыс при ХАИ также происходит увеличение СПК по сравнению с контрольной группой с 0,004 (0,003; 0,0057) до 0,013 (0,011; 0,018) мл $O_2 \times \text{мин/г}$ ткани, соответственно, $p=0,002$. Можно предположить, что повышение СПК у крыс при ХАИ развивается как приспособительный механизм, который позволяет эффективно функционировать процессам тканевого дыхания, обеспечивая потребности головного мозга в кислороде у алкоголизованных крыс.

При отмене этанола отмечается падение интенсивности дыхательной активности гомогенатов коры головного мозга относительно группы с ХАИ: на первые сутки отмены – до 0,0036 (0,0013; 0,0065) мл $O_2 \times \text{мин/г}$ ткани, $p=0,0027$, на третьи сутки отмены – до 0,009 (0,003; 0,009) мл $O_2 \times \text{мин/г}$ ткани, $p=0,045$ (рисунок 3.1), а также гомогенатов мозжечка: на первые сутки отмены – до 0,0028 (0,0015; 0,0047) мл $O_2 \times \text{мин/г}$ ткани, $p=0,001$, на третьи сутки отмены – до 0,0018 (0,0014; 0,0023) мл $O_2 \times \text{мин/г}$ ткани, $p=0,001$. На третьи сутки отмены этанола СПК снижается статистически значимо по сравнению с контрольной группой, $p=0,049$.

При инкубации гомогенатов головного мозга крыс с этанолом изменения исследуемого показателя происходят в коре больших полушарий головного мозга крыс с отменой этанола на третьи сутки. Так, СПК возрастает при добавлении этанола до 0,013 (0,0096; 0,014) мл $O_2 \times \text{мин/г}$ ткани, $p=0,04$. Угнетение скорости дыхания при отмене этанола и выраженное усиление ее при инкубации гомогенатов с этанолом свидетельствует о необходимости присутствия этанола в повышенной концентрации для процессов тканевого дыхания у алкоголизованных крыс. Можно заключить, что непосредственно этанол выступает фактором ускорения СПК.

После инкубации гомогенатов с этанолом стимуляция дыхания сукцинатом приводит к статистически значимому повышению СПК гомогенатами коры больших полушарий головного мозга крыс в контрольной группе до 0,024 (0,02; 0,027) мл $O_2 \times \text{мин/г}$ ткани, ($p=0,01$) и в группе с хронической алкоголизацией до 0,029 (0,025; 0,036) мл $O_2 \times \text{мин/г}$ ткани ($p=0,01$). В группах с отменой этанола подобного эффекта не наблюдалось.

Похожие результаты получены и в гомогенатах мозжечка при стимуляции дыхания сукцинатом. Повышение скорости дыхания до 0,021 (0,014; 0,028) мл $O_2 \times \text{мин/г}$ ткани ($p=0,001$) наблюдалось в контрольной группе,

и до 0,031 (0,024; 0,044) мл $O_2 \times \text{мин/г}$ ткани ($p=0,002$) в группе с ХАИ. В группах с отменой этанола стимулирующий эффект сукцината в мозжечке отсутствовал. Отсутствие стимулирующего эффекта сукцината (после этанола) в группах животных с абстиненцией может указывать на повышение активности сукцинатдегидрогеназы под действием этанола при отмене алкоголя у крыс.

Выводы:

1. При хронической алкогольной интоксикации у крыс происходит повышение дыхательной активности гомогенатов коры больших полушарий головного мозга на эндогенных субстратах.
2. В период отмены этанола нарушается утилизация кислорода гомогенатами головного мозга крыс, в коре больших полушарий и мозжечке скорость потребления кислорода снижается на 1-е и 3-и сутки абстиненции.
3. Этанол *in vitro* не изменяет скорость потребления кислорода гомогенатами головного мозга крыс на фоне хронической алкогольной интоксикации. При алкогольной абстиненции этанол стимулирует скорость потребления кислорода в коре больших полушарий на 3-и сутки отмены этанола.
4. Добавление сукцината к гомогенатам головного мозга повышает скорость потребления кислорода в группах контрольных животных и с хронической алкогольной интоксикацией. Отсутствие стимулирующего эффекта сукцината в группах с отменой этанола свидетельствует о значительной активации сукцинатдегидрогеназного пути у данных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адаптация к периодической гипоксии уменьшает потребление этанола и абстинентные повреждения внутренних органов при его отмене у хронически алкоголизированных животных / Ф. З. Меерсон [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1992. – Т. 114, № 12. – С. 574-578.
2. Буров, Ю. В. Биологические модели хронического алкоголизма / Ю. В. Буров, В. Н. Жуков // Теоретические основы поиска средств для лечения алкоголизма : обзоры / под ред. А. В. Вальдмана. – Москва : ВИНТИ, 1984. – С. 57-92.
3. Коваленко, Е. А. Полярографическое определение кислорода в организме / Е. А. Коваленко, В. А. Березовский, И. М. Эпштейн. – Москва : Медицина, 1975. – 232 с.
4. Комиссарова, И. А. Биохимические основы формирования алкоголизма и проблемы метаболической терапии / И. А. Комиссарова // Проблемы клиники, терапии, патогенеза алкоголизма : сб. науч. тр. / Моск. НИИ психиатрии ; редкол.: В. В. Ковалев [и др.]. – Москва, 1988. – С. 70-74.
5. Searching for an environmental effect of parental alcoholism on offspring alcohol use disorder: a genetically informed study of children of alcoholics / W. S. Slutske [et al.] // J Abnorm Hsychology. – 2008. – Vol. 117, № 3. – P. 534-551. – doi: 10.1037/a0012907.

6. Tiglao, S. M. Alcohol withdrawal syndrome: outpatient management / S. M. Tiglao, E. S. Meisenheimer, R. C. Oh // Am Fam Physician. – 2021. – Vol. 104, iss. 3. – P. 253-262.

ДИСКРИМИНАЦИЯ ПАРАМЕТРОВ СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕЙРОМЕДИАТОРНОЙ СИСТЕМЫ СРЕДНЕГО МОЗГА И ГИПОТАЛАМУСА КРЫС ПРИ ОТМЕНЕ СОВМЕСТНОГО ВВЕДЕНИЯ ЭТАНОЛА И МОРФИНА

Лелевич С.В.

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

Актуальность. Введение этанола в организм и его последующая отмена сопровождаются многочисленными нейромедиаторными нарушениями. В частности, имеются данные о том, что синдром отмены этанола у крыс характеризуется функциональной недостаточностью серотонинергической нейромедиации, выявленным через 12 часов после 7-суточного введения этанола (25% в дозе 5 г/кг) [1].

Прекращение длительного действия наркотиков сопровождается ослаблением опиоидергической нейротрансдачи [2]. Один из важнейших аспектов изучения нейрхимических нарушений при морфин-алкогольном постинтоксикационном синдроме – динамичность изменений серотонинергической системы после прекращения введения обоих психоактивных веществ.

Цель. Оценить нейромедиаторные нарушения параметров серотонинергической системы среднего мозга и гипоталамуса крыс при отмене этанола и морфина.

Материалы и методы исследования. В эксперименте по моделированию морфинового абстинентного синдрома (МАС) животные были разделены на 5 равных групп. Абстинентный синдром моделировали путем внутрибрюшинного введения морфина гидрохлорида: первые двое суток в дозе 10 мг/кг массы тела, 3-4 сутки – 20 мг/кг, 5-7 сутки – 40 мг/кг массы тела. Животных декапитировали через 1 час (2-я группа), 36 часов (3-я группа), 3 суток (4-я группа) и 7 суток (5-я группа) после последнего введения наркотика. Контрольные особи (1-я группа) получали эквивалентные количества физиологического раствора хлорида натрия.

Алкогольный абстинентный синдром (ААС) моделировали по Е. Maichrowich в собственной модификации путем внутрижелудочного введения 25% раствора этанола 2 раза в сутки, по 5 г/кг в течение 5 суток с последующей отменой. Животных декапитировали через 3 часа (2-я группа), одни (3-я группа), трое (4-я группа) и семь суток (5-я группа) после последнего введения алкоголя. Контрольным особям (1-я группа) внутрижелудочно вводили эквивалентное количество 0,9% раствора NaCl.

В среднем мозге и гипоталамусе крыс методом ВЭЖХ определяли содержание показателей серотонинергической нейромедиаторной системы. Для статистической обработки данных применяли непараметрические методы статистики (U-критерий Манна-Уитни), а также пошаговый дискриминатный анализ и корреляционный анализ по Спирмену.

Результаты и их обсуждение. Спустя сутки после отмены комбинированного введения морфина и алкоголя (3-я группа) в гипоталамусе и среднем мозге отмечено повышение уровня 5-окситриптофана, снижение серотонина, а также наличие положительной корреляционной связи в паре серотонин/5-ОИУК ($r_s=0,74$) в среднем мозге. Такие изменения с учетом стабильного уровня 5-ОИУК могут указывать на замедление процесса превращения 5-окситриптофана в серотонин на высоте абстинентных проявлений (1 сутки).

В среднем мозге у экспериментальных животных 4-й группы была выявлена сниженная концентрация серотонина по сравнению с контролем, что наблюдалось и через одни сутки после отмены интоксикации обоими психоактивными веществами. В гипоталамусе при этом выявлено понижение концентрации серотонина и 5-ОИУК в сравнении с 1-й группой и положительная корреляционная взаимосвязь в парах триптофан/серотонин ($r_s=0,7$) и серотонин/5-ОИУК ($r_s=0,67$), что позволяет предположить о снижении активности серотонинергической системы в данном регионе мозга.

Увеличение сроков отмены обоих психоактивных веществ до 7-ми суток (5-я группа) сопровождалось уменьшением концентрации исследованных параметров серотонинергической системы – серотонина и 5-ОИУК – по сравнению с контролем как в среднем мозге, так и в гипоталамусе экспериментальных животных. Проведенный корреляционный анализ установил наличие положительной связи в среднем мозге – в паре триптофан/5-окситриптофан ($r_s=0,68$), а в гипоталамусе – отрицательной в паре триптофан/5-окситриптофан ($r_s=-0,77$) и положительной в парах триптофан/серотонин ($r_s=0,77$) и серотонин/5-ОИУК ($r_s=0,7$), что позволяет предположить об определенном угнетении оборота серотонина в данных экспериментальных условиях.

Результаты пошагового дискриминантного анализа указывают на наличие определенных отклонений серотонинергической нейромедиации в среднем мозге при моделировании морфин-алкогольного постинтоксикационного синдрома ($\lambda=0,12$, $F(16,11)=6,59$ при $p<0,00001$), что указывает на достоверность различий между группами по исследуемым показателям. Стандартизованные коэффициенты позволяют судить об относительном вкладе конкретной переменной в дискриминантную функцию, то есть выявить роль каждого признака в межгрупповых различиях. В разделение изучаемых групп («контроль», «1 сутки», «3 суток» и «7 суток») наиболее существенные вклады вносили переменные 5-окситриптофан, серотонин и 5-ОИУК.

На диаграмме рассеяния канонических значений в пространстве дискриминантных функций видно, что наблюдения в соответствующих группах локализованы в определенных областях плоскости (рисунок 1). Качество дискриминации изучаемых групп в среднем мозге оценено по графику, на

котором группы «1 сутки» и контроля, а также «1 сутки» и «7 суток» наиболее отдалены друг от друга. На плоскости дискриминантных осей (кор. 1, кор. 2) показано, что исследованные параметры серотонинергической системы в группе «1 сутки» сосредоточены в правой части диаграммы, а все остальные группы смещены в левую часть. На графике имеется перекрывание «облаков» точек между группами «контроль», «3 суток» и «7 суток».

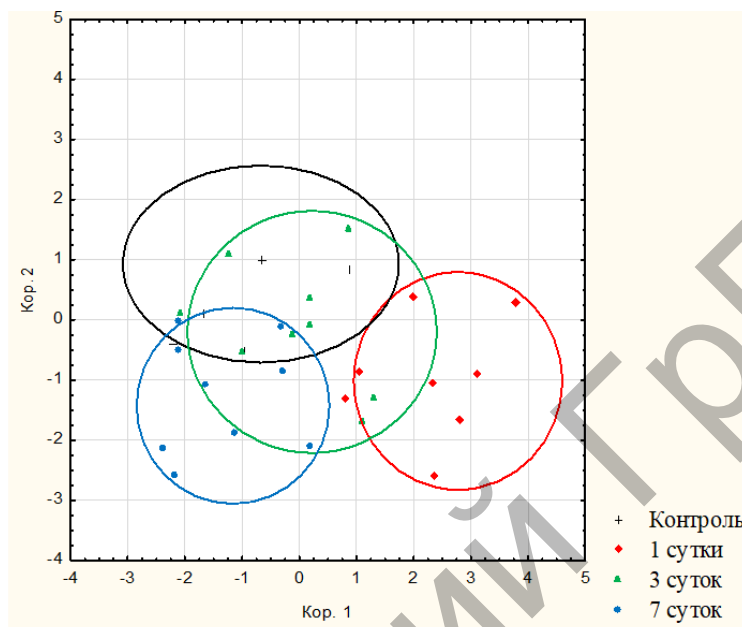


Рисунок 1 – Расположение экспериментальных групп для пула исследованных параметров серотонинергической системы в среднем мозге крыс при морфин-алкогольном постинтоксикационном синдроме в пространстве 1-й и 2-й дискриминантных функций

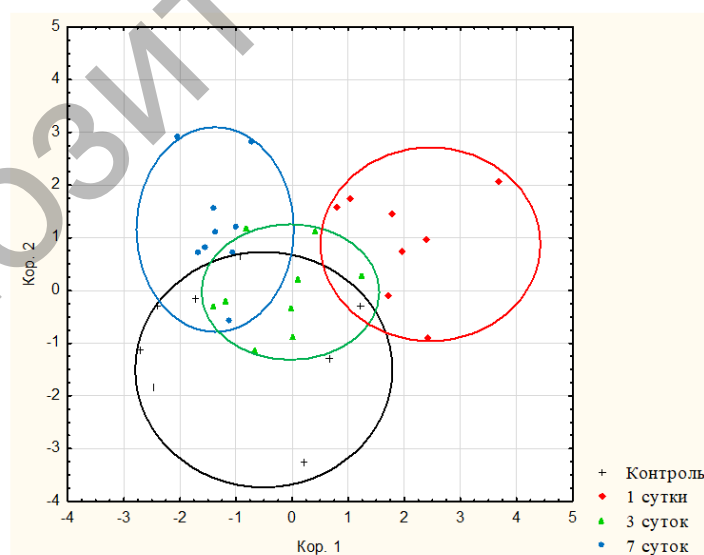


Рисунок 2. – Расположение экспериментальных групп для пула исследованных параметров серотонинергической системы в гипоталамусе головного мозга крыс при морфин-алкогольном постинтоксикационном синдроме в пространстве 1-й и 2-й дискриминантных функций

Результаты пошагового дискриминантного анализа указывают на выраженность отклонений определяемых показателей в гипоталамусе ($\lambda=0,15$, $F(16,11)=5,81$, $p<0,00001$), где триптофан и 5-окситриптофан являются наиболее информативными показателями. В данном отделе головного мозга наибольшее смещение данных между группой «контроль» и «1 сутки», а также группами «1 сутки» и «7 суток» относительно 1-й и 2-й дискриминантных функций (рисунок 2). Следует обратить внимание на перекрывание «облаков точек» между группами «контроль», «3 суток» и «7 суток». В гипоталамусе выражено правостороннее смещение группы «1 сутки», а группа «7 суток» смещена в левую часть графика.

Выводы. Таким образом, синдром отмены ранее вводимого этанола и морфина сопровождается изменениями серотонинергической нейромедиации в среднем мозге и гипоталамусе крыс. Выраженность выявленных нарушений определяется сроками абстинентного синдрома.

ЛИТЕРАТУРА

1. Разводовский, Ю. Е. Влияние таурина на содержание в ЦНС нейроактивных соединений при синдроме отмены этанола / Ю. Е. Разводовский, Е. М. Дорошенко // Экспериментальная и клиническая фармакология – 2007. – Т. 70, № 5. – С. 38 – 43.
2. Improvement of petroselinum crispum on morphine toxicity in prefrontal cortex in rats / M. R. Salahshoor [et al.] // International J of Applied Basic Med. Res. – 2020. – Vol. 10. – № 2. – P. 110–116.

ЭТИЛОВЫЙ СПИРТ И МЫШЦЫ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АЛКОГОЛЬНОЙ МИОПАТИИ

Лелевич С.В., Кучерявая А.С.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Поражения мышц отмечаются в достаточно большом количестве случаев при алкогольной интоксикации. При этом теряется большая масса мышечной ткани, что клинически проявляется болями, ростом активности креатинкиназы в крови, а также увеличением концентрации миоглобина в крови и моче, признаками некроза и нарушениями функции внутренних органов. Чаще всего при этом поражаются мышцы бедра и голени.

Роль метаболизма глюкозы в скелетной мускулатуре имеет ряд особенностей, что обусловлено анатомическими отличиями данной ткани в отношении циркуляции соединений как экзогенного, так и эндогенного происхождения, а также реализацией ее специфических функций. Имея особенные регуляторные механизмы углеводного обмена, мышцы по-особенному отвечают на воздействие отдельных физиологических и патологических факторов. Скелетная мускулатура привлекает меньшее внимание исследователей в данном отношении чем такие органы как сердце, почки и печень. Однако, с учетом ее значительной массы и высокой

метаболической активности, она, безусловно, участвует в формировании патохимических нарушений при действии алкоголя и требует особого внимания со стороны исследователей.

Материалы и методы исследования. В эксперименте по моделированию острой алкогольной интоксикации перед декапитацией все животные (крысы массой 180-220 г) 12 часов содержались без пищи при свободном доступе к воде. Особям первой экспериментальной группы (контроль) внутрижелудочно вводили 1 мл физиологического раствора NaCl, второй – 25% раствор этанола в дозе 1 г/кг, третьей – раствор этанола в дозе 2,5 г/кг и четвертой – раствор этанола в количестве 5 г/кг массы тела. Декапитацию производили через 1 час после введения этанола и физиологического раствора.

При моделировании хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) животные были разделены на три группы: особям первой группы (контроль) внутрижелудочно вводили 0,9% раствор хлорида натрия 2 раза в сутки, животные второй группы получали 25% раствор этанола в течение 14 суток, а третья – в течение 28 суток. Декапитацию производили через 1 час после введения этанола и физиологического раствора.

В мышечной ткани крыс были исследованы показатели углеводного обмена. Для статистической обработки данных применяли непараметрические методы статистики (U-критерий Манна-Уитни), а также пошаговый дискриминатный анализ.

Цель. Оценить влияние острой и хронической интоксикации этанолом на углеводный метаболизм в скелетной мускулатуре крыс.

Результаты и обсуждение. Результаты наших исследований показали, что при однократном введении этанола у животных 2-й группы отмечалось лишь увеличение активности ЛДГ по сравнению с контролем. С неизменной активностью большинства ферментов гликолиза у особей 2-й группы согласовывался неизменный уровень субстратов углеводного обмена в мышечной ткани.

Увеличение дозы вводимого алкоголя до 2,5 г/кг приводило к более существенным изменениям функционирования гликолиза в мышечной ткани крыс, чем меньшая доза этанола. Выявлено снижение активности одного из ключевых ферментов гликолиза – ФФК (на 20%; $p < 0,05$), а также потенцирование стимулирующего эффекта алкоголя в отношении ЛДГ. Ингибирование активности ФФК в данных экспериментальных условиях представляется одним из наиболее существенных метаболических эффектов этанола на гликолиз в скелетной мускулатуре крыс, что объясняется ключевой ролью этого фермента в регуляции данного пути метаболизма глюкозы в мышцах.

У животных 4-й экспериментальной группы выявлено статистически значимое снижение активности большинства изученных ферментов гликолиза: ГК (на 44%), ФФК (на 31%) и ПК (на 30%). Активность ЛДГ в данных экспериментальных условиях регистрировалась увеличенной, причем степень повышения была наиболее выраженной по сравнению с предыдущими группами. С увеличением активности ЛДГ согласовывалось повышение уровня лактата в скелетной мускулатуре животных 4-й группы. При введении 5 г/кг

алкоголя отмечалось увеличение концентрации глюкозы в мышечной ткани. Содержание Г-6-Ф и гликогена при этом было ниже контрольного уровня.

В качестве дополнительного статистического метода для исследования различий показателей гликолиза между экспериментальными группами при острой алкогольной интоксикации применен пошаговый дискриминантный анализ (рисунок 1). Все дискриминантные функции являлись статистически значимыми ($p < 0,01$). Наибольший вклад в разделительные способности функции 1, объясняющей 92% различий в экспериментальных группах, вносили переменные ЛДГ и глюкоза. Различия в группах по второй дискриминантной функции ($R = 0,89$) обусловлены параметрами: глюкоза, Г-6-Ф и лактат. Наиболее информативными показателями, включенными в статистически значимую модель ($F = 9,51$; $p < 0,00$), являлись глюкоза, Г-6-Ф, лактат и ЛДГ.

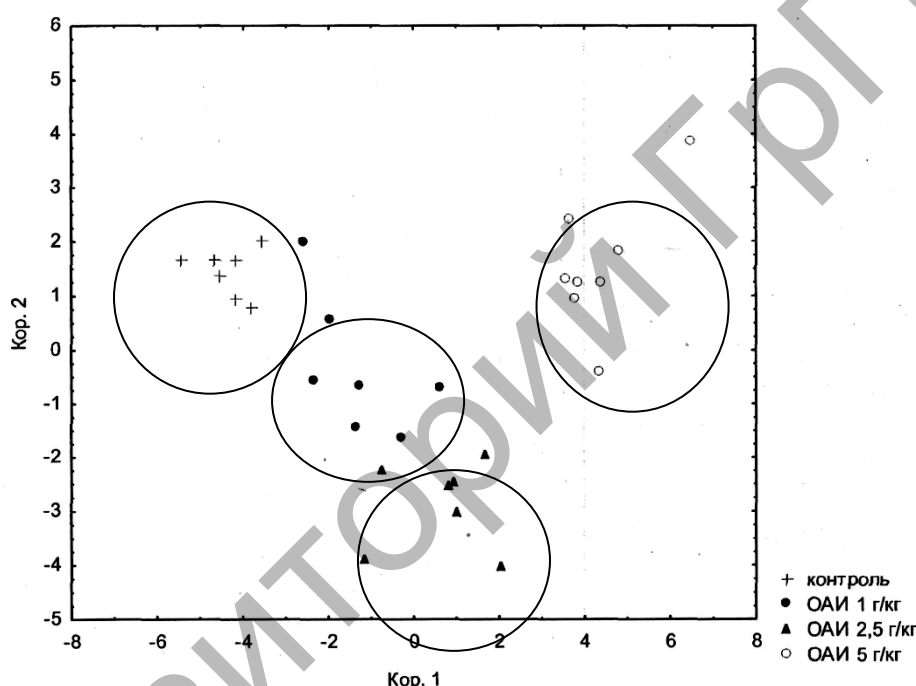


Рисунок 1. – Расположение реализаций экспериментальных групп для пула исследованных показателей гликолиза в скелетной мускулатуре крыс на плоскости двух главных компонент при острой алкогольной интоксикации

При хронической алкогольной интоксикации (14 суток) было выявлено ингибирование активности ГК, но уровень глюкозы в мышечной ткани при этом не был изменен.

Со сниженной скоростью гексокиназной реакции было сопоставимо падение уровня Г-6-Ф в скелетной мускулатуре животных 3-й экспериментальной группы.

Одновременно с этим при 28-суточной алкоголизации отмечалось снижение концентрации гликогена, уровень которого составляет 59% ($p < 0,001$) от контрольного. Нарушение обмена данного субстрата при длительном введении этанола, вероятно, связано с патологией печени, развивающейся при хронической алкогольной интоксикации. Это обусловлено угнетением обмена гликогена при введении этанола. Нарушение обмена данного субстрата при

длительном введении этанола, вероятно, связано с патологией печени, развивающейся при хронической алкогольной интоксикации. Это обусловлено угнетением обмена гликогена при введении этанола.

Результаты проведенного пошагового дискриминантного анализа показывают зависимость выраженности изменений исследованных показателей углеводного обмена в мышцах от длительности алкогольной интоксикации (рисунок 2).

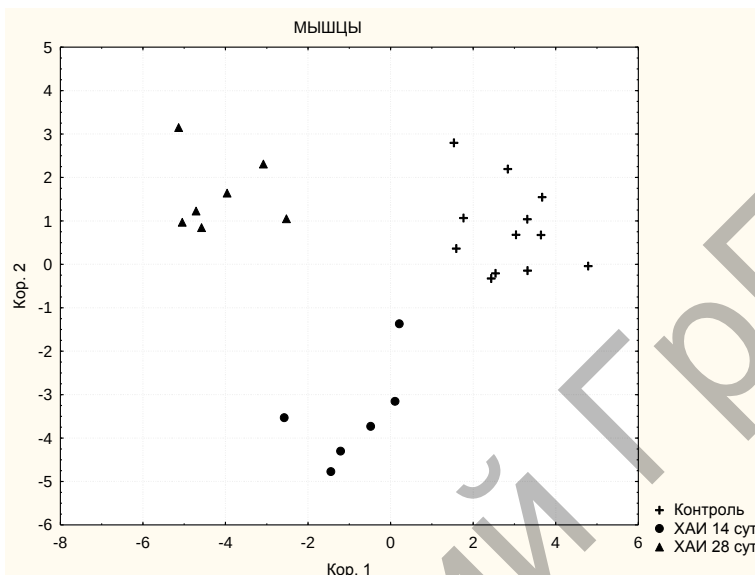


Рисунок 2. – Расположение реализаций экспериментальных групп для показателей углеводного обмена в скелетной мускулатуре крыс на плоскости двух главных компонент при хронической алкогольной интоксикации

Выводы. Таким образом, как однократное, так и длительное введение этанола в организм сопровождается нарушениями углеводного обмена в скелетной мускулатуре крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Щеглова, Н.С. Алкоголь-индуцированное поражение скелетных мышц у женщин с хронической алкогольной интоксикацией / Н.С. Щеглова, О.Е. Зиновьева, Б.С. Шенкман // Российский неврологический журнал. – 2021. – № 4. – С. 23–30.

ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННОЙ ХИМИОТЕРАПИИ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС С ЛИМФОСАРКОМОЙ ПЛИССА

Маглыш С. С., Хомбак В. А.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Как известно, высокая токсичность противоопухолевых препаратов и низкая избирательность их действия являются главной проблемой онкофармакологии. При проведении химиотерапии злокачественных

новообразований частота побочных и токсических реакций достигает 100 %, а летальность от осложнений химиотерапии составляет около 20 % [1]. По этой причине учеными ведутся активные поиски препаратов для снижения токсичности химиотерапии и повышения ее избирательности.

Известны соединения, которые обладают проокисдантной активностью, способные усиливать противоопухолевую активность химиотерапевтических средств за счет модуляции тиол-дисульфидного редокс баланса опухолевых клеток, в частности, одним из таких перспективных соединений является цистеамин.

Цистеамин – аминотиол, обладающий антиоксидантным действием, является химиосенсибилизирующим и радиозащитным агентом. Известно, что цистеамин обладает проокисдантной активностью за счет модуляции активности фермента глутатионпероксидазы, что приводит к интенсивному образовыванию пероксида водорода в опухолевых клетках [2]. Цистеамин стимулирует образование внутриклеточного глутатиона *de novo*. Активация биосинтеза глутатиона не влияет на токсичность цистеамина, но при накоплении последнего до концентрации 200 мкМ приводит к ингибированию глутатионпероксидазы [2]. Цистеамин в клетках образуется в результате ферментативного гидролиза пантетеина под действием фермента пантетеиназы [3]. Известно, что производное D-пантетеина – D-пантенол, обладает редокс-модулирующей активностью за счет модуляции системы глутатиона, что было показано ранее [4].

Цель. Целью настоящего исследования явилось определение биохимических показателей сыворотки крови крыс с лимфосаркомой (ЛС) Плисса при применении комбинированной химиотерапии.

Методы исследования. В эксперименте были использованы 24 самца крыс линии Вистар массой 150–200 г, содержащихся на стандартном рационе вивария Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси. Для получения суспензии опухолевых клеток применяли ферментативную (0,5 мг/мл коллагеназы, раствор Хенкса, 30 мин, 37 °С) и механическую дезагрегацию ткани ЛС Плисса, изъятую от животных-опухоленосителей. Клетки культивировали в среде DMEM, содержащей 15 % телячьей сыворотки, 100 Ед/мл пенициллина и 100 Ед/мл стрептомицина в течение 72 ч при 37 °С, 5% CO₂. Затем полученные клетки опухоли осаждали центрифугированием при 1500 об/мин в течение 5 мин. Осадок клеток ресуспендировали в растворе Хенкса. Полученную суспензию клеток ЛС Плисса в объеме 0,5 мл вводили здоровым животным подкожно в паховую область, однократно. После семидневного интервала животных-опухоленосителей разделили на три опытные группы. Животным группы I не вводили препараты химиотерапии. Животные группы II получали доксорубин гидрохлорид (Dox) в дозе 5 мг/кг, внутривентрально, однократно в течение 5 дней. Животные группы III в дополнение к аналогичной инъекции Dox получали композицию D-пантенола (ПЛ, 200 мг/кг, внутривентрально) с цистеамином (ЦSH, 100 мг/кг, внутривентрально). Крысы контрольной группы получали эквивалентное количество физиологического раствора. После

завершения эксперимента крыс декапитировали, кровь собирали в вакутейнер с активатором свертывания и центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин.

В сыворотке крови крыс были исследованы следующие биохимические показатели: глюкоза, холестерол, триглицериды, общий белок, альбумины, глобулины. Для анализа использовали наборы реагентов НТПК «Анализ-Х» (Беларусь). Полученные результаты обрабатывали методом вариационной статистики (* – $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе; # – $p < 0,05$ по отношению к интактным крысам-опухоленосителям).

Результаты и их обсуждение. Результаты определения биохимических показателей сыворотки крови контрольных и опытных крыс представлены в таблице 1.

Таблица 1. Биохимические показатели сыворотки крови контрольных и опытных крыс с ЛС Плисса

Показатели	Контроль	Группа I	Группа II	Группа III
Глюкоза, ммоль/л	9,32±0,86	3,47±1,15*	5,01±1,06*#	5,84±1,47*#
Холестерол, ммоль/л	2,09±0,27	1,45±0,27*	1,72±0,69#	2,10±0,29#
Триглицериды, ммоль/л	1,42±0,16	3,82±1,22*	2,94±0,89*	1,77±0,69#
Общий белок, г/л	66±4	60±9	57±11*	52±2*#
Альбумины, г/л	36±3	26±3*	27±2*	28±1*
Глобулины, г/л	30±4	33±8	29±9	24±2*#
Альбумины/глобулины	1,20	0,76	0,93	1,17

Примечание: группа I – интактные крысы-опухоленосители; группа II – крысы-опухоленосители, получавшие Dox в дозе 5 мг/кг, внутривентрально, однократно; группа III – крысы-опухоленосители, которые кроме указанной дозы Dox получали ПЛ в дозе 200 мг/кг и ЦШ в дозе 100 мг/кг, внутривентрально в течение 5 дней.

* – $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе;

– $p < 0,05$ по отношению к интактным крысам-опухоленосителям.

Результаты, представленные в табл. 1, показывают, что уровень глюкозы в сыворотке крови у крыс-опухоленосителей достоверно снижен во всех опытных группах по отношению к контрольным животным, вероятно, вследствие усиленного ее потребления на опухолевый рост. В то же время у животных, получавших химиотерапию, этот показатель достоверно повышается по сравнению с интактными крысами-опухоленосителями, причем в присутствии ПЛ и ЦШ этот эффект более выражен. Аналогичная закономерность наблюдается на уровне холестерола. Уровень триглицеридов, повышенный у крыс-опухоленосителей I-й и II-й групп относительно контроля, при применении комплексной химиотерапии достоверно снижается относительно значений у интактных крыс-опухоленосителей и приближается к значениям у контрольных животных.

Как видно из данных табл. 1, резкое снижение соотношения альбумины/глобулины у интактных крыс-опухоленосителей по сравнению с контролем нормализуется после применения комплексной химиотерапии благодаря разнонаправленному изменению содержания альбуминов и глобулинов.

Выводы. На основании полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1. Лимфосаркома Плисса приводит к достоверному снижению уровня глюкозы, холестерина и альбуминов, но повышает содержание триглицеридов и не изменяет уровень общего белка в сыворотке крови крыс-опухоленосителей, не получавших химиотерапию.

2. Применение химиотерапии в комплексе с ПЛ и ЦSH способствует более эффективному изменению исследованных показателей сыворотки крови в сторону их контрольных значений, за исключением общего белка.

3. Комплексная химиотерапия (Дох+ПЛ+ЦSH) способствует нормализации метаболического профиля и белкового коэффициента (альбумины/глобулины) в сыворотке крыс с ЛС Плисса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зырняева, Н.Н. Исследование эффективности химиотерапии экспериментальной холангиоцеллюлярной карциномы с помощью магнитоуправляемых липосом с доксорубицином: дис. канд. мед. наук: 14.03.06 / Н.Н. Зырняева. – Саранск, 2014. – 148 с.

2. Cysteamine suppresses invasion, metastasis and prolongs survival by inhibiting matrix metalloproteinases in a mouse model of human pancreatic cancer / T. Fujisawa [et al.] // PLoS One. – 2012. – Vol. 7, № 4. – P. 34437. – Doi: 10.1371/journal.pone.0034437.

3. Pantetheinase activity of membrane-bound Vanin-1: lack of free cysteamine in tissues of Vanin-1 deficient mice / G. Pitari [et al.] // FEBS Lett. – 2000. – Vol. 483, № 2–3. – P. 149–154.

4. Семенович, Д.С. Модуляция системы глутатиона и S-глутатионилирования белков предшественниками биосинтеза кофермента А при окислительном стрессе *in vitro* / Д.С. Семенович // Новости медико-биологических наук. – 2019. – Т. 19, № 3. – С. 55–60.

ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ГЕМОЛИЗА И ИЗМЕНЕНИЕ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ КОНТАКТА С ПОЛИСУЛЬФОНОМ В УСЛОВИЯХ СТЕНДОВОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

Макаревич Д.А., Рябцева Т.В., Дусь Д.Д., Королик А.К., Очковский В.А., Занемонец Е.А.

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»

²ГУ «МНПЦ хирургии, трансплантации и гематологии»,
Минск, Республика Беларусь

Актуальность. Полисульфон (ПС) — полимер, который широко используется в медицинских изделиях при создании мембран для гемодиализа и гемосорбции. Важными техническими характеристиками ПС являются

механическая прочность, термическая стабильность, химическая устойчивость и биосовместимость. ПС не обладает гидрофильностью и заряженными группами, это может способствовать адсорбции белка и образованию тромбов [1, 2].

В данном исследовании использовали ПС мембраны для гемодиализа, изготовленных из синтетических полимеров, из которых 93% относятся к семейству полиарилсульфонов, состоящих на 71% из полисульфон (ПС) и на 22% - из полиэфирсульфона. Мембраны изготавливаются в виде тонких трубок диаметром около 200–300 мкм и толщиной стенки 20–50 мкм. Такая конструкция обеспечивает высокое соотношение площади поверхности к объему. При диализе внутренняя поверхность волокон контактирует с кровью, а внешняя — с диализирующим раствором [3].

Микроструктура мембран характеризуется асимметричной пористой архитектурой, которая состоит из нескольких слоев. Внутренний слой имеет более крупные поры, во внешнем слое они значительно мельче. Данное строение позволяет задерживать крупные молекулы внутри волокна, пропуская небольшие молекулы, такие как мочевины (60 Да) и креатинин (113 Да). Так как мембраны из полисульфона характеризуются высокой пористостью и большой площадью поверхности, они могут эффективно связывать токсины и другие биологически активные вещества во время проведения гемосорбции. При гемосорбции кровь течет как через полые волокна, так и между ними, таким образом вся поверхность волокна (внешняя и внутренняя) контактирует с кровью.

Целью данной работы являлась оценка степени гемолиза и клеточного состава крови после контакта крови человека с полисульфоновыми мембранами диализного типа в режиме гемосорбции.

Материалы и методы. Для эксперимента использовали полисульфоновые волокна низкого и высокого потоков, предоставленные предприятием ПУП "ФреБор" (Беларусь). Капилляры полисульфона были выполнены в трех конфигурациях: с блокировкой капилляров полисульфона с обеих сторон (закрытые-З), без блокировки (открытые-О), а также с блокировкой волокон только на входе в колонку (частично закрытые-ЧЗ). При использовании волокон типа «З» кровь могла взаимодействовать только с внешней поверхностью волокна, при использовании волокон типа «О» обеспечивался контакт крови как с внутренней, так и с внешней поверхностями волокон, при использовании волокон типа «ЧЗ» - обеспечивался контакт крови с обеими поверхностями волокна, но исключалась возможность выхода высокомолекулярных молекул через нижний отдел волокна.

Волокна ПС различной модификации были упакованы в поликарбонатный корпус диализной колонки, объем которой составляет 230 мл. Свободный объем, который при гемосорбции заполняется кровью составляет 100 мл. Таким образом, в исследовании изучали гемосовместимость ПС волокон закрытого, открытого и частично-закрытого типов.

Для исследования проводили динамические эксперименты, которые моделируют проведение процедуры гемосорбции и позволяют отбирать пробы

на исследование. Эксперимент проводили в закрытом контуре, который включал в себя перистальтический насос, кровопроводящие магистрали, колонку с волокнами ПС. Входной коннектор помещали в пакет с эритроцитарной массой, затем по кровопроводящим магистралям кровь двигалась в гемосорбционную колонку и контактировала с волокнами ПС, после выхода из колонки, через инъекционный узел проводили отбор пробы для исследования, далее кровь поступала по магистралям в выходной коннектор и контур замыкался в пакете, куда поступала кровь после контакта с ПС. В движение жидкость приводилась посредством перистальтического насоса, который со скоростью 80 мл/мин приводил кровь в движение. Инъекционный узел магистрали позволял отбирать пробы не останавливая циркуляцию. Образцы собирались: из пакета до контакта ПС с кровью, через 30 мин и 60 мин циркуляции крови по контуру. Волокна ПС в гемосорбционной колонке предварительно промывали 250 мл физиологического раствора с 1000МЕ гепарина. Эксперименты проводили в условиях комнатной температуры (23°C). Свободный гемоглобин определяли гемоглобинцианидным методом на автоматическом биохимическом анализаторе ILAB 300 PLUS (Laboratory Instrumentation, USA) [4]. Общий анализ проводили с использованием анализатора «CellDynRuby», USA).

Данные анализировали с использованием программ Microsoft Excel и Statistics 10.0. непараметрическими методами. Статистическая значимость определялась при уровне $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение.

После экспериментов наблюдали снижение (от 10 до 26 % от исходного) концентрации лейкоцитов после контакта с полисульфоном всех модификаций, значимое только для полисульфона частично закрытого типа (таблицы 1-3).

Таблица 1 – Изменение концентрации лейкоцитов ($\times 10^9/\text{л}$) после контакта крови с волокнами ПС различной модификации

	До контакта	Через 30 мин	Через 60 мин
ПС-З	5,13 (4,78; 7,89)	5,01 (4,29; 7,71)	4,65 (4,20; 7,39)
ПС-О	7,34 (3,73; 8,56)	7,03 (3,56; 8,12)	6,94 (3,61; 7,80)
ПС-ЧЗ	6,25 (4,15; 11,20)	5,32 (3,89; 9,34)	4,62 (3,78; 7,15)*

(* $p < 0,05$ Критерий Манн-Уитни)

Изменение концентрации эритроцитов, в ходе динамического эксперимента для всех модификаций исследуемых полимеров. Изменение концентрации эритроцитов более значимо было для модификации полисульфона частично закрытого типа (26% от исходного).

Таблица 2 – Изменение концентрации эритроцитов ($\times 10^{12}/\text{л}$) после контакта крови с волокнами ПС различной модификации

	До контакта	Через 30 мин	Через 60 мин
ПС-З	3,35 (3,19;3,98)	3,17 (3,01;3,63)	2,99(2,80;3,55)
ПС-О	3,65 (3,39;4,21)	3,59 (3,29; 4,07)	3,33 (3,28;3,72)
ПС-ЧЗ	4,57 (4,17; 5,62)	4,04 (3,89; 5,30)	3,67 (3,45; 5,02)*

(* $p < 0,05$ Критерий Манн-Уитни)

Относительно концентрации тромбоцитов наблюдали тенденцию к снижению их количества, вероятно, за счет адгезии к «чужеродной поверхности».

Таблица 3 – Изменение концентрации тромбоцитов ($\times 10^9/\text{л}$) после контакта крови с волокнами ПС различной модификации

	До контакта	Через 30 мин	Через 60 мин
ПС-З	60,34 (38,39;73,26)	59,08 (35,97; 71,65)	56,14 (46,78; 70,21)
ПС-О	46,82 (39,15; 51,67)	44,10 (37,87; 50,79)	43,99 (37,12; 49,16)
ПС-ЧЗ	38,49 (29,05; 44,10)	38,03(28,56; 43,16)	37,21(28,33; 41,84)

Уровень свободного гемоглобина после контакта клеток крови с исследуемыми образцами полисульфона достоверно не изменялся, не было установлено превышение нормального референсного интервала (0,1-0,5 г/л). Полученный результат свидетельствует об отсутствии значимого отрицательного воздействия исследуемых образцов полисульфона в условиях экспериментов на эритроциты.

Выводы: Модификация полисульфона открытого типа и закрытого типов оказали наименьшее воздействие на показатели клеточного состава модельного раствора на основе эритроцитарной массы в динамическом стендовом эксперименте.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hu, X. Click chemistry: A route to designing and preparing pseudo-biospecific immunoadsorbent for IgG adsorption. / Hu X, Li G, Huang E // J. Chromatogr. B. – 2012. – Vol.899., – P.96–102.
2. Nakanishi, T. Current topics in therapeutic plasmapheresis./T. Nakanishi [et. al.] // J. Clin. Exp. Nephrol. – 2013. Vol.17. – №5., P. 631-639.
3. Hohenstein, B. Immunoadsorption for connective tissue disease. /B. Hohenstein, S.R. Bornstein, M. Aringer // Atherosclerosis.Suppl. – 2013. – Vol.14., – P. 185-189.
4. Тонкошкурова, О.А., Определение концентрации внеэритроцитарного гемоглобина плазмы (сыворотки) крови гемоглобинцианидным методом. / Дмитриев А.И., Дмитриева Р.Е. // Клиническая лабораторная диагностика. – 1996. – N 2, С.21–22.

СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ МИКРОБНО-ТКАНЕВОГО КОМПЛЕКСА ТОНКОГО КИШЕЧНИКА И ПРИСТЕНОЧНАЯ МИКРОФЛОРА КИШЕЧНИКА ПОСЛЕ КУРСОВОГО ВВЕДЕНИЯ ЦИНКА ДИАСПАРТАТА

Николаева И.В., Шейбак В.М., Смирнов В.Ю.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. В настоящее время предложено несколько теорий относительно антибактериального механизма действия цинка, включающего продукцию активных форм кислорода (АФК) и прямое взаимодействие с мембранами бактериальных клеток [1,2]. Прямой контакт ионов цинка с мембранами бактериальных клеток является наиболее вероятным механизмом бактерицидного действия [4]. Zn^{2+} вмешивается в электронно-транспортную цепь, локализованную на цитоплазматической мембране бактерий, тем самым препятствуя образованию энергии и клеточному метаболизму [1,4]. Одновременно, показано, что добавление в рацион экспериментальных животных высоких доз оксида цинка повышает популяции *Streptococcus* и *Lactobacillus* при одновременном снижении численности *Clostridium* и *Campylobacteriales* в просвете подвздошной кишки, что может быть обусловлено особенностями строения клеточной стенки этих микроорганизмов [2]. Кроме того, соединения *Zn* способствуют наработке короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) в просвете кишечника, которые в основном вырабатываются посредством микробной ферментации, поддерживают целостность эпителиальных клеток, регуляцию иммунных функций и подавляют рост патогенных микроорганизмов [5]. Добавки цинка в рацион заметно увеличивает популяцию бокаловидных клеток в ворсинках и криптах тонкого кишечника и изменяет форму микроворсинок [4]. В тонком кишечнике идет активный синтез и абсорбция микробных аминокислот и иных азот-содержащих метаболитов, в отличие от толстого кишечника, где преобладают процессы катаболизма аминокислот. Кишечные бактерии изменяют доступность свободных аминокислот в пределах желудочно-кишечного тракта, что предполагает влияние микрофлоры кишечника на скорость их абсорбции и дальнейшие метаболические превращения [3].

Целью работы установить особенности формирования аминокислотного фонда микробно-тканевого комплекса тонкого кишечника и его зависимость от пристеночного микробиома тонкого кишечника после курсового энтерального введения цинка диаспартата.

Методы исследования. Эксперименты проводились на белых беспородных крысах массой 120-180 г., которые были разделены на 2 группы: контрольная группа внутрижелудочно получала эквивалентные количества физиологического раствора; опытная – раствор цинка диаспартата в дозе 25 мг/кг массы в течение 10 суток. Определение свободных аминокислот в микробно-тканевом комплексе (МТК) тонкого кишечника производили

методом обращеннофазной ВЭЖХ с о-фталевым альдегидом. Все определения проводили с помощью хроматографической системы *Agilent 1100*, прием и обработка данных – с помощью программы *Agilent ChemStation A10.01*. Для оценки пристеночного микробиоценоза в тонком кишечнике выделяли МТК, который помещали в стерильные флакончики и немедленно доставляли в бактериологическую лабораторию. Бактериологическое исследование проводили по стандартной методике.

Все полученные данные подвергнуты статистической обработке. Анализ выполнен с использованием пакета программ *Statistica 10.0* для *Windows*). Распределение исследуемых показателей проверяли по критерию Шапиро-Уилка. В описательной статистике для каждого показателя определяли значение среднего $\pm$ стандартная ошибка среднего ($M \pm m$). Статистически значимыми считали различия между контрольной и опытной группами при значениях $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение.

10-дневное энтеральное введение цинка диаспартата снижает суммарное содержание свободных аминокислот и их азот-содержащих производных (на 31%) в МТК тонкого кишечника. Ниже контрольных значений: сумма протеиногенных аминокислот (на 32%), количество заменимых аминокислот (на 29%), азот-содержащих метаболитов и производных (на 31%). Также регистрировалась тенденция к обеднению пулов незаменимых аминокислот (на 37%), АРУЦ (на 39%) и ААК (на 31%). Анализ индивидуальных концентраций выявил уменьшение лизина (на 45%), аспартата (на 41%), серина (на 38%), гистидина (на 36%), аланина (на 28%), глутамата (на 27%), глицина (на 21%). Среди производных и метаболитов ниже контрольных значений регистрировались уровни таурина (на 42%), фосфоэтаноламина (на 38%), орнитина (на 37%) и α -аминомасляной кислоты (на 65%).

Были снижены основные метаболические соотношения: метионин/цистатионин и серин/цистатионин (на 38 и 36 %, соответственно). Одновременно было ниже контрольных значений (на 46%) соотношение аргинин/цитруллин (несмотря на отсутствие достоверных изменений, наблюдалась тенденция к снижению концентрации аргинина (на 42%) на фоне повышения уровня цитруллина (на 17%).

В зависимости от индивидуальных концентраций в контрольной группе вклад протеиногенных аминокислот в аминокислотный пул можно представить: глицин> аланин> серин> лейцин> лизин> глутамат> глутамин> аргинин> валин> аспартат> фенилаланин> тирозин> аспарагин> изолейцин> метионин> гистидин> треонин> триптофан. После введения цинка диаспартата в МТК тонкого кишечника наблюдали следующий порядок: глицин> аланин> серин>глутамин>глутамат>лейцин>лизин>аргинин>валин>тирозин> аспартат>фенилаланин>аспарагин>изолейцин>метионин>треонин>гистидин>триптофан. Таким образом, очевидно, что, принимая во внимание свойства катионов цинка как антибактериальных агентов с одной стороны, и стимуляторов метаболизма в энтероцитах, с другой стороны, изменения вклада

индивидуальных концентраций аминокислот в формирование аминокислотного фонда, обусловлено биохимически активными свойствами препарата цинка.

Одновременно нами обнаружены существенные изменения процентного количества азот-содержащих метаболитов в МТК тонкого кишечника после курсового введения цинка диаспартата. В сравнительном аспекте нами были получены следующие результаты в контрольной группе: таурин > фосфоэтанолламин > этаноламин > орнитин > ГАМК > цитруллин > аминокислотная кислота > гидроксизин > α -аминоадипиновая кислота > β -аланин > гомосерин > цистатионин > β -аминокислотная кислота > 1-метилгистидин > 3-метилгистидин. При введении цинка диаспартата: таурин > фосфоэтанолламин > этаноламин > ГАМК > цитруллин > орнитин > α -аминоадипиновая кислота > гидроксизин > α -аминокислотная кислота > цистатионин > β -аланин > гомосерин > β -аминокислотная кислота > 3-метилгистидин > 3-метилгистидин.

После введения цинка диаспартата в МТК из-за статистически значимого падения концентраций орнитина и α -аминокислотной кислоты увеличивается процентное содержание цитруллина, цистатионина, γ -аминокислотной кислоты и α -аминоадипиновой кислоты. Проведенный анализ азот-содержащих производных и его сопоставление в концентрациями свободных аминокислот, позволяет предположить, что с большой долей вероятности, обнаруживается ингибирующий эффект катионов цинка на бактериальный рост в тонком кишечнике, что отражается на микробной продукции ряда аминокислот и/или ускорении их метаболизма. В первую очередь, вероятно, это касается аргинина, всех АРУЦ и серосодержащих аминокислот. Однако, следует отметить, что доступный в наших условиях бактериологический анализ пристеночной микробиоты тонкого кишечника не выявил статистически значимых количественных изменений.

Таким образом, курсовое введение цинка диаспартата не только существенно влияет на структуру аминокислотного фонда микробно-тканевого комплекса тонкого кишечника и печени, но и приводит к существенным изменениям в метаболических потоках между микробиотой и клетками тонкого кишечника.

ЛИТЕРАТУРА

1. Intestinal microbiota mediates Enterotoxigenic Escherichia coli-induced diarrhea in piglets / P. Bin [et al.] // BMC Vet. Res. – 2018. – V. 14. – P.385.
2. The effects of dietary supplementation with porous zinc oxide on growth performance, intestinal microbiota, morphology, and permeability in weaned piglets / P. Peng [et al.] // Anim. Sci. J. – 2019. – V.90. – P. 1220-1228.
3. Specific Amino Acids Increase Mucin Synthesis and Microbiota in Dextran Sulfate Sodium-Treated Rats / M. Faure[et al.] // Nutrition. – 2014. - № 3. – P. 1558-1564
4. Relationship between structure and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles: An overview / B. Lallo da Silva [et al.] // Int. J. Nanomed. –2019. – V.14. – P. 9395-9410.

5. ZnO modulates swine gut microbiota and improves growth performance of nursery pigs when combined with peptide cocktail / X. Wei [et al.] //Microorganisms. – 2020. – V.8. – P. 146.

СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ ТКАНИ ПЕЧЕНИ ЖИВОТНЫХ, ПОЛУЧАВШИХ ЭТИОНИН И ИНФЕЗОЛ40

Павлюковец А.Ю., Шейбак В.М., Смирнов В.Ю.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Метионин — одна из незаменимых аминокислот, играющая важную роль в ряде разнообразных метаболических реакций. Метиониновый цикл является важным метаболическим путем, который регулирует клеточное метилирование и окислительно-восстановительное равновесие. Помимо того, что метионин является предшественником глутатиона и основным донором метильной группы для нуклеиновых кислот, фосфолипидов, гистонов, биогенных аминов и метилирования белков, его метаболиты могут участвовать в синтезе полиаминов. У млекопитающих до 85% всех реакций метилирования и до 48% метаболизма метионина происходят в ткани печени, что указывает на важную роль этого органа в регуляции уровня метионина [1].

Этионин является S-этиловым аналогом метионина и его антиметаболитом. Этионин высокотоксичный карциноген, оказывающий негативные эффекты на печень, почки, поджелудочную железу и другие органы, а также подавляет рост некоторых микроорганизмов. Включаясь в белковую молекулу, этионин снижает специфическую активность белка либо инактивирует его. Он также препятствует встраиванию некоторых аминокислот в белковую молекулу и влияет на энергетический обмен клеток [2].

Чрезвычайная токсичность этионина объясняется потребностью в метионине многих биосинтетических и регуляторных процессов. В эукариотических клетках этионин ингибирует синтез аденозинтрифосфата, S-аденозилметионина и полиаминов, конкурируя с метионином индуцирует постсинтетическое этилирование макромолекул, подавляет синтез и созревание рРНК, влияет на трансляцию мРНК, вызывает изменения в субъединицах рибосом и диссоциацию полисом, ингибирует процесс репликации ДНК. Показано, что поступление этионина в организм вызывает жировое перерождение печени, острый панкреатит, индуцирует развитие карциномы печени [2].

Тест-нагрузки определенными субстратами (метаболитами) или их сочетанием — это группа методов, выявляющих недостаточности той или иной функциональной системы в организме, основанных на введении стандартной дозы соединения, метаболизм которого осуществляется по известным метаболическим путям и регулируется во многом изученными механизмами.

Тест-нагрузки позволяют в лабораторных условиях изучить изменение адаптационных реакций организма на введение того или иного вещества на фоне патобиохимического состояния.

Актуальным представляется анализ спектра аминокислот ткани печени после внутрижелудочного введения полноценной смеси аминокислот на фоне метаболических эффектов этионина, учитывая его влияние на морфофункциональные характеристики ткани печени.

Целью исследования явился анализ структуры пула свободных аминокислот в ткани печени животных, получавших этионин и стандартную смесь аминокислот Инфезол40.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проведен на беспородных крысах-самках массой 120-140гр. 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 внутрижелудочно в общей дозе 375 мг/кг течение 10 дней и за 30 мин. до декапитации однократно внутрижелудочно Инфезол-40 в дозе 20 мл/кг. Все опыты проведены с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». В образцах печени 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. Внутрижелудочное введение этионина в ткани печени увеличивало общее количество аминокислот и их азотсодержащих производных (с 11799 ± 267 до 13362 ± 327 нмоль/г), общее количество заменимых аминокислот (с 10018 ± 203 до 10969 ± 272 нмоль/г), общее количество незаменимых аминокислот (с 1780 ± 86 до 2394 ± 87 нмоль/г), снижало индексы заменимые аминокислоты/незаменимые аминокислоты (с $5,7 \pm 0,21$ до $4,6 \pm 0,14$) и аргинин/цитруллин (с $1,03 \pm 0,128$ до $0,67 \pm 0,055$). Повышались уровни глицина (в 1,8 раза), треонина (в 1,5 раза), триптофана (в 1,8 раза), фенилаланина (в 1,3 раза), изолейцина (в 1,2 раза), лизина (в 1,6 раза) и цитруллина (в 1,9 раза). Снижались концентрации глутамата (на 13%), аланина (на 13%), α -аминомасляной кислоты (на 13%) и этаноламина (на 13%).

Через 30 мин после внутрижелудочного введения стандартной смеси аминокислот Инфезол40 животным, получавшим этионин повышалось общее количество аминокислот и их азотсодержащих производных (с 11799 ± 267 до 18261 ± 770 нмоль/г), общее количество заменимых аминокислот (с 10018 ± 203 до 15310 ± 698 нмоль/г), общее количество незаменимых аминокислот (с 1780 ± 86 до 2951 ± 184 нмоль/г), общее количество ароматических аминокислот (с $194 \pm 10,2$ до 226 ± 5 нмоль/г), при одновременном снижении индексов аргинин/орнитин (с $0,09 \pm 0,013$ до $0,04 \pm 0,004$) и аргинин/цитруллин (с

1,03±0,128 до 0,48±0,081). Повышались концентрации протеиногенных аминокислот глутамата (в 1,5 раза), серина (в 1,9 раза), глицина (в 3,6 раза), треонина (в 2,1 раза), аргинина (в 1,5 раза), метионина (в 1,2 раза), триптофана (в 1,5 раза), фенилаланина (в 1,2 раза), изолейцина (в 1,4 раза) и лизина (в 1,9 раза), а также азотсодержащих производных аминокислот α -аминоадипиновой кислоты (в 2,9 раза), 1-метилгистидина (в 2,1 раза), цитруллина (в 3,7 раза), γ -аминомасляной кислоты (в 1,4 раза), цистатионина (в 2,3 раза), гидроксилизина (в 1,8 раза) и орнии (в 3,7 раза). Снижались уровни аспарагина (на 29%), глутамина (на 19%), гистидина (на 14%), аланина (на 11%), α -аминомасляной кислоты (на 42%) и этаноламина (на 26%).

Ведение смеси аминокислот на фоне курсового введения этионина приводило к более выраженному снижению уровней α -аминомасляной кислоты и этаноламина. α -аминомасляная кислота является азотсодержащим производным аминокислот метионин, треонин, серин и глицин. Известно, что снижение уровня α -аминомасляной кислоты происходит при метаболической дисфункции, связанной с жировой дистрофией печени [4].

Выводы. Курсовое внутрижелудочное ведение этионина главным образом повышало концентрации незаменимых аминокислот в ткани печени, что вероятно является следствием нарушения синтеза белка после курсового введения этионина. Нагрузка стандартной смесью аминокислот на фоне курсового введения этионина приводила к более выраженному дисбалансу свободных аминокислот ткани печени, характеризующемуся не только повышением уровней незаменимых аминокислот, но и концентраций ряда азотсодержащих метаболитов аминокислот.

ЛИТЕРАТУРА

1. Methionine metabolism in chronic liver diseases: an update on molecular mechanism and therapeutic implication. / Z. Li, W. Feixia, L. Baoyu [et al] // Signal transduction and targeted therapy. – 2020. – Vol. 5. – P.34-49.
2. Ethionine-induced S-adenosylmethionine deficiency suppressed H3K27me3 and cell differentiation during neural tube development in mice. / Z. Li, Z. Xiaona, L. Yurong [et al] // Journal of cellular physiology. – 2025. – Vol. 240. – P. 25-39.
3. Burnette, M.A. Oral amino acid load test of protein nutrition: effect of protein quantity and quality in the rat. / M.A. Burnette, M.J. Babcock // J Nutr. – 1978. – Vol. 108., N3. – P.465-474.
4. Felicianna et al. “Alpha-aminobutyric acid ameliorates diet-induced metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD) progression in mice via enhancing AMPK/SIRT1 pathway and modulating the gut-liver axis. / Felicianna, E.K.K. Lo, C. Chen // The Journal of nutritional biochemistry. – 2025 – Vol. 140. – P.1-14.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О БИОЛОГИЧЕСКОЙ РОЛИ микроРНК

Повжик В. А., Завадский Н. А., Леднева И. О.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. МикроРНК играют важную роль в регуляции экспрессии генов. Некоторые микроРНК универсальны и присутствуют во всех клетках, другие специфичны для определённых тканей или стадий развития, что подчёркивает их роль в дифференцировке, пролиферации и апоптозе. Благодаря своей способности регулировать экспрессию генов, микроРНК рассматриваются как биомаркеры для диагностики заболеваний и перспективные терапевтические агенты для лечения рака, сердечно-сосудистых, неврологических заболеваний и других патологий.

Цель. Обобщить сведения о биологической роли микроРНК и перспективе их применения в качестве биомаркеров заболеваний.

Методы исследования. Выполнен обзор научной литературы.

Результаты и обсуждения. МикроРНК – это короткие некодирующие молекулы РНК длиной 18-25 нуклеотидов, принимающие участие в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов у растений, животных и некоторых вирусов. Первые микроРНК были открыты в начале 1990-х, но как отдельный класс регуляторных молекул их стали изучать только в 2000-х. Сегодня известно, что они участвуют не только в негативной регуляции (подавление трансляции, деградация мРНК), но и, возможно, в позитивной (активация транскрипции и трансляции). История изучения микроРНК началась в конце 1980-х, когда Виктор Амброс и Гари Равкан исследовали генетические программы у червя *C. elegans*. Этот модельный организм позволил им изучить механизмы регуляции генов, которые активируются на разных этапах развития. Их исследования начались с изучения мутантных линий червей *lin-4* и *lin-14*, у которых нарушалось время активации генетических программ. Это привело к открытию коротких молекул РНК, регулирующих экспрессию генов.

Для систематизации данных о микроРНК создана база miRBase, содержащая информацию о последовательностях, тканевой специфичности и мишенях микроРНК. Номенклатура микроРНК включает префиксы (например, "miR" для зрелых форм, "mir" для предшественников), цифровые обозначения и видовые маркеры (например, "hsa" для человека). МикроРНК были открыты у нематоды *C. elegans*. Ген *lin-4* продуцирует короткие РНК, регулирующие *lin-14*. Позже найден *let-7*, кодирующий микроРНК. Гомологи *let-7* у человека подтвердили универсальность микроРНК [1].

МикроРНК образуются в результате многоступенчатого процесса. Гены микроРНК транскрибируются РНК-полимеразой II в первичные транскрипты, которые затем обрабатываются ферментом Drosha в ядре. Образованные пре-

микроРНК транспортируются в цитоплазму, где фермент Dicer удаляет шпильку, оставляя зрелую микроРНК. Зрелая микроРНК включается в комплекс RISC, который направляет её к комплементарным участкам мРНК, вызывая подавление трансляции [2]. Описаны следующие механизмы действия микроРНК: ингибирование присоединения 40S-субъединицы рибосомы в области кэп; подавление присоединения рибосомной 60S-субъединицы; подавление элонгации; преждевременная терминация; деградация котрансляционных вспомогательных белков, мРНК; разрезание мРНК [3]. МикроРНК вызывают также модификацию гистонов и метилирование ДНК в области промоторов, что влияет на экспрессию генов-мишеней. Имеются данные, указывающие на возможность взаимодействия микроРНК непосредственно с ДНК в процессе РНК-зависимого метилирования ДНК, которое является одним из ключевых механизмов репрессии генов.

Дисбаланс в количестве или активности микроРНК связан с развитием заболеваний, включая рак, где они могут действовать как опухолевые супрессоры или активаторы онкогенов. Дисбаланс в экспрессии miR-15 и miR-16 связан с хроническим лимфолейкозом, а miR-21 является маркером плохого прогноза при раке поджелудочной железы. МикроРНК также влияют на ангиогенез, что важно для роста опухолей и метастазирования. МикроРНК участвуют в патогенезе многих заболеваний, включая онкологические, сердечно-сосудистые гинекологические, нефрологические, а также микроРНК участвует в процессе нейродегенерации и развитии психических заболеваний. В сердечно-сосудистых заболеваниях микроРНК регулируют ангиогенез и ремоделирование сердца [4].

МикроРНК являются перспективными биомаркерами для диагностики заболеваний. Так как часть микроРНК является специфичной для определенных тканей и/или стадий развития организма, молекулы микроРНК могут рассматриваться как инструмент диагностики. Среди преимуществ данных биомаркеров можно выделить возможность обнаружения патологии в латентной стадии, малую инвазивность проводимых исследований, а также относительную устойчивость к разрушающим факторам [1]. При этом отмечается возможность выявления микроРНК в различных биологических жидкостях: сыворотке крови, моче, семенной жидкости, слюне, грудном молоке. В неврологии микроРНК участвуют в регуляции синаптической пластичности и могут быть биомаркерами нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера [5].

Другое применение микроРНК в диагностике и лечении раковых заболеваний может заключаться в их использовании для составления прогноза. Разработан тест на определение рака толстой и прямой кишки на ранних стадиях, основанный на определении микроРНК [6]. В других исследованиях низкая концентрация miR-324a при раке лёгких может служить индикатором плохой выживаемости, а высокая концентрация miR-185 или низкая – miR-133b свидетельствуют о наличии метастазов и, следовательно, плохой выживаемости при раке толстой и прямой кишки. Показано, что уровни экспрессии

определённых микроРНК меняются при различных заболеваниях сердца, свидетельствуя тем самым об их вовлечённости в развитие кардиомиопатий [4].

МикроРНК влияют на поведение генов и связаны с различными заболеваниями. Это делает их важной мишенью для разработки новых методов терапии. В терапии микроРНК могут использоваться для подавления онкогенов или восстановления функций опухолевых супрессоров. Показано, что miR-128a ингибирует рост клеток медуллобластомы путем нацеливания на онкогенный белок Bmi-1 [5]. Кроме того, miR-128a изменяет внутриклеточное окислительно-восстановительное состояние опухолевых клеток и способствует клеточному старению. Перспективной является разработка микроРНК-направленных олигонуклеотидных ингибиторов, что позволяет обозначить области их потенциального практического применения при лечении злокачественных новообразований и других патологий.

Вывод. МикроРНК играют ключевую роль в регуляции генов и участвуют в патогенезе множества заболеваний. Их изучение открывает новые возможности для диагностики и терапии, включая разработку персонализированных методов лечения. Дальнейшие исследования микроРНК позволят углубить понимание их функций и расширить их применение в медицине.

ЛИТЕРАТУРА

1. Миронова, О.Ю. МикроРНК: взгляд клинициста на состояние проблемы. Часть 1. История вопроса / О.Ю. Миронова, М.В. Бердышева, Е.М. Елфимова // Евразийский Кардиологический Журнал. – 2023. Вып 1 (1) – С.100-107.
2. Рыткин, Э.И. Микро-РНК как новый биомаркер активности системы цитохрома Р-450: значение для прогнозирования антиагрегантного действия ингибиторов P2Y₁₂-рецепторов / Э.И. Рыткин [и др.] // Терапевтический архив. – 2019; 91 (8). – С.115-117.
3. Morozova, N. Kinetic signatures of microRNA modes of action (неопр.) / N. Morozova [et al.] // RNA. – 2012. – September (т. 18, № 9). – С. 1635 – 1655.
4. Tatsuguchi, M. Expression of microRNAs is dynamically regulated during cardiomyocyte hypertrophy (англ.) / M. Tatsuguchi [et al.] // J. Mol. Cell. Cardiol.[англ.] : journal. – 2007. – June (vol. 42, no. 6). – P. 1137 – 1141.
5. Бейлерли, О.А. Микро-РНК как биомаркеры и терапевтические мишени при медуллобластомах / О.А.Бейлерли [и др.] // Креативная хирургия и онкология. – 2020;10(4). – С.311-318.
6. Nielsen, B. S. High levels of microRNA-21 in the stroma of colorectal cancers predict short disease-free survival in stage II colon cancer patients (англ.) / B. S. Nielsen [et al.] // Clin Exp Metastasis : journal. – 2010. – October (vol. 28, no. 1). – P. 27–38.

ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЦИТОПЛАЗМЕ КЛЕТОК СПЕРМАТОГЕННОГО ЭПИТЕЛИЯ СЕМЕННИКОВ КРЫС В РАННЕМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА *S. MARCESCENS*

Поплавская Е.А.

*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно,
Республика Беларусь*

Актуальность. Роль мужского фактора в невынашивании беременности многие годы была вне поля зрения специалистов репродуктивной медицины. По результатам исследований мужской фактор в сохранении беременности не уступает, а по некоторым параметрам превосходит роль женского. Функция спермы не ограничена лишь передачей генетической информации – она играет важную роль не только в оплодотворении, но и в процессах имплантации и эмбриогенезе. Научные открытия во многих областях научных исследований (эмбриологии, цитологии, андрологии) в последние годы позволили сформировать представление о значимости мужского фактора. Сегодня мы начинаем лучше понимать, что эпигенетические изменения в сперме могут играть иницирующую роль в этиопатогенезе бесплодия и невынашивания. Исследования показывают, что сперматозоиды, даже со значительным количеством повреждений ДНК, могут сохранять способность оплодотворять яйцеклетки, но в дальнейшем эмбриональное развитие может быть нарушено, что приводит к прерыванию беременности [4, 5].

Сперматогенез является одним из наиболее динамичных процессов в организме человека и животных. Нормальное его протекание требует скоординированного влияния многочисленных факторов – гормональных, клеточных, генетических и др., что делает этот процесс весьма чувствительным для всякого рода негативных воздействий, в том числе и бактериальных липополисахаридов (ЛПС) [2].

Бактериальные ЛПС имеют различные точки приложения своего действия, обладая и выраженным токсическим эффектом [1]. В многочисленных работах, как клинических, так и экспериментальных, представлены различные нарушения дифференцировки и созревания полового эпителия. Однако, вопрос о влиянии бактериальных ЛПС на цитохимические изменения в клетках полового 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 *Serratia marcescens* (*S. marcescens*).

Материалы и 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 *S. marcescens* в дозе 50 мкг/кг массы внутривентрально, 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) [3]. Все гистохимические исследования сопровождались безсубстратными контролями.

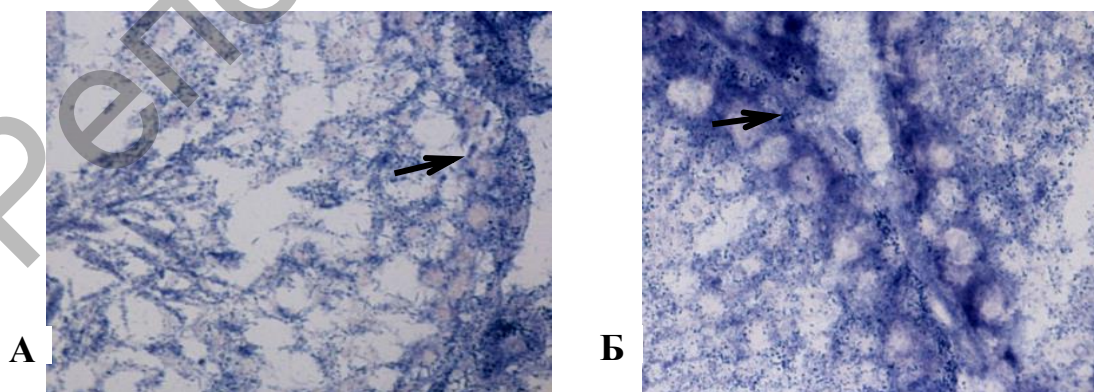
Количественную оценку активности НАДН₂-ДГ, НАДФН₂-ДГ, ЛДГ, Г-6-Ф-ДГ проводили, определяя оптическую плотность полученного осадка хромогена в цитоплазме первичных сперматозоидов на максимуме поглощения окрашенных продуктов реакций. Изучение гистологических препаратов и их цитометрию проводили с помощью 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 однократном введении ЛПС *S. marcescens* активность НАДН-ДГ на 3-и сутки после введения статистически достоверно увеличивается на 19,18% ($Z=-2,24$, $p=0,02$) (таблица, рисунок 1).

Таблица. Цитохимические изменения в цитоплазме первичных сперматозоидов 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)	0,205*↑ (0,193; 0,210)
НАДФН ₂ -ДГ	0,154(0,105; 0,212)	0,116 (0,106; 0,130)
ЛДГ	0,160 (0,131; 0,174)	0,161 (0,123; 0,203)
Г-6-Ф-ДГ	0,055 (0,034; 0,066)	0,064 (0,053; 0,075)

Примечание – * – $p<0,05$ при сравнении с контролем



Тетразолиевый метод по Lojda. Цифровая микрофотография. Ув. об. 40

Рисунок 1– Активность НАДН-ДГ в цитоплазме первичных сперматозоидов семенников крыс в контрольной группе (А) и на 3-и сутки после однократного внутрибрюшинного введения ЛПС *S. marcescens* (Б)

При сравнении значений активности НАДФН-ДГ установлено снижение активности данного фермента, при этом статистически значимых различий не регистрировалось. Не наблюдалось изменений по сравнению с контрольными показателями при изучении активности ЛДГ. При сравнении значений уровня активности Г-6-Ф-ДГ в цитоплазме первичных сперматоцитов у контрольных и опытных животных регистрировалось незначительное увеличение активности фермента, но статистически достоверных различий выявлено не было (таблица).

НАДН-ДГ – является ключевым цитоплазматическим ферментом системы транспорта электронов, участвующим в производстве энергии в клетке. Повышение уровня активности указывает на стимуляцию энергетического обмена в клетке. НАДФН-ДГ выступает в качестве показателя активности ферментативных реакций окисления и принимает участие в процессах восстановительного синтеза. Снижение активности данного фермента характеризует подавление вышеуказанного процесса при воздействии ЛПС. Г-6-Ф-ДГ отвечает за успешное протекание пентозофосфатного пути. Повышенный уровень свидетельствует о недостаточном снабжении клетки кислородом и указывает на перестройку энергетического метаболизма.

Выводы. ЛПС является субстанцией, диапазон вызываемых влияний которой характеризуется широтой разнообразных эффектов, одним из которых является окислительный стресс в клетке с появлением активных форм кислорода (АФК). В качестве защиты от АФК клетка использует антиоксиданты, в частности глутатион. Изменение уровня активности исследуемых ферментов – это следствие изменения окислительного статуса в организме животных и, в частности, в семенниках, в ответ на введение ЛПС. В ответ на окислительный стресс изменяются соответствующим образом уровни активности ферментов, прямо или косвенно участвующие в нивелировке последствий появления АФК.

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. Лойда З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы. М., 1982.
4. Лычагин, А.С. Невынашивание беременности: вклад мужского фактора и возможности его преодоления / А.С. Лычагин, О.Ю. Малинина // Проблемы репродукции. – 2017. – № 5. – С.107-114.
5. Puscheck, E.E. The impact of male factor on recurrent pregnancy loss. / E.E. Puscheck, R. Jeyendran // Curr Opin Obstet Gynecol. – 2007. – №19(3). – P.222-228.

ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ СВОБОДНОГО И НАНОКВЕРЦЕТИНА ПРИ ИНИЦИИРОВАНИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В КЕРАТИНОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА

Потапович А. И.¹, Костюк Т. В.¹, Шутова Т. Г.², Костюк В. А.¹

¹*Белорусский государственный университет*

²*Институт химии новых материалов НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Актуальность. Традиционные способы доставки фармакологических препаратов при лечении сердечно-сосудистых, онкологических и других заболеваний сопряжены с рядом серьезных системных побочных эффектов, связанных с тем, что для обеспечения нужной концентрации в области потенциальной мишени приходится увеличивать дозу препарата. Поэтому в последние годы наблюдается растущий интерес к использованию в лекарственной терапии нанотехнологий. Создаваемые с их помощью наночастицы (НЧ) широко используются для повышения стабильности, биодоступности и специфичности фармакологических препаратов. Ранее нами было показано, что растительные полифенольные соединения (РПС) и, в частности кверцетин, обладают цитопротекторным действием в условиях клеточного окислительного стресса [1, 2], однако, низкая растворимость в воде ограничивает возможность их фармакологического применения. Поэтому получение микро- и наночастиц, содержащих РПС, и исследование их биологических эффектов представляется весьма актуальной задачей. Несомненно, что ввиду меньшей токсичности предпочтительнее использование с этой целью биосовместимых и биоразлагаемых природных полимеров, например желатина или хитозана.

Цель исследования. Оценить перспективность использования наноструктур на основе желатина, как средства повышения биодоступности и эффективности кверцетина при иницировании окислительного стресса в кератиноцитах человека.

Материалы и методы. Объектом исследования являлась иммортализованная клеточная линия кератиноцитов человека HaCaT. Клетки культивировали во флаконах T25 (Sarstedt, США) в среде ДМЕМ, содержащей 10 % FBS в стандартных условиях (37 °C, 5 % CO₂). Экспозицию с исследуемыми веществами проводили в 96- и 24-луночных планшетах (Sarstedt, США). Окислительный стресс иницировали добавлением гидропероксида трет-бутила (tBHP). Исследуемые препараты добавляли к среде инкубации, не содержащей сыворотки непосредственно перед внесением tBHP. Использовали свободный кверцетин и кверцетин, загруженный в наночастицы желатина с диаметром 160-190 нм, полученные методом двухстадийной десольватации (Кв-НЧ1), и желатиновые наночастицы с LDL оболочкой из декстран сульфата и сополимера хитозан-декстран (Кв-НЧ2). Жизнеспособность клеток оценивали с помощью реагента PrestoBlueTM,

повреждение кератиноцитов оценивали по выходу лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и методом двойного окрашивания (акридиновый оранжевый/этидиум бромид).

Результаты и обсуждение.

Внесение в культуральную среду tBHP приводит к дозозависимому повреждению кератиноцитов человека, и при концентрации в культуральной среде 500 мкмоль/л через 24 ч наблюдается максимальный цитотоксический эффект, о чем свидетельствует: снижение практически до нуля количества метаболически активных клеток, способных осуществлять энергозатратную реакцию восстановления индикатора жизнеспособности клеток резазурина в красный флуоресцентный пигмент резорурфин; нарушение целостности плазматических мембран и выход из клеток более 90 % цитоплазматического фермента ЛДГ; окрашивание ядер всех клеток невитальным красителем (этидиум бромид). Выявленное нами снижение количества свободных SH-групп в клетках при инкубации с tBHP согласуется с существующими представлениями о свободнорадикальном механизме его цитотоксического действия.

В последующих экспериментах было исследовано влияние свободного и наноструктурированного кверцетина, а также желатиновых наночастиц, не содержащих кверцетин (НЧ1 и НЧ2), на окислительное повреждение кератиноцитов человека tBHP. Установлено, что кверцетин в концентрации 25 мкмоль/л достоверно снижает степень повреждения кератиноцитов, оцениваемого по выходу из клеток фермента лактатдегидрогеназа через 24 ч инкубации. Эффект кверцетина существенно увеличивается при внесении его в культуральную среду в виде желатиновых наноструктур, при этом у желатиновых наноструктур, не содержащих кверцетин, защитный эффект не выявлен (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние свободного и наноструктурированного кверцетина на повреждение кератиноцитов, оцениваемое по выходу из клеток фермента лактатдегидрогеназы через 24 ч инкубации с tBHP

Условия эксперимента	Количество неповрежденных клеток, %
Контрольные клетки	100±4,0
tBHP, 500 мкмоль/л	8,1±3,4 [§]
+ Кв 12,5 мкмоль/л	7,0±2,5 [§]
+ Кв 25 мкмоль/л	28,3±6,2 [*]
+ НЧ1 12,5 мкмоль/л	11,0±3,4 [§]
+ НЧ1 25 мкмоль/л	63,6±9,9 ^{*Δ}
+ НЧ2 12,5 мкмоль/л	5,2±2,3 [§]
+ НЧ2 25 мкмоль/л	65,6±13,1 ^{*Δ}

[§] - $p \leq 0,00001$ vs контроль; ^{*} - $p \leq 0,05$ vs t-BHP; ^Δ - $p \leq 0,01$ vs кверцетин

Более выраженное цитопротекторное действие наноструктурированного кверцетина в сравнении со свободным также подтверждено методом двойного окрашивания (рис.) и с помощью реагента PrestoBlue.

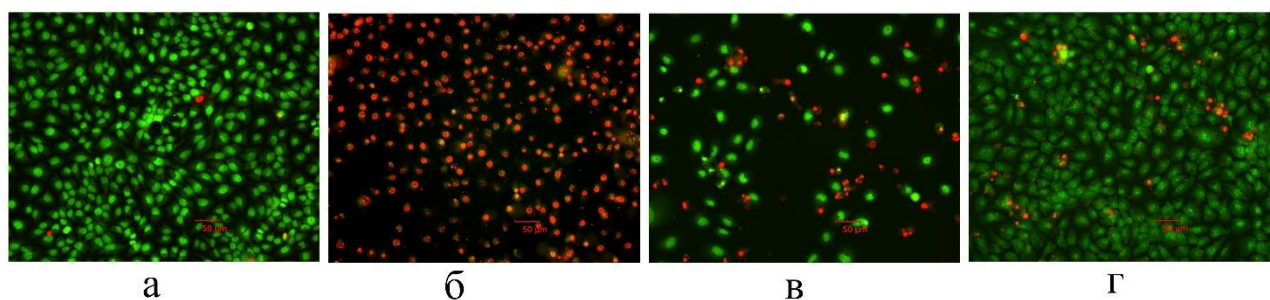


Рисунок 1 - Флуоресцентные микрофотографии кератиноцитов, окрашенных системой акридиновый оранжевый/этидий бромид (а) контрольные клетки, (б) клетки через 24 ч инкубации с tBHP (500 мкмоль/л); (в) с tBHP в присутствии 50 мкмоль/л свободного кверцетина; (г) с tBHP в присутствии 50 мкмоль/л НСl.

Следует отметить, что свободный и наноструктурированный кверцетин одинаково эффективно предотвращали снижение количества свободных SH групп в клетках через 4 ч инкубации с tBHP (табл. 2).

Таблица 2 – Влияние свободного и наноструктурированного кверцетина на уровень свободных SH-групп в кератиноцитах человека через 4 ч инкубации с tBHP

Условия эксперимента	SH-группы, нмоль/мл лизата клеток
Контрольные клетки	18,9±0,6
tBHP, 500 мкмоль/л	14,1±0,6 [§]
+ Кв 12,5 мкмоль/л	18,7±1,4 [*]
+ Кв 25 мкмоль/л	18,7±0,6 [*]
+ НСl 12,5 мкмоль/л	19,6±1,2 [*]
+ НСl 25 мкмоль/л	19,5±1,4 [*]
+ НС2 12,5 мкмоль/л	20,4±0,7 [*]
+ НС2 25 мкмоль/л	18,7±1,4 [*]

[§] - $p \leq 0,00001$ vs контроль; ^{*} - $p \leq 0,0001$ vs tBHP

Выводы. Установлено, что включение кверцетина в наночастицы на основе желатина без и с LDL оболочкой повышает его биодоступность и существенно усиливает его антиоксидантное действие в условиях окислительного стресса, инициируемого гидропероксидом трет-бутила в кератиноцитах человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Потапович, А.И. Влияние растительных полифенолов на УФС-индуцированные повреждения ядерной ДНК в кератиноцитах / А.И. Потапович, А. Албухайдар, В.А. Костюк // Евразийский союз ученых. – 2020. – № 4, ч. 2. – С. 45–48.
2. Potapovich, A.I. DNA repair activation and cell death suppression by plant polyphenols in keratinocytes exposed to UV-irradiation / A.I. Potapovich, T.V Kostyuk, T.V. Shman, T.I. Ermilova, T.G. Shutava, V.A. Kostyuk // Rejuvenation Res. – 2023 – Vol. 26 – P. 1–8.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА

Рабковская Е.М., Победимова В.Д., Черненко Д.К., Зинчук В.В.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

В последние годы медицинские газы привлекают большое внимание специалистов в области биомедицины. При этом спектр газов, для которых были обнаружены биологические эффекты и наблюдался положительный эффект, достаточно широк и продолжает увеличиваться. С недавнего времени молекулярный водород (H_2), обладающий уникальными свойствами, занял особое место в терапии с использованием медицинских газов [9].

Интерес к использованию молекулярного водорода для лечения заболеваний возрос с тех пор, как в 2007 году были продемонстрированы его антиоксидантные свойства. Исследование показало, что вдыхание газообразного водорода значительно уменьшает повреждения головного мозга у крыс после ишемии-реперфузии [6]. Антиоксидантная активность молекулярного водорода лежит в основе его профилактического и терапевтического действия. Было показано, что H_2 оказывает благотворное воздействие при различных патологических состояниях, связанных с свободными радикалами и окислительным стрессом [13].

Молекулярный водород снижает окислительный стресс, не нарушая окислительно-восстановительного равновесия [1]. Многие антиоксиданты, включая витамины, могут проникать в цитоплазму, но не в митохондрии. Показано, что водород может быстро распределяться в цитозоле и органеллах, а также проникать в митохондрии и ядро без побочных эффектов [15]. Доказано, что молекулярный водород избирательно противодействует вредным активным формам кислорода, таким как гидроксильный радикал, может поддерживать гомеостаз тканей и может быть более полезным с клинической точки зрения, чем сильные антиоксиданты, которые нейтрализуют как полезные, так и вредные виды активных форм кислорода [6]. Обнаружено, что различные дозы молекулярного водорода снижают биомаркеры окислительного стресса, такие как малоновый диальдегид, 8-гидрокси-2'-дезоксигенозин, миелопероксидазу и 4-гидроксиноненал.

Данный фактор может накапливаться в липидной фазе больше, чем в водной фазе, особенно в области ненасыщенных липидов, которая является основным местом проведения первичных свободнорадикальных цепных реакций [14]. Следовательно, H_2 может иметь преимущество в подавлении этих реакций. По сравнению с гидроксил-радикалом, период полураспада пероксинитрита более длительный, что повышает вероятность реакции с H_2 в месте поражения.

Водород снижает окислительный стресс не только напрямую, но и косвенно, индуцируя антиоксидантные системы, включая гем-оксигеназу-1, супероксиддисмутазу, каталазу и миелопероксидазу. Он смягчает

окислительное повреждение, способствуя повышению регуляции активности супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы и увеличивая соотношение восстановленного/окисленного глутатиона [10].

Также было показано, что воздействие среды, богатой H_2 , уменьшает повреждение эпителиальных клеток легких в клеточных линиях человека (вызванное облучением) за счет снижения образования активных форм кислорода [7]. Дополнительным механизмом реализации антиоксидантного действия водорода является воздействие на сигнальную регулирующую киназу-1 и регуляторный путь митогенактивируемой протеинкиназы, которые опосредуют антиоксидантную активность соединения и его антиапоптотические свойства. Стимуляция этих каскадов приводит к ингибированию экспрессии NADPH-оксидазы и, как следствие, снижению скорости свободного образования радикалов. Сочетание этих эффектов позволяет охарактеризовать H_2 как универсальный антиоксидант широкого спектра действия [2].

Антиоксидантный потенциал и физиологические преимущества молекулярного водорода сохраняются и после выведения из организма, особенно в более низких концентрациях. Это свидетельствует о том, что данный процесс включает в себя регулирование антиоксидантных сигналов, а не удаление свободных радикалов. Водород может предотвращать гибель клеток, предотвращая аберрантное окисление фосфолипидов и перекисное окисление липидов, а также ограничивает повышение проницаемости клеточных мембран, что является еще одним важным механизмом антиоксидантного действия H_2 [7].

Модельные исследования и клинические испытания показали, что молекулярный водород обладает не только антиоксидантным действием, но также противовоспалительным и антиапоптотическим [15]. Некоторые исследования показали, что водород может подавлять аутофагию [4], в то время как другие продемонстрировали, что он вызывает аутофагию [8].

Терапия H_2 может быть новым и эффективным методом лечения хронической обструктивной болезни легких. В экспериментах на животных насыщенный водородом физиологический раствор значительно уменьшал воздействие сигаретного дыма, вызывающее хроническую обструктивную болезнь легких, уменьшал ремоделирование мелких дыхательных путей и гиперплазию бокаловидных клеток в эпителии трахеи, а также уменьшал количество воспалительных клеток в жидкости для бронхоальвеолярного лаважа [5]. Кроме того, лечение водой, насыщенной водородом, восстановило статическую эластичность легких, снизило уровни окислительных повреждений ДНК и маркеров старения, а также уменьшило эмфизему.

В экспериментальной модели поллиноза было показано, что воздействие водного раствора молекулярного водорода приводило к снижению количества дегранулирующих форм тучных клеток, а также уменьшению их общего количества на 5–30 % в группах с различными комбинациями аллергенов и химических веществ [17]. Wen-Wen Dong et al. (2017), в своих исследованиях продемонстрировали, что обогащенный водородом физиологический раствор перспективен в качестве полезного вспомогательного средства для лечения

пациентов с легочным фиброзом. Xu et al. (2013), установили, что обработка богатым водородом физиологическим раствором уменьшает фиброз почек и инфильтрацию макрофагов, индуцированную односторонней обструкцией мочеточника у крыс. В исследованиях Xiao et al. (2013) сообщалось, что вода, насыщенная H_2 , уменьшает ремоделирование дыхательных путей и гиперсекрецию слизи дыхательных путей за счет уменьшения активации NF- κ B у мышей, страдающих астмой. Было показано, что H_2 улучшает метаболизм липидов и глюкозы у пациентов с легким сахарным диабетом 2 типа или нарушенной толерантностью к глюкозе. Повышенная экспрессия и активность супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы наблюдались у крыс, получавших внутривенное введение водорода, при нервно-паралитической интоксикации, гипертензии и повреждении почек [12]. Cui Y. et al., установили, что водород оказывает защитное действие против кардиомиопатии, вызванной сепсисом.

В исследованиях, проведенных Guo Y. et al., было показано, что 3-4-й % молекулярный водород не нарушает физиологический ангиогенез сетчатки и ослабляет неоваскуляризацию и нейроглиальную дисфункцию у мышей с кислородно-индуцированной ретинопатией. Данный фактор играет защитную роль в регенерации сосудов, способствуя активации Nrf2 и подавляя индуцированный Dll4 сигнальный путь Notch.

Кроме того, молекулярный водород уменьшает интерстициальный фиброз в сердце. В модели повреждения сердца, вызванном перегрузкой давлением, Cahill-Smith S. and Li J. M. (2014) продемонстрировали, что H_2 подавляет передачу сигналов TGF- β 1, эффективно предотвращая сердечную недостаточность. Более того, H_2 ингибировал p53-опосредованный апоптоз и замедлял прогрессирование хронической сердечной недостаточности. Потребление воды, насыщенной молекулярным водородом, снижало концентрацию окисленных липопротеидов низкой плотности и свободных жирных кислот в сыворотке крови, а также улучшало функцию липопротеидов высокой плотности и метаболизм глюкозы [3].

Вдыхание H_2 приводит к улучшению функционального состояния эритроцитов, что сопровождается более благоприятным течением раннего послеоперационного периода. Снижение процессов липопероксидации под действием H_2 может быть важным фактором, определяющим повышение стабильности мембран эритроцитов и улучшение их агрегационных свойств [16]. Дерюгина А.В. утверждает, что ингаляции 2%-х H_2 проводили к снижению окислительного стресса и улучшению метаболизма эритроцитов, что способствовало улучшению микроциркуляции. В метаболических процессах эритроцитов под действием молекулярного водорода происходит увеличение концентрации АТФ, что свидетельствует об улучшении метаболизма эритроцитов и, вероятно, связано с восстановлением окислительно-восстановительных процессов, снижением промежуточных метаболических продукты, включая молочную кислоту, и уменьшение ацидоза в клетках. Предполагается, что H_2 является регуляторной молекулой, участвующей во многих клеточных функциях, как внутриклеточных, так и, возможно, менее

известных, внеклеточных функциях. Например, повышение уровня катехоламинов в плазме крови связано с повышенной агрегацией эритроцитов вследствие активации адренорецепторов эритроцитов. Предполагается, что H₂ приводит к снижению реакции на стресс и уровня катехоламинов, что приводит к снижению агрегации эритроцитов [11].

Окислительный стресс играет решающую роль в развитии возрастных заболеваний. Молекулярный водород действует как антиоксидант и противовоспалительное средство для лечения ряда заболеваний, связанных с окислительным стрессом и старением, включая болезни Альцгеймера, Паркинсона, рак и остеопороз.

Многие клинически протестированные антиоксиданты продемонстрировали высокую токсичность, что ограничивает их использование в узком диапазоне терапевтических доз и обуславливает неэффективность профилактики заболеваний, связанных с окислительным стрессом [12]. Молекулярный водород как антиоксидант не обладает такой токсичностью, что является его значительным преимуществом.

Таким образом, молекулярный водород обладает широким спектром физиологической активности и преимущественно характеризуется антиоксидантными, противовоспалительными и антиапоптотическими свойствами. Используя различные методические подходы воздействия молекулярного водорода на биологические объекты, можно более полно понять кислородзависимые аспекты его действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Antioxidants as precision weapons in war against cancer chemotherapy induced toxicity—Exploring the armoury of obscurity / K. Singh [et al.] // Saudi Pharm. J. – 2018. – Vol. 26. – P. 177–190.
2. Effective mRNA pulmonary delivery by dry powder formulation of PEGylated synthetic KL4 peptide / Y. Qiu [et al.] // J. Control. Release. – 2019. – Vol. 314. – P. 102–115.
3. Hydrogen activates ATP-binding cassette transporter A1-dependent efflux ex vivo and improves high-density lipoprotein function in patients with hypercholesterolemia: a double-blinded, randomized, and placebo-controlled trial / G. Song [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. – 2015. – Vol. 100, № 7. – P. 2724–2733.
4. Hydrogen Gas Attenuates Myocardial Ischemia Reperfusion Injury Independent of Postconditioning in Rats by Attenuating Endoplasmic Reticulum Stress-Induced Autophagy / Y. Gao [et al.] // Cell. Physiol. Biochem. – 2017. – Vol. – P. 1503–1514.
5. Hydrogen gas inhalation protects against cigarette smoke-induced COPD development in mice / W. Lu [et al.] // Journal of Thoracic Disease. – 2018. – Vol. 10, № 6. – P. 3232–3243.
6. Hydrogen Therapy and Its Future Prospects for Ameliorating COVID-19: Clinical Applications, Efficacy, and Modality / I. Perveen I. [et al.] // Biomedicines. – 2023. – Vol. 7, № 11. – 1892 p.

7. Hydrogen therapy as a potential therapeutic intervention in heart disease: from the past evidence to future application / K. Saengsin [et al.] // Cellular and Molecular Life Sciences. – 2023. – Vol. 6, № 80. – 174 p.
8. Hydrogen-rich saline mediates neuroprotection through the regulation of endoplasmic reticulum stress and autophagy under hypoxia-ischemia neonatal brain injury in mice / X. Bai [et al.] // Brain Res. – 2016. – 410–417.
9. Johnsen, H.M. Molecular Hydrogen Therapy – A Review on Clinical Studies and Outcomes / H. M. Johnsen, M. Hiorth, J. Klaveness // Molecules. – 2023. – Vol. 23, № 28. – 7785 p.
10. Molecular and Cellular Mechanisms Associated with Effects of Molecular Hydrogen in Cardiovascular and Central Nervous Systems / M. Barancik [et al.] // Antioxidants (Basel). – 2020. – Vol. 9, № 12. – 1281 p.
11. Molecular hydrogen exposure improves functional state of red blood cells in the early postoperative period: a randomized clinical study / A. V. Deryugina [et al.] // Med Gas Res. – 2023. – Vol. 2, № 13. – P. 59–66.
12. Molecular Hydrogen: From Molecular Effects to Stem Cells Management and Tissue Regeneration / M. Y. Artamonov [et al.] // Antioxidants. – 2023. – Vol. 3, № 12. – P. 636.
13. Oxidative stress and pathways of molecular hydrogen effects in medicine / J. Slezak [et al.] // Current Pharmaceutical Design. – 2021. – Vol. 27, № 5. – P. 610–625.
14. Preventive and therapeutic application of molecular hydrogen in situations with excessive production of free radicals / B. Slezák [et al.] // Physiological Research. – 2016. – Vol. 65, № 1. – P. 11–S28.
15. Tao, G. Molecular hydrogen: current knowledge on mechanism in alleviating free radical damage and diseases / G. Tao, G. Song, S. Qin // Acta Biochimica et Biophysica Sinica. – 2019. – Vol. 12, № 51. – P. 1189–1197.
16. Данилова, Д. А. Действие молекулярного водорода на функциональные показатели эритроцитов и окислительные свойства крови крыс с моделированной сердечной недостаточностью / Д. А. Данилова, А. А. Скокова, А. В. Дерюгина // Биорадикалы и Антиоксиданты. – 2021. – Т. 8, № 2. – С. 28–29.
17. Красникова, А. А. Влияние водного раствора молекулярного водорода на тучные клетки в экспериментальной модели поллиноза / А. А. Красникова, Н. Ю. Самодурова // Биотех-2024: Тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (16-19 апреля 2024 года). – СПб.: ПОЛИТЕХ-ПРЕСС, 2024. – 201 с.

ВЛИЯНИЕ НА РИТМИЧЕСКУЮ СТРУКТУРУ ПРИНУДИТЕЛЬНОГО ПЛАВАНИЯ КРЫС WISTAR АНАЛОГОВ С-КОНЦЕВОГО ФРАГМЕНТА АРГИНИН- ВАЗОПРЕССИНА

*Саванец О.Н., Кравченко Е.В., Ольгомец Л.М., Бородина К.В.,
Грибовская О.В., Зильберман Р.Д.*

*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь,*

Актуальность. Рассогласование колебательных процессов в организме является причиной десинхроноза и, как следствие, нарушения адаптационных способностей. Одним из факторов, негативно влияющих на нормальное функционирование биологических ритмов является стресс. Тест принудительного плавания (ПП) представляет собой условия неизбежного стресса в сочетании с высокой неопределенностью среды. Известно, что лекарственные препараты, обладающие антистрессорным действием, увеличивают долю длиннопериодных колебаний активного плавания в тесте ПП у крыс [1].

Цель – изучить влияние структурных аналогов С-концевого фрагмента АВП N-Ac-Ser-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-1), N-Ac-DSer-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-2) и N-Ac-Phe-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-3) на структуру принудительного плавания.

Материалы и методы. Исследования проводили с использованием 105 половозрелых крыс-самцов Wistar с массой тела 250–350 г, полученных в секторе биоиспытаний Института биоорганической химии НАН Беларуси.

Грызунов помещали двукратно на 16 мин в бассейн (диаметр сосуда – 30 см, высота – 66 см). Уровень воды в бассейне составлял 38 см, температура – 25 °С [2]. Установка и условия эксперимента соответствовали модифицированному методу Porsolt [2].

Формировали 10 экспериментальных групп и за 15-30 мин до начала 2 сеанса неизбежного плавания интраназально (и/н) вводили структурные аналоги С-концевого фрагмента АВП N-Ac-Ser-Pro-Arg-Gly-NH₂ (далее - В-1), N-Ac-DSer-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-2) и N-Ac-Phe-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-3) в дозах 0,1; 1,0 и 10,0 мкг/кг соответственно. Животные контрольной группы (КГ) и/н получали дистиллированную воду (ДВ). Число крыс в группах сравнения составляло 10, в КГ – 15 особей. Исследования осуществлялись в осенний период года (сентябрь-ноябрь). При повторном погружении крысы в бассейн регистрировали число эпизодов активного плавания с гармониками менее 6 с, 6-18 с и более 18 с в каждую из 16 мин теста [1].

Определяли соотношение количества циклов: а) с периодом 18 с и более ($T_{\text{длит.}}$) к таковому с периодом менее 6 с ($T_{\text{коротк.}}$); б) $T_{\text{длит.}}$ к $T_{\text{средн.}}$ (количество циклов 6-18 с); в) $T_{\text{средн.}}$ к $T_{\text{коротк.}}$; г) доли в популяции животных ($D_{\text{длит.}}$), у которых длиннопериодные ритмы (свыше 18 с) возникали два и более раз. При подсчете соотношения циклов различной продолжительности не учитывали значения, при которых была необходимость делить на ноль. Ожидаемым

хронотропным эффектом является снижение доли циклов плавания менее 6 с ($T_{\text{коротк.}}$) с одновременным повышением циклов $T_{\text{длит.}}$. При обработке результатов исследования использовали метод непараметрической статистики (точный критерий Фишера). Обработку результатов осуществляли с помощью программного обеспечения Biostat 4.03.

Результаты исследования и их обсуждение. Ритмические компоненты форсированного плавания предоставляют возможность оценить не только силу ответной реакции на стресс, но и уровень адаптационных способностей [1].

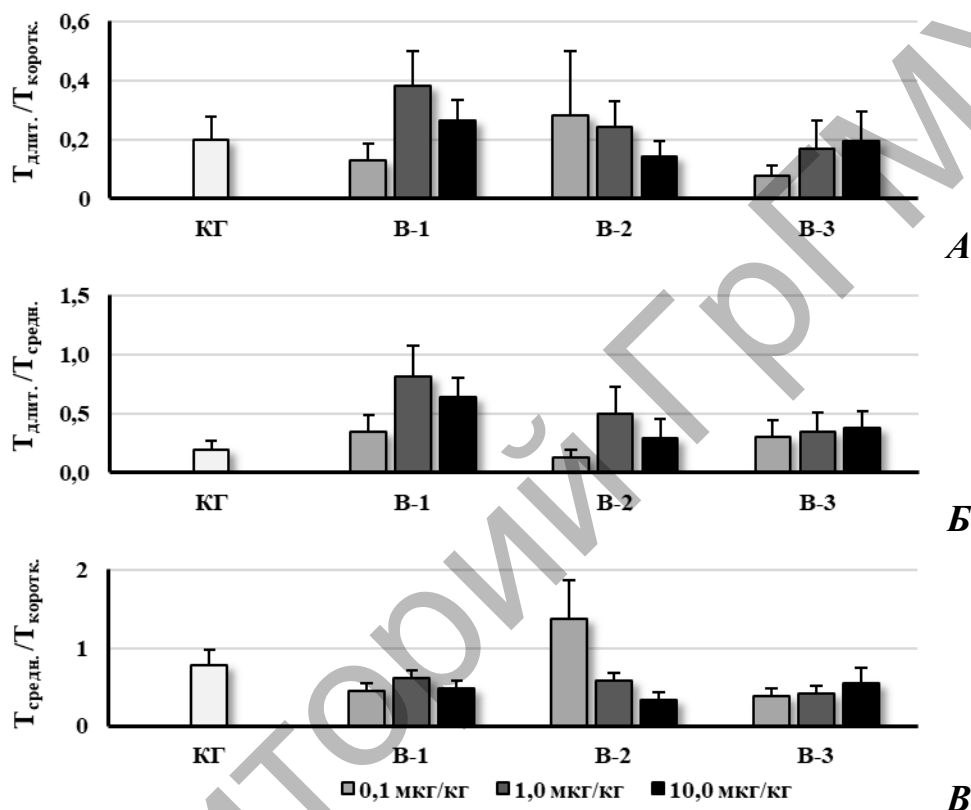


Рисунок 1 – Соотношения количества циклов активного плавания различной продолжительности при однократном введении тетрапептидов N-Ac-Ser-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-1), N-Ac-D-Ser-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-2) и N-Ac-Phe-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-3) в дозах 0,1; 1,0 и 10,0 мг/кг (и/н) крысам. Соотношение количества циклов плавания различной продолжительности: А – длительных (с гармоникой более 18 с) и коротких (менее 6 с); Б – длительных (более 18 с) и средних (6-18 с); В – средних (6-18 с) и коротких (менее 6 с), КГ – контрольная группа (ДВ)

Признаком адаптации крыс к стрессу служит увеличение доли длиннопериодных эпизодов активного плавания при повторном помещении в бассейн [1].

В ходе работы выявлено, что в структуре активного плавания крыс КГ преобладали короткопериодные циклы. Однократное применение В-1 в дозе 1,0 мг/кг и В-2 в дозе 0,1 мг/кг способствовали увеличению количества периодов $T_{\text{длит.}}$ по отношению к $T_{\text{коротк.}}$ ($p > 0,05$) (рис. 1, А). Количество циклов $T_{\text{длит.}}$ в сравнении с $T_{\text{средн.}}$ возрастало при применении В-1 в дозах 1,0 и 10,0 мг/кг (рис. 1, Б) ($p > 0,05$). Увеличение числа циклов с гармоникой 6-18 с

относительно количества коротких циклов активного плавания выявлено при применении В-2 в дозе 0,1 мкг/кг (рис. 1, В) ($p > 0,05$).

Применение тетрапептидов В-1 в дозах 1,0 и 10,0 мкг/кг и В-2 в дозе 10,0 мкг/кг вело к статистически достоверному возрастанию в сравнении с контролем доли животных, в ритмической структуре ПП которых длиннопериодные циклы активного плавания возникали два и более раз, что свидетельствует об ослаблении колебательного процесса и о возможном антистрессорном действии (рис. 2).

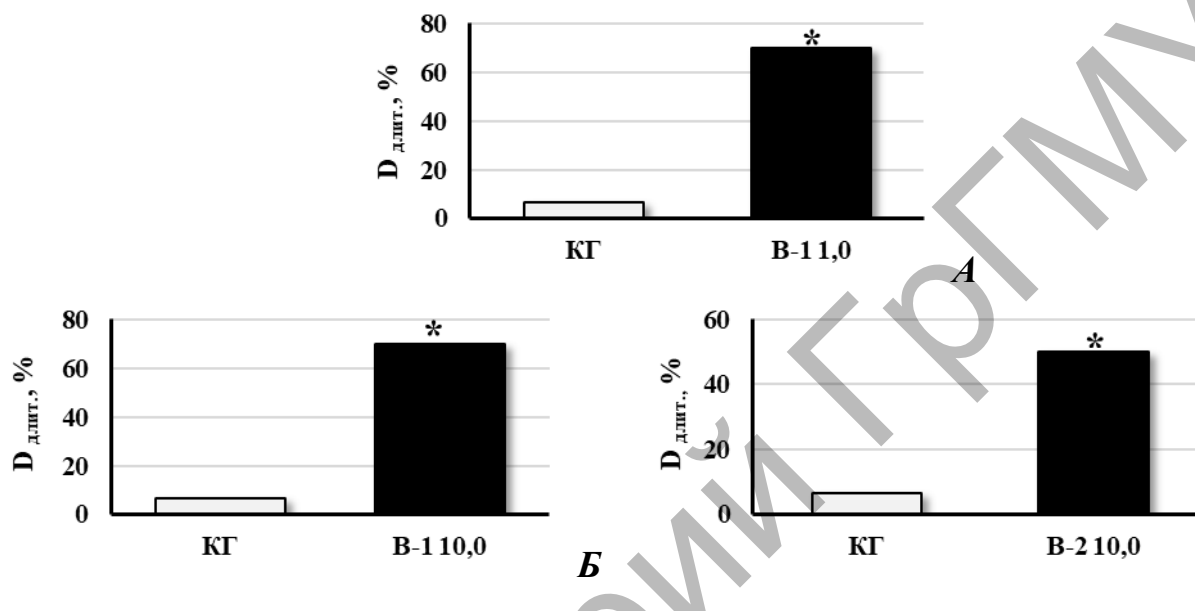


Рисунок 2 – Влияние тетрапептидов N-Ac-Ser-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-1) в дозе 1,0 мкг/кг и 10,0 мкг/кг (и/н) (А и Б) и N-Ac-DSer-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-2) в дозе 10,0 мкг/кг (и/н) (В) на ритмическую структуру активного плавания крыс Wistar. КГ – контрольная группа (ДВ), D_{дл.} – доля в популяции животных, в ритмической структуре активного плавания которых длительные периоды (более 18 с) возникали два и более раз; * – различия статистически значимы в сравнении с КГ, $p < 0,05$, точный критерий Фишера

Заключение. Структурные аналоги С-концевого фрагмента аргинин-вазопрессина N-Ac-Ser-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-1) в дозах 1,0 и 10,0 мкг/кг и N-Ac-DSer-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-2) в дозе 10,0 мкг/кг существенно модифицировали ритмическую структуру принудительного плавания, увеличивая длиннопериодные колебания активных гребковых движений лабораторных грызунов ($p < 0,05$). N-Ac-Phe-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-3) не оказывал влияния на количество циклов длительного плавания в условиях эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хронофармакологические аспекты антистрессорного действия анксиолитических средств / К. Б. Ованесов [и др.] // Экспериментальная нейropsychopharmacology. – 2023. – Т. 14, № 1. – С. 40–47.
2. Синтез и исследование антидепрессивных свойств новых аналогов аргинин-вазопрессина / К. В. Бородин [и др.] // Биоорганическая химия. – 2022. – Т. 48, № 3. – С. 357–370.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ПУЛА СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ В СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЕ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ АМИНОКИСЛОТНОЙ КОМПОЗИЦИИ ТИТАЦИН НА ФОНЕ ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Семенчук А.К., Калинкович З.Р.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь*

Введение. Алкоголь (этанол) является одним из наиболее распространенных психоактивных веществ, употребление которого связано с многочисленными негативными последствиями для здоровья. Несмотря на известное токсическое воздействие на печень, сердечно-сосудистую и нервную системы, влияние этанола на скелетные мышцы остается менее изученным, хотя мышечные нарушения часто встречаются у лиц с хроническим алкоголизмом. Алкогольная миопатия характеризуется прогрессирующей слабостью, атрофией мышечных волокон и снижением физической работоспособности, что значительно ухудшает качество жизни пациентов [2].

Этанол и его метаболиты, такие как ацетальдегид, оказывают прямое токсическое действие на мышечную ткань, нарушая синтез белка, энергетический метаболизм и окислительно-восстановительный баланс [3]. Одним из ключевых механизмов повреждения является индукция окислительного стресса за счет увеличения продукции реактивных форм кислорода (РФК) и снижения активности антиоксидантных систем [2]. Это приводит к повреждению митохондрий, деградации сократительных белков и активации апоптоза мышечных клеток [3].

Кроме того, хроническое употребление алкоголя нарушает регуляцию кальция в саркоплазматическом ретикулуме, что негативно сказывается на мышечном сокращении и способствует развитию миопатии [4]. Также наблюдается подавление сигнальных путей, контролирующих мышечный рост, таких как mTOR-зависимый синтез белка, что усугубляет атрофию [2].

Учитывая высокую распространенность алкоголь-ассоциированных заболеваний, дальнейшее изучение молекулярных механизмов алкогольной миопатии необходимо для разработки эффективных методов профилактики и лечения. Несмотря на значительное количество исследований, посвященных влиянию этанола на печень и нервную систему, воздействие алкоголя на скелетные мышцы изучено недостаточно. Особый интерес вызывает влияние прерывистого приема этанола, что является новым экспериментальным состоянием в наркологии.

Цель данной работы – изучить влияния аминокислотной композиции Титацин на пул серосодержащих аминокислот и их метаболитов в скелетной мускулатуре крыс при прерывистой алкогольной интоксикации с однодневным интервалом.

Материалы и методы исследования. В эксперименте было использовано 31 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 дважды в сутки (через 12 часов) в виде 25 % раствора по схеме: 1 сутки введение этанола, 1 сутки введение эквивалентного количества воды (группа ПАИ-1). Животным опытной группы проводили алкоголизацию по аналогичной схеме, заменив введение воды введением аминокислотной композиции Титацин (лейцин, изолейцин, валин, таурин, тиамин, пантотенат кальция, сульфат цинка) по 250 мг/кг массы тела дважды в сутки (группа ПАИ-1+Титацин). Животные контрольной группы внутрижелудочно дважды в сутки получали эквивалентные количества воды. Длительность эксперимента составила 28 суток. Декапитацию проводили через 1 час после последнего введения алкоголя или 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 детектирование по флуоресценции (338/455 нм). Обработка хроматограмм осуществлялась по методу внутреннего стандарта (норвалин).

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. В группе ПАИ-1 скелетной мускулатуры крыс отмечено достоверное снижение уровня метионина по отношению к контролю (медианное значение отличается в 1,3 раза, $p < 0,05$). Сходные эффекты наблюдались и в миокарде крыс с данным режимом алкоголизации [1]. Такое изменение уровня метионина может приводить к нарушению процессов метилирования и, как следствие, формированию нарушений при биосинтезе ряда биологически активных соединений.

Кроме того, в данной ткани при алкоголизации в режиме ПАИ-1 отмечалось снижение концентрации глутатиона (медианное значение отличается в 1,2 раза, $p < 0,05$) по сравнению с контролем. Это может быть связано с дефицитом глицина, уровень которого тоже достоверно ниже, чем в контроле ($p < 0,05$). При этом уровень серина имел тенденцию к снижению.

При применении Титацина на фоне ПАИ в скелетной мускулатуре наблюдалось более значительное снижение содержания метионина, чем в предыдущей группе (медианное значение отличается в 1,7 раза от контрольных значений, $p < 0,05$).

Кроме того, в группе ПАИ-1+Титацин было отмечено достоверное снижение концентрации серина (медианное значение отличается в 1,5 раза, $p<0,05$), но повышение уровня цистатинина (медианное значение отличается в 2 раза, $p<0,05$) в сравнении с контролем, что косвенно может указывать на активацию процесса транссульфирования.

Однако, при введении изучаемой аминокислотной композиции уровни глицина и глутатиона, пониженные при ПАИ, достоверно не отличаются от контрольной группы, что можно рассматривать как нормализующий эффект Титацина.

Выводы. 1. Прерывистая алкогольная интоксикация с однодневным интервалом в течение 28 суток приводит к изменению ряда показателей пула серосодержащих аминокислот и их метаболитов, что выражается в снижении уровней метионина, глутатиона и глицина.

2. Введение аминокислотной композиции Титацин на фоне ПАИ оказывает корригирующее действие на уровни глицина и глутатиона, но не приводит к нормализации уровней метионина, цистатинина и серина в скелетной мускулатуре крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Семенчук А.К. Влияние различных периодов алкоголизации на пул серосодержащих соединений в миокарде крыс / А.К. Семенчук, В.В. Лелевич // Биохимия и молекулярная биология. – 2023. – №1(2). – С. 26-30.

2. Levitt, D. E. Pathophysiological mechanisms of alcoholic myopathy – Lessons from rodent models / D. E. Levitt, P. E. Molina, L.Simon, // J. Vet. Ani. Sci. – 2021. – Vol.52, №2. – P. 107-116.

3. Steiner, J. L. Dysregulation of skeletal muscle protein metabolism by alcohol / J. L. Steiner, C. H. Lang // J Physiol Endocrinol Metab. – 2015. – Vol.308, № 9. – P. E699-E712. doi:10.1152/ajpendo.00006.2015.

4. Ward, R. J. The role of calcium in alcohol-induced muscle damage / R. J. Ward, T. J. Peters // Journal of Molecular and Cellular Cardiology. – 2020. – Vol.148. – P. 1-8.

СЕРОСОДЕРЖАЩИЕ АМИНОКИСЛОТЫ И ИХ МЕТАБОЛИТЫ МИОКАРДА КРЫС ПРИ НАЗНАЧЕНИИ АМИНОКИСЛОТНОЙ КОМПОЗИЦИИ ТИТАЦИН НА ФОНЕ ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Семенчук А.К.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь*

Введение. Проблема алкоголизма не теряет своей актуальности уже много лет. Несмотря на существующие методы терапии, включая психотерапию и фармакотерапию, эффективность лечения остается недостаточной, а рецидивы – частыми. Это обусловлено сложным патогенезом

алкогольной зависимости, включающим нейробиологические, генетические и психологические факторы. По-прежнему актуальными остаются исследования, связанные с уменьшением вреда, наносимого алкоголем функционированию всего организма, а также со снижением тяги к употреблению алкоголя.

Способы и формы употребления этанола очень разнообразны в человеческой популяции. Это может быть как хроническое регулярное употребление спиртных напитков, так и прерывистый периодический прием алкоголя. В связи с этим для лучшего изучения эффектов этанола на организм используются различные способы моделирования алкоголизма, как хроническая алкоголизация, так и сравнительно недавно разработанная модель прерывистой алкогольной интоксикации [1].

Одной из тканей, подверженных пагубному воздействию алкоголя, является сердечная мышца. Патологическое влияние алкоголя на миокард реализуется через комплекс механизмов, включая прямое токсическое действие, окислительный стресс, метаболические нарушения и фиброз. Этанол и его основной метаболит ацетальдегид повреждают кардиомиоциты, нарушая синтез белка, энергетический обмен и стабильность клеточных мембран [3]. Ацетальдегид способствует окислительному стрессу за счет генерации реактивных форм кислорода, что ведет к апоптозу клеток миокарда [4]. Алкоголь нарушает работу кальциевых каналов, ухудшая сократительную функцию миокарда [2]. Своевременная диагностика и отказ от алкоголя на ранних стадиях позволяют частично восстановить функцию сердца, однако при длительном злоупотреблении изменения становятся необратимыми. Дальнейшие исследования в этой области могут быть направлены на поиск новых способов лечения, включая применение антиоксидантов, противовоспалительных средств и корректоров метаболизма.

В последние годы поиск новых лекарственных препаратов для лечения алкоголизма активизировался благодаря развитию нейрофармакологии и молекулярной биологии. Анализ современных исследований показывает растущий интерес к таким направлениям, как модуляция глутаматергической, дофаминергической и опиоидной систем, а также применение препаратов на основе аминокислот. Однако многие потенциальные средства требуют дальнейшего изучения в рамках доклинических и клинических испытаний.

Целью данной работы стало изучение влияния аминокислотной композиции Титацин на пул серосодержащих аминокислот и их метаболитов миокарда крыс при прерывистой алкогольной интоксикации с однодневным интервалом.

Материалы и методы исследования. В эксперименте было использовано 31 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 дважды в сутки (через 12 часов) в виде 25 % раствора по схеме: 1 сутки введение этанола, 1 сутки введение эквивалентного количества воды (группа ПАИ-1). Животным опытной группы проводили алкоголизацию по аналогичной схеме, заменив

введение воды введением аминокислотной композиции Титацин (лейцин, изолейцин, валин, таурин, тиамин, пантотенат кальция, сульфат цинка) по 250 мг/кг массы тела дважды в сутки (группа ПАИ-1+Титацин). Животные контрольной группы внутрижелудочно дважды в сутки получали эквивалентные количества воды. Длительность эксперимента составила 28 суток. Декапитацию проводили через 1 час после последнего введения алкоголя или 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).

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. Употребление этанола на протяжении 28 дней в режиме ПАИ с однодневным интервалом вызвало в миокарде достоверное снижение концентрации метионина (медианное значение отличается на 30%, $p < 0,05$) по сравнению с контрольными значениями. Помимо этого, понизилась концентрация таурина, но возросло содержание цистеинсульфиновой кислоты (медианное значение отличается на 14% в первом случае и в 2,6 раза во втором, $p < 0,05$) по отношению к контролю, что может свидетельствовать о снижении скорости образования таурина. Так же в группе ПАИ уменьшилось содержание серина (медианное значение отличается на 15% в сравнении с контрольными значениями, $p < 0,05$). Корреляционный анализ показал сохранение положительной корреляции метионин–глицин, но нарушение всех корреляционных взаимосвязей цистатионина по отношению к контролю.

Применение Титацина на фоне ПАИ в миокарде привело к значительному обеднению пула серосодержащих соединений. Наблюдалось уменьшение содержания метионина по сравнению с контрольной группой (медианное значение отличается на 34%, $p < 0,05$), как и при ПАИ-1 без коррекции. Содержание таурина в данной группе еще более значительно понизилось по сравнению с контролем (медианное значение отличается на 30%, $p < 0,05$). Это может быть связано с увеличением здесь концентрации β -аланина (медианное значение отличается на 17%, $p < 0,05$), который является антагонистом в транспорте таурина.

Уровень глутатиона в группе ПАИ-1+Титацин достоверно понижен как в сравнении с контролем, так и с ПАИ-1 ($p < 0,05$).

Так же в группе ПАИ-1+Титацин миокарда наблюдалось снижение концентраций серина и глицина. Уровень серина достоверно понижен по отношению к контролю ($p < 0,05$), а содержание глицина ниже как в сравнении с контролем, так и с ПАИ-1 ($p < 0,05$).

Выводы. 28-суточное прерывистое употребление этанола с однодневным интервалом вызвало изменение широкого спектра показателей из пула серосодержащих соединений миокарда крыс (цистеинсульфиновая кислота, серин, таурин, метионин).

При введении композиции Титацин на фоне ПАИ наблюдались более выраженные изменения в пуле серосодержащих соединений миокарда крыс, чем без применения аминокислот.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич В.В., Лелевич С.В. Способ моделирования прерывистой алкогольной интоксикации у крыс в эксперименте – Патент №14289 от 01.11.2011.
2. Domínguez, F. Alcoholic cardiomyopathy: an update / F. Domínguez, E. Adler, P. García-Pavía // Eur Heart J.– 2024.– Vol.45(26). – P.2294-2305. doi: 10.1093/eurheartj/ehae362.
3. Fernández-Solà, J. The Effects of Ethanol on the Heart: Alcoholic Cardiomyopathy / J. Fernández-Solà // Nutrients. – 2020. – Vol.12(2). – P.572. doi: 10.3390/nu12020572.
4. Piano, M.R. Alcohol's Effects on the Cardiovascular System / M.R. Piano // Alcohol Res. – 2017. – Vol.38(2). – P.219-241.

РОТЕОМ ЧЕЛОВЕКА: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Сетдарова Н., Леднёва И.О.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Протеом – это совокупность экспрессированных белков в данном типе клеток или в организме, в данный период времени при данных условиях. Термин «протеом» предложил в 1994 году австралийский учёный Марк Уилкинс. Полный протеом организма — совокупный набор протеомов всех клеток. Область, занимающаяся изучением данного аспекта - протеомика.

«Протеом человека» (HPP) — международный проект по созданию протеомной карты, включающей все белки, кодируемые геномом человека. Он стартовал в сентябре 2010 года в Сиднее [1]. В состав участников проекта «Протеом человека» входят шесть стран-инициаторов: Республика Корея, США, РФ, Швеция, Канада и Иран, усилия которых направлены на измерение белков, кодируемых 26 хромосомами человека, а также митохондриальная хромосома. В отличие от генома, который определяется последовательностью нуклеотидов, протеом не сводится к сумме последовательностей аминокислот. Протеом включает в себя также

пространственные структуры всех содержащихся в нём белков и функционального взаимодействия между ними. Кроме того, в отличие от генома, протеом непрерывно меняется в зависимости от влияния внутриклеточных и внешних факторов, и представляет собой фиксированную во времени совокупность белков в конкретном биологическом объекте и в определённой ситуации.

“Четыре столпа” HPP – это четыре ключевых направления, которые представляют собой основные стратегические цели, обеспечивающие успешную реализацию проекта – масс-спектрометрия, антитела, база знаний и паталогия. Ещё одной базой HPP является атлас белков человека (HRA) - это шведская программа, целью которой является картирование всех белков человека в клетках, тканях и органах. Первоочередной задачей проекта является составление протеомных карт основных белков плазмы крови, печени, головного мозга, изучение особенностей объекта исследований. Важнейшей задачей данного проекта является выявление области практического применения результатов, обмен данными и результатами исследований.

Основа проекта HPP – фундаментальные принципы и подходы, на которых строится проект. Они включают в себя:

1. Хромосомоориентированный подход. Он направлен на картографирование, аннотирование и характеристику протеома человека на хромосомной основе. Основные задачи: выявление по меньшей мере одного представителя протеина с тремя посттрансляционными модификациями (фосфорил-, -гликозил-, ацетил-) и с альтернативно-сплайсинговой изоформой; определения гена и хромосомы, кодирующей данный белок и локализации в ткани этого белка, изучение его количественных и качественных характеристик с помощью реагентов антител.

2. HPP на основе болезней. Он фокусируется на изучении протеома в контексте конкретных заболеваний. Основной задачей является идентификация и характеристика белков, связанных с различными заболеваниями для понимания их патогенеза, а также разработка новых методов диагностики и лечения.

3. Уровни существования белка (PE) – система, разработанная для оценки достоверности существования белков, представленных в базе данных. Она помогает понять, насколько надёжно подтверждено существование конкретного белка. Уровни (PE) варьируются от 1 до 5, где уровень 1 – наиболее надёжный, а уровень 5 – наименее надёжный.

Несмотря на очевидные перспективы проекта HPP имеются некоторые проблемы [2]:

1. Недостаточная чувствительность протеомных технологий. Они не позволяют детектировать низко и ультранизкокопийные протеины, так как пока нет технологии для репликации молекул. Наиболее чувствительные масс-спектрометрические детекторы могут обнаруживать аналит, присутствующий в концентрации до 10-18 молей на литр (М). Такая чувствительность оказывается

достаточной для детекции протеинов, присутствующих в следовых количествах (менее 1000 молекул в 1 мкл образца), при этом в биологических образцах предел чувствительности составляет $10^{-8} - 10^{-10}$ М, вследствие общей сложности и высокого динамического диапазона протеинов в биоматериале. Таргетный подход, основанный на масс-спектрометрическом методе мониторинга множественных реакций, позволяет обнаружить 47 различных протеинов в концентрации 1 мкг/мл (10^{-9} М) в плазме крови с помощью этого метода.

2. Отсутствие «золотого стандарта». Соответствие между чувствительностью аналитического метода и количеством детектируемых протеинов является основой для разработки нового подхода к протеомной стандартизации. На основании экспертной оценки, хромосомо-центричная парадигма позволит обойти проблему низкой воспроизводимости и ошибочных идентификаций протеина.

3. Профилирование интактных гликопептидов. Из-за отсутствия эффективных поисковых систем, адаптированных к уникальным задачам связанным с крупномасштабным анализом гликопептидов. Примечательно, что за последнее десятилетие были разработаны множество инновационных биоинформатических инструментов. Однако процесс аннотирования данных очень поврежден ошибкам из-за сложной задачи правильного определения состава гликана. Поэтому гликопептиды часто неправильно идентифицируются или обладают неоднозначной аннотацией.

В клинической биохимии анализ индивидуальных белков человека используется для установления вида патологического процесса и определения пораженного органа, установления природы патологии, например, при диагностике энзимопатий, инфекционных и других заболеваний; оценки течения различных физиологических процессов (беременность, развитие иммунной системы) и обнаружения осложнений в их течении (патология беременности). Благодаря результатам НРР в настоящее время можно не только выявить ряд серьезнейших заболеваний еще на ранних стадиях, но и лечить их.

Достижения протеомики нашли применение в области медицины. Известно, что только 2% болезней человека опосредуются действием одного гена. Оставшиеся 98% заболеваний – поли- или эпигенны по своей природе. Для большинства полигенных заболеваний невозможно предсказать фенотип, исходя только из данных расшифровки генома. Клетка реагирует на изменения внешней среды изменением ее белкового состава. В ответ на внешнее воздействие синтез одних белков увеличивается, других – уменьшается.

Таким образом, фенотип не линейно зависит от проявлений генотипа, так как системы эпигенеза контролируют и модифицируют экспрессию генов. Количественные изменения не в одном, а в целом ряде белков могут наблюдаться при обработке клетки гормонами, токсинами или лекарствами. Проводятся эксперименты с целью выявления белковых биомаркеров для ранней и дифференциальной диагностики онкологических заболеваний. Количество опухолевых биомаркеров может коррелировать со степенью агрессивности опухоли, безрецидивной и общей выживаемостью пациентов. В медицине применяется убиквитинирование как один из методов диагностики заболеваний.

Когда белки в клетке повреждаются, они помечаются убиквитином и подвергаются дальнейшей деградации. Недавно был применен подход, который характеризует, как сердечная недостаточность изменяет убиквитинирование белков сердечного саркомера. Было обнаружено, что несколько саркомерных белков имели повышенное убиквитинирование в образцах миокарда при дилатационной кардиомиопатии человека. Таких исследований немного, но, несомненно, что это перспективное направление диагностики. Мониторинг динамики оборота протеома с помощью меченых изотопами имеет большое значение. При исследовании кинетики митохондриального протеома на мышинной модели сердечной недостаточности было выявлено, что сердечная недостаточность снижает содержание митохондриальных белков и увеличивает скорость обмена метаболических белков.

Следовательно, протеом и знания о нем находят применение в области медицины. Благодаря результатам НРР в настоящее время можно выявить ряд различных патологий на ранних стадиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Keller, N. L. A cell-based approach to the human proteome project / N. L. Keller // J. Am. Soc. Mass Spectrom. – 2012. – № 23. – P. 1617-1624.
2. Smith, L. M. Consortium for Top Down Proteomics, Proteoform: A single term describing protein complexity / L. M. Smith, N. L. Keller // Nat. Methods. – 2013. – №. 10. – P. 186-189.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К МОДЕЛИРОВАНИЮ СТРЕССА В УСЛОВИЯХ IN VIVO ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ

***Сидорова Ю.С., Петров Н.А., Маркова Ю.М., Соколов И.Е.,
Кочеткова А.А.***

*ФГБУН «ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи,
Москва, Российская Федерация*

Актуальность. При создании нового поколения специализированных пищевых продуктов адаптогенного действия предполагается использование современных методов оценки *in silico*, *in vitro* и *in vivo*. Верификация биологических моделей *in vivo* имеет критически важное значение для определения биохимических и физиологических маркеров, позволяющих получать информацию о состоянии организма и о наличии терапевтического эффекта со стороны применяемых биологически активных веществ и специализированных пищевых продуктов и на их основе [2, 3]. Данный подход может быть эффективно использован в схеме создания специализированных пищевых продуктов для питания различных групп людей, чья профессиональная деятельность связана с особыми нагрузками, с вредными

условиями труда и/или проживающих и работающих в неблагоприятных климатических условиях.

Цель исследования провести сравнительную верификацию экспериментальных *in vivo* моделей: стрессорное воздействие током, ежедневная физическая нагрузка на беговой дорожке на фоне принудительной иммобилизации, ежедневная физическая нагрузка и истощающая физическая нагрузка на беговой дорожке

Материалы и методы. Исследование выполнено с использованием 48 крыс-самцов линии Вистар с исходной массой тела 200 ± 2 г (возраст 7 недель). После семидневного пребывания животных в карантине проводили тестирование в открытом поле. Животных по массе тела и результатам теста открытое поле разделили на 4 группы ($n=12$). Животные всех групп в течение 36 суток эксперимента получали стандартный полусинтетический рацион и воду *ad libitum*, через день проводили учет поедаемости корма. Массу тела животных измеряли еженедельно. Животные группы Г2 подвергали ежедневному (5 дней в неделю) воздействию тока, используя установку черно-белая камера (Panlab, Испания). Животные группы Г3 подвергались 5 дней в неделю принудительной иммобилизации в течение 20 минут в домиках-фиксаторах (ООО «Открытая наука», Россия). Сразу после иммобилизации животных этой группы помещали на беговую дорожку Treadmill (Panlab, Испания). Скорость полотна постепенно повышали с 18 до 26 см/с, время бега с 10 до 14 мин, наклон дорожки с 0 до 5 градусов. Крысы опытной группы Г4 подвергались ежедневной 5 дней в неделю физической нагрузке на беговой дорожке по аналогичной схеме. На 35 и 36 сутки эксперимента животные групп Г3 и Г4 подвергались истощающей физической нагрузке на беговой дорожке до полного истощения животных. Через 24 ч после истощающего стрессорного воздействия крыс всех групп (депривированных голодом в течение 12 часов) выводили из эксперимента путем декапитации под легким эфирным наркозом. Методом конкурентного ИФА в сыворотке крови определяли содержание кортикостерона, простагландина E₂, β-эндорфина и адренотропного гормона по методике производителя. С использованием ветеринарного гемоанализатора Exigo H400 проводили общий гематологический анализ отобранной крови. Содержание катехоламинов в суточной моче определяли методом ВЭЖХ-МС/МС с использованием хроматографа Agilent 1200 Series и масс-спектрометра Thermo LTQ Velos Pro. Микробиоту исследовали методом ПЦР в реальном времени с использованием тест-системы «Колонофлор 16 Премиум».

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ SPSS Statistics 20, применяя критерий Манна–Уитни и критерий Стьюдента. Вычисляли среднее значение (*M*), стандартное отклонение (*SD*) и стандартную ошибку среднего (*m*). Данные представлены как $M \pm m$. Критический уровень значимости 0,05.

Результаты и обсуждения. Общее состояние всех животных по внешнему виду, качеству шерстного покрова, потреблению корма, воды и поведению при ежедневном осмотре на протяжении всего эксперимента было удовлетворительным.

Животные группы Г3, подвергавшиеся беговой нагрузке после принудительной иммобилизации, потребляли достоверно меньше корма по сравнению с группами К1, Г2 и Г4. Не выявлено достоверных различий в потреблении корма между другими группами. Соответственно физическая активность после принудительной иммобилизации не вызывала повышения аппетита животных. Начиная с 17-х суток наблюдается достоверное отставание в приросте массы тела животных групп Г3 и Г4, подвергавшихся регулярным физическим нагрузкам на беговой дорожке, от показателя животных контрольной группы К1 и опытной группы Г2, получавших ежедневное шоковое раздражение.

Нами получено достоверное увеличение содержания адренкортикотропного гормона (АКТГ) в крови животных всех опытных групп по сравнению с животными контрольной группы К1. При этом уровень АКТГ крови у животных обеих групп, подвергавшихся беговой нагрузке, был достоверно выше по сравнению с показателем животных группы Г2 (воздействие током). Более того, уровень гормона у животных группы Г4, участвующих только в беговой нагрузке, был достоверно выше по сравнению с животными группы Г3, подверженных иммобилизационному стрессу на фоне физической активности. Уровень кортикостерона в крови животных групп Г3 и Г4, был также достоверно выше по сравнению с показателем животных контрольной группы К1. У животных всех опытных групп был достоверно повышен уровень простагландина Е2 по сравнению с животными контрольной группы. Не выявлено достоверных различий в уровне β -эндорфина крови между животными всех групп.

У животных группы Г4, подвергавшихся регулярной физической нагрузке, выявлен наиболее выраженный ответ на стресс – уровни дофамина, норадреналина и адреналина у животных этой группы достоверно выше по сравнению с животными других групп. У животных группы Г3 защитная реакция выражена в меньшей степени, хотя уровни всех трех определяемых катехоламинов были также достоверно выше по сравнению с животными контрольной группы К1 и опытной группы Г2. У животных группы Г2, подвергавшихся регулярному воздействию тока, отмечено только достоверное повышение уровня дофамина по сравнению с животными группы К1.

По результатам проведенного исследования все стрессовые воздействия приводили к увеличению частоты встречаемости метаногенных архей *Methanosphaera stadtmanae*, а также к некоторому увеличению медианных уровней содержания бифидобактерий, однако достоверное повышение этой защитной популяции наблюдалось только в группе Г3 с иммобилизацией и принудительным бегом. Также в группе крыс, подвергшихся стрессовому воздействию иммобилизацией и принудительным бегом, наблюдалось увеличение частоты встречаемости *Staphylococcus aureus* и некоторое повышение уровней их содержания. Воздействие с использованием электрического тока приводило к достоверному увеличению содержания *Faecalibacterium prausnitzii*, снижению уровней и частоты обнаружения *Streptococcus spp.*, снижению частоты обнаружения *Ruminococcus spp.*

Стрессовое воздействие с использованием принудительного бега не приводило к значимым изменениям в уровнях основных популяций кишечной микробиоты, что делает эту модель перспективной для дальнейшего использования из-за отсутствия микробиологического фона.

Выводы. Ежедневное воздействие на животных краткосрочным током силой 0,4мА менее 8 секунд оказывало наименьшее воздействие на организм животных и характеризовалось минимальным ответом стресс системы, эти животными нормально росли и потребляли корм. Дополнительная физическая нагрузка не снижала стрессорного воздействия иммобилизации, животные меньше ели и теряли в весе. Регулярная беговая нагрузка приводила к достоверному увеличению активаторов стресс-системы - АКТГ и кортикостерона – при одновременном росте ингибиторов стресса - простагландина Е2 и катехоламинов. Что говорит о запуске защитных механизмов организма в ответ на истощающую физическую нагрузку, проводимую в последний день исследования [1].

ЛИТЕРАТУРА

1. Ercan Z., Bulmus O., Kacar E., Serhatlioglu I., Zorlu G., Kelestimur H. Treadmill exercise improves behavioral and neurobiological alterations in restraint-stressed rats // J Mol Neurosci. – 2023. – V. 73, N 9-10. – P. 831-842. doi: 10.1007/s12031-023-02159-2
2. Luo Y., Vermeer M.H., de Gruijl F.R., Zoutman W.H., Sluijter M., van Hall T., Tensen C.P. In vivo modelling of cutaneous T-cell lymphoma: the role of SOCS1 // Front Oncol. – 2022. – V. 12. – P. 1031052. doi: 10.3389/fonc.2022.1031052
3. Mills M.J., Sarigul-Klijn N. Validation of an in vivo medical image-based young human lumbar spine finite element model // J Biomech Eng. – 2019. – V. 141, N 3. – P. 031003. doi: 10.1115/1.4042183

АНКСИОЛИТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ТРИПЕПТИДА 745-В-40 У МЫШЕЙ ICR

**Сикита Д.В.¹, Кравченко Е.В.¹, Саванец О.Н.¹, Куваева З.И.²,
Каранкевич Е.Г.², Найденов В.Э.², Гуринович Е.В.²,
Зильберман Р.Д.¹**

¹ Институт биоорганической химии НАН Беларуси;

² Институт физико-органической химии НАН Беларуси,
Минск, Республика Беларусь

Актуальность. Тревожные расстройства занимают лидирующее место среди психических патологий. По данным ВОЗ, в 2019 году ими страдали 301 млн человек, что составляет около 4% населения мира. Лишь 27,6% пациентов получают необходимую помощь, несмотря на существование когнитивно-поведенческой терапии и селективных ингибиторов обратного захвата

серотонина. Ключевыми ограничениями остаются стигматизация, дефицит ресурсов и ограниченная доступность терапии [1].

Нейробиологические механизмы тревожных расстройств связаны с дисфункцией лимбической системы, гиперактивацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси и дисбалансом нейропептидов (кортикотропин-рилизинг фактор, нейропептид Y, окситоцин и галанин) [5].

Особый интерес вызывает природный нейропептид – MIF-1 (меланостатин) и его структурные аналоги, проявляющие антидепрессивный эффект за счёт модуляции дофаминергической системы [3], антипаркинсонические свойства [4]. MIF-1 является антагонистом опиоидных рецепторов [6, 7]. Трипептид 745-B-40 является структурным аналогом меланостатина (MIF-1).

Цель исследования – оценка анксиолитического потенциала трипептида 745-B-40 в модели приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ) у субмиссивных мышей.

Материалы и методы исследования. Экспериментальные исследования проводились на 50 половозрелых аутбредных мышах-самцах ICR (38 особей в контрольной группе (КГ) и 12 – в основной группе (ОГ)), полученных в секторе биоиспытаний Института биоорганической химии НАН Беларуси.

Проводили оценку влияния трипептида 745-B-40 (0,01 мг/кг, в/б, однократно), структурно родственного меланостатину, на ситуационную тревожность в тесте ПКЛ. Соединение 745-B-40 синтезировано в Институте физико-органической химии НАН Беларуси (Куваева З.И. и ее соавторы) и предоставлено для совместных научных исследований.

Метод оценки уровня тревожности в ПКЛ основывается на естественных поведенческих особенностях грызунов, а именно на предпочтении тёмных укрытий, избегании открытых пространств и страхе падения с высоты. Детальное описание методики, её валидация и анализ эффективности представлены в исследованиях (Gordon C.J., 1990; Merskey H., Bogduk N., 1994).

Использовали установку «Elevated Plus Maze» («Columbus Instrument», США), которая состоит из крестообразно расходящихся от центральной площадки под прямым углом 4-х рукавов: два противоположных, открытых (ОР), без стенок, и два закрытых (ЗР). Эксперименты продолжительностью 5 мин (с единичным интервалом регистрации продолжительностью 1 мин) проведены в осенний и зимний (сентябрь-февраль) периоды года в утренние часы (10.00-11.30 ч). Оценивали влияние трипептида на продолжительность пребывания в ОР и ЗР, и зонирование на основе удаленности в ОР и ЗР в течении всего эксперимента. Каждый рукав был разделен на три сектора в соответствии со степенью «опасности»: смежная с центральной зоной (0-10 см), срединная (10-20 см) и удаленная (20-30 см) зоны [2].

Результаты и обсуждения. В ходе эксперимента выявлены статистически значимые межгрупповые различия. В ОГ 58,3% особей (7 из 12 мышей) проводили в ОР лабиринта более 20 с, тогда как в КГ этот показатель составил 23,7% (9 из 38 мышей) ($p=0,036$, точный критерий Фишера; $p=0,052$,

Z-критерий) (рис. 1А). Средняя продолжительность пребывания в ОР ПКЛ составила в ОГ $43,0 \pm 21,3$ с и КГ $22,4 \pm 6,4$ с ($p=0,05$).

На пятой минуте теста 25% мышей ОГ (3 из 12) продемонстрировали выход в удалённые и срединные сектора ОР, в то время как в КГ подобное поведение отсутствовало ($p=0,014$) (рисунок 1Б).

Активное перемещение в удалённых и срединных секторах ОР свидетельствуют о снижении тревожности и росте исследовательского поведения.

Сосредоточение в удалённых секторах ЗР на фоне введения трипептида отражает классическое **избегающее поведение** - мыши стремятся максимально дистанцироваться от потенциально опасных открытых зон, даже внутри "безопасных" рукавов.

В завершающую минуту эксперимента 33,3% животных ОГ (4 из 12) активно исследовали смежные с центральной площадкой сектора ЗР. В КГ аналогичная активность зарегистрирована лишь у 4,16% особей ($p=0,034$) (рисунок 1В).

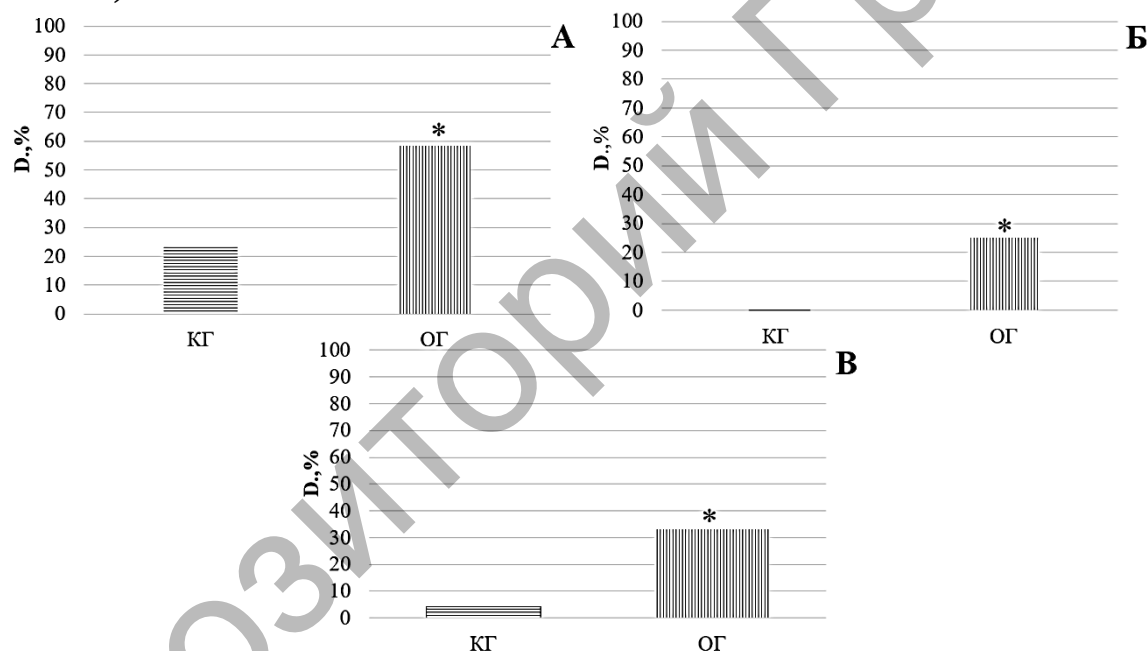


Рисунок 1 - Анксиолитические эффекты 745-В-40 в условиях ПКЛ у мышей ICR

А – доля особей в популяции (D, %), проводивших в открытых рукавах ПКЛ более 20 с

Б – доля особей в популяции, выходивших в срединный и удаленный сектора открытого рукава в пятую мин наблюдения

В – доля особей в популяции, выходивших в смежный с центральной площадкой сектора закрытого рукава в пятую мин наблюдения

(* – $p < 0,05$, точный критерий Фишера)

Выводы. Проведённое исследование выявило потенциальный анксиолитический эффект трипептида 745-В-40. Полученные данные свидетельствуют, что доля особей в популяции, которые характеризовались низким уровнем тревожности, проводили значительно больше времени в ОР по сравнению с КГ, что указывает на снижение страха перед высотой и открытым

пространством на фоне введения тестирующего вещества. Повышенная активность в опасных зонах (58,3% в ОГ в сравнении с 23,7% в КГ; $p < 0,05$) подтверждает анксиолитический эффект вещества.

Авторы выражают благодарность за содействие в проведении экспериментов Степановой Е.В., Макеевой Д.И., Пупко Л.М.

ЛИТЕРАТУРА

1. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ). Тревожные расстройства [Электронный ресурс] / Всемирная организация здравоохранения. – 2023. – Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/anxiety-disorders>. – Дата обращения: 15.07.2023.
2. Biedermann, S.V. An elevated plus-maze in mixed reality for studying human anxiety-related behavior / S.V. Biedermann [et al.] // BMC Biology. – 2017. – Vol. 15, № 1. – P. 125. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12915-017-0463-6>.
3. Hara, C. Acute administration of MIF-1 or Tyr-MIF-1 inhibits haloperidol-induced catalepsy in rats / C. Hara, A.J. Kastin // Pharmacology, Biochemistry, and Behavior. – 1986. – Vol. 24, № 6. – P. 1785–1787. DOI: [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(86\)90521-6](https://doi.org/10.1016/0091-3057(86)90521-6).
4. Katzenschlager, R. Antiparkinsonian activity of L-propyl-L-leucyl-glycinamide or melanocyte-inhibiting factor in MPTP-treated common marmosets / R. Katzenschlager [et al.] // Movement Disorders. – 2007. – Vol. 22, № 5. – P. 715–719. DOI: <https://doi.org/10.1002/mds.21256>.
5. Kormos, V. Role of neuropeptides in anxiety, stress, and depression: From animals to humans / V. Kormos, B. Gaszner // Neuropeptides. – 2013. – Vol. 47, № 6. – P. 401–419. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.npep.2013.10.014>.
6. Pan, W. From MIF-1 to endomorphin: The Tyr-MIF-1 family of peptides / W. Pan, A.J. Kastin // Peptides. – 2007. – Vol. 28, № 12. – P. 2411–2434. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2007.10.006>.
7. Reed, G.W. The Tyr-MIF-1 family of peptides / G.W. Reed, G.A. Olson, R.D. Olson // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. – 1994. – Vol. 18, № 4. – P. 519–525. DOI: [https://doi.org/10.1016/0149-7634\(94\)90005-1](https://doi.org/10.1016/0149-7634(94)90005-1).

ВЛИЯНИЕ ТЕТРАПЕПТИДА НА ЭКСТРАПОЛЯЦИОННОЕ ПОВЕДЕНИЕ КРЫС WISTAR, ПОДВЕРГШИХСЯ 72-ЧАСОВОЙ ДЕПРИВАЦИИ ПАРАДОКСАЛЬНОЙ ФАЗЫ СНА

Степанова Е.В., Бизунок Н.А., Кравченко Е.В., Саванец О.Н., Грибовская О.В., Бородина К.В., Сикита Д.В., Зильберман Р.Д.

*Белорусский государственный медицинский университет;
Институт биоорганической химии НАН Беларуси,
Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. Согласно всемирной статистике, около 15% населения планеты страдают от различных видов нарушений сна, а около 9% пациентов

используют снотворные лекарственные средства. Ввиду влияния растущего уровня хронического стресса, количество таких людей ежегодно возрастает.

Исследования продемонстрировали, что длительное и выраженное недосыпание приводит к нарушениям в синаптической пластичности, в обучении и памяти, тем самым оказывая негативное влияние на когнитивные функции. Полагают, что рост возбудимости происходит вследствие развивающихся изменений в дофаминергической системе головного мозга. Получены данные (Н.А.Бондаренко, В.Климек и др.) [1] о влиянии депривации парадоксальной фазы сна (ДПФС) на стереотипное поведение, вызванное введением агонистов рецепторов дофамина. Экспериментально показано, что введение селективного агониста D₂/D₃ дофаминовых рецепторов (ДР) квинпиrolа вызывало у крыс увеличение количества стереотипных реакций, таких, как обнюхивание. Стереотипия усиливалась при повышении дозы агониста [2]. Присоединение к квинпиrolу ДПФС приводило к значимому ухудшению результатов в тесте экстраполяционного извлечения (ТЭИ) у крыс, в том числе к увеличению числа нерезультативных попыток избегания в сравнении с группой животных, где был введен агонист ДР без ДПФС. Таким образом, экспериментально подтверждено, что депривация парадоксальной фазы сна приводит к функциональным нарушениям в системе обмена дофамина, что сопровождается усилением стереотипного поведения у животных.

Цель: Изучение корректирующего влияния тетрапептида В-5 на экстраполяционное поведение крыс Wistar, подвергшихся 72-часовой депривации парадоксальной фазы сна.

Материалы и методы: В исследования включены 32 половозрелых крысы-самца Wistar. Проводили оценку влияния В-5 (синтезирован в лаборатории прикладной биохимии Института биоорганической химии НАН Беларуси). Формировали 3 группы: контрольная группа-1 (К-1; n=16) – введение растворителя (Р); 2) К-2 (n=8) – введение Р + ДПФС; 3) ОГ (n=8) – В-5 (1,0 мкг/кг) + ДПФС.

Адаптивное поведение крыс исследовали в тесте экстраполяционного извлечения (ТЭИ). Установка состоит из бассейна, заполненного водой. В центр на глубину 1-1,5 см погружают вертикально цилиндр. Крысу помещают в цилиндр хвостом вниз. Задача животного состоит в том, чтобы поднырнуть под нижний край цилиндра и выбраться на сетчатый трап. На протяжении 120 с регистрировали значения показателей, характеризующих поведенческие реакции: латентный период первой попытки извлечения (ЛП₁); число безуспешных (стереотипных) попыток извлечения (N), проявляющихся в форме прыжков; доля особей в популяции с высоким уровнем стереотипных движений ≥ 8 (D_{ст.}); время подныривания под край цилиндра (T_{подныр.}); время выхода на сетчатый трап (T_{вых.}); число животных, решивших задачу извлечения и нашедших выход из стрессовой ситуации, и доля таковых в популяции.

Результаты: Результаты оценки корректирующего влияния В-5 на стереотипное поведение в ТЭИ в условиях ДПФС приведены в таблице 1.

Депривация сна вела к статистически значимому увеличению количества стереотипных нерезультативных попыток избегания стресс-ситуации в

сравнении с К-1 ($p < 0,05$) – в 2 раза. Кроме того было отмечено существенное возрастание на 50% доли особей ($p = 0,012$) и абсолютного числа грызунов ($p = 0,007$) с высоким уровнем стереотипных движений ($D_{ст.}$) в К-2 в сравнении с К-1. Введение пептида В-5 в дозе 1,0 мкг/кг крысам ОГ, которые подвергались ДПФС, устраняло вышеперечисленные негативные эффекты депривации сна ($D_{ст.}$) в отношении числа крыс из доли животных с нарушенным поведением.

Таблица 1- Влияние В-5 (1,0 мкг/кг, и/н 5-кратно) на стереотипное поведение крыс Wistar, подвергшихся ДПФС в тесте экстраполяционного избавления.

Группа, образец дозы	ЛП ₁ , с	N	Число животных / $D_{ст.}$ %	$T_{подныр}$ с	$T_{вых}$ с	Число животных, решивших задачу избавления/доля, %	
						Подныривание	Выход на сетку
К-1 (Р)	3,3±3,3	2,8±1,8 ¹	0/16 ^{2,3} 0	27,4±14,0	54,3±15,5	16/16 100,0	16/16 100,0
К-2 (Р+ ДПФС)	4,25±3,3	5,5±2,7	4/8 50	71,6±30,8	78,8±30,8	6/8 75	6/8 75
ОГ В-5 + ДПФС	1,6±0,73	5,6±1,3	0/8 0	44,3±21,7	67±27,5	8/8 100	8/8 100

¹Различия с К-2 статистически значимы, $p < 0,05$, критерий Манна-Уитни.

²Различия с К-2 статистически значимы, $p = 0,007$, точный критерий Фишера.

³Различия с К-2 статистически значимы, $p = 0,012$, критерий Z.

Выводы: ДПФС у крыс вызывает дезорганизацию поведения (что проявляется существенным возрастанием стереотипных безуспешных попыток избавления в форме прыжков) и нарушением когнитивных функций (снижение на 25% относительно “условной нормы” числа животных, решивших задачу избавления и вышедших на сетку).

Применение пептида В-5 в дозе 1,0 мкг/кг крысам Wistar, которые подвергались ДПФС, нивелировало у грызунов статистически достоверные негативные эффекты лишения сна в отношении $D_{ст.}$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаренко, Н.А. Избирательное влияние нейролептиков на дофаминзависимое нарушение поведения крыс в тесте экстраполяционного избавления / Н. А. Бондаренко // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 1990. — № 11. — С. 506–508.
2. Воронина, Т. А. Методические указания по изучению снотворной активности фармакологических веществ / Т. А. Воронина, Л. Н. Неробкова; под ред. В. П. Фисенко [и др.] // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: Минздрав РФ, ЗАО «ИИА «Ремедиум», 2000. — С. 131–137.

3. Действие фармакологических препаратов на синаптическую активность гиппокампа / В. Г. Скребицкий [и др.] // Анналы неврологии. – 2008. – Т. 2, № 2. – С. 23–26.

4. Кравченко, Е. В. Влияние изменений состояния нейромедиаторных и пептидергической систем мозга на циркадианные ритмы и поведение крыс / Е. В. Кравченко, Л. М. Ольгомец // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. – 2012. – Т. 62, № 4. – С. 453–464.

5. Young, J. W. Predictive animal models of mania: hits, misses and future directions / J. W. Young, B. L. Henry, M. A. Geyer // Br. J. Pharmacol. – 2011. – Vol. 164, № 4. – P. 1263–1284.

6. Meerlo, P. Restricted and disrupted sleep: Effects on autonomic function, neuroendocrine stress systems and stress responsivity /P. Meerlo, A. Sgoifo, D. Suchecki // Sleep Medicine Reviews. – 2008. – Vol. 12. – P.197-210. DOI: 10.1016/j.smr.2007.07.007.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ

Тарасова Е. Е., Шкель А. А.

*Международный государственный экологический институт
имени А.Д. Сахарова, Минск, Беларусь*

Актуальность. Несмотря на высокий уровень развития современной медицины, микробные инфекции продолжают представлять серьезную угрозу для человека, составляя достаточно высокую долю от общемировой заболеваемости и смертности [2]. Классические методы терапии продолжают терять свою эффективность в виду постоянного появления новых антибиотикорезистентных штаммов бактериальных микроорганизмов, в связи с чем растет и наносимый ими социальный и экономический урон. Помимо непосредственного вреда человеку, антибиотикорезистентные бактерии также заражают животных и растения, тем самым снижая эффективность ведения сельского хозяйства. Все вышеперечисленное вынуждает искать альтернативные пути борьбы с патогенными микроорганизмами. В этом контексте, нами видится перспективным применение препаратов на основе наночастиц селена, что подтверждается большим количеством литературных данных по этой теме, опубликованных за последние 5 лет [1]. Изучение влияния вышеуказанных соединений на жизнедеятельность грамположительных и грамотрицательных бактериальных организмов, а также механизмов их действия позволит получить данные, которые в дальнейшем могут быть применены для разработки фармацевтически перспективных терапевтических средств.

Цель. Оценка влияния препаратов на основе наночастиц селена на жизнедеятельность различных видов бактерий, а также обоснование применения таковых в медицине.

Материалы и методы исследования. В качестве модельных культур были взяты штаммы *E. coli* BL21 и *S. aureus* K2-1 из коллекции микроорганизмов института микробиологии НАН Беларуси, а также культуры грам-положительных и грам-отрицательных бактерий, полученных из носоглотки человека (рисунок 1).

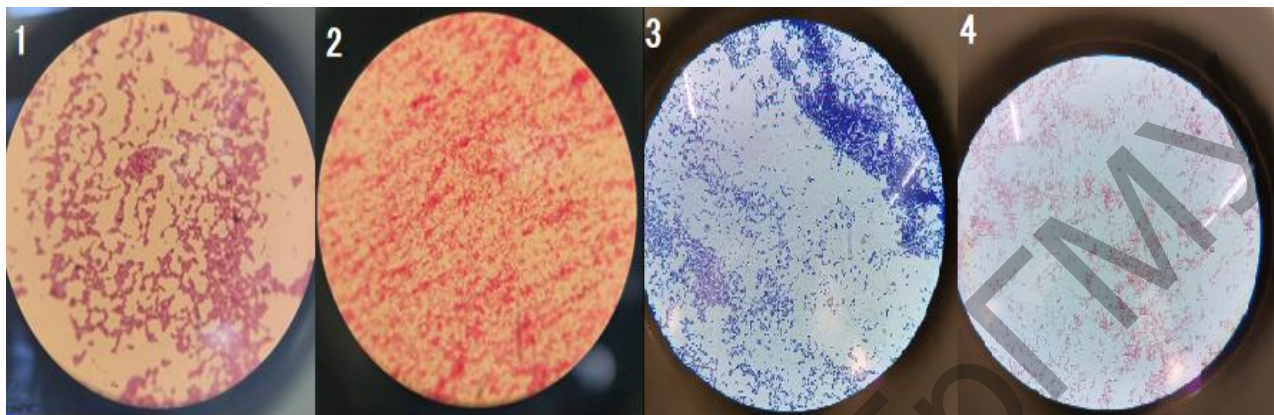


Рисунок 1. - Микроскопические фотографии мазков модельных организмов:
1 – *S. aureus*, 2 – *E. coli*, 3 – грам-положительные кокки, 4 – грам-отрицательные палочки

В качестве источника наночастиц селена выступает препарат, предоставленный НТООО “АКТЕХ”. Данный препарат содержит в своем составе органо-минеральный комплекс (ОМК) наночастиц селена с концентрацией $\text{Se}=1,17$ г/л. Органоминеральный комплекс представляет собой металлополимерный нанокластер, который соединен природным полимером - крахмалом. Крахмалы, являясь природными полимерами, легко усваиваются в клетках микроорганизмов. Нанокластеры имеют средний размер порядка 24 нм. Стабилизированный наноразмерный селен представляет собой жидкость темно-оранжевого цвета. В качестве источника элементарного селена выступает препарат, предоставленный НТООО “АКТЕХ”. Данный препарат содержит в своем составе соль селенит натрия (Na_2SeO_3) с концентрацией $\text{Se}=1,07$ г/л.

Проверка жизнеспособности бактерий осуществлялась при помощи витального красителя резазурина. Для этого готовились растворы микроорганизмов объемом 500 мкл с добавлением питательной среды и наночастиц селена (в концентрации 0; 0,01; 0,05; 0,1; 0,3; 0,5 г/л). После чего растворы инкубировались при 37 °С в течение 24 часов. Затем в каждый из них добавлялось 150 мкл резазурина и далее они инкубировались при температуре 37 °С в течение двух часов. Оптическая плотность полученных растворов измерялась при длине волны поглощения 570 нм на спектрофотометре Solar PB 2201.

Результаты и обсуждение. Полученные в ходе эксперимента значения можно наблюдать на рисунках 2 и 3 для препарата наночастиц селена и для соли селена соответственно.

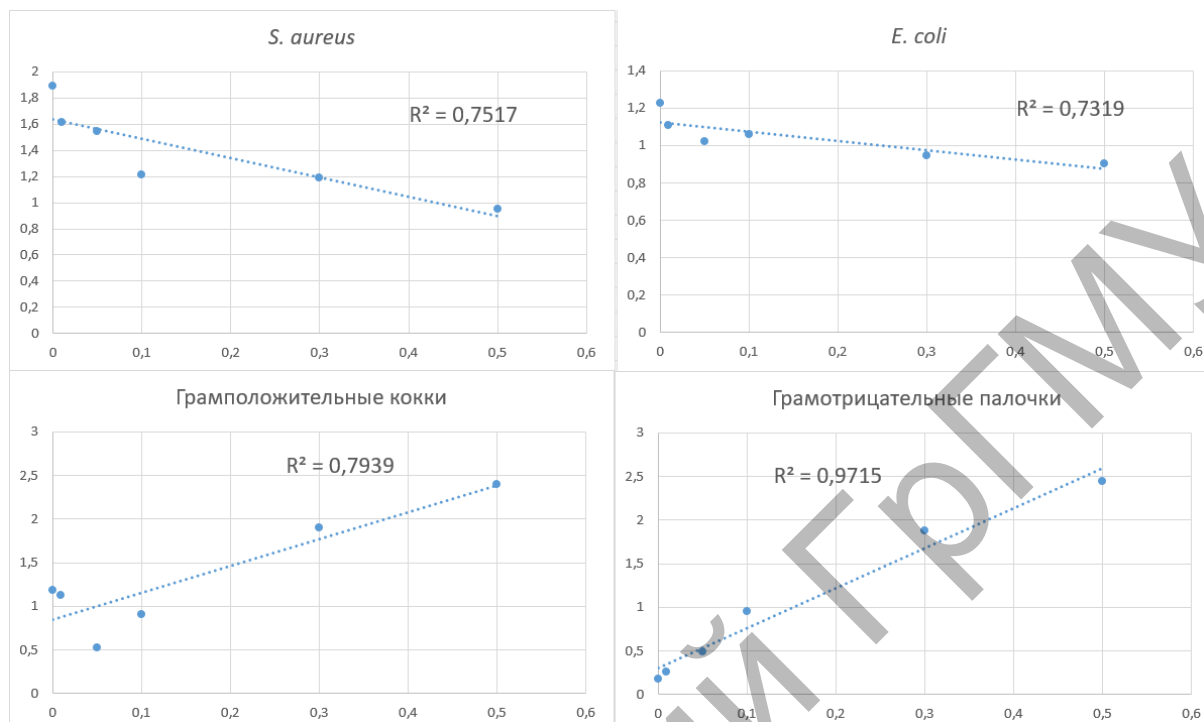


Рисунок 2 – Графики влияния концентрации наночастиц селена на жизнеспособность бактерий. По оси абсцисс – концентрация наночастиц селена (г/л); по оси ординат – оптическая плотность

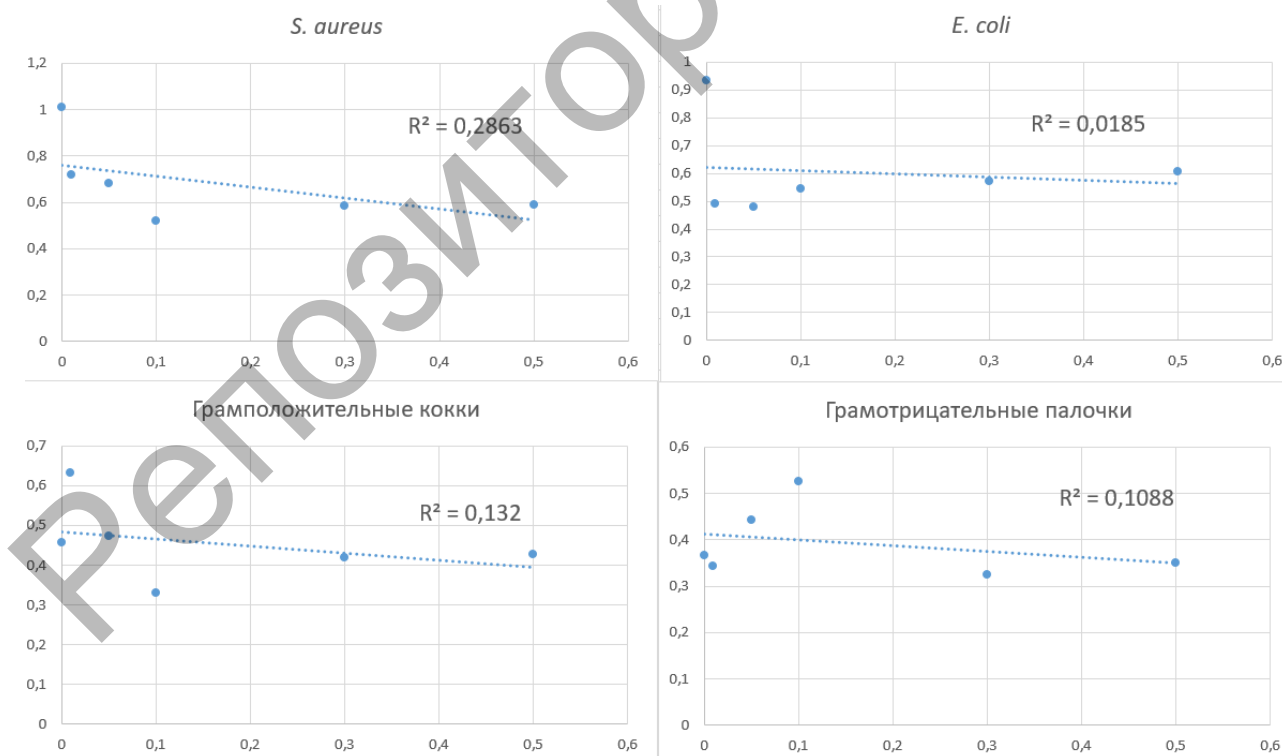


Рисунок 3 – Графики влияния концентрации соли селена на жизнеспособность бактерий. По оси абсцисс – концентрация соли селена (г/л); по оси ординат – оптическая плотность

На графиках можно наблюдать высокое значение коэффициента аппроксимации при применении ОМК на основе наночастиц селена, что свидетельствует о наличии статистически значимого влияния данного вещества на жизнеспособность исследуемых организмов, однако, если на рост культур *E. coli* и *S. aureus* ОМК оказал ингибирующий эффект, то на дикорастущие штаммы было оказано индуцирующее влияние. В случае соли селена статистически значимого эффекта выявлено не было.

Выводы. В ходе данного исследования были оценены антибактериальные свойства ОМК на основе наночастиц селена и выполнена сравнительная характеристика их действия и действия селена в виде соли. Препарат продемонстрировал высокую эффективность в ингибировании размножения и жизнедеятельности микроорганизмов *S. aureus* и *E. coli*, однако, был неэффективен против диких культур грамположительных и грамотрицательных бактерий. Селенит натрия не продемонстрировал значимого эффекта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bisht N., Phaswal P., Khanna P. K. Selenium nanoparticles: a review on synthesis and biomedical applications // Mater. Adv. – 2022. – Vol. 3. – P. 1415-1431.
2. Investigation of Antifungal and Antibacterial Effects of Fabric Padded with Highly Stable Selenium Nanoparticles / J. Yip [et al.] // Applied Polymer science. – 2014. – Vol. 131.

ВЛИЯНИЕ СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ МЕТФОРМИНА И БЕТУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ ИЛИ ЕЕ ПРОИЗВОДНОГО НА РОСТ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК *IN VITRO*

*Терпинская Т.И.¹, Янченко Т.Л.¹, Рубинская М.А.¹,
Полукошко Е.Ф.¹, Пивень Ю.А.²*

¹Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси;

²Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Беларусь

Актуальность. Бетулиновая кислота – вещество природного происхождения, обладающее плеiotропным биологическим действием. Противоопухолевые свойства бетулиновой кислоты, а также ее синтетических аналогов и структурно-сходных природных соединений являются предметом изучения [1]. Среди задач исследователей – выявление соединений, применение которых в комплексе с бетулиновой кислотой обеспечит усиление противоопухолевого эффекта.

Одним из таких соединений может выступать метформин – хорошо известное сахароснижающее средство, проявляющее также противоопухолевую активность [5]. Оба вещества – бетулиновая кислота и метформин – оказывают свое действие прежде всего посредством влияния на физиологические функции

клетки, не проявляя высокой токсичности и выраженных побочных эффектов, свойственных подавляющему большинству химиопрепаратов. Это обусловило наш интерес к изучению противоопухолевого эффекта при отдельном и совместном применении этих соединений.

Цель работы – исследовать влияние отдельного и совместного применения метформина и бетулиновой кислоты или ее производного на рост опухолевых клеток *in vitro*.

Материалы и методы. Эксперименты проводили на клетках глиомы С6 (глиома, крыса), Hela (рак шейки матки человека), A549 (рак легкого человека).

Клетки высевали в среде DMEM (Sigma) с 10% эмбриональной телячьей сыворотки и антибиотиками (пенициллин, стрептомицин, амфотерицин) в лунки 96-луночных культуральных планшетов, помещали в CO₂-инкубатор при 37 °С. Спустя 24 ч вносили метформин (BLD Pharmatech GmbH), бетулиновую кислоту (Glentham Life Sciences), производное бетулиновой кислоты (бетулиновая кислота, модифицированная 3,6-диоксаоктандиамином-1,8, синтез произведен в Институте биоорганической химии НАН Беларуси). Через 48 ч оценивали ингибирующий эффект препаратов на клетки с помощью МТТ-теста с использованием 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромида (MTT, Glentham Life Sciences). Достоверность различий между сериями определяли согласно тесту Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение. Эксперименты показали, что бетулиновая кислота в концентрации 60 мкМ ингибировала клеточный рост в 1,5 раза, производное бетулиновой кислоты в концентрации 4 мкМ – в 1,2 раза. Метформин в концентрации 2,5 – 20 мМ дозозависимо подавлял рост клеток глиомы С6 в 1,1 – 2,1 раза и усиливал действие бетулиновой кислоты в 1,1 - 1,4 раза, а ее производного – в 1,5 – 4,2 раза. При всех концентрациях метформина наблюдали усиление его ингибирующего действия в присутствии бетулиновой кислоты или ее производного. На рисунке 1 представлены результаты эксперимента на клетках глиомы С6 с использованием метформина и производного бетулиновой кислоты.

При увеличении концентрации производного бетулиновой кислоты до 8 мкМ наблюдали усиление его ингибирующего действия (подавление клеточного роста в 2,7 раза), метформин в концентрации 10 и 20 мМ усиливал эффект производного бетулиновой кислоты более чем в 10 раз. При уменьшении концентрации производного бетулиновой кислоты до 2 мкМ подавления клеточного роста и усиливающего действия метформина не выявлено.

В опытах с клетками A549 и Hela также выявлено дозозависимое подавление клеточного роста в присутствии 2,5 – 20 мМ метформина в 1,2 – 2,4 раза. Производное бетулиновой кислоты в концентрации 4 и 8 мкМ вызвало ингибирование роста клеток A549 в 1,4 раза и 2,6 раза, клеток Hela – в 1,7 и 2,8 раза. Метформин усилил эффект производного бетулиновой кислоты в 1,2 – 37,4 раза, выраженность эффекта зависела от дозы препаратов и типа клеток.

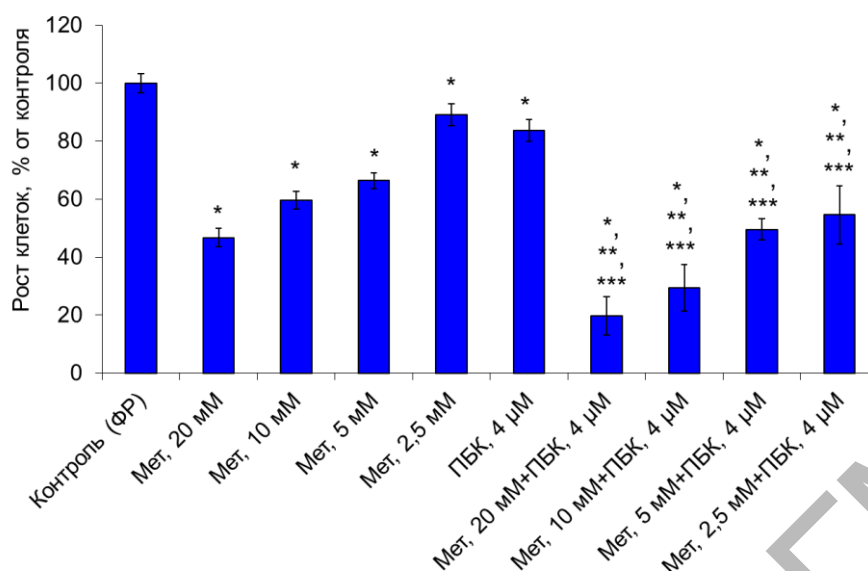


Рисунок 1 – Эффект метформина (Мет) и производного бетулиновой кислоты (ПБК, 4 мМ) на рост клеток глиомы С6; МТТ-тест, n = 8. * $P < 0,05$ при сравнении с контролем; ** $p < 0,05$ при сравнении с метформином; * $p < 0,05$ при сравнении с производным бетулиновой кислоты**

Таким образом, метформин, бетулиновая кислота, а в еще большей степени – ее производное дозозависимо подавляли рост опухолевых клеток. При сочетанном применении метформина и бетулиновой кислоты или ее производного наблюдалось усиление эффекта по сравнению с эффектом их отдельного применения.

Согласно данным литературы, противоопухолевая активность бетулиновой кислоты и ее производных может быть связана главным образом с индукцией апоптоза через подавление экспрессии киназы АКТ1 [4], с супрессией ядерного фактора кВ [1], с ингибированием гликолиза и опосредованной жирными кислотами продукции пирувата и лактата [3], с активацией АМФ-активируемой протеинкиназы (АМФК) и ингибированием мишени рапамицина млекопитающих (mTOR) [2], хотя последнее выявляется не всегда [4].

Прямое ингибирующее действие метформина на опухолевые клетки, как полагают, реализуется через активацию АМФК, ингибирование mTOR и комплекса I митохондриальной дыхательной цепи, снижение энергетического статуса клетки, модуляцию рецептора аденозина A1 (ADORA), снижение уровня инсулина/инсулиновых факторов роста [5].

Исходя из этого, можно предположить, что по крайней мере некоторые пути реализации противоопухолевого действия бетулиновой кислоты и метформина имеют общие элементы, что может обуславливать аддитивный эффект при комбинировании этих соединений. Вместе с тем, эти вещества также имеют отличия в спектре своих молекулярных мишеней, что может обеспечить усиление синергизма при их совместном применении.

Выводы. Метформин, бетулиновая кислота и ее производное подавляют рост опухолевых клеток. При комбинированном применении метформина с

бетулиновой кислотой или ее производным наблюдается усиление противоопухолевого действия – ингибирующий эффект при совместном применении препаратов выше, чем при их использовании по отдельности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Betulinic Acid for Glioblastoma Treatment: Reality, Challenges and Perspectives / Fernandes S. [et al] // Int J Mol Sci. – 2024. – Vol. 25, № 4. – P. 2108.
2. Betulinic acid induces autophagy-dependent apoptosis via Bmi-1/ROS/AMPK-mTOR-ULK1 axis in human bladder cancer cells / Zhang Y. [et al] // Aging (Albany NY). – 2021. – Vol. 3, № 17. – P. 21251–21267.
3. Effects and mechanisms of fatty acid metabolism-mediated glycolysis regulated by betulinic acid-loaded nanoliposomes in colorectal cancer / Wang G. [et al] // Oncol Rep. – 2020. – Vol. 44, № 6. – P. 2595–2609.
4. Effects of betulinic acid on AKT/mTOR pathway in renal cell carcinoma / Ataş M. N. [et al] // Turk J Urol. – 2022. – Vol. 48, № 1. – P. 58–63.
5. Metformin: A Possible Option in Cancer Chemotherapy / Ugwueze C. V. [et al] // Anal Cell Pathol (Amst). – 2020. – Vol. 2020:7180923. Mode of access: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7201450/>. – Date of access: 16.03.2025.

ВЛИЯНИЕ СОЛЮБИЛИЗАТОРОВ НА РАСТВОРИМОСТЬ И ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭТАНОЛАМИДОВ ПАЛЬМИТИНОВОЙ И СТЕАРИНОВОЙ КИСЛОТ

Терпинская Т.И.¹, Михальчук А.Л.²

¹Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси;

²Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Беларусь

Актуальность. При исследовании *in vitro* противоопухолевой активности этаноламидов жирных кислот (ЭАЖК) ранее нами было показано, что соединения, включающие остатки длинноцепочечных жирных кислот, обладают выраженным противоопухолевым действием [1, 3]. Вместе с тем, для этих ЭАЖК характерна слабая растворимость в воде, что затрудняет их применение в качестве противоопухолевых препаратов.

Одним из способов усиления биологической эффективности малорастворимых ЭАЖК может стать их солюбилизация. Для этого могут быть использованы соединения, являющиеся аналогами естественных метаболитов ЭАЖК в организме – этаноламмонийные соли жирных кислот. Последние, по существу, являются ионогенными поверхностно-активными веществами (ПАВами). Введение этаноламмонийных солей жирных кислот в препараты ЭАЖК может стать эффективным и биологически безопасным способом усиления их противоопухолевого действия.

Целью данной работы явилось исследование влияния этаноламмонийных солей жирных кислот на растворимость/солюбилизруемость и ингибирующий

эффект этаноламидов пальмитиновой или стеариновой кислот в отношении опухолевых клеток *in vitro*.

Материалы и методы. Исследуемые препараты: пальмитоилэтаноламид (ПЭА), стеароилэтаноламид (СЭА), этаноламмонийные соли пальмитиновой, стеариновой и лауриновой кислот. ПЭА и СЭА получены аминоллизом метиловых эфиров пальмитиновой и стеариновой кислот в условиях модифицированного метода [2]. Метиловые эфиры пальмитиновой и стеариновой кислот получены в условиях общего синтетического метода этерификации карбоновых кислот по Фишеру с использованием в качестве катализатора п-толуолсульфокислоты в 7-кратном избытке метанола. Этаноламмонийные соли получали растворением эквимольных количеств карбоновых кислот и этаноламина в спирте с последующим упариванием при пониженном давлении и высушиванием до постоянного веса при температуре до 35-40 °С.

Для проведения биологических экспериментов готовили суспензии ЭАЖК на 1 % ДМСО в изотоническом растворе хлорида натрия и суспензии этаноламмонийных солей жирных кислот на изотоническом растворе хлорида натрия. При приготовлении комплексных препаратов, содержащих ЭАЖК и этаноламмонийные соли жирных кислот, указанные компоненты осторожно подогревали до 80 °С в течение 10 мин, смешивали, охлаждали до комнатной температуры.

Клетки глиомы С6 или Hela высевали в лунки культуральных планшетов, через 24 ч вносили исследуемые препараты, культивировали 48 ч при 37 °С и 5% CO₂, после чего выполняли МТТ-тест для оценки интенсивности клеточного роста.

Результаты. В ходе исследований растворимости/солублизуемости ПЭА и СЭА установлено, что при нагревании (70-90 °С) их суспензий в воде (3-7 мг/мл) образуются практически прозрачные слабо окрашенные опалесцирующие суспензии, которые разрушаются по мере охлаждения с выделением кристаллической фазы в прозрачном растворе. В растворе остаются следовые количества амидов (~0,01-0,009 мг/мл).

Растворимость этаноламмонийных солей пальмитиновой и стеариновой кислот в воде также показала сильную зависимость от условий. При нагревании суспензий солей (5-10 мг/мл) в воде (70-90 °С) первоначально образуются практически прозрачные слабо окрашенные опалесцирующие суспензии, которые при охлаждении постепенно (2-24 ч) разрушаются с образованием непрозрачных и нефiltrуемых суспензий. Оценка растворимости солей в воде центрифугированием и упариванием аликвоты надосадочной жидкости дала значения $1,7 \cdot 10^{-7}$ – $3,5 \cdot 10^{-7}$ моль/мл. Этаноламмонийная соль лауриновой кислоты легко солубилизуется в воде (7,5 мг/мл) с образованием слабо пенящегося прозрачного раствора, сохраняющегося при нормальных условиях (18-20 °С) без видимых изменений в течение 15-45 час.

Солубилизация ПЭА и СЭА этаноламмонийными солями пальмитиновой и стеариновой кислот даёт непрозрачные суспензии. Солубилизация ПЭА и СЭА легко солубилизуемой солью лауриновой кислоты приводит, в

зависимости от соотношения амида и соли (9:1 — 6:4), к образованию полупрозрачных опалесцирующих суспензий.

ПЭА в концентрации 250 мкМ, а также этаноламмонийная соль пальмитиновой кислоты, смесь этаноламмонийных солей пальмитиновой и стеариновой кислот (1:1), этаноламмонийная соль стеариновой кислоты или лауриновой кислоты в концентрации, составляющей 5% от массы ЭАЖК (6– 8 мкМ) не оказывали влияния на рост опухолевых клеток или оказывали слабое действие (до 12% подавления роста). Комплексные препараты, включающие ПЭА и вышеперечисленные этаноламмонийные соли жирных кислот, не привели к статистически значимым изменениям эффекта ПЭА, хотя в большинстве случаев наблюдалась слабая тенденция к усилению его ингибирующего действия (на 3 – 10 %). СЭА в концентрации 250 мкМ подавлял рост клеток в 2 – 2,2 раза, при дополнении препарата этаноламмонийными солями жирных кислот в указанной концентрации усиления противоопухолевого эффекта СЭА выявлено не было.

В последующих экспериментах использовали более высокую концентрацию этаноламмонийных солей – 125 мкМ, применяя их в эквимольном количестве с ПЭА или СЭА. При действии 125 мкМ этаноламмонийных солей пальмитиновой и стеариновой кислот, их смеси, а также соли лауриновой кислоты рост клеток глиомы С6 был подавлен на 19 – 37%. ПЭА в концентрации 125 мкМ вызвал тенденцию к торможению роста клеток на 6%, не достигшую статистической значимости, СЭА в той же дозе подавлял рост клеток глиомы С6 в 1,6 раза. При совместном действии ПЭА и солубилизаторов наблюдалось подавление клеточного роста, сходное с подавлением клеточного роста при действии только солубилизаторов. При совместном действии СЭА и солубилизаторов наблюдалось подавление клеточного роста, в 1,6 – 1,7 раза более выраженное, чем при действии препаратов по отдельности.

В экспериментах с клетками Hela ПЭА не повлиял на их рост, а СЭА подавлял в 1,4 раза. При дополнении препарата ПЭА этаноламмонийными солями жирных кислот усиления противоопухолевого эффекта не было выявлено (за исключением серии, где препарат ПЭА дополняли смесью этаноламмонийных солей пальмитиновой и стеариновой кислот; в этом случае наблюдалось усиление действия ПЭА в 1,6 раза), эффект препарата СЭА усилился в 1,3 – 1,7 раза.

Выводы. Исследование влияния этаноламмонийных солей пальмитиновой, стеариновой и лауриновой кислот на солубилизацию пальмитоил- и стеароилэтаноламидов показало, что образованию стабильных суспензий в наибольшей степени способствует соль лауриновой кислоты.

Опыты на клетках глиомы С6 и Hela продемонстрировали, что дополнение суспензии стеароилэтаноламида в эквимольном количестве всеми указанными этаноламмонийными солями способствует усилению его ингибирующего действия.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект M24-038).

ЛИТЕРАТУРА

1. Противоопухолевая активность этаноламидов и диэтаноламидов пальмитиновой и рицинолевой кислоты *invitro* / Терпинская Т.Т. [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2023. – Т. 2. – С. 53–59.
2. Способ получения этаноламидов полиненасыщенных жирных кислот : патент RU 2412157 / Касьянов С. П., Латышев Н. А. – Опубл. 20.02.2011.
3. Terpinskaya T.I., Yanchenko T.L., Polukoshko E.F., Lisovskaya M.V., Mikhal'chuk A. L. Antitumor effects of mono- and diethanolamines of fatty acids on Hela and glioma C6 cell line models // The 8th International Conference on Chemistry, Structure and Function of Biomolecules, Minsk, 1-5 October, 2024, Book of Abstract; Minsk, Belarus. / Editorial Board: V. Bokuts [et al.], Institute of Bioorganic Chemistry NASB, Minsk. – P. 99.

СПОСОБЫ УСИЛЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ ГЛИЦИРРЕТОВОЙ КИСЛОТЫ

Терпинская Т.И., Маркевич К.В.

*Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Беларусь*

Актуальность. Глицирретовая кислота – пентациклический тритерпеноид, агликон глицирризина – природного соединения, получаемого из корня солодки голой. К настоящему времени накоплены экспериментальные данные, свидетельствующие о противоопухолевой активности глицирретовой кислоты [2]. Это обуславливает интерес к более детальному изучению ее биологических свойств, механизмов действия и способов усиления противоопухолевого эффекта.

Ранее нами была продемонстрирована возможность повышения противоопухолевой активности другого пентациклического тритерпеноида – бетулиновой кислоты – посредством ее сочетания с некоторыми ингибиторами кальций-зависимых белков и кальциевых каналов/насосов [1]. Черты структурного сходства бетулиновой и глицирретовой кислоты позволили сделать предположение о возможности применения аналогичных подходов и для усиления действия последней.

Цель данной работы – изучить в экспериментах *in vitro* эффекты глицирретовой кислоты и ее сочетаний с ингибиторами кальций-зависимых белков и кальциевых каналов/насосов на рост культивируемых опухолевых клеток Hela и глиомы C6.

Материалы и методы. Опыты проведены на линиях крысиной глиомы C6 и Hela (человек, рак шейки матки). Клетки культивировали в среде ДМЕМ (Sigma) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки и антибиотиков.

При проведении экспериментов клетки высевали в лунки 96-луночных планшетов, культивировали 24 ч при 37 °С, затем вносили исследуемые

препараты – глицирретовую кислоту (50 – 400 μM), хлорпромазин (7, 14 и 28 μM), циклоспорин (2 μM), A23187 (2,5 μM), U73122 (10 μM), рутениевый красный (20 μM), верапамил (30 μM) и этиленгликоль-бис(2-аминоэтиловый эфир)-N,N,N,N-тетрауксусная кислота (ЭГТА, 0,2 мМ). Культивировали 48 ч, затем оценивали ингибирующий эффект препаратов на клеточный рост с помощью МТТ-теста.

Результаты и обсуждение. Глицирретовая кислота оказывала зависимый от концентрации ингибирующий эффект на рост опухолевых клеток, в концентрации от 50 до 400 μM подавляя его на 7 – 96%.

Хлорпромазин (ингибитор кальций-связывающего белка кальмодулина), циклоспорин (ингибитор кальмодулин-зависимой протеинфосфатазы кальциневрина и митохондриальной поры), U73122 (ингибитор фосфолипазы C и A2, который ингибирует гидролиз фосфатидилинозитола до инозитолтрифосфата, что приводит к снижению свободного цитозольного Ca^{2+}), рутениевый красный (ингибитор митохондриального Ca^{2+} -унипортера – трансмембранного белка, благодаря которому кальций поступает в митохондрии, и ванилоидных каналов временного рецепторного потенциала (TRPV)), A23187 (ионофор кальция) вызывали тенденцию к торможению роста или статистически значимо подавляли рост хотя бы одной из двух исследуемых клеточных линий (подавление роста на 11 – 46%).

Эти же соединения способствовали усилению в 1,3 – 3,0 раза ингибирующего действия 70 μM глицирретовой кислоты, которая сама в данной концентрации тормозила клеточный рост на 7 – 16%. При этом эффект сочетанного применения во всех случаях был сильнее, чем эффект отдельных препаратов, хотя в большинстве случаев не превышал суммы их эффектов. Наиболее выраженное действие на оба типа клеток оказывали хлорпромазин и A23187.

Верапамил (блокатор потенциалзависимых кальциевых каналов L-типа) и ЭГТА (хелатор кальция) не повлияли на клеточный рост и эффект глицирретовой кислоты.

Хлорпромазин показал дозую зависимость действия на рост опухолевых клеток и на эффект глицирретовой кислоты. В концентрации 7 – 28 μM этот препарат подавлял клеточный рост в 1,2 – 4,3 раза, глицирретовая кислота в концентрации 120 μM – в 1,2 – 1,5 раза. При сочетанном применении хлорпромазина и глицирретовой кислоты эффект усиливался, максимальное усиление наблюдали при наибольшей использованной концентрации хлорпромазина (28 μM) – в 2,2 - 4,2 раза по сравнению с эффектом хлорпромазина и в 6,6 – 8,1 раза по сравнению с эффектом бетулиновой кислоты.

Наиболее мощный ингибирующий эффект показало сочетание глицирретовой кислоты, хлорпромазина и рутениевого красного (концентрация препаратов в данном опыте составляла 120, 14 и 20 μM соответственно), обеспечившее подавление роста глиомы C6 и Hela в 24 и 6,1 раза соответственно. Эффект этих препаратов на клетки Hela продемонстрирован на рисунке 1.

При увеличении концентрации производного бетулиновой кислоты до 8 μM наблюдали усиление его ингибирующего действия (подавление клеточного роста в 2,7 раза), метформин в концентрации 10 и 20 mM усиливал эффект производного бетулиновой кислоты более чем в 10 раз. При уменьшении концентрации производного бетулиновой кислоты до 2 μM подавления клеточного роста и усиливающего действия метформина не выявлено.

В опытах с клетками A549 и Hela также выявлено дозозависимое подавление клеточного роста в присутствии 2,5 – 20 mM метформина в 1,2 – 2,4 раза. Производное бетулиновой кислоты в концентрации 4 и 8 μM вызвало ингибирование роста клеток A549 в 1,4 раза и 2,6 раза, клеток Hela – в 1,7 и 2,8 раза. Метформин усилил эффект производного бетулиновой кислоты в 1,2 – 37,4 раза, выраженность эффекта зависела от дозы препаратов и типа клеток.

Таким образом, метформин, бетулиновая кислота, а в еще большей степени – ее производное дозозависимо подавляли рост опухолевых клеток. При сочетанном применении метформина и бетулиновой кислоты или ее производного наблюдалось усиление эффекта по сравнению с эффектом их отдельного применения.

Согласно данным литературы, противоопухолевая активность бетулиновой кислоты и ее производных может быть связана главным образом с индукцией апоптоза через подавление экспрессии киназы АКТ1 [4], с супрессией ядерного фактора κB [1], с ингибированием гликолиза и опосредованной жирными кислотами продукции пирувата и лактата [3], с активацией АМФ-активируемой протеинкиназы (АМФК) и ингибированием мишени рапамицина млекопитающих (mTOR) [2], хотя последнее выявляется не всегда [4].

Прямое ингибирующее действие метформина на опухолевые клетки, как полагают, реализуется через активацию АМФК, ингибирование mTOR и комплекса I митохондриальной дыхательной цепи, снижение энергетического статуса клетки, модуляцию рецептора аденозина A1 (ADORA), снижение уровня инсулина/инсулиновых факторов роста [5].

Исходя из этого, можно предположить, что по крайней мере некоторые пути реализации противоопухолевого действия бетулиновой кислоты и метформина имеют общие элементы, что может обуславливать аддитивный эффект при комбинировании этих соединений. Вместе с тем, эти вещества также имеют отличия в спектре своих молекулярных мишеней, что может обеспечить усиление синергизма при их совместном применении.

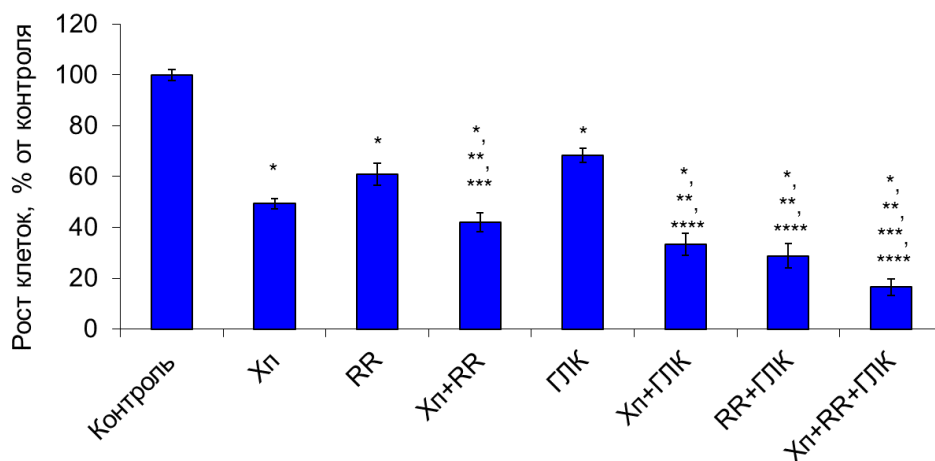


Рисунок 1 – Влияние совместного применения хлорпромазина (Хп, 14 μ M), рутениевого красного (RR, 20 μ M) и глицирретовой кислоты (ГЛК, 120 μ M) на рост клеток Hela (б), n = 6; * – $p < 0,05$ при сравнении с контролем; ** – $p < 0,05$ при сравнении с эффектом Хп; * – $p < 0,05$ при сравнении с эффектом RR; **** – $p < 0,05$ при сравнении с эффектом ГЛК**

При увеличении концентрации производного бетулиновой кислоты до 8 μ M наблюдали усиление его ингибирующего действия (подавление клеточного роста в 2,7 раза), метформин в концентрации 10 и 20 мМ усиливал эффект производного бетулиновой кислоты более чем в 10 раз. При уменьшении концентрации производного бетулиновой кислоты до 2 μ M подавления клеточного роста и усиливающего действия метформина не выявлено.

В опытах с клетками A549 и Hela также выявлено дозозависимое подавление клеточного роста в присутствии 2,5 – 20 мМ метформина в 1,2 – 2,4 раза. Производное бетулиновой кислоты в концентрации 4 и 8 μ M вызвало ингибирование роста клеток A549 в 1,4 раза и 2,6 раза, клеток Hela – в 1,7 и 2,8 раза. Метформин усилил эффект производного бетулиновой кислоты в 1,2 – 37,4 раза, выраженность эффекта зависела от дозы препаратов и типа клеток.

Таким образом, метформин, бетулиновая кислота, а в еще большей степени – ее производное дозозависимо подавляли рост опухолевых клеток. При сочетанном применении метформина и бетулиновой кислоты или ее производного наблюдалось усиление эффекта по сравнению с эффектом их отдельного применения.

Согласно данным литературы, противоопухолевая активность бетулиновой кислоты и ее производных может быть связана главным образом с индукцией апоптоза через подавление экспрессии киназы АКТ1 [4], с супрессией ядерного фактора κ B [1], с ингибированием гликолиза и опосредованной жирными кислотами продукции пирувата и лактата [3], с активацией АМФ-активируемой протеинкиназы (АМФК) и ингибированием мишени рапамицина млекопитающих (mTOR) [2], хотя последнее выявляется не всегда [4].

Прямое ингибирующее действие метформина на опухолевые клетки, как полагают, реализуется через активацию АМФК, ингибирование mTOR и комплекса I митохондриальной дыхательной цепи, снижение энергетического

статуса клетки, модуляцию рецептора аденозина A1 (ADORA), снижение уровня инсулина/инсулиновых факторов роста [5].

Исходя из этого, можно предположить, что по крайней мере некоторые пути реализации противоопухолевого действия бетулиновой кислоты и метформина имеют общие элементы, что может обуславливать аддитивный эффект при комбинировании этих соединений. Вместе с тем, эти вещества также имеют отличия в спектре своих молекулярных мишеней, что может обеспечить усиление синергизма при их совместном применении.

Выводы

Показано, что глицирретовая кислота дозозависимо подавляет рост клеток глиомы C6 и Hela.

Усиление ингибирующего действия может быть достигнуто посредством сочетанного применения глицирретовой кислоты с ингибиторами кальмодулина, кальциневрина, фосфолипаз A и C, каналов временного рецепторного потенциала, митохондриального Ca^{2+} -унипортера, а также с кальциевым ионофором, что обеспечивает более выраженный эффект, чем применение глицирретовой кислоты и указанных ингибиторов по отдельности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Влияние бетулиновой кислоты и модуляторов кальциевого обмена на рост опухолевых клеток / Терпинская Т.И [и др.] //Биохимия и молекулярная биология. – 2024. – Т3, №1. – С 136–142.

2. Терпинская Т.И. Противоопухолевые свойства глицирризиновой и глицирретовой кислоты // Новости медико-биологических наук. – 2023. – Т.23, №3. – С. 235–252.

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ С ЦИКЛОДЕКСТРИНАМИ

Халецкая Е.И., Ильич Т.В.

*Гродненский государственный университет имени Янки Купалы,
Гродно, Беларусь*

Актуальность. Изучение параметров комплексообразования ацетилсалициловой кислоты с различными типами циклодекстринов имеет важное значение как для фундаментальной, так и для прикладной науки. Ацетилсалициловая кислота (АСК) является одним из наиболее широко используемых лекарственных средств благодаря своим противовоспалительным, жаропонижающим и анальгезирующим свойствам. Однако, наличие целого ряда побочных эффектов, ограничивает ее клиническую эффективность.

Циклодекстрины, обладающие способностью образовывать комплексы с различными веществами, могут существенно улучшить растворимость и стабильность включаемых молекул. Исследование взаимодействия ацетилсалициловой кислоты с α -, β - и 2-гидроксипропил- β -циклодекстринами

открывает новые горизонты для разработки более эффективных лекарственных форм, что может привести к снижению дозировки и минимизации побочных эффектов [3].

Цель данной работы заключается в оценке эффективности комплексообразования наноструктурированных комплексов ацетилсалициловой кислоты с α -, β - и 2-гидроксипропил- β -циклодекстринами.

Материалы и методы исследования. Исследование фазовой растворимости АСК в присутствии циклодекстринов проведено по методу Хигучи-Коннора (Т. Higuchi и К. А. Connors) [2]. Избыточное количество АСК добавляли к водному раствору, содержащему β -, α - и 2-гидроксипропил- β -циклодекстрин в диапазоне концентраций 0–16 мМ и 0–30 мМ соответственно. Все эксперименты по комплексообразованию проводились при pH 6.0. Образцы инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 72 часов и затем фильтровали через бумажный фильтр, затем фильтрат центрифугировали при 13500 g в течение 10 мин при комнатной температуре. Количество растворенной АСК определяли спектрофотометрически UF-VIS, используя калибровочную кривую. Спектры поглощения регистрировали при комнатной температуре (Jasco V-650, Япония) (λ 190–500 нм) за вычетом оптической плотности соответствующей концентрации циклодекстрина. Константы ассоциации (K_s) комплексов включения рассчитаны на основе диаграммы фазовой растворимости по уравнению (1):

$$K^s = \frac{\text{slope}}{S^0 \cdot (1 - \text{slope})} \quad (1)$$

где K_s – константа ассоциации комплекса;

slope – угол наклона кривой фазовой растворимости;

S^0 – растворимость АСК в отсутствие циклодекстрина при 25 °С.

Обработка результатов была проведена с помощью пакета STATISTICA 6.0.

Результаты и обсуждение. На первом этапе работы был определен молярный коэффициент экстинкции (ϵ) АСК в водном растворе. С этой целью были проведены измерения оптической плотности (УФ) водного раствора ацетилсалициловой кислоты в диапазоне концентраций (10×10^{-6} – 10×10^{-3} моль/л) $\lambda_{\text{max}} = 275$ нм в воде. Молярный коэффициент экстинкции ацетилсалициловой кислоты $\epsilon = 4760 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ при $\lambda_{\text{max}} = 275$ нм.

На втором этапе оценена растворимость АСК в присутствии различных концентраций α -, 2-гидроксипропил- β -циклодекстринов (0–30 мМ) и β -циклодекстрина (0–16 мМ). Зависимость концентрации ацетилсалициловой кислоты от концентрации внесенного α -циклодекстрина описывается уравнением $y = 0,001x + 0,0002$ ($R^2 = 0,9868$), для β -циклодекстрина $y = 0,0018x + 4 \times 10^{-5}$ ($R^2 = 0,9444$), для гидроксипропил- β -циклодекстрина $y = 0,0028x + 0,0001$ ($R^2 = 0,9777$).

Растворимость ацетилсалициловой кислоты в водной среде почти не изменяется при добавлении α - (α -CD), β - (β -CD) и 2-гидроксипропил- β -

циклодекстринов (HP- β -CD). Диаграммы фазовой растворимости АСК в соответствии с концепцией Хигучи-Коннора (Т. Higuchi и К. А. Connors) скорее может быть классифицирована как диаграмма В-типа, что предполагает ограниченную растворимость комплексов включения. Константы ассоциации комплексов включения АСК- α -CD, АСК- β -CD, АСК-HP- β -CD равны $6,39 \pm 0,65 \text{ M}^{-1}$, $11,21 \pm 0,98 \text{ M}^{-1}$, $13,65 \pm 1,01 \text{ M}^{-1}$ соответственно. Изменение свободной энергии Гиббса при формировании комплексов включения представлены в таблице 1:

Таблица 1 – Изменение свободной энергии Гиббса при формировании комплексов включения с ацетилсалициловой кислотой

	α -циклодекстрин	β -циклодекстрин	Гидроксипропил- β -циклодекстрин
ΔG , АСК, ккал/моль	$-4533,56 \pm 834,01$	$-5907,44 \pm 934,41$	$-6388,81 \pm 968,36$

Изменения свободной энергии Гиббса, при формировании комплексов включения, отрицательны, это свидетельствует о том, что процесс комплексообразования протекает самопроизвольно. АСК, вероятно, будет размещаться в гидрофобных полостях циклодекстринов, так как диаметр внутренней полости как α -циклодекстрина, так и β -, 2-гидроксипропил- β -циклодекстринов соответствуют размерам лигандов, стехиометрическое соотношение комплекса включения теоретически должно быть 1:1, хотя в литературе описаны комплексы включения АКС и СК с β -CD и γ -CD в соотношениях 1:1, 2:1, 4:1, 1:2 [1].

Выводы. В нашем эксперименте, растворимость ацетилсалициловой кислоты практически не изменяется при увеличении концентрации α -, β -, гидроксипропил- β -циклодекстринов. Оцененные константы ассоциации комплексов АСК- α -CD, АСК- β -CD, АСК-HP- β -CD свидетельствует о слабом взаимодействии между молекулами.

Формирование супрамолекулярных комплексов включения характеризуются отрицательными значениями изменения свободной энергии Гиббса (ΔG) для АСК ($-4533,59 \pm 834,01$) – ($-6388,81 \pm 968,36$), что свидетельствует о самопроизвольном процессе комплексообразования АСК с α -, β - и 2-гидроксипропил- β -циклодекстринов, однако для детального выяснения эффективности комплексообразования АСК с циклодекстринами следует продолжить исследование в данной области.

Работа выполнена в рамках гранта БРФФИ-Минобразование М № Б24МВ-004 от 15.04.2024.

ЛИТЕРАТУРА

1. Formation of β -cyclodextrin complexes in an anhydrous environment / H. Sifaoui [et all] // J. Mol. Model. – 2016. – Vol. 22. – 207 p.
2. Ribeiro, A. Preparation and solid state characterization on inclusion complexes formed between miconazole and methyl- β -cyclodextrin / A. Ribeiro, A.

Figueiras, D. Santos, F. Veiga // AAPS PharmSciTech. – 2009. – Vol. 9, №4. – P. 1102–1109.

3. Wang, W. Prediction of Free Drug Absorption in Cyclodextrin Formulation by a Modified Physiologically Based Pharmacokinetic Model and Phase Solubility 3-D Surface Graph / W. Wang, D. Ouyang // Pharm. Res. – 2021. – Vol. 38. – P. 1157–1168.

РОЛЬ ТАУ-БЕЛКОВ В ГЕНЕЗЕ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Царик Е.А., Леднёва И.О.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Изучение тау-белка и его влияния на болезнь Альцгеймера (БА) имеет большое значение в современной медицине. БА становится все более распространенной в связи с увеличением средней продолжительности жизни [1].

Цель. Изучение тау-белков и их роли в развитии болезни Альцгеймера.

Методы исследования. Выполнен обзор научной литературы и интернет-ресурсов.

Результаты и обсуждения: Болезнь Альцгеймера (БА) – одно из самых распространенных прогрессирующих нейродегенеративных заболеваний коры головного мозга и гиппокампа, приводящее к когнитивным нарушениям, которое было открыто в 1906 году Алоис Альцгеймером. Ключевую роль в патогенезе БА занимают растворимые олигомерные формы бета-амилоида, образующие сенильные бляшки. Одновременно в нейронах обнаруживаются нейрофибриллярные клубки, состоящие из уплотненных филаментов тау-белка [2].

Тау-белок был открыт в 1975 году как белок, ассоциированный с микротрубочками, который стимулирует полимеризацию тубулина. Он относится к группе белков цитоскелета и играет важную роль в центральной нервной системе (ЦНС), регулируя развитие нейронов, способствует сборке и стабильности микротрубочек, необходимых для транспортировки везикул. Тау играет решающую роль в аксональном транспорте, синаптической передаче, а также в поддержании стабильности генома и регуляции экспрессии генов. Помимо выше перечисленных функций, тау-белок участвует в замедлении движения ассоциированных с микротрубочками кинезиновых моторных белков вдоль микротрубочек.

В случае полноразмерной изоформы тау-белка стабилизация микротрубочек происходит через четыре тубулин-связывающих домена. Эта связь приводит к скоординированному действию киназ и фосфатаз. На способность регуляции связей с микротрубочками влияет фосфорилирование тау-белка. В здоровом мозге преимущественно присутствует тау-мономер, тогда как при БА содержится значительная доля тау-олигомеров, включая димеры, тримеры и высокомолекулярные полимеры. Впоследствии при различных

нейродегенеративных заболеваниях патологическая форма тау фосфорилируется и является основным компонентом парных спиральных филаментов, которые объединяются в нейрофибриллярные клубки [2].

Большое количества тау-белков содержится в нейронах, а именно в аксонах, обеспечивающих сборку и стабильность микротрубочек. Тау-белок может существовать в разных изоформах, которые характеризуют наличие или отсутствие определенных участков. Всего существует шесть изоформ тау-белка, которые образуются за счет альтернативного сплайсинга экзонов 2, 3 и 10.

Их длина варьируется от 352 до 441 аминокислоты. Например, экзоны 2 и 3 могут кодировать вставки в N-концевых вставок белка, в результате чего возникают изоформы с двумя (2N), одной (1N) или без таких вставок (0N). Также экзон 10 влияет на способность тау соединиться с микротрубочками: если он включен, получается форма, из четырех (4R) или трёх (3R) повторяющихся участков. Изоформы различаются по количеству N-концевых вставок (N) и повторов (R) в повторяющихся областях связей с микротрубочками. Каждая изоформа содержит: проекционный домен, выступающий из микротрубочек, содержащий специальные кислые участки (N-вставки); области, богатые пролином, которые соответствуют структуре белка, домен соединения микротрубочек состоит из трех (3R) или четырех (4R) повторов, которые помогают прикрепиться к микротрубочкам. При этом некоторые участки тау-белка заряжены положительно (домен соединения микротрубочек и пролиновые области), а другие – отрицательно (N-конец и часть C-конца). Это влияет на его взаимодействие с другими молекулами в клетке.

Гексапептидные мотивы (шестичленные аминокислотные последовательности) играют ключевую роль в структурных свойствах тау-белка. Они расположены в доменных соединениях микротрубочек, влияя на способность к агрегации. Гексапептидные мотивы оказывают влияние на изоформы тау-белка следующим образом.

1. Наличие гексапептидных мотивов определяет количество повторов (3R и 4R).

- 1.1 Изоформа 4R (с экзонам 10) содержит дополнительный гексапептидный мотив, который создает связь тау с микротрубочками и стабилизирует их.

- 1.2 Изоформа 3R (без экзона 10) не имеет этого дополнительного мотива, что делает ее менее стабильной при разрыве связей с микротрубочками.

2. Гексапептидные мотивы участвуют в формировании β -структур, что способствует агрегации тау-белка

- 2.1.Изоформа 4R, содержащая дополнительный мотив, агрегирует медленнее, так как лучше взаимодействует с микротрубочками.

- 2.2 Изоформа 3R менее стабильна, что делает ее более склонной к патогенной агрегации при болезни Альцгеймера.

3. Фосфорилирование гексапептидных мотивов приводит к их способности связываться с микротрубочками, что может способствовать их высвобождению и агрегации тау-белка.

Многие факторы оказывают влияние на свойства тау-белка, включая посттрансляционные модификации. Посттрансляционные модификации, такие

как фосфорилирование, ацетилирование и метилирование, играют ключевую роль в регуляции агрегации тау-белков и их токсичности [3,4]. Основным механизмом этих модификаций заключается в изменении локального распределения заряда тау-белков. Например, присоединение фосфатной группы к молекуле тау-белка увеличивает его суммарный отрицательный заряд на -1. Соответственно, высокая концентрация фосфатных групп приводит к снижению положительного заряда тау-белка, повышая его гидрофильность. Это, в свою очередь, уменьшает его способность взаимодействовать с микротрубочками, что способствует его агрегации.

Ацетилирование, происходящее в боковой цепи -NH, может вызывать три основных эффекта:

1. Нейтрализацию положительного заряда с одновременным увеличением отрицательного заряда белка.
2. Блокирование долговременных потенциалов в синапсах гиппокампа, что влечет за собой ухудшение памяти.
3. Снижение активности глутаматных рецепторов, которые участвуют в формировании новых нейронных связей и перестройке существующих.

Метилирование тау-белка выявлено как в здоровом мозге, так и при болезни Альцгеймера. Оно осуществляется путем присоединения метильных групп к остаткам лизина по всей структуре белка. Несмотря на высокий уровень метилирования, тау-белок остается неупорядоченным. Однако этот процесс подавляет его агрегацию, снижая скорость образования агрегатов. Помимо этого, метилирование способствует нейтрализации заряда белка и вызывает конформационные изменения, которые уменьшают вероятность формирования тау-филаментов.

Патологический тау-белок может вызывать конформационные изменения внутри неупорядоченных тау-мономеров [4]. Затем агрегаты тау-белков могут секретироваться из клеток-доноров во внеклеточное пространство. Впоследствии они усваиваются клетками-реципиентами, где способствуют преобразованию нормального мономерного тау в виды, склонные к агрегации.

Вывод. Таким образом, изучение тау-белка имеет важное значение в медицине, так как он играет ключевую роль в поддержании структуры нейронов. При развитии патологических процессов накапливаются олигомерные формы тау-белка, в виде фосфорилированных нейрофибриллярных клубочков, которые влияют на развитие БА. Посттрансляционные модификации играют ключевую роль в регуляции агрегации тау-белков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Татарникова, О.Г. Бета-амилоид и тау-белок: структура, взаимодействие и прионоподобные свойства / О.Г. Татарникова, М.А. Орлов, Н.В. Бобкова // Успехи биологической химии. – 2015. – Т. 55. – №. 1. – С. 351-390.
2. Nizynski, B. Amyloidogenesis of Tau protein / B. Nizynski, W. Dzwolak, K. Nieznanski // Protein Science. – 2017. – №26. – P. 2126-2150.
3. Felix, H. Tau Aggregation // H. Felix [et al.] // NEUROSCIENCE. – 2023. – V. 518– P. 64-69.

4. Jiaxin Hu. Aggregation, Transmission, and Toxicity of the Microtubule-Associated Protein Tau: A Complex Comprehension // Jiaxin [et al.]. – 2023. – № 24. – P.1523 . Hu

ЭФФЕКТЫ ПЛАЗМЫ, ОБОГАЩЁННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ

Шапутько М.Н., Зинчук В.В.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Плазма обогащённой тромбоцитами – это аутологичный продукт цельной крови, который после центрифугирования содержит высокую концентрацию тромбоцитов, взвешенных в небольшом количестве плазмы. Тромбоциты обладают широким спектром действия благодаря своей способности высвобождать цитокины и факторы роста, в том числе фактор роста тромбоцитов, трансформирующий фактор роста бета, фактор роста эндотелия сосудов, инсулиноподобный фактор роста, фактор роста фибробластов и эпидермальный фактор роста, которые способствуют миграции, пролиферации и дифференцировке клеток, а также ангиогенезу и синтезу коллагеновых волокон [7].

Тромбоцитарная плазма была впервые представлена гематологами в 1970-х годах как продукт с более высоким содержанием тромбоцитов, чем в периферической крови. Изначально использовалась при переливании крови пациентам с тромбоцитопенией, однако быстро получила признание как многообещающий терапевтический инструмент, применяемый в различных областях медицины [8].

Богатая тромбоцитами плазма играет важнейшую роль в процессе регенерации благодаря высокому содержанию биоактивных, антиоксидантных и противовоспалительных факторов [4].

В зависимости от области применения тромбоцитарной плазмы используются разные концентрации и дозировки. На сегодняшний день существует множество классификаций PRP. Одной из распространённых считается классификация предложенная Dohan Ehrenfest et al. в 2009 году, которая основывается на двух параметрах: наличие клеточного содержимого (например, лейкоциты) и фибрина [2]. Согласно данной классификации выделяют 4 основные группы: плазма богатая тромбоцитами, с низким содержанием лейкоцитов, используемая для местного применения; плазма богатая тромбоцитами и лейкоцитами; богатый тромбоцитами фибрин, который представляет собой производное плазмы богатой тромбоцитами, в котором тромбоциты находятся в фибриновой матрице; богатый тромбоцитами и лейкоцитами фибрин.

Окислительный стресс возникает в результате перепроизводства активных форм кислорода (АФК) и активных форм азота, которые в последующем приводят к смещению баланса между АФК и системой

антиоксидантной защиты, и как следствие перекисному окислению липидов и разрушению клеточных мембран [1].

В процессе жизнедеятельности клетки подвергаются воздействию АФК, что приводит к окислительно-восстановительному стрессу. Недавно исследователи обнаружили, что комбинированная терапия с использованием PRP может стимулировать заживление кожных ран и уменьшать локальное воспаление, что способствует снижению окислительного стресса [7].

Было продемонстрировано, что через 24 часа после введения плазмы обогащённой тромбоцитами в фибробласты повышается уровень многих ферментов-антиоксидантов, таких как каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза и глутатионсинтетаза [3].

В проведённых ранее исследованиях при внутривариальном введении обогащённой тромбоцитами плазмы на состояние окислительного стресса в фолликулярной жидкости у пациенток с пониженным овариальным резервом было продемонстрировано, что плазма обогащённая тромбоцитами обладает антиоксидантными свойствами и способствует ингибированию окислительного стресса [1]. После введения плазмы обогащённой тромбоцитами уровень ферментативных антиоксидантов (каталаза и супероксиддисмутаза) значительно повышался, кроме того наблюдалось значительное снижение уровня малонового диальдегида.

В опытах при моделировании остеоартрита наблюдалось развитие окислительного стресса, о чем свидетельствовало повышение уровня ПОЛ в сыворотке крови и явное снижение уровня глутатиона и активности глутатион-S-трансферазы по сравнению с контрольной группой [5]. Лечение плазмой обогащённой тромбоцитами препятствовало окислительному стрессу, о чем свидетельствует понижение уровня ПОЛ в сыворотке и повышение уровня глутатиона и активности глутатион-S-трансферазы. Следовательно, плазма снижала окислительный стресс и усиливала антиоксидантную защиту.

В исследованиях о влиянии тромбоцитарной плазмы на окислительные повреждения, вызванные травмой икроножной мышцы крыс, плазму обогащённую тромбоцитами вводили внутримышечно сразу после травмы и каждые 48 часов [6]. Повреждение тканей повышало уровень маркеров окислительного стресса, таких как тиобарбитуровая кислота и окисленный дихлорфлуоресцеин, как в скелетных мышцах, так и в эритроцитах. Использование обогащённой тромбоцитами плазмы значительно снижало уровень этих маркеров окислительного повреждения, также повышало уровень ферментативных антиоксидантов – супероксиддисмутаза и каталазы – в повреждённых мышцах, а также уровень небелковых тиолов (-SH) в эритроцитах. Следовательно, плазма богатая тромбоцитами ингибировала окислительный стресс, за счёт активации эндогенных систем антиоксидантной защиты.

Результаты ранее проведенных исследований активности ПОЛ и антиоксидантной активности плазмы показали, что плазмолифтинг обладает нормализующим эффектом на показатели свободнорадикального окисления, способствует стабилизации метаболических процессов и более благоприятному

течению раневых процессов [9]. Обогащённая тромбоцитами плазма снижает активность ПОЛ (по уровню малонового диальдегида) и активирует ферменты антиоксидантной защиты (по уровню супероксиддисмутазы).

Из всего изложенного можно сделать вывод о том, что применение плазмы обогащённой тромбоцитами является перспективным направлением исследования коррекции активности свободнорадикальных процессов крови и возникающего окислительного стресса.

ЛИТЕРАТУРА

1. A retrospective cohort study investigating the effect of intraovarian platelet-rich plasma therapy on the oxidative state of follicular fluid in women with diminished ovarian reserve / S. Mazloomi, H. Tayebinia, M.S. Farimani [et.al.] // Chonnam Medical Journal. – 2025. – Vol. 61. – № 1. – P. 46-51.
2. Alves, R. A review of platelet-rich plasma: history, biology, mechanism of action, and classification / R. Alves, R. Grimalt // Skin Appendage Disorders. – 2018. – Vol. 4, № 1. – P. 18-24.
3. Enhanced platelet-rich plasma (ePRP) stimulates wound healing through effects on metabolic reprogramming in fibroblasts / H.P. Weng, Y.Y. Cheng, H.L. Lee [et.al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22. – P. 1-19.
4. In vitro effect of sodium nitrite on platelet aggregation in human platelet rich plasma-preliminary report / M. Kadan, S. Doğanci, V. Yildirim [et.al.] // European Review for Medical and Pharmacological Sciences. – 2015. – Vol. 19. – P. 3935-3939.
5. Platelet-rich plasma ameliorates monosodium iodoacetate-induced ankle osteoarthritis in the rat model via suppression of inflammation and oxidative stress / G.H. Ragab, F M Halfaya, O M Ahmed [et. al.] // Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. – 2021. – Vol. 13. – P. 1-13.
6. Platelet-rich plasma reduces the oxidative damage determined by a skeletal muscle contusion in rats / R.P. Martins, D.D. Hartmann, J.P. de Moraes [et. al.] // Platelets. – 2016. – Vol.27. – № 8. – P. 1-7.
7. Use of platelet rich plasma for skin rejuvenation / L.K. Phoebe, K.W.A. Lee, L.K.W. Chan [et.al.] // Skin Research and Technology. – 2024. – Vol. 30 – № 6. – P. 1-6.
8. Аутологичная плазма обогащённая тромбоцитами: что это и для чего? / В.Л. Медведев, М.И. Коган, И.В. Михайлов, С.Н. Лепетунов // Вестник урологии. – 2020. – Т. 8. – № 2. – С. 67-77.
9. Микулич, Е.В. Динамика показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты при хроническом экспериментальном остеомиелите на фоне применения обогащенной тромбоцитами плазмы и струйной санации / Е.В. Микулич // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 510-516.

Раздел 4. КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ

ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС У ПОЖИЛЫХ МУЖЧИН С ИЗБЫТОЧНОЙ МАССОЙ ТЕЛА

*Байда А.В.¹, Степанова Ю.И.¹, Михалюк Р.А.¹, Алехнович Л.И.¹,
Капустина Е.В.²*

¹Белорусский государственный медицинский университет

²УЗ «10-я городская клиническая больница», Минск, Республика Беларусь

Актуальность. Прогрессивное увеличение на 8-10% ежегодно количества пациентов пожилого возраста с одновременным наличием абдоминального ожирения, эндокринопатий различного генеза и, в том числе, сахарного диабета (СД) 2 типа, обуславливает большую медико-социальную актуальность проблемы диагностики, лечения и профилактики метаболического синдрома в мире [5]. По данным Всемирного атласа ожирения прогнозируется, что к 2030 г. каждый седьмой мужчина будет иметь ожирение с индексом массы тела (ИМТ) более 30 кг/м² [6].

В результате снижения уровня метаболической активности у пожилых изменяется соотношение и состав тканей тела человека: снижается содержания мышечной и увеличивается доля жировой ткани. При этом усугубляются нарушения липидного гомеостаза, что сопряжено с ускорением процессов атерогенеза и высоким риском сердечно-сосудистых осложнений – инфарктов миокарда, острых нарушений мозгового кровообращения [1,2,4].

В настоящее время в научных кругах идет дискуссия, посвященная поиску новых предикторов и факторов риска 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 гормонального статуса в зависимости от эндокринных нарушений у пациентов старших возрастных групп.

Цель исследования – анализ гормонального статуса у пожилых мужчин с избыточной массой тела с целью улучшения диагностики метаболического синдрома у людей пожилого и старческого возраста.

Материалы и методы исследования. Обследовано 88 мужчин старше 65 лет. Сформированы следующие группы исследования: основная группа состояла из двух подгрупп: подгруппа 1-я – 35 пациентов с избыточной массой тела, не имеющих эндокринных заболеваний и СД 2 типа (средний возраст 73,8±9,1 года), 2-я подгруппа – 28 пациентов с избыточной массой тела и СД 2 типа (средний возраст 71,5±6,3 года); группу сравнения составили 25 лиц пожилого возраста с нормальной массой тела без эндокринных нарушений и СД 2 типа (средний возраст 67,8±10,4 года).

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: мужской пол, возраст старше 65 лет; избыточная масса тела с ИМТ более 25 кг/м², 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. Методом иммуноферментного анализа определяли содержание в сыворотке крови общего тестостерона с помощью тест-набора «Диагностические системы» (РФ), эстрадиола - Diamed (РФ).

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 (25%-75%). Для анализа различий в двух группах по количественному параметру использовали U-критерий Манна-Уитни для независимых 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 (1,0% и 0,9%), хронический гастрит и/или гастродуоденит (27,9% и 25,4%), хронический тонзиллит (11,4% и 12,7%), хронический синусит (9,7% и 10,9%), желчекаменная болезнь (0,7% и 0,8%), соответственно, что не носило достоверной межгрупповой разницы. Преобладающей патологией в обеих группах наблюдения были хроническая сердечная недостаточность и артериальная гипертензия, пациенты были сопоставимы по возрастному и гендерному составу, массе тела ($p > 0,05$).

У мужчин 1-й подгруппы основной группы выявлено 2-х кратное снижение концентрации тестостерона, составившее 7,5 (6,03;12,44) нмоль/л, на фоне повышения сывороточного уровня эстрадиола до 168,30 (135,90;204,13) пмоль/л в сравнении с таковыми в группе сравнения – 14,64 (9,69;16,13) нмоль/л ($p = 0,021$) и 128,06 (92,65;155,43) пмоль/л ($p = 0,014$) соответственно. Аналогичная картина установлена во 2-й подгруппе основной группы. Так, содержание в сыворотке крови общего тестостерона составило 7,8 (5,77-9,00) нмоль/л, что было ниже уровня в группе сравнения в 1, 8 раза ($p = 0,016$). При этом отмечалась гиперэкспрессия в крови эстрадиола, которая достигла величины 169,60 (140,00; 187,2) пмоль/л, что превышало в 1,3 раза значение в группе сравнения ($p = 0,031$).

Проведение межгруппового сравнения по изучаемым показателям не выявило достоверных различий у пациентов с СД 2 типа и без него. Полученные

результаты свидетельствуют о развитии у всех мужчин основной группы независимо от эндокринной патологии возрастного андрогенного дефицита (ВАД), диагностическим критерием которого является снижение сывороточного уровня тестостерона менее 8,0-10,0 нмоль/л [3]. Следовательно, ВАД может являться самостоятельным фактором риска развития метаболического синдрома у мужчин старшего возраста.

Выводы. Результаты проведенного исследования убедительно демонстрируют, что у мужчин пожилого возраста с избыточной массой тела независимо от наличия эндокринной патологии наблюдается выраженное снижение концентрации тестостерона на фоне повышения уровня эстрадиола по сравнению с аналогичными данными пожилых лиц с нормальной массой тела, что свидетельствует о развитии у этих пациентов ВАД, который может являться самостоятельным фактором риска формирования метаболического синдрома у мужчин старшего возраста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гончар И.А., Биохимические предикторы и маркеры острого инфаркта мозга / И. А. Гончар, Ю. И. Степанова. - Минск: БелМАПО. – 2013. – 512 с.
2. Суплотова, Л.А. Ожирение у пожилых людей: особенности ведения в амбулаторной практике / Л.А. Суплотова, О.О. Алиева, Т.С. Душина // Ожирение и метаболизм. – 2023. – Т. 20(2). – С. 140-148.
3. Шестаев, А.Ю. Современные представления о возрастном андрогенном дефиците/ А.Ю. Шестаев, В.В. Протащак, Е.Н. Ашанин // Эксперим. и клин. урология. – 2016. - №4. – С.80-84.
4. Mathew H. Metabolic health and weight: understanding metabolically unhealthy normal weight or metabolically healthy obese patients// Metabolism. – 2016. – Vol. 65. – P. 73–80.
5. Okunogbe T.P. Economic Impacts of Overweight and Obesity. 2nd Edition with Estimates for 161 Countries. - World Obesity Federation. - 2022. – 223 p.
6. World Obesity Atlas, March 2022 [Internet]. Available from: [https://www.worldobesityday.org/assets/downloads/World Obesity Atlas](https://www.worldobesityday.org/assets/downloads/World%20Obesity%20Atlas.pdf). – 2022.-WEB.pdf

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МИКРОНУТРИЕНТНОЙ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ И КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ТЕЛА ЖЕНЩИН ЯКУТОК СТАРШЕ 60 ЛЕТ

Бекетова Н.А.¹, Вржесинская О.А.¹, Кошелева О.В.¹, Лебедева У.М.²,
Жилинская Н.В.¹

¹ФГБУН «ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи,
Москва, Российская Федерация;

²Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова,
Республика Саха (Якутия), Якутск, Российская Федерация.

Актуальность. Выявление модулируемых факторов риска развития возрастных алиментарно-зависимых заболеваний является важнейшей задачей нутрициологии, направленной на поддержание здорового долголетия.

Снижение с возрастом физической активности и потребления энергии при увеличенной потребности в ряде макро- и микронутриентов из-за ухудшения их усвоения, повышает риск развития мальнутриции, в том числе дефицита витаминов и минеральных веществ [4]. У пожилых дефицит витамина D ассоциируется с мышечной слабостью и ростом риска падений и переломов, сниженная обеспеченность витаминами группы B (B_1 , B_{12} , фолиевой кислотой) и витамином E - с когнитивными нарушениями; недостаток йода, входящего в состав молекул гормонов щитовидной железы, приводит к эндемическому зобу с гипотиреозом, замедлению обмена веществ и артериальной гипотензии [2, 3].

Изучение рационов питания и биохимических показателей микронутриентного статуса коренных жителей республики Саха (Якутия) свидетельствует о недостатке витаминов A, B_2 , PP и C и ряда микроэлементов, в т.ч. йода [5, 6]. Однако имеются сообщения и об избыточном потреблении витамина A у пожилых женщин [7], которое согласно клиническим исследованиям ассоциируется с повышением риска переломов бедренной кости. К настоящему времени данные об обеспеченности витаминами и йодом лиц пожилого и старческого возраста, а также о взаимосвязи микронутриентного статуса и показателей компонентного состава тела, отражающих функциональное состояние организма, крайне ограничены.

Цель – у женщин пожилого и старческого возраста, коренных жительниц Республики Саха (Якутия), изучить биомаркеры обеспеченности йодом, витаминами B_2 , A, E и оценить их взаимосвязь с отдельными характеристиками компонентного состава тела.

Материалы и методы исследования. В осенний период проведено одномоментное обследование микронутриентного статуса 45 коренных жительниц Якутии в возрасте от 60 до 90 лет (из них 53,3% старше 75 лет). Концентрацию йода в суточной моче определяли методом инверсионной вольтамперометрии, уровень в сыворотке крови рибофлавина (витамина B_2) – флуоресцентным методом титрования рибофлавинсвязывающим апобелком, ретинола (витамина A), α - и γ -токоферолов (витамина E), – с помощью обращенно-фазной ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием. Компонентный состав тела изучали с помощью биоимпедансного анализатора InBody S10. Для оценки статистической связи переменных рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение. Независимо от возраста сниженная обеспеченность йодом (йодурия <100 мкг/л) отмечалась у большинства обследованных (у $>90\%$). Женщины пожилого возраста были обеспечены витамином B_2 хуже: сниженный уровень рибофлавина в крови (<5 нг/мл) выявлялся статистически значимо чаще ($p<0,05$): у 47% против 17% среди женщин старше 75 лет. Недостаток витамина E (α + γ -токоферолы $<0,8$ мг/дл) встречался редко: у $<5\%$ обследованных. Все женщины были обеспечены витамином A (ретинол >30 мкг/дл); причем у $>10\%$ лиц концентрация ретинола в сыворотке крови превысила верхнюю границу нормы для взрослых (80 мкг/дл). Содержание ретинола, α - и γ -токоферолов в сыворотке крови женщин пожилого и старческого возраста достоверно не различалось. Между концентрацией α -

токоферола, с одной стороны, γ -токоферола и ретинола – с другой, имелась положительная статистически значимая связь: коэффициенты корреляции составили соответственно 0,589 ($p < 0,001$) и 0,302 ($p < 0,05$). В целом, полученные данные согласуются с выводами когортных обследований микронутриентного статуса у взрослого российского населения моложе 60 лет, которые наиболее часто выявляют недостаток витаминов группы В и витамина D: в среднем у 40% и у >60% населения [8].

Согласно данным клинических исследований, замедленное старение ассоциировано с высокими значениями тощей массы, водного компонента и полного фазового угла; независимо от возраста, повышение индекса массы тела (ИМТ) сопровождается снижением концентрации в плазме крови 25(OH)D – биомаркера обеспеченности витамином D.

Проведенный корреляционный анализ показал отсутствие статистически значимой связи между изученными показателями витаминно-минерального статуса и ИМТ, который колебался у женщин от 18,6 до 47,7 кг/м² (медиана – 27,6 кг/м²).

Тощая масса (ТМ), суммарная масса вне- и внутриклеточного водного компонента (МВК) положительно коррелировала с уровнем йодурии: 0,547 ($p < 0,001$) и 0,549 ($p < 0,001$) соответственно. Лица с показателями ТМ и МВК, не достигшими нижней границы нормы, были хуже обеспечены йодом: содержание микроэлемента в моче было меньше (тенденция) на 24,4% ($p = 0,060$) и 27,5% ($p = 0,055$). Концентрация йода в суточной моче также была прямо взаимосвязана с величиной фазового угла (0,328, $p = 0,042$), который, как известно, снижается с возрастом и является индикатором неблагоприятных исходов развития саркопении [1]. В отличие от йодурии, концентрация ретинола была отрицательно связана с показателями биоимпедансного анализа ТМ и МВК: -0,408 ($p = 0,008$) и -0,431 ($p = 0,005$). У женщин с уровнем ретинола в сыворотке крови, превысившем верхнюю границу нормы (80 мкг/дл), величина ТМ и МВК были меньше на 8,7% ($p < 0,05$), чем у обследованных с адекватной обеспеченностью витамином А (содержание ретинола 30-80 мкг/дл).

Выводы. Полученные результаты обосновывают необходимость расширения профилактических мероприятий, направленных на ликвидацию недостатка йода и витаминов группы В у женщин якуток пожилого и старческого возраста, а также указывают на необходимость коррекции избыточного потребления витамина А, например, за счет снижения частоты потребления блюд из мясных и рыбных субпродуктов (печени).

У женщин старше 60 лет дефицит йода и повышенный уровень ретинола в сыворотке крови ассоциировались со снижением отдельных показателей биоимпедансного анализа, связанных со старением: ТМ, МВК и величины фазового угла.

Источник финансирования. Работа по подготовке рукописи проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания по теме FGMPF-2025-0013.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биоимпедансный фазовый угол как маркер саркопении у женщин старческого возраста с полиморбидной патологией / Д.П. Курмаев [и др.] // Альманах клинической медицины. – 2021. – Т. 49, №4. – С. 245–253. DOI: 10.18786/2072-0505-2021-49-026
2. Дербенева, С.А. Актуальные проблемы питания пациентов пожилого и старческого возраста / С.А. Дербенева, А.В. Погожева // Вопросы диетологии. – 2022. – Т. 12, № 4. – С. 23-31. DOI: 10.20953/2224-5448-2022-4-23-31
3. Клинические рекомендации «Заболевания и состояния, связанные с дефицитом йода» / Ф.М. Абдулхабирова [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2021. – Т. 67, №3. – С. 10-25. DOI: 10.14341/probl12750
4. Недостаточность питания (мальнутриция) у пациентов пожилого и старческого возраста. Клинические рекомендации / О.Н. Ткачева [и др.] // Российский журнал гериатрической медицины. – 2021. – № 1. – С. 15-34. DOI:10.37586/2686–8636–1–2021–15–34
5. Особенности фактического питания населения Республики Саха (Якутия) / К.И. Иванов [и др.] // Дальневосточный медицинский журнал. – 2005. – № 2. – С. 72-74.
6. Оценка йодной недостаточности в отдельных регионах России / И.И. Дедов [и др.] // Проблемы Эндокринологии. – 2000. – Т. 46, № 6. – С. 3-7.
7. Факторы риска, качество жизни и здоровье лиц пожилого возраста. / Е.В. Катаманова [и др.] // Гигиена и санитария. – 2021. – Т. 100, № 8. – С. 863-868. DOI: 10.47470/0016-9900-2021-100-8-863-868
8. Характеристика обеспеченности витаминами взрослого населения Российской Федерации / В.М. Коденцова [и др.] // Профилактическая медицина. – 2018. – Т. 21, № 4. – С. 32-37. DOI: 10.17116/profmed201821432

МЕТАБОЛОМНЫЙ ПРОФИЛЬ АМИНОКИСЛОТНОГО ОБМЕНА: НОВЫЙ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ ЗАДЕРЖКИ РОСТА ПЛОДА

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

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. ЗРП – это патологическое состояние, при котором плод не достигает своего потенциального роста и сопровождается высоким риском перинатальных осложнений. Диагностические критерии включают замедление показателей прироста предполагаемой массы плода (ПМП) и/или окружности живота (ОЖ) <10-го перцентиля в сочетании с патологическим кровотоком по данным УЗ-доплерографии или показатели ПМП/ОЖ <3-го перцентиля [1]. Распространенность ЗРП составляет около 15% от всех беременностей, увеличиваясь до 25% при наличииотягощенного анамнеза [2]. Несмотря на

достижения в понимании патогенеза и последствий ЗРП, до сих пор отсутствуют биомаркеры, которые позволяли бы точно диагностировать это состояние на ранних стадиях и оценивать его тяжесть. Метаболомика, как относительно новая область «омиксных» исследований, предоставляет инструменты для анализа метаболических нарушений, связанных с ЗРП [9]. Она изучает метаболом – совокупность низкомолекулярных метаболитов в биологическом образце, которые отражают метаболические процессы в клетках. Современные достижения в метаболомике позволяют не только изучать физиологию человеческого организма, но и идентифицировать новые биохимические маркеры заболеваний [10, 11].

Цель: разработка высокочувствительного и специфичного диагностического метода ЗРП на основе анализа метаболомного профиля аминокислотного обмена.

Материалы и методы исследования. Для достижения поставленной цели исследования были выделены две группы пациенток: основная группа – 98 беременных с подтвержденным диагнозом ЗРП, диагноз был подтвержден постнатально с использованием центильных таблиц ВОЗ для доношенных детей и таблиц Фентона (2013) для недоношенных; контрольная группа – 65 беременных с физиологически протекающей беременностью. Критерии включения: возраст беременных 18–35 лет; одноплодная беременность на сроке 24–40 недель; диагноз ЗРП. Критерии исключения: резус- и АВ0 изоиммунизация; хромосомные аномалии, генетические мутации, врожденные пороки развития плода; тяжелая экстрагенитальная патология матери, миома матки больших размеров, острые инфекционные заболевания.

Определение концентрации аминокислот, их производных и метаболитов проводилось на базе научно-исследовательской лаборатории учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет». Для этих целей использовалась хроматографическая система HPLC Agilent 1200. Для статистической обработки данных применялась программа Statistica 10.0 (AXAR207F394425FA-Q).

Результаты и обсуждение. Анализ клинико-анамнестических характеристик, которые могли оказать влияние на результаты, выявил отсутствие статистически значимых различий между группами по медиане возраста и индексу массы тела ($p > 0,05$). Также не выявлено различий по паритету, наличию гинекологических заболеваний и соматической патологии ($p > 0,05$). Однако масса и рост новорожденных в группах существенно различались. В основной группе медиана массы плодов составила 2225 (1700–2500) г, тогда как в контрольной группе этот показатель равнялся 3450 (3200–3700) г. Медиана роста новорожденных в основной группе составила 47 (44–49) см, а в контрольной – 53 (52–55) см ($p < 0,05$).

После проведения статистического анализа, на основе концентрации 44 аминокислот и их производных в крови беременных с ЗРП, было установлено, что 17 аминокислот значительно отличались от контрольной группы. Это следующие аминокислоты и их производные: цистеиновая кислота (CA), глутатион (GSH), аспарагин (Asn), гистидин (His), гомосерин (Hse), 3-

метилгистидин (3MHis), цитруллин (Ctr), ансерин (Ans), карнозин (Car), α -аминомасляная кислота (α ABA), β -аминомасляная кислота (β ABA), γ -аминомасляная кислота (GABA), этаноламин (EA), метионин (Met), триптофан (Trp), оксилизин (HLys), орнитин (Orn). Данные аминокислоты могут служить потенциальными маркерами для диагностики ЗРП.

Для выявления биомаркеров с высокой чувствительностью и специфичностью, ассоциированных с ЗРП, использована множественная логистическая регрессия. Этот метод дает мощный инструмент для анализа и интерпретации взаимосвязей между переменными, не требует нормального распределения предикторов, позволяет анализировать сложные зависимости. На основании регрессионной модели получен диагностический индекс ЗРП.

Диагностический индекс вычисляем по формуле (1):

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

где,

p – диагностический индекс;

$z = b_0 + b_1 \times [\text{Met}] + b_2 \times [\text{Ile}] + b_3 \times [\text{Leu}]$;

$b_0 = 1,69$; $b_1 = -0,101$; $b_2 = 0,048$; $b_3 = -0,0167$;

$[\text{Met}]$ = концентрация метионина, (мкмоль/л);

$[\text{Ile}]$ = концентрация изолейцина, (мкмоль/л);

$[\text{Leu}]$ = концентрация лейцина, (мкмоль/л);

e – основание натурального логарифма ($e = 2,718$)

и при расчетном значении p более 0,643 диагностируют задержку роста плода.

Точность диагностики ЗРП предложенным способом составляет 74,2%, чувствительность – 68,4%, специфичность – 83,1%.

Пример 1. Пациентка К., 24 года, срок гестации – 32 недели, вторая беременность. Первая беременность завершилась рождением доношенного ребенка. На сроке 28–29 недель у пациентки отмечалась острая респираторная инфекция, сопровождавшаяся гипертермией до 38 °С. После проведения симптоматической терапии было выполнено плановое ультразвуковое исследование (УЗИ), результаты которого на сроке 30 недель и 5 дней не выявили отклонений в развитии плода. Уровни аминокислот в плазме составили: метионин — 32,5 мкмоль/л, изолейцин — 142,5 мкмоль/л, лейцин — 194,5 мкмоль/л. Расчет диагностического индекса показал значение $p = 0,881$, что позволило предположить наличие задержки роста плода (ЗРП). На сроке 34–35 недель при проведении повторного УЗИ был подтвержден диагноз ЗРП. Пациентка была госпитализирована, проведена терапия, направленная на улучшение маточно-плацентарного кровотока. Беременность завершилась самопроизвольными родами на сроке 38–39 недель. Родилась девочка с массой тела 2600 г, длиной 49 см, оценка по шкале Апгар – 8/8.

Пример 2. Пациентка П., 34 года, срок гестации – 33 недели, третья беременность. Первая беременность завершилась рождением доношенного ребенка, вторая – медицинским абортom. Женщина имела ожирение 1 степени.

При проведении УЗИ на сроке 31 неделя и 5 дней не выявлено нарушений в развитии плода. Уровни аминокислот составили: метионин — 46,9 мкмоль/л, изолейцин — 136,5 мкмоль/л, лейцин — 236,0 мкмоль/л. Расчет диагностического индекса показал значение $p = 0,393$, что позволило исключить наличие ЗРП. При ультразвуковом исследовании на сроке 35 недель также не было выявлено признаков задержки роста плода. Беременность завершилась самопроизвольными родами на 39 неделе гестации. Родилась девочка с массой тела 3200 г, длиной 52 см, оценка по шкале Апгар – 8/9.

Выводы. Метод диагностики ЗРП, основанный на определении концентрации метионина, изолейцина и лейцина в крови с расчетом диагностического индекса, является эффективным и практичным инструментом для диагностики этого состояния. Его внедрение в клиническую практику позволит повысить эффективность диагностики ЗРП, улучшить качество медицинской помощи беременным женщинам и снизить риск неблагоприятных перинатальных и долгосрочных исходов у ребенка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure / S.J. Gordijn, I.M. Beune, B.Thilaganathan, A. Papageorgiou, A.A. Baschat, P.N. Baker et al. *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2016. – №48(3). – P. 333-339. <https://doi.org/10.1002/uog.15884>.
2. Петров, Ю.А. Фетальное программирование – способ предупреждения заболеваний во взрослом возрасте / Ю.А. Петров, А.Д. Купина // *Медицинский совет.* – 2020. – №13. – С. 50-56.
3. Puchades-Carrasco, L. Metabolomics Applications in Precision Medicine: An Oncological Perspective / L. Puchades-Carrasco, A Pineda-Lucena // *Current Topics in Medicinal Chemistry.* – 2017. – №17(24). – P. 2740-2751. doi: 10.2174/1568026617666170707120034.

РОЛЬ ТРОМБОФИЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В РАЗВИТИИ АКУШЕРСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ЖЕНЩИН С ОТЯГОЩЁННЫМ АНАМНЕЗОМ

Ганчар Е.П.¹, Зверко В.Л.², Добрук Е.Е.², Иоскевич А.А.²

¹Гродненский государственный медицинский университет

²Гродненский областной клинический перинатальный центр,
Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Акушерские осложнения, такие как привычное невынашивание беременности, преэклампсия, задержка роста плода, преждевременные роды и тромботические события, представляют собой наиболее сложные и многогранные проблемы современного акушерства и гинекологии. Эти состояния не только снижают репродуктивный потенциал женщин, но и оказывают значительное влияние на их физическое и психоэмоциональное здоровье. В последние десятилетия особое внимание

исследователей привлекает роль нарушений системы гемостаза в патогенезе акушерских осложнений [1]. Тромбофилия, обусловленная генетическими или приобретёнными дефектами системы свёртывания крови, рассматривается как один из ключевых факторов, способствующих развитию микротромбозов в плацентарном ложе, нарушению плацентарной функции и, как следствие, неблагоприятным исходам беременности. К наиболее значимым формам тромбофилии относятся дефицит естественных антикоагулянтов (протеина S, протеина C, антитромбина III) и наличие антифосфолипидных антител, которые ассоциируются с развитием антифосфолипидного синдрома (АФС). Протеин S, протеин C и антитромбин III играют значимую роль в регуляции системы гемостаза, обеспечивая контроль над процессами тромбообразования. Дефицит этих факторов создаёт предпосылки для гиперкоагуляции и повышает риск тромботических осложнений. Антифосфолипидные антитела, в свою очередь, вызывают активацию эндотелия, нарушение функции трофобласта и провоцируют развитие воспалительных и тромботических процессов в плаценте [2, 3].

Несмотря на значительный прогресс в понимании патогенеза тромбофилии, многие аспекты её влияния на течение беременности остаются недостаточно изученными. В частности, требуется уточнение распространённости различных форм тромбофилии у женщин с отягощённым акушерским анамнезом, а также оценка их вклада в развитие специфических осложнений, таких как привычное невынашивание, неразвивающаяся беременность и преждевременные роды.

Цель. Оценить частоту и структуру тромбофилических нарушений (дефицит протеина S, протеина C, антитромбина III, наличие антифосфолипидных антител) у женщин с отягощённым акушерским анамнезом и определить их связь с развитием акушерских осложнений.

Материалы и методы исследования. Обследовано 727 женщин с отягощённым акушерским анамнезом. Показания для обследования включали: привычное невынашивание беременности (два и более последовательных случая прерывания до 10 недель); неразвивающаяся беременность свыше 10 недель с нормальным морфологически сохранным плодом; преждевременные роды до 34 недель с тяжелой преэклампсией или фетоплацентарной недостаточностью; тромбозы артерий, вен или мелких сосудов. Проводилось исследование уровня протеина S, протеина C, антитромбина III, антифосфолипидных антител (IgM, IgG к кардиолипинам и β 2-гликопротеину-1). Параметры тромбофилического скрининга определяли на автоматическом анализаторе гемостаза ACL Elite Pro (США).

Результаты и обсуждение. Средний возраст обследованных пациентов составил $31,7 \pm 1,5$ лет. Анамнестическая характеристика женщин представлена в таблице 1.

Таблица 1 - Структура акушерского анамнеза у обследованных пациентов

Параметр	Число обследованных, n=727	
	Абсолютное число	P±m, %
Привычное невынашивание беременности (два и более последовательных случая прерывания до 10 недель)	337	46,35±1,85
Неразвивающаяся беременность свыше 10 недель с нормальным морфологически сохранным плодом	205	28,20±1,67
Преждевременные роды до 34 недель с тяжелой преэклампсией в анамнезе	68	9,35±1,08
Преждевременные роды до 34 недель с фетоплацентраной недостаточностью в анамнезе	72	9,90±1,11
Тромбозы артерий, вен или мелких сосудов в анамнезе	45	6,19±0,89

Патологические нарушения гемостаза выявлены у 98 (13,48±1,27%) обследованных пациентов (рисунок 1).



Рисунок 1 – Структура тромбофилических нарушений у пациентов с отягощенным анамнезом

Наиболее часто тромбофилические нарушения ассоциировались с привычным невынашиванием беременности (46,35% случаев) и неразвивающейся беременностью (28,20% случаев). У женщин с преждевременными родами и тромботическими осложнениями в анамнезе преобладал дефицит антитромбина III и наличие антифосфолипидных антител.

Выводы. Тромбофилические нарушения, включая дефицит естественных антикоагулянтов и наличие антифосфолипидных антител, выявлены у 13,48% женщин с отягощённым акушерским анамнезом. Наиболее частыми формами

тромбофилии в исследуемой группе были дефицит протеина S (4,1%) и антитромбина III (3,8%), а также наличие антифосфолипидных антител (до 3,2%). Выявленные нарушения системы гемостаза ассоциируются с высоким риском привычного невынашивания беременности, неразвивающейся беременности. Результаты исследования подчеркивают необходимость включения тромбофилического скрининга в алгоритм обследования женщин с отягощённым акушерским анамнезом для своевременной диагностики и профилактики осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Момот, А.П. Проблема тромбофилии в клинической практике / А.П. Момот // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2015. – № 2 (1). – С. 36-48.
2. Современные подходы к лечению беременных с генетической предрасположенностью к тромбофилии: обзор литературы / Ш.А. Турсынбаева, В.И. Медведь, В.Н. Локшин, И.И. Тянь, Л.Г. Баймурзаева // Репродуктивная медицина. – 2023. – № 2 (55). – С. 60-65.
3. Шаталов, А.Е. Тромбофилия как фактор невынашивания беременности / А.Е. Шаталов, Ю.А. Петров // Здоровье и образование в XXI веке. – 2019. – №4. – С.63-67.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ НА УРОВЕНЬ ИНТЕРФЕРОНА–ГАММА В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ

*Гриневич Т.Н., Кот М.О., Анисим Р.А.¹, Юркевич Л.А.**

Гродненский государственный медицинский университет,

¹Гродненская университетская клиника, Гродно, Республика Беларусь

Коронавирусная инфекция SARS-CoV-2, вызвавшая глобальную пандемию, остается одним из наиболее изучаемых заболеваний современности. Согласно отчету, опубликованному Всемирной организацией здравоохранения 17 сентября 2024 года, общее число зарегистрированных случаев инфекции составило более 776 миллионов, а число смертей превысило 7 миллионов. Воздействие вируса охватывает все слои населения, включая наиболее уязвимые группы, такие как беременные женщины. Физиологические и иммунологические изменения, происходящие во время беременности, делают женщин особенно чувствительными к инфекциям, включая SARS-CoV-2, что может оказывать значительное влияние на течение беременности и перинатальные исходы.

Иммунная система играет решающую роль в поддержании здорового течения беременности. Интерфероны (IFN), особенно интерферон гамма (IFN γ), являются ключевыми компонентами иммунного ответа, регулируя процессы инвазии трофобласта, межклеточные взаимодействия и воспалительные реакции. SARS-CoV-2 способен воздействовать на иммунные механизмы,

изменяя их обычное функционирование, что может приводить к непредсказуемым последствиям, особенно у беременных женщин. Учитывая способность вируса влиять на общие и локальные иммунные реакции, возникает необходимость изучения его влияния на ключевые цитокины, такие как IFN γ и TNF- α [1].

Физиологические изменения, происходящие в организме беременной женщины, включая адаптацию дыхательной системы и фетоплацентарные иммунные механизмы, могут увеличивать риск тяжелого течения инфекции COVID-19. Однако не всегда симптомы проявляются явно: у значительной части беременных заболевание может протекать в бессимптомной форме, что усложняет диагностику и клиническое наблюдение. При этом клинические последствия для матери и плода варьируются в зависимости от характера течения инфекции.

Исследование, посвященное оценке уровня IFN γ и TNF- α в сыворотке крови у беременных женщин с подтвержденной коронавирусной инфекцией SARS-CoV-2, направлено на углубленное понимание воздействия вируса на иммунные реакции и акушерские исходы. Особое внимание уделяется женщинам на поздних сроках беременности, так как этот период характеризуется максимальной нагрузкой на организм и особенностями иммунологической адаптации.

Целью настоящего исследования было оценить уровень IFN- γ и TNF- α в сыворотке крови у беременных женщин инфекцией SARS-CoV-2 на поздних сроках беременности.

Материалы и методы. В исследование были включены 60 беременных женщин в сроке гестации от 26 до 41 недели: 25 пациенток с подтвержденным диагнозом COVID-19 (основная группа) и 35 женщин без коронавирусной инфекции (контрольная группа). Диагноз SARS-CoV-2 подтверждался положительными результатами ПЦР-анализа мазка из носоглотки и/или наличием антител IgM к вирусу.

Количественное определение IFN- γ , TNF- α у беременных проводили методом иммуноферментного анализа (ELISA) с человеческими антителами к интерферону гамма и фактору некроза опухолей альфа (FineTest, Корея) в соответствии с инструкциями производителя.

Результаты и обсуждение. У большинства пациенток основной когорты (84,6%) инфекция протекала бессимптомно, а в остальных случаях инфекция была классифицирована как легкая форма. Основными проявлениями инфекции были гипертермия (75,2%), аносмия (66,9%), заложенность носа (31,2%), боль в горле (21,1%) и слабость (28,6%).

Анализ беременности и паритета родов продемонстрировал снижение среднего срока родоразрешения среди женщин, инфицированных SARS-CoV-2 по сравнению с контрольной группой. Кроме того, частота преждевременных родов, экстренных кесаревых сечений и самопроизвольных прерываний беременности была достоверно выше среди пациенток основной группы ($p < 0.05$).

В структуре экстрагенитальной патологии у женщин основной группы преобладали заболевания органов дыхания и мочеполовой системы. В числе других распространенных заболеваний преобладали патология щитовидной железы и сахарный диабет, которые встречались чаще других эндокринных нарушений. Антропометрические данные и оценка новорожденных по шкале Апгар не выявили статистически значимых различий между группами. Однако следует отметить, что среди новорожденных основной группы было зарегистрировано шесть случаев крупного плода и один случай преждевременных родов.

Исследование показало, что у беременных женщин, инфицированных вирусом SARS-CoV-2, уровень гемоглобина был выше по сравнению с контрольной группой (табл. 1). И наоборот, уровень СОЭ был повышен у лиц, не инфицированных вирусом SARS-CoV-2 ($p = 0,004$). Кроме того, тенденция к достоверности наблюдалась для уровня СРБ ($p = 0,088$), который был выше у беременных с SARS-CoV-2-инфекцией по сравнению с контрольной группой.

Таблица 1 – Уровень исследуемых показателей у беременных женщин с инфекцией COVID-19 и контрольной группы, М (Q25-Q75)

Параметр	Основная группа	Контрольная группа	p
Уровень IFN γ (пг/мл)	104,48 (19,0-112,45)	71,91 (13,6-57,2)	> 0,05
Уровень TNF- α (пг/мл)	133,43 (21,0-123,6)	126,6 (26,5-101,0)	> 0,05
Гемоглобин, г/л	122,3 (110,5 - 134,0)	114,57 (107 - 121)	0,032
СОЭ, мм/час	23,01 (16,0 - 29,5)	33,28 (24,0 - 48,0)	0,004
С-реактивный белок, мг/л	40,68 (0 - 83,3)	7,75 (0 - 13,0)	0,088

Повышение уровня гемоглобина у инфицированных женщин может свидетельствовать об адаптивных изменениях в организме во время инфекционного процесса. Однако более низкий уровень СОЭ в основной группе требует дальнейшего изучения для уточнения его клинического значения.

Уровни интерферона гамма (IFN γ) и тканевого фактора некроза опухоли альфа (TNF- α) в крови беременных не демонстрировали достоверных различий между инфицированными и неинфицированными группами (табл. 2). Аналогичная тенденция отмечалась при сравнении уровней этих цитокинов у женщин с клиническими проявлениями SARS-CoV-2 и бессимптомным течением инфекции.

Стабильный уровень IFN γ и TNF- α у беременных на поздних сроках беременности может быть связан с особенностями механизма иммунной адаптации. В период беременности организм матери подвергается сложным перестройкам иммунной системы, направленным на обеспечение защиты от внешних патогенов при одновременном сохранении толерантности к полуаллогенному плоду.

IFN γ и TNF- α играют ключевую роль в регуляции клеточного противовирусного ответа и активации иммунных клеток, таких как макрофаги и NK-клетки. Однако во время беременности его функции могут быть

подвержены строгой регуляции, чтобы избежать избыточных воспалительных реакций, которые способны негативно влиять на процессы плацентарного развития и здоровье плода. Это объясняет наблюдаемую стабильность уровня IFN γ и TNF- α даже при наличии вирусной инфекции SARS-CoV-2.

Кроме того, наличие вирусной нагрузки в сочетании с физиологическими изменениями может стимулировать альтернативные иммунные механизмы компенсации, такие как баланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Такой адаптивный процесс позволяет минимизировать риск развития гипервоспаления и поддерживать гомеостаз на фоне инфекции.

Выводы. Уровни интерферона гамма и тканевого фактора некроза опухоли альфа у беременных женщин с SARS-CoV-2 не показали значимых различий по сравнению с контрольной группой. Это может свидетельствовать о механизмах иммунной адаптации в условиях вирусной нагрузки, способствующих поддержанию баланса между воспалительными и противовоспалительными реакциями и предотвращающих чрезмерные иммунные ответы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tanacan, A. The impact of COVID-19 infection on the cytokine profile of pregnant women: A prospective case-control study / A. Tanacan [et al.] // Cytokine. – 2021. – Vol. 140. – P. 155431.

ОЦЕНКА УРОВНЯ БИЛИРУБИНА КРОВИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

Гриневич Т.Н., Кот М.О.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Гемолитическая болезнь плода характеризуется разрушением (гемолизом) резус-положительных эритроцитов плода под воздействием материнских антител, проникающих в его кровотоки через плацентарный барьер. Данное состояние проявляется уже на внутриутробной стадии и обусловлено наследованием плодом резус-фактора от отца. Попадание антигенов плода в материнский кровоток является фактором, способствующим выработке антирезусных антител, часть из которых вызывает повреждение эритроцитов плода, что проявляется развитием анемии.

Кроме того, несовместимость крови по группам крови (например, по системе АВ0) также может являться причиной развития гемолитической болезни новорождённого (АВ0-ГБН). Обычно АВ0-конфликт развивается при группе крови матери 0(I) и группе крови плода А(II) или В(III). Другие варианты иммунологического конфликта, по эритроцитарным антигенам Kell, Duffy, MNS, Kidd и др., встречаются значительно реже [1].

Гемолитическая болезнь новорожденных (ГБН) развивается только в результате взаимодействия крови матери и плода. Во время беременности плацентарный барьер позволяет проникнуть лишь незначительному количеству эритроцитов плода в организм матери, что недостаточно для запуска процесса формирования антител. Однако при родах, выкидышах или осложнённой беременности объем эритроцитов, поступающих в кровь матери, значительно возрастает, что вызывает выработку антител класса IgM. Эти антитела появляются почти сразу после контакта с резус-положительной кровью плода и обеспечивают временный иммунный ответ, но не способны проникнуть через плаценту. Со временем антитела IgM трансформируются в IgG, которые появляются спустя три месяца после начала контакта с резус-положительной кровью и формируют долгосрочный иммунитет. Антитела класса IgG обладают способностью проходить через плацентарный барьер, что объясняет, почему первый ребенок не подвергается риску: контакт крови матери и плода в значимых объёмах происходит в последние месяцы беременности, когда IgG ещё не образовались.

Первичная иммунная реакция на эритроциты плода при первой беременности обычно не имеет патологических последствий. Резус-конфликт чаще возникает при последующих беременностях из-за наличия антител IgG, которые могут атаковать эритроциты плода. С каждой последующей беременностью вероятность и степень выраженности гемолитической болезни увеличиваются, достигая 63% у детей женщин с сенсибилизацией [1].

Целью работы является оценка уровня билирубина в крови у новорожденных, страдающих гемолитической болезнью.

Материал и методы. Проанализировано 50 медицинских карт стационарного больного (форма 003/у): из них 25 карт детей с установленным диагнозом гемолитическая болезнь новорожденных и 25 карт соматически здоровых новорожденных. Дети с диагнозом ГБН были условно разделены на 3 группы по уровню гемоглобина и билирубина в пуповинной крови: легкая, средняя и тяжелая форма.

Учитывались следующие показатели: пол, акушерско-гинекологический анамнез матери, вид изоиммунизации (ABO или Rh), срок появления желтушности кожных покровов, неврологический статус, клиническая форма и степень тяжести заболевания, лабораторные данные, принципы лечения, длительность пребывания в стационаре.

Биохимическое исследование сыворотки крови включало определение уровня общего белка, глюкозы, общего билирубина и его фракций.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q). Результаты статистической обработки представлены в виде величины среднего значения со стандартным отклонением ($M \pm \sigma$). Значения, соответствующие $p < 0,05$, считались статистически значимыми, что подтверждает наличие достоверных различий в анализируемых данных.

Результаты и обсуждение. Показатели биохимического анализа крови анализировались в динамике: на протяжении первых суток, затем на 2–3 сутки,

4–6 сутки и после 6 суток. Интерпретация значений проводилась с учётом постнатального возраста новорождённого. В таблице 1 представлен сравнительный анализ уровня общего билирубина и его фракций (непрямого и прямого билирубина) в группе условно здоровых новорождённых и в группе новорождённых с диагнозом ГБН.

Таблица 1 - Сравнительный анализ уровня общего билирубина и его фракций в группе условно здоровых новорожденных и группе новорожденных с диагнозом ГБН

Показатели	Условно здоровые				С установленным диагнозом			
	1–ые сутки	2–3–е сутки	4–6–е сутки	старше 6 сут.	1–ые сутки	2–3–е сутки	4–6–е сутки	старше 6 сут.
Общий билирубин, мкмоль/л	20,15 ±0,25	59,72 ±1,88	49,10 ±2,64	23,23 ±3,37	83,18 ±1,09*	201,44 ±2,9*	114,07 ±2,87*	70,13 ±2,90*
Непрямой билирубин (мкмоль/л)	16,25 ±2,5	42,56 ±2,91	38,02 ±4,85	18,14 ±3,30	74,25 ±7,21	175,29 ±11,5	75,48 ±7,14	67,04 ±6,34
Прямой билирубин (мкмоль/л)	2,19 ±0,19	4,30 ±0,26	2,68 ±0,46	1,5 ±0,25	4,18 ±4,3	15,15 ±5,35	8,69 ±2,46	8,02 ±3,58

Примечание * – $p < 0.05$ по отношению к группе условно здоровых

Уровень общего билирубина, измеренный в первые сутки жизни, используется как базовый показатель для выявления ГБН. В группе новорождённых с ГБН среднее значение общего билирубина составило $83,18 \pm 1,09$ мкмоль/л, что превысило пороговый уровень 51 мкмоль/л, при котором показана фототерапия и дальнейшее наблюдение за ребенком. Для сравнения, в группе условно здоровых детей показатель общего билирубина не превышал референтных значений и составил $20,15 \pm 0,25$ мкмоль/л.

Максимальный уровень общего билирубина в обеих группах наблюдался на 2–3 сутки. У новорождённых с ГБН он достигал $201,44 \pm 2,9$ мкмоль/л, тогда как в группе условно здоровых детей составлял $52,00 \pm 2,64$ мкмоль/л. На 4–6 сутки уровень общего билирубина снижался в обеих группах, составив $70,13 \pm 2,90$ мкмоль/л у детей с ГБН и $23,23 \pm 3,37$ мкмоль/л в группе контроля.

Несмотря на сходство в общей динамике, значения общего билирубина в группе ГБН оставались достоверно выше ($p < 0,05$).

Для ГБН характерно значительное повышение общего билирубина за счёт непрямой фракции [1]. Именно непрямой (неконъюгированный) билирубин играет ключевую роль при билирубиновой энцефалопатии. Он является токсичным для нервной системы, так как он способен проникать через гематоэнцефалический барьер и накапливаться в тканях головного мозга, что может привести к развитию ядерной желтухи.

У новорождённых с ГБН уровень непрямого билирубина уже в первые сутки составлял $74,25 \pm 7,21$ мкмоль/л (89,3% от общего билирубина) и увеличивался почти вдвое к 2–3 суткам ($175,29 \pm 11,5$ мкмоль/л), потенциально

влияя на состояние внутренних органов и головного мозга. В группе условно здоровых новорождённых максимальный уровень непрямого билирубина ($42,56 \pm 2,91$ мкмоль/л) наблюдался на 2–3 сутки, а к 6 суткам он снижался до $8,14 \pm 3,30$ мкмоль/л.

Прямой билирубин образуется в печени в результате связывания непрямого билирубина с глюкуроновой кислотой и поступает с желчью в кишечник. Изменения уровня прямого билирубина в группе детей с ГБН были менее выраженными. Максимальный уровень прямого билирубина ($11,15 \pm 3,35$ мкмоль/л) отмечался на 2–3 сутки, не достигая критических значений. В то же время у условно здоровых новорождённых значения прямого билирубина соответствовали нормальным значениям.

Выводы. Повышенный уровень общего билирубина в первые дни жизни используется для диагностики ГБН. Регулярный мониторинг уровня билирубина у новорожденных из группы риска определяет необходимость фототерапии. Максимальный уровень общего билирубина у новорожденных с ГБН наблюдается на 2–3-й день жизни. Непрямой билирубин, как основной фактор билирубиновой энцефалопатии, достигает критически высоких значений, удваиваясь к 2–3 дню, что может привести к ядерной желтухе. Уровень прямого билирубина изменяется в меньшей степени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдуллаева, Г. Д. Современные вопросы гемолитической болезни новорожденных. Факторы риска и клинические варианты (Обзор литературы) / Г. Д. Абдуллаева // Международный журнал научной педиатрии. – 2024. – Т. 2, № 12. – С. 412–421.

РОЛЬ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ ТЕСТИРОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ТУБЕРКУЛЕЗОМ И КОМОРБИДНОЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

*Климук Д.А., Калечиц О.М., Глинская Т.Н., Шпаковская Н.С.,
Бобрукевич Е.Л., Белько А.Ф.*

*Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии,
Минск, Беларусь*

Актуальность. В Беларуси в последнее десятилетие, благодаря реализации противотуберкулезных мероприятий в рамках подпрограмм «Туберкулез» на 2016-2020 годы и «Противодействие распространению туберкулеза» на 2021-2025 годы государственных программ «Здоровье народа и демографическая безопасность Республики Беларусь» на 2016-2020 годы и «Здоровье народа и демографическая безопасность» на 2021-2025 годы, наблюдается стойкая тенденция к снижению основных эпидемиологических показателей [3]. Так, за период 2015-2024 гг. заболеваемость туберкулезом снизилась на 65,1% и составила $11,4 \pm 0,4$ на 100 тыс. населения, смертность от туберкулеза – на 80,0% и составила $0,81 \pm 0,1$ на 100 тыс.

Несмотря на достигнутые успехи, по-прежнему, остается медицинская и медико-социальная значимость диагностики и лечения этого инфекционного заболевания, направленная на сокращение сроков установления диагноза и раннее начало противотуберкулезной терапии. В решении данной проблемы существенная роль отводится научным достижениям в области клинической и фундаментальной биологии и иммунологии, учитывая патоморфоз туберкулеза, характер нарушений в организме при специфическом (туберкулезном) процессе, взаимосвязь коморбидных состояний при инфекционной патологии легких. Решающее значение в повышении эффективности лечения пациентов с множественно лекарственно-устойчивым туберкулезом (МЛУ-ТБ) имеет ранняя диагностика заболевания и определение спектра лекарственной устойчивости возбудителя к препаратам первого и второго ряда с помощью быстрых бактериологического (Bactec MGIT 960) и молекулярно-генетических (LPA, Gene Xpert MTB/Rif) методов. Используя быстрые методы лабораторной диагностики становится возможным получить результаты по тестированию лекарственной чувствительности МБТ в течение 5-6 дней вместо 1-2 мес. при традиционных культуральных методах исследования [2].

Цель. Установить роль лабораторных методов исследования в диагностике туберкулеза и коморбидной инфекционной патологии легких.

Материалы и методы исследования. На основе официальных статистических данных ведомственных отчетов, мониторинга и оценки республиканского регистра «Туберкулез» проанализированы результаты тестирования быстрыми молекулярно-генетическими методами пациентов с туберкулезом (новые случаи, рецидивы, другие случаи повторного лечения) за 2019, 2020 и 2024 годы. У 96 пациентов с сочетанным туберкулезом легких и вирусной инфекцией COVID-19 выполнено биохимическое исследование крови. Статистически обработка результатов исследования проводилась с помощью пакета статистических программ Statistica 10.0.

Результаты и обсуждение. Нами проанализирован показатель частоты (%) тестирования пациентов с различными формами туберкулеза быстрыми молекулярно-генетическими методами в 2019г. (до пандемии COVID-19), в 2020г. (пандемия COVID-19) и в 2024г. (после пандемии).

Анализ указанного показателя проведен в трех группах пациентов:

группа 1 – новые случаи туберкулеза;

группа 2 – рецидивы туберкулеза;

группа 3 – другие случаи повторного лечения туберкулеза.

Из общего числа подлежащих обследованию пациентов (5133 чел.) с туберкулезом легких было 4872 (94,9%) чел., в том числе с МБТ(+) скопически – 3250 (66,7%) и МБТ(-) скопически – 1622 (33,3%), с туберкулезом плевры и внутригрудных лимфоузлов – 97 (1,9%) и внелегочным туберкулезом – 164 (3,2%) чел.

В 2019г. обследовано молекулярно-генетическими методами 2177 пациентов из 2273 чел., подлежащих обследованию, из них в группе 1 – 1684 и 1751, в группе 2 – 418 и 439, в группе 3 – 75 и 83 чел. соответственно. В 2020г. обследовано 1478 пациентов из 1574 чел., подлежащих обследованию, из них в

группе 1 – 1121 и 1165, в группе 2 – 283 и 326, в группе 3 – 74 и 83 чел. соответственно. В 2024 г. обследовано 1255 пациентов из 1286 чел., подлежащих обследованию, из них в группе 1 – 1015 и 1044, в группе 2 – 207 и 208, в группе 3 – 33 и 34 чел. соответственно.

В 2024г. отмечается рост удельного веса пациентов с туберкулезом, обследованных быстрыми молекулярно-генетическими методами с целью выявления возбудителя и определения спектра лекарственной устойчивости / чувствительности, по отношению к доковидному периоду (2019г.) с 95,8% до 97,6% ($p<0,01$), из них у пациентов в группе 1 – с 96,2% до 97,2% ($p>0,05$), в группе 2 – с 95,2% до 99,5% ($p<0,001$), в группе 3 – с 90,4% до 97,1% ($p>0,05$). Во время пандемии COVID-19 (2020г.) отмечалось снижение анализируемого показателя до 93,8% по отношению к 2019г. ($p<0,01$): у пациентов в группе 2 – до 86,5% ($p<0,001$), в группе 3 – до 89,2% ($p>0,05$) и стабилизация показателя в группе 1 – 96,2% ($p>0,05$).

Как показывают результаты проведенного исследования, молекулярно-генетическое тестирование пациентов с впервые установленным диагнозом туберкулеза и в случаях повторного лечения реализуется в недостаточной степени, что снижает эффективность химиотерапии, приводя в ряде случаев к прогрессированию специфического процесса, а порой и к летальному исходу.

В последнее десятилетие продолжает уделяться серьезное внимание диагностике и лечению коморбидной патологии туберкулеза в сочетании с другими инфекционными заболеваниями (ВИЧ/СПИД, хронический вирусный гепатит С). Во время коронавирусной пандемии COVID-19 возникла проблема сочетанного заболевания туберкулезом (ТБ) и COVID-19 и, прежде всего, диагностики ко-инфекции при одновременном поражении вирусом SARS-CoV-2 и туберкулезом легких. Удельный вес ТБ/COVID-19 в Республике Беларусь в общей эпидемиологии туберкулеза, по нашим данным, составляет 7,4%.

Результаты проспективного наблюдения в период 2021-2023гг. в стационарных условиях 96 пациентов с лабораторным подтверждением диагноза коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2, показывает, что высокая вероятность выявления туберкулеза у пациентов с COVID-19 наблюдается в возрастных группах 35-44 года (отношение рисков (ОР) 2,9091 (1,5619-5,4184)) и 44-54 года (ОР 1,0909 (0,7473-1,5925)), принадлежности к мужскому полу (ОР 2,8400 (1,9866-4,0601)), а также наличия сахарного диабета в анамнезе (ОР 2,0182 (1,0657-3,8219)). Рентгенологическими признаками туберкулеза у пациентов с COVID-19 в этих возрастных группах являлись двусторонние поражения долей легких в пределах 30-49% и 50-69%.

При исследовании крови у 78 (81,3%) из 96 пациентов в период острого течения ко-инфекции ТБ/COVID-19 получен высокий уровень биохимического показателя С-реактивного белка в пределах 16-49,0 мг/л, что нехарактерно для пациентов с COVID-19, у которых уровень С-реактивного белка находится в пределах 17,9-19,5 мг/л [1], различия статистически достоверны ($p<0,001$). Из 96 пациентов с ТБ/COVID-19 у 31 (32,3%) чел. выявлена множественная лекарственная устойчивость возбудителя, что указывает на позднюю диагностику туберкулеза у пациентов с COVID-19.

Выводы. 1. Тестирование пациентов с туберкулезом быстрыми молекулярно-генетическими методами проводится в 97,6% по отношению к числу зарегистрированных и подлежащих исследованию пациентов, в том числе новые случаи туберкулеза – в 97,2%, рецидивы заболевания – в 99,5% и другие случаи повторного лечения – в 97,1%.

2. Биохимический показатель С-реактивного белка на уровне 16,0-49,0 мг/л у пациентов мужского пола в возрасте 35-54 лет с вирусной инфекцией COVID-19 в сочетании с двусторонним поражением долей легких в пределах 30-69% и с наличием сахарного диабета в анамнезе может служить диагностическим предиктором наличия туберкулеза легких у пациентов с COVID-19.

ЛИТЕРАТУРА

1. Динамика биохимических показателей у пациентов, перенесших COVID-19, спустя год и более после госпитализации в зависимости от наличия постковидной астении / Я. Д. Белоусова [и др.] // Журнал инфектологии. – Приложение 1. – 2024. – Т. 16, № 3. – С. 23-24.

2. Оценка клинико-экономической эффективности нового алгоритма и комплексного метода лабораторной диагностики рифампицин-устойчивого туберкулеза (МЛУ/ШЛУ-ТБ) / Л.К. Суркова [и др.] // Рецепт. Приложение : сб. науч. тр. Первого съезда фтизиатров и пульмонологов РБ «Современные направления развития респираторной медицины и фтизиатрии», г. Минск, 17–18 мая 2018 г. – Минск, 2018. – С. 136-142.

3. Туберкулез в Беларуси на рубеже XX-XXI вв. и в первой четверти XXI в.: эпидемиология, проблема, задачи / О. М. Калечиц [и др.] // Здоровоохранение. – 2024. – № 11(932). – С. 18-27.

КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОЯВЛЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО ПАНКРЕАТИТА У ЛИЦ СРЕДНЕГО ВОЗРАСТА

*Колоцей В.Н.¹, Климович И.И.¹, Страпко В.П.¹, Артюх Д.И.¹,
Юркевич С.В.².*

¹Гродненский государственный медицинский университет

²Гродненская клиническая больница скорой медицинской помощи,
Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Полиэтиологичность развития и многогранность этиопатогенеза хронического рецидивирующего панкреатита (ХРП) констатирует тот факт, что типичные клинические проявления и точные биохимические изменения в крови до сих пор не выяснены [1]. Причины боли при ХРП многофакторны, и их биохимия, и патофизиология до конца не расшифрованы. Боль может быть обусловлена изменениями как структуры поджелудочной железы, так и невропатической природы [1,2].

Цель. Выяснить особенности клиники, биохимических изменений в крови и дополнительных методов исследования при ХРП для диагностики и оценки лечения.

Материалы и методы исследования. Нами ретроспективно изучены основные клинические, лабораторные и дополнительные методы исследования, которые применялись с целью диагностики и в процессе лечения у 89 пациентов среднего возраста с ХРП, которые находились на лечении в хирургическом отделении БСМП г. Гродно в 2022-2023 г. Мужчин было 57 (64,0%), женщин 32 (36,0%).

У всех пациентов при поступлении и в процессе лечения определяли показатели общего анализа крови, мочи и основных ферментов поджелудочной железы (амилазы, липазы, диастазы). Биохимический анализ крови включал также: исследование уровня общего белка, билирубина и его фракций, активности трансфераз АСТ, АЛТ, концентрации мочевины, глюкозы, креатинина, С-реактивного белка, коагулограмму. Для определения альфа-амилазы (общей) применялся кинетический метод GNPG₃ - единицы измерения-Ед/л. Липаза определялась калориметрическим методом - единицы измерения - Ед/л и С-реактивный белок иммунотурбидиметрическим методом, единицы измерения - мг/л.

Дополнительные методы включали УЗИ органов гепатопанкреатодуоденальной зоны, которые выполняли всем 89(100%) пациентам с ХРП, фиброгастродуоденоскопия (ФГДС) произведена 89 (100%), компьютерная томография (КТ) выполнена у 23(25,8%) пациентов, магниторезонансная томография (МРТ) у 17(19,1%), диагностическая лапароскопия – у 2 (2,2%) пациентов.

Результаты и обсуждение. Клинически ХРП практически всегда проявлялся интенсивной болью в эпигастриальной области. Иррадиация боли в спину и поясничную область больше слева отмечена нами у 15(16,8%) пациента, опоясывающий характер боли отмечен у 13 (14,6%). Рвота, не приносящая облегчения, отмечена у 2 (2,2%) пациентов. Вздутие живота и диспепсические жалобы имели место у 16 (18,0%) пациентов. Средний койко-день лечения среди мужчин и женщин составил 10,7. Наибольшее количество пациентов были в возрасте от 55 до 59 лет (40,5%), в возрасте от 45 до 49 лет (29,2%) и от 50 до 54 (30,3%). Ожирение имело место у 6 (6,7%) пациентов у которых индекс массы тела (ИМТ) был $> 25 \text{ кг/м}^2$. Активность амилазы у этих пациентов составила $673 \pm 23,1 \text{ МЕ/л}$, а липазы $495 \pm 172,3 \text{ МЕ/л}$. ЖКБ была у 14 (15,7%) пациентов. Сахарный диабет наблюдался у 10 (11,2%) пациентов с ХРП. Среди всех пациентов страдали алкогольной зависимостью 7 (7,9%). Кисты поджелудочной железы определялись у 7 (7,9%) пациентов, при этом в области хвоста ПЖ у 5 пациентов, головки у 2 пациентов. Асцит имел место у 2 (2,2%), желтуха у 3(3,4%) пациентов. Оперировано 5 (5,6%) пациентов, средний койко-день составил 20. Умерло после операции 2 (40%), женщина 50 лет на 22 день после начала лечения и мужчина 45 лет на 18день у которых имел место панкреонекроз и сепсис. Уровень амилазы у оперированных пациентов составил $659 \pm 39,1 \text{ МЕ/л}$, а липазы $2495 \pm 31,1 \text{ МЕ/л}$. 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: гипопроteinемия 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. Клиническое выздоровление наступило после лечения у 8 (9%) пациентов. Выписаны с улучшением 78 (87,6%). Остальные 84 (94,4%) пациента получали консервативное лечение согласно протоколам лечения. В этой группе пациентов, получавших консервативное лечение, умер 1 (1,1%) пациент 59 лет на пятый день после поступления в стационар мужчина, страдавший хроническим алкоголизмом, заядлый курильщик у которого развился панкреонекроз, ферментативный перитонит, полисегментарная пневмония, двусторонний гидроторакс, сепсис, полиорганная недостаточность.

Выводы

1. Риск развития ХРП наблюдается значительно чаще у лиц при алкогольной зависимости и связан с метаболическими нарушениями.
2. Ожирение вне зависимости от этиологии ХРП позволяет предположить тяжелое течение заболевания с развитием системных и местных осложнений.
3. На фоне ХРП возможно развитие острого деструктивного панкреатита, что нельзя трактовать как обострение хронического панкреатита.

ЛИТЕРАТУРА

1. Колоцей, В. Н. Острый и хронический рецидивирующий панкреатит, осложнившийся развитием психоза: диагностика, лечение, профилактика / В. Н. Колоцей, И. И. Климович, В. П. Страпко // Актуальные вопросы и современные подходы в оказании хирургической помощи в Республике Беларусь: сб. материалов Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием и XXVIII Пленума Правления Белорусской ассоциации хирургов. – Минск, 2021. – С. 181-182.
2. Разводовский, Ю. Е. Алкоголь как фактор гендерной разницы уровня общей смертности в Беларуси / Ю. Е. Разводовский, И. И. Климович // Донозоология - 2019. Проблемы диагностики и коррекции состояния здоровья при формировании здорового образа жизни: материалы четырнадцатой Евразийской научной конференции, посвященной 100-летию СПб ГБУЗ "Городская поликлиника № 14". – Санкт-Петербург, 2019.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ СЕЛЕНА В ЛЕЧЕНИИ АУТОИММУННОЙ ОФТАЛЬМОПАТИИ

Кринец Ж.М.¹, Наумов А.В.¹, Каленик Р.П.²

¹Гродненский государственный медицинский университет;

²Гродненская университетская клиника, Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Аутоиммунное офтальмопатия (АИО) характеризуется прогрессирующим иммуномедиаторным воспалением ретробульбарной клетчатки и экстраокулярных мышц. Тактика лечения заболевания определяется клинической активностью, тяжестью и продолжительностью. При легкой форме АИО спонтанное разрешение глазных проявлений наблюдается примерно у 20 % пациентов, поэтому стратегия выжидания и местного лечения с использованием слезозаменителей кажется допустимой. Однако небольшое число случаев (примерно 15 %) АИО может прогрессировать до тяжелых форм, что сопровождается значительным снижением качества жизни. Согласно клиническому протоколу «Диагностика и лечение пациентов с заболеваниями щитовидной железы (взрослое население)» для лечения АИО рекомендовано назначение селена 100 мкг 2 раза в день в течение 6 месяцев.

Селен является микроэлементом, который ферментативно встраивается в цитоплазме клетки в серил-тРНК (путём замены кислорода) и таким образом обеспечивает образование 21-ой протеиногенной аминокислоты – селеноцистеина (Sec) в составе тРНК^{Ser}. Если селенопротеины или сам селеноцистеин использовать в рационе в качестве источника селена, то аминокислота должна быть полностью разрушена, и только неорганический селен может участвовать в синтезе нового селеноцистеина для включения в селенопротеины. Аминокислота Sec встраивается в белки 25 семейств (селенопротеины), которые в основном представляют пероксидазы (глутатионпероксидазы, тиоредоксинредуктазы, йодтирониндейодиназы), и тем самым селен играет важную роль в антиоксидантной защите, иммунных процессах и регуляции синтеза гормонов щитовидной железы (трийодтиронина (Т3) и тироксина (Т4)) [1]. Считается, что недостаток данного микроэлемента нарушает выработку селенопротеинов, приводит к дисфункции щитовидной железы и способствует развитию и прогрессированию АИО [3].

Цель. Оценить влияние добавок селена на качество жизни и результат комплексного лечения пациентов с легкой формой АИО.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 42 пациента (38 (90,5%) женщин и 4 (9,5%) мужчин) с клиническими признаками АИО. Проведено комплексное офтальмологическое обследование пациентов, а также лабораторные исследования крови с целью выявления дисфункции щитовидной железы: определение сывороточной концентрации тиреотропного гормона (ТТГ), уровня тиреоидных гормонов (свободного Т4, свободного Т3), показателей антител к рецептору ТТГ (рТТГ). Концентрация селена в крови нами не определялась, полагаясь на опубликованные ранее исследования, где указано, что Республика Беларусь является регионом с дефицитом содержания

в организме данного микроэлемента [2]. Активность АИО определяли с помощью шкалы бальной оценки клинической активности CAS, согласно которой офтальмопатия считалась активной при значениях $CAS \geq 3$.

Для анализа качества жизни пациентов использовался опросник GO-QOL (GO-Quality-of-Life – качество жизни при офтальмопатии), предназначенный для оценки зрительных функций (8 вопросов относительно степени ограничения зрительных способностей и/или диплопии) и для оценки внешнего вида (8 вопросов о психологических проблемах, возникающих в связи с изменением внешности). Ответы оценивались в баллах: значительное ограничение соответствовало 1, незначительное ограничение – 2, нет ограничения – 3. Суммарный результат мог варьировать от 0 до 100, чем лучше состояние пациента, тем больше балл [4]. Результаты исследования оценивались через 3 и 6 месяцев.

Результаты и их обсуждение. После офтальмологического и эндокринологического обследования, оценки лабораторных показателей и активности офтальмопатии (CAS) включенные в исследование 42 пациента рандомизированы в группу 1 (20 пациентов) и группу 2 (22 пациента). Все обследуемые получали консервативную терапию, назначенную врачом-эндокринологом согласно протоколам лечения дисфункции щитовидной железы. Пациентам группы 1 дополнительно назначался селен 100 мкг по 1 таблетке 2 раза в день в течение 6 месяцев. Влияние селена на прогноз (улучшение, без изменений и ухудшение) АИО оценивалось путем сравнения общего балла GO-QOL между группами 1 и 2. По гендерному признаку группа 1 состояла из 18 женщин и 2 мужчин; группа 2 – из 20 женщин и 2 мужчин. Возраст включенных в группу 1 варьировал от 20 до 66 лет, медиана составила 41 (28; 51) год, в группе 2 – от 22 до 65 лет, медиана – 43 (36; 55) года. Длительность заболевания щитовидной железой в группе 1 – от 1 до 41 месяца, в группе 2 – от 1 до 46 месяцев. Таким образом, группы сформированы однородными по возрасту, полу, получаемым антигипертензивными препаратами, функции щитовидной железы и результатам лабораторных исследований. Баллы CAS и GO-QOL также были сопоставимы.

Клинические проявления АИО отражены в таблице 1.

Таблица 1 – Клинические проявления АИО у пациентов групп 1 и 2

Клинический симптом	Группа 1 количество пациентов	Группа 2 количество пациентов
Боль при движении глазных яблок	12	11
Покраснение век	5	3
Слезотечение	14	13
Чувство инородного тела	17	15
Отек век	4	3
Инъекция конъюнктивы	2	2
Нарушение конвергенции	8	10

Через 3 месяца от начала наблюдения в группе 1 в сравнении с группой 2 жалобы на слезотечение, чувство инородного тела и инъекция конъюнктивы

значительно уменьшились и полностью исчезли к окончанию срока наблюдения. Показатель клинической активности (CAS) снизился у пациентов, получавших селен, в то время как у пациентов группы 2 положительная динамика наблюдалась только к 6 месяцу.

Анализ анкет GO-QOL, которые заполняли пациенты на момент начала исследования, показал, что у 67% из них имелось ограничение зрительных способностей во время катания на велосипеде (42,7%), вождения автомобиля (53,5%), чтения (66,5%), просмотра телепередач (61,1%) и ограничение повседневной жизни (61,4%). При оценке внешнего вида 63,5% обследуемых отметили психологические проблемы, возникающие в связи с изменением внешности: неуверенность в себе (51,7%), ограничение в приобретении друзей (61,5%), нежелание фотографироваться (69,2%). Более 50% пациентов имели общий балл QOL менее 60. Общий расчетный показатель качества жизни значительно увеличился в группе 1 через 3 месяца и через 6 – в группе 2 ($P < 0,05$).

При интерпретации результатов анализа сывороточной концентрации ТТГ, свободного Т4 и Т3 в группах 1 и 2 через 3, 6 месяцев достоверных различий не определено. Уровень антител к рТТГ нормализовался к 3 месяцу наблюдения у 18 пациентов группы 1 и у 15 – группы 2, к 6 месяцу положительная динамика отмечена у всех пациентов группы 1 и 19 пациентов группы 2.

Выводы. При легкой степени тяжести АИО назначение селена ускоряет нивелирование клинических симптомов со стороны глаз, снижает активность процесса, способствует нормализации уровня антител к рТТГ и улучшает качество жизни пациентов. Определение концентрации селена у пациентов с АИО позволит индивидуально рассчитать дозу и продолжительность приема жизненно важного микроэлемента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дудинская, Е. Н. Селен и нарушения функции щитовидной железы: от патофизиологии к терапевтическим возможностям / Е. Н. Дудинская // Клинический разбор в общей медицине. – 2024. – Т. 5, № 9. – С. 91-98.
2. Недостаточность селена у населения Беларуси: технологии предупреждения и коррекции / А. Мойсеёнок, Г. Альфтан, Е. Мойсеёнок [и др.] // Наука и инновации. – 2012. – № 11(117). – С. 62-67.
3. Selenium and selenoproteins in immune mediated thyroid disorders / L. R. Santos, C. Neves, M. Melo, P. Soares // Diagnostics. – 2018. – Vol. 8, № 4. – P. 70.
4. Wiersinga, W. M. Effects of Graves' ophthalmopathy on quality of life / W. M. Wiersinga, M. F. Prummel, C. B. Terwee // J Endocrinol Invest. – 2004. – Vol. 27, № 3. – P. 259-264.

ОЦЕНКА МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ И НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ПНЕВМОНИЙ

Леднёва И.О., Стойлик Н.И.,

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Пневмония по-прежнему остаётся одним из самых распространённых инфекционных заболеваний [1]. При диагностике пневмоний возникает вопрос о разграничении вирусной и бактериальной этиологии заболевания для решения вопроса о целесообразности назначения антимикробных препаратов, поскольку они обладают схожими симптомами [2]. В настоящее время для диагностики пневмоний разработано и используется множество биомаркеров воспаления [3]. Однако вопрос о том, могут ли плазменные биомаркеры воспаления дифференцировать бактериальную и вирусную инфекции у пациентов для определения потребности в антимикробной терапии, остается спорным.

Целью исследования было изучение биомаркеров воспаления и некоторых лабораторных показателей плазмы крови у пациентов с бактериальной, вирусной и COVID-ассоциированной пневмонией.

Материалы и методы исследования. Был проведен ретроспективный анализ амбулаторных карт 120 пациентов. Сформированы три группы: 1-я группа – 40 пациентов с диагнозом «бактериальная пневмония», 2-я группа – 40 пациентов с диагнозом «вирусная пневмония» и 3-я группа – 40 пациентов с диагнозом «COVID-ассоциированная пневмония». При поступлении пациентов в стационар в плазме крови оценивались уровни прокальцитонина, Д-димера, фибриногена, общего белка, С-реактивного белка, активность аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и СОЭ.

Уровень С-реактивного белка в сыворотке крови определяли иммунотурбодиметрическим методом на автоматическом коагулометре ACL-10000 и анализаторе Beckman Coulter серии AU-680 соответственно. Фибриноген определялся иммунотурбодиметрическим методом на автоматическом коагулометре ACL-10000. Для определения концентрации прокальцитонина использовался метод иммуноферментного анализа спектрофотометром TECAN Sunrise (Австрия). При анализе СОЭ применялся метод по Панченкову. Общий белок, аланинаминотрансфераза и аспартатаминотрансфераза определялись автоматическим гематологическим анализатором Sysmex XN-1500. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ SPSS 13 for Windows. Для сравнения полученных данных применялся параметрический дисперсионный анализ, множественное сравнение осуществлялось с использованием критерия Тьюки.

Результаты и обсуждение. Анализ плазмы крови на прокальцитонин является дополнительной информацией для ранней оценки риска или

исключения бактериальной инфекции у пациентов [2]. Было выявлено достоверное повышение уровня прокальцитонина у пациентов с бактериальной пневмонией (таблица 1). В меньшей степени данный показатель увеличивался у пациентов с вирусной и COVID-ассоциированной пневмониями.

Значительное повышение уровня фибриногена наблюдалось только в группе пациентов с бактериальной пневмонией. С-реактивный белок, который является «эталонным» биомаркером бактериального воспаления, значительно повышен у пациентов 1-й группы, в меньшей степени – у пациентов 3-й группы (таблица 1). При вирусной пневмонии содержание С-реактивного белка было достоверно ниже по сравнению с 1-й и 3-й группами и незначительно превышало референсные значения. Сывороточная концентрация Д-димера достоверно повышена у пациентов с COVID-ассоциированной пневмонией, что может указывать на высокую вероятность развития у этого контингента пациентов тромбозов. Значительное повышение СОЭ наблюдалось во всех исследуемых группах, но наибольшее превышение данного показателя по сравнению с референсными значениями было зафиксировано в группе пациентов с бактериальной пневмонией. Одновременно исследуемый показатель в группе пациентов с вирусной пневмонией ниже, чем в 1-й и 3-й группах.

Таблица 1 – Уровни биомаркеров воспаления, общего белка и активность АлАТ, АсАТ у пациентов с различными типами пневмоний

Показатель	Контроль	Бактериальная пневмония	Вирусная пневмония	COVID-ассоциированная пневмония
Прокальцитонин, нг/мл	0,079±0,01	2,57±0,65*†	0,567±0,09‡	0,871±0,345
Фибриноген, г/л	3,43±0,25	21,3 ± 1,7*	4,05 ± 0,292	6,93 ± 0,506
С-реактивный белок, мг/л	4,21±0,55	128 ± 18,9*†	12 ± 2,89†‡	57,7 ± 4,8*
Аланинаминотрансфераза, Ед/л	31,7±2,42	31,8 ± 4,16	29 ± 3,76	34,4 ± 3,25
Аспартатаминотрансфераза, Ед/л	30,5±1,76	38,2 ± 4,46	29,4 ± 3,05	48,1 ± 3,9*
Общий белок, г/л	75,4±2,17	64,8 ± 1,48*	71,3±0,986‡	68,1 ± 1,19*
Д-димер, нг/мл	402 ± 29,4	673 ± 131	498 ± 26,5	679 ± 53*
СОЭ, мм/ч	6,87±0,98	40,5±3,09*†	19,9±1,89*†‡	31,2 ± 2,36*

* – $P < 0,05$ по сравнению с контролем,

† – $P < 0,05$ по сравнению с COVID-ассоциированной пневмонией,

‡ – $P < 0,05$ по сравнению с бактериальной пневмонией.

Анализ изменений уровней в плазме крови, АлАТ, АсАТ не дает специфических данных для диагностики пневмоний. Незначительное повышение уровня аспартатаминотрансферазы наблюдалось в группе пациентов с COVID-ассоциированной пневмонией, что позволяет судить о развитии осложнений. Достоверное снижение общего белка наблюдалось в группах пациентов с бактериальной и COVID-ассоциированной пневмониями.

Наличие гипопроотеинемии можно объяснить участием белка в острой фазе воспалительного ответа и повышенной проницаемостью сосудов, а также возможным поражением печени и почек у пациентов.

Выводы. Сравнительный анализ биомаркеров воспаления в сыворотке крови позволяет разрабатывать подходы для дифференциальной диагностики пневмоний различной этиологии. При бактериальной пневмонии информативным является определение прокальцитонина, фибриногена, С-реактивного белка и СОЭ. Уровень прокальцитонина и СОЭ в меньшей степени повышается при вирусной и COVID-ассоциированной пневмонии. Информативным маркером для диагностики COVID-ассоциированной пневмонии является уровень Д-димера.

ЛИТЕРАТУРА

1. Факторы риска смерти пациентов с внебольничной пневмонией в современных условиях [Электронный ресурс] / Л.В. Поваляева и др. // Казанский медицинский журнал. – Том 93, № 5 (2012). – С. 816-820. – Режим доступа: <https://kazanmedjournal.ru/kazanmedj/article/view/1718>. – Дата доступа: 05.02.2025.
2. Kondrateva, T.V. Serum biomarkers of inflammation in acute and chronic inflammatory respiratory diseases: practice and prospects [Electronic resource] / T.V Kondrateva, A.A. Zaytsev // Consilium Medicum. – 2020. – Vol 22, №3: 34-39. – Mode of access: <https://doi.org/10.26442/20751753.2020.3.200065>.
3. Akihiro, I. Diagnostic markers for community-acquired pneumonia [Electronic resource] / Ito Akihiro, Ishida Tadashi // Annals of Translational Medicine. – 2020. – Vol. 8, № 9 (May 14, 2020). – Mode of access: <https://atm.amegroups.org/article/view/37320/html>. – Date of access: 07.02.2025.
4. Christ-Crain, M. Clinical review: The role of biomarkers in the diagnosis and management of community-acquired pneumonia [Electronic resource] / M. Christ-Crain, S. M. Opal // Critical Care. – 2010. – Vol. 14, № 203 (2010). – Mode of access: <https://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/cc8155>. – Date of access: 05.02.2025.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СПЕРМОПЛАЗМЫ ПРИ ИДИОПАТИЧЕСКОМ БЕСПЛОДИИ

**Маркович А.О.¹, Батуревич Л.В.¹, Алехнович Л.И.¹,
Кузьменко А.Т.¹, Инаишвили М.¹, Анашкевич Н.Ю.²,
Ниткина С.П.³**

¹Белорусский государственный медицинский университет

²Независимая лаборатория ИНВИТРО

³4-я городская клиническая больница им. Н.Е. Савченко, Минск,
Республика Беларусь

Актуальность. Проблема бесплодия за последние десятилетия во всем мире приобретает государственное значение [4]. В конце XX – начале XXI века

во всех странах мира наблюдается снижение репродуктивного здоровья мужчин [2]. Мужское бесплодие – многофакторная медицинская проблема, причины которой часто остаются неизвестными [1]. Выявление новых лабораторных признаков при нарушении репродуктивного статуса позволяют улучшить понимание причин бесплодия и продолжить поиск новых терапевтических схем лечения [3].

Цель – изучить связь антиоксидантного статуса, концентрации меди и цинка в спермоплазме с морфологическими показателями сперматозоидов у пациентов с идиопатическим бесплодием.

Материалы и методы исследования. В рамках научно исследовательской работы по мужскому бесплодию в отделе метаболической диагностики НИЛ НИИ ЭиКМ ОУ БГМУ исследовали эякулят 115 мужчин с идиопатическим бесплодием. Исследование проводилось с соблюдением всех правил преаналитического и аналитического этапов, рекомендованных ВОЗ для данного биологического материала.

Четыре группы были сформированы по наличию или отсутствию в окрашенных препаратах эякулята тератозооспермии (количество сперматозоидов с нормальной морфологией менее 4%) и значении индекса ДНК-фрагментации (более либо менее 15%). Характеристика групп по указанным признакам представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Группы исследования

Лабораторные признаки	Первая группа	Вторая группа	Третья группа	Группа сравнения
Морфология сперматозоидов	Тератозооспермия	Тератозооспермия	Нормальная морфология сперматозоидов	Нормальная морфология сперматозоидов
ДНК-фрагментация	Более 15%	Менее 15%	Более 15%	Менее 15%

В спермоплазме определяли концентрацию цинка (Zn) и меди (Cu) методами атомно-эмиссионной спектрометрии и общую антиоксидантную активность (ОАА) спектрометрическим методом с использованием сертифицированных коммерческих наборов реагентов. Статистический анализ полученных данных проводился с помощью программы Statistica (версия 8.0).

Результаты и обсуждение. Результаты описательной статистики параметров биохимических параметров спермоплазмы исследуемых групп и группы сравнения представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Описательная статистика исследуемых биохимических показателей спермоплазмы в исследуемых группах.

Показатели	Первая группа Me [25%; 75%]	Вторая группа Me [25%; 75%]	Третья группа Me [25%; 75%]	Группа сравнения Me [25%; 75%]
Zn	1,8 [1,6; 2,4]	1,6 [1,5; 1,8]	1,8 [1,5; 2,5]	2,3 [2,2; 2,9]
OAA	1,7 [1,7; 1,7]	1,7 [1,7; 1,7]	1,6 [1,5; 1,7]	1,8 [1,5; 2,5]
Cu	14,0 [10,8; 17,1]	19,6 [11,3; 24,1]	14,0 [10,8; 19,0]	22,1 [20,9; 23,3]

Примечание: Me – медиана.

Анализ данных, представленных в таблице 1, показал:

– Максимальные концентрации Zn, Cu и уровень OAA в спермоплазме наблюдались у пациентов группы сравнения с хорошими морфологическими характеристиками сперматозоидов и ДНК-фрагментацией.

– Минимальная концентрация Cu в спермоплазме наблюдалась у пациентов с повышенной ДНК-фрагментацией (первая и третья группа).

– Минимальная концентрация Zn в спермоплазме наблюдалась у пациентов с тератозооспермией и нормальной ДНК-фрагментацией (вторая группа).

– Минимальный уровень OAA в спермоплазме отмечался пациентами с нормальными характеристиками сперматозоидов, но нарушением ДНК-фрагментации (третья группа).

Нами был проведен корреляционный анализ между исследуемыми биохимическими показателями спермоплазмы и процентом морфологически нормальных (согласно рекомендаций ВОЗ) сперматозоидов в каждой исследуемой группе пациентов. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Корреляционный анализ показателя морфологии сперматозоидов с результатами биохимических исследований спермоплазмы

Группа	Zn	OAA	Cu
Группа сравнения	R= - 0,67, p= 0,05	R= 0,49, p= 0,27	R= - 0,39, p= 0,38
Первая группа	R= 0,38, p= 0,24	R= 0,65, p= 0,03*	R= - 0,37, p= 0,29
Вторая группа	R= 0,74, p= 0,26	R= - 0,64, p= 0,03*	R= 0,21, p= 0,79
Третья группа	R= 0,81, p= 0,04*	R= - 0,20, p= 0,69	R= - 0,89, p= 0,01*

Примечание: R – коэффициент корреляции, p – величина вероятности, * – статистически достоверные результаты.

Анализ полученных данных, представленный в таблице 3, показал:

– Наблюдается статистически значимая корреляция между количеством сперматозоидов с нормальной морфологией и OAA в группах с тератозооспермией (первая и вторая группа). Причем при высоком индексе ДНК фрагментации отмечалась положительная корреляция (первая группа), а

во второй группе при нормальном индексе ДНК-фрагментации наблюдалась отрицательная обратная связь.

– В третьей группе исследования с нормозооспермией, но повышенной ДНК-фрагментацией, выявлена значимая корреляционная связь между количеством морфологически нормальных сперматозоидов и концентрацией Cu и Zn в спермоплазме.

– В группе сравнения статистически значимых корреляционных связей между количеством морфологически нормальных сперматозоидов и параметрами биохимических исследований спермоплазмы (Zn, ОАА, Cu) не выявлено.

Выводы. Исходя из полученных результатов, были сделаны выводы:

– Zn и Cu, обладая антиоксидантными свойствами, являются активными участниками обменных процессов, влияют на подвижность и морфологические особенности сперматозоидов.

– При патоспермии, прежде всего при нарушении морфологии сперматозоидов и повышении ДНК фрагментации, концентрация Zn, Cu и АОО в спермоплазме снижается, что может повлиять на оплодотворяющую способность эякулята.

– Определение концентраций Zn, Cu и АОО в спермоплазме может быть использовано в качестве дополнительных лабораторных показателей эякулята при исследовании репродуктивного статуса пациентов и установлении причин бесплодия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойко, Н.И., Сексология и андрология / Н.И. Бойко, Ю.А. Борисенко, А.А. Быстров. – К.: Абрис, 1997. – 880 с.

2. Долгов, В.В. Лабораторная диагностика мужского бесплодия / В.В., Долгов, С.А. Луговская, Н.Д. Фанченко. – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2006. – 145 с.

3. Ниткин Д.М. Диагностика патогенетических механизмов идиопатического мужского бесплодия / Д.М. Ниткин, А.И. Вилуха, А.О. Коломиец, Л.В. Батуревич, О.М. Соловей // Материалы научн. - практ. межд. дистан. конф., Харьков, 2021 г. / Национальный фармацевтический университет; редкол.: А.А. Котвицька (гл. ред.) [и др.]. – Харьков, 2021. – С.114-115.

4. Simpson, M., Urologic Conditions in Infants and Children: Inguinal Hernia, Hydrocele, and Cryptorchidism / M. Simpson, Sundaram V. – FP Essent, Jan 2020. – P. 16-20.

ОСОБЕННОСТИ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С Rh-НЕГАТИВНЫМИ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

Мартинков В.Н., Новик Д.К., Силин А.Е., Ярец Ю.И.

Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, Гомель, Республика Беларусь

Актуальность. Хронические Rh-негативные миелопролиферативные новообразования (МПН) – это группа заболеваний, в основе которых лежит чрезмерная клональная пролиферация дифференцированных клеток крови, происходящих из нескольких миелоидных линий [3]. К основным формам МПН относятся истинная полицитемия (ИП), эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ) и первичный миелофиброз (ПМФ). Смертность пациентов с МПН в основном связана с сердечно-сосудистыми заболеваниями, тромбгеморрагическими осложнениями и недостаточностью костного мозга из-за миелофиброза и лейкемической трансформации [2].

В соответствии с клиническими рекомендациями при проведении дифференциальной диагностики, определении прогноза и тактики лечения МПН показано проведение биохимического исследования крови с определением липидного спектра, а также показателей обмена железа [9].

У пациентов с ИП необходимо отслеживать уровень мочевой кислоты, как при диагностике, так и в ходе циторедуктивной терапии [9]. При МПН хроническое воспаление приводит к фиброзу костного мозга и связано с развитием конституциональных симптомов, которые ухудшают качество жизни пациентов и являются одной из причин преждевременного развития атеросклероза и прогрессирования заболевания [5]. Целесообразно исследование уровней провоспалительных маркеров, из которых наиболее часто определяется С-реактивный белок (СРБ).

По литературным данным у пациентов с ИП гиперлипидемия наряду с предыдущими артериальными событиями и гипертензией была значимым фактором прогноза для последующих артериальных событий [1]. Таким образом, биохимических исследования при МПН необходимы не только на этапе диагностики, но и на протяжении всего течения заболевания. Актуальность изучения особенностей биохимических показателей у пациентов с МПН обусловлена возможностью более глубокого понимания их патогенеза и использования полученных сведений для предупреждения развития тяжелой сопутствующей патологии.

Цель: проанализировать особенности биохимических показателей у пациентов с Rh-негативными миелопролиферативными новообразованиями

Материалы и методы исследования. В исследование включены 429 пациентов с МПН, находившихся на диспансерном учете в 2023-2024 гг. в ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», из них 197 пациентов с ИП, 158 пациентов с ЭТ и 74 пациента с ПМФ. Медиана времени после постановки диагноза – 4 года.

Сравнение групп выполняли с использованием критерия Хи-квадрат (уровень значимости $p < 0,05$).

Результаты и обсуждение. При анализе группы исследования установлено, что пациенты с ЭТ характеризовались значимо меньшим средним возрастом (60,5 лет) в сравнении с пациентами с ИП (67,0 лет) и ПМФ (67,5 лет), что может быть фактором, который, помимо особенностей, связанных с типом заболевания, оказывал влияние на уровни биохимических показателей.

При сопоставлении биохимических показателей пациентов в зависимости от диагноза показано, что повышенный уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ больше 270 ЕД/л) в группе ИП (36,7%) и в группе ПМФ (48,6%) определялся значимо чаще, чем в группе ЭТ (15,2%, $p = 0,0001$). Повышение активности ЛДГ в сыворотке относительно нормы является малым диагностическим критерием ПМФ, а также важен как критерий трансформации в пост-ИП и пост-ЭТ миелофиброз [9]. Известно, что ЛДГ отражает активность опухолевого процесса, кроме того, значительное количество ЛДГ содержится в эритроцитах [8].

Повышенное содержание общего билирубина (BiliT больше 19 мкмоль/л) в группе ИП (38,8%) регистрировалось чаще, чем в группах ЭТ (22,8%, $p = 0,001$) и ПМФ (21,6%, $p = 0,008$). Билирубин образуется главным образом из гемоглобина разрушающихся эритроцитов, количество которых значительно увеличено именно при ИП [8].

Повышенный уровень С-реактивного белка (СРБ больше 5 мг/л) определялся среди пациентов с ИП в 2 раза чаще (18,8%, $p = 0,016$), а среди пациентов с ПМФ – в 3 раза чаще (29,7%, $p < 0,001$), чем среди пациентов с ЭТ (9,5%). В исследовании Barosi et al., 2017, в группе пациентов с ПМФ уровни высокочувствительного СРБ были повышены у 38% из 526 субъектов (≥ 3 мг/л). Повышение СРБ было связано с прогрессией заболевания, повышенным риском бластной трансформации и худшей выживаемостью [6].

Высокий уровень общего холестерина (CHOL больше 6,2 ммоль/л) у пациентов с ИП (5,6%) и с ПМФ (5,4%) встречался реже, чем у пациентов с ЭТ (12,7%, $p = 0,021$ и $p = 0,091$). Повышенный уровень общего холестерина (CHOL больше 5,2 ммоль/л) при ИП (25,5%) также был менее частым, чем при ЭТ (40,5%, $p = 0,003$), но значимо не отличался от частоты в группе ПМФ (33,8%).

Превышение целевого уровня липопротеинов низкой плотности (LDL больше 3,5 ммоль/л) при ИП (12,8%) определялось значимо реже, чем при ЭТ (22,9%, $p = 0,013$), и значимо не отличалось от частоты при ПМФ (20,3%, $p = 0,125$). Также с меньшей частотой выявлялось сниженное содержание липопротеинов высокой плотности (HDL меньше 0,9 ммоль/л для мужчин и 1 ммоль/л для женщин) в группе ИП (17,4%) по отношению к группе ПМФ (32,4%, $p = 0,008$). При этом частота определения сниженного уровня HDL в группе ЭТ (6,4%) была значимо меньше, чем в группах ИП ($p = 0,002$) и ПМФ ($p < 0,001$).

По данным публикации Fujita et al., 2012, в группе ИП общий холестерин и LDL были снижены относительно здоровых контролей, тогда как триглицериды – повышены. Отмечено, что гипохолестеринемия при ИП может быть обусловлена секвестрацией циркулирующего холестерина в связи с

увеличением количества эритроцитов [4]. В нашей работе превышение уровня триглицеридов (TRIG больше 2,3 ммоль/л) не было частым ни в одной из групп (ИП – 11,2%, ЭТ – 10,8%, ПМФ – 14,9%, $p>0,05$). Между тем гиперлипидемия была значимым предиктором последующих артериальных событий по результатам исследования группы пациентов с ИП [7].

Выводы. При сопоставлении частоты отклонения от нормы биохимических показателей крови установлено, что повышенный уровень СРБ с наибольшей частотой определялся при ПМФ (29,7%), менее часто при ИП (18,8), но значимо чаще, чем при ЭТ (9,5%). Определены особенности изменения липидного спектра в зависимости от типа патологии. В группе ИП определена наименьшая частота превышения содержания липопротеинов низкой плотности (12,8%), в группе ЭТ – наибольшая (22,9%). При этом снижение уровней липопротеинов высокой плотности относительно нормы наиболее частым было в группе ПМФ (32,4%). Необходимо продолжение исследований для определения прогностических возможностей биохимических показателей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Diagnosis and Management of Cardiovascular Risk in Patients with Polycythemia Vera / G. Benevolo [et al.] // Vascular Health and Risk Management. – 2023. – Vol. 19. – P. 765–778.
2. Hasselbalch, H. C. Perspectives on chronic inflammation in essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis: is chronic inflammation a trigger and driver of clonal evolution and development of accelerated atherosclerosis and second cancer? / H. C. Hasselbalch // Blood. – 2012. – Vol. 119, № 14. – P. 3219–3225.
3. Hermouet, S. Pathogenesis of Myeloproliferative Neoplasms: Role and Mechanisms of Chronic Inflammation / S. Hermouet, E. Bigot-Corbel, B. Gardie // Mediators of Inflammation. – 2015. – Vol. 2015, № 1. – P. 145293.
4. Hypcholesterolemia in Patients with Polycythemia Vera / H. Fujita [et al.] // Journal of Clinical and Experimental Hematopathology. – 2012. – Vol. 52, № 2. – P. 85–89.
5. Inflammatory Pathophysiology as a Contributor to Myeloproliferative Neoplasms / D. A. C. Fisher [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2021. – Vol. 12. – P. 1–26.
6. Primary myelofibrosis: Older age and high JAK2V617F allele burden are associated with elevated plasma high-sensitivity C-reactive protein levels and a phenotype of progressive disease / G. Barosi [et al.] // Leukemia Research. – 2017. – Vol. 60. – P. 18–23.
7. Risk factors for arterial versus venous thrombosis in polycythemia vera: a single center experience in 587 patients / S. Cerquozzi [et al.] // Blood cancer journal. – 2017. – Vol. 7, № 12. – P. 662.
8. Кишкун, А. А. Клиническая лабораторная диагностика : учебник : в 2 т. / А. А. Кишкун, Л. А. Беганская. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2021. – Т. 1. – 784 с.

9. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению Rh-негативных миелопролиферативных новообразований (истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии, первичного миелофиброза) (редакция 2024 г.) / А. Л. Меликян [и др.] // Клиническая онкогематология. – 2024. – Т. 17, № 3. – С. 291–334.

АНАЛИЗ КОМПОНЕНТОВ ЗАЩИТНОГО ПРОФИЛЯ ГРУДНОГО МОЛОКА ЖЕНЩИН г. ОРЕНБУРГА

Мачнева И.В., Карнаухова И.В., Лебедева Е.Н.

*Оренбургский государственный медицинский университет,
Оренбург, Российская Федерация*

Актуальность. Грудное молоко представляет собой многокомпонентную биологическую систему. Незрелость организма ребенка грудного возраста во многом может быть компенсирована за счет материнского молока. Оно является источником не только питательных и энергетических компонентов, но и большого ряда биологически активных веществ, необходимых для становления иммунной, пищеварительной, нервной и других систем организма младенца. В целом они образуют защитный профиль грудного молока, обеспечивающий антиоксидантную и антимикробную защиту. Последнюю функцию во многом выполняют сывороточные белки и пептиды, которые в среднем составляют 60% от общего белка женского молока. Среди антимикробных белков, пептидов и полипептидов превалирующую роль отводят лактоферрину (Lf) и лизоциму (Lz) [1].

Лактоферрин наряду с антибактериальными проявляет также антиоксидантные, противовирусные и противовоспалительные свойства. Лизоцим оказывает бактериостатическое действие на большую часть грамположительных бактерий, проявляет противогрибковые и противовирусные свойства. Этот белок является одним из компонентов, влияющих на развитие кишечника новорожденного, он способствует росту бифидофлоры в кишечнике, являясь коактиватором IgA, что компенсирует незрелость иммунной системы слизистой кишечного тракта, ограничивает размножение патогенной кишечной флоры [3]. В сыворотке грудного молока содержатся и другие антимикробные белки, такие как секреторный иммуноглобулин А и α -лактальбумин. Еще одним важным белком грудного молока является сывороточный альбумин, который не относят к факторам антимикробной защиты, однако доказано, что он способен проявлять цитотоксический эффект в отношении бактерий и грибов. Представилось актуальным провести анализ белковых компонентов антибактериальной защиты грудного молока женщин г. Оренбурга

Цель. Оценить содержание лактоферрина, сывороточного альбумина, лизоцима в общем протеоме сыворотки грудного молока, а также лизоцимную активность сыворотки.

Материалы и методы исследования. В исследовании приняли участие 30 условно здоровых женщин, которые дали информированное добровольное согласие. Средний возраст женщин составил $27,1 \pm 0,65$ лет, средний возраст их детей $4,3 \pm 0,27$ месяца. Все дети были рождены путем естественных родов. Собранные в стерильные контейнеры утренние порции молока замораживалась и хранилась при температуре -20°C . Из образцов молока предварительно была получена молочная сыворотка: размороженные образцы молока центрифугировались при 16000 об/мин в течение 10 мин с добавлением 20% лимонной кислоты для осаждения казеина.

В безказеиновой и безлипидной сыворотке грудного молока определяли концентрацию Lf, Lz, сывороточного альбумина, общего белка, и активность лизоцима. Количественное определение Lz и Lf проводили ИФА-методом (Cloud-Clone Corp, США). Содержание общего белка определяли с использованием пирогаллолового красного при помощи набора «Общий белок ПГК» (Вектор-Бест, Россия), сывороточного альбумина коллометрическим методом с помощью набора «Альбумин» (Вектор-Бест, Россия). Лизоцимную активность (ферментативную литическую активность лизоцима) оценивали турбидиметрическим методом с использованием набора Lysozyme Activity Kit (Sigma-Aldrich, США).

Экспериментальные результаты были обработаны методами математической статистики, для выявления корреляционных связей использовали анализ Пирсона.

Результаты и обсуждения. В ходе исследования были получены следующие данные: среднее содержание общего белка в сыворотке молока женщин г. Оренбурга – $9,06 \pm 0,19$ г/л, среднее содержание Lf и Lz соответственно – $1,39 \pm 0,18$ г/л и $0,4 \pm 0,03$ г/л. При этом доля Lf от общего белка сыворотки составила 15%, а Lz – 4,5%. Наблюдалась выраженная положительная корреляция между концентрацией Lf и возрастом ребенка в диаде «мать-дитя» ($r=0,35$). Следует отметить, что в литературе указывается на снижение Lf в зрелом молоке по сравнению с молозивом и дальнейшим понижением концентрации Lf уже к 12-ти месяцам лактации. Полученная нами положительная корреляция, возможно, объясняется ранним возрастом детей в диадах «мать-дитя» – от 1-го до 4-х месяцев.

Содержание сывороточного альбумина варьировало от 0,744 до 3,832 г/л и в среднем составило $1,29 \pm 0,06$ г/л (14,2% от общего белка). При этом наблюдалась выраженная положительная корреляция между содержанием сывороточного альбумина и общего белка ($r=0,5$).

Учитывая среднесуточное потребление ребенком грудного молока в данном возрасте, которое в среднем составляет 850 мл, можно рассчитать ежедневное поступление Lf и Lz в организм ребенка. Для Lf данный показатель варьировал от 0,46 до 3,14 г/сут, для Lz – от 0,26 до 0,52 г/сут. Полученные данные в целом коррелирует с данными, приведенными в отечественной и зарубежной литературе.

Лизоцимная (ферментативная литическая) активность сыворотки оценивалась в отношении тест-культуры *Micrococcus lysodeikticus* ATCC

№4698 фотометрически по скорости просветления суспензии лиофилизированных клеток. Рассчитывалась относительная активность лизоцима (ЛА, еа/мл), а затем удельная активность лизоцима в пересчете на содержание общего белка в сыворотке ($УЛА_B$, еа/мг белка), а также удельная активность в пересчете на содержание лизоцима в сыворотке ($УЛА_{Lz}$, еа/мг лизоцима).

Средняя ЛА сыворотки грудного молока составила $363,18 \pm 16,5$ еа/мл, что соответствует ферментативной активности стандартного раствора яичного лизоцима при его концентрации 0,1-0,5 мг/мл. При этом $УЛА_B$ в пересчете на общий белок сыворотки была $40,01 \pm 1,8$ еа/мг белка, а $УЛА_{Lz}$ в пересчете на лизоцим – $819,5 \pm 36,8$ еа/мг лизоцима. Была отмечена положительная корреляция между относительной активностью лизоцима (ЛА) и содержанием белка в сыворотке ($r=0,21$), а также между содержанием Lf и ЛА ($r=0,12$) и содержанием Lf и $УЛА_B$ (0,145). Такая корреляция: между ЛА и белком сыворотки, ЛА, $УЛА_B$ и лактоферрином свидетельствует о синергичном антибактериальном эффекте белков молочной сыворотки, что особенно заметно в корреляции между литическим эффектом лизоцима и содержанием Lf.

В исследованиях В.Г. Арзуманян с соавторами оценен вклад каждой фракции сывороточных белков в общую антибактериальную активность сыворотки грудного молока и показано, что общая антибактериальная активность сыворотки грудного молока складывается из антибактериального действия каждой белковой фракции [1]. Результаты наших исследований согласуются с данным фактом.

Выводы

Впервые была проведена оценка содержания главных антимикробных компонентов защитного профиля сыворотки грудного молока женщин г. Оренбурга – лактоферрина и лизоцима, а также лизоцимная (ферментативная литическая) активность сыворотки.

Высокая доля Lf (15%), Lz (4,5%) и сывороточного альбумина (14,2%) в грудном молоке может быть объяснена широким спектром их функций в организме ребенка, находящегося на грудном вскармливании.

Суточное потребление Lf и Lz детьми в изучаемых диадах «мать-дитя» в целом коррелирует с известными в литературе данными, что говорит об адекватном их поступлении в организм ребенка и компенсации дефицитного состояния адаптивного иммунитета у грудных детей [2].

Результаты исследования лизоцимной активности (ЛА) сыворотки грудного молока турбидиметрическим методом коррелируют с результатами определения лизоцима методом ИФА и позволяют говорить о его уровне в сыворотке от 0,1 до 0,5 г/л. Наличие выраженной положительной корреляции между ЛА и содержанием белка в сыворотке ($r=0,21$), а также между содержанием Lf и ЛА ($r=0,12$) и содержанием Lf и $УЛА_B$ (0,145) позволяют сделать вывод, о синергичном антибактериальном действии исследуемых белков защитного профиля сыворотки, которые усиливают антибактериальный литический эффект лизоцима.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арзуманян, В. Г. Вклад лактоферрина, сывороточного альбумина и секреторного иммуноглобулина класса А в антимикробную активность сыворотки грудного молока / В.Г. Арзуманян, Т.И. Колыганова, О.А. Свитич [и др] // Инфекция и иммунитет. – 2022. – № 3, т. 12. – С. 519–526.
2. Колыганова, Т. И. Различия гуморальных факторов иммунной защиты грудного молока и молозива [Текст] / Т.И. Колыганова, В.Г. Арзуманян, Н.В. Хорошко [и др] // Вопросы детской диетологии. – 2021. – Т. 19, № 2. – С. 33–40.
3. Poonia, A., Shiva Bioactive compounds, nutritional profile and health benefits of colostrum: a review. Food Prod Process and Nutr 4, 26 (2022).

УРОВНИ СЫВОРОТОЧНОГО ЖЕЛЕЗА И ФЕРРИТИНА У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Мицура В.М.

*Республиканский научно-практический центр радиационной медицины
и экологии человека, Гомель, Республика Беларусь*

Актуальность. Сахарный диабет (СД) сопровождается многочисленными метаболическими нарушениями, в том числе различными нарушениями обмена железа — как анемией, так и вторичной перегрузкой железом [1]. Дефицит железа у диабетиков может быть вызван мальабсорбцией и другими желудочно-кишечными заболеваниями, которые чаще встречаются у пациентов с диабетом. Развитие диабетической нефропатии (поражение почек при сахарном диабете) также может приводить к нарушению обмена железа в организме и развитию анемии [2].

Имеется сложность и в лабораторной диагностике. Дефицит железа при сахарном диабете может повлиять на объективность анализа уровня гликированного гемоглобина. Развитие анемии приводит к ложно заниженному уровню гликированного гемоглобина (HbA1c) и не отражает реальных значений гликемии [3]. Необходимо проводить дифференциальную диагностику между анемией хронических заболеваний и железodefицитной анемией, другими заболеваниями, для чего требуются дополнительные тесты [4].

Цель. Определить уровни сывороточного железа и ферритина у пациентов с сахарным диабетом для выделения группы пациентов, требующих дополнительного обследования.

Материалы и методы исследования. Нами проведено когортное исследование уровней сывороточного железа и ферритина у пациентов с сахарным диабетом. Исследование проведено с января 2023 года по февраль 2025 года в ГУ «РНПЦ РМиЭЧ» среди пациентов эндокринологического отделения. Всего было выполнено 876 анализов на сывороточное железо и 740 – на ферритин. Из дальнейшего исследования были исключены дети до 18 лет,

лица с гестационным диабетом, неуточненным типом диабета. В результате проанализированы уровни железа у 734 пациентов, ферритина – у 572.

Среди обследованных пациентов мужчин 157 (21,4%), женщин – 577 (78,6%) в возрасте от 18 до 93 лет, средний возраст $53,2 \pm 16,5$ (M $\pm$ SD). Пациенты с СД 1 типа (СД1) составили 317 (43,2%) СД 2 типа (СД2) – 417 человек (56,8%).

Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью пакета STATISTICA v.12. Для сравнения в двух независимых группах использовался t-критерий Стьюдента. Для описательной статистики в группах применялось среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (SD). Для сравнения долей использовался критерий χ^2 . Уровень значимости $p < 0,05$ считался статистически значимым.

Результаты и обсуждение. Средний возраст пациентов в группе СД1 составил $40,8 \pm 13,6$ лет, в группе СД2 – $62,7 \pm 11,5$, различия статистически значимы ($p = 0,002$). В группе СД1 было 53 мужчины (16,7%), женщин – 264 (83,2%), в группе СД2 – 104 (24,9%) мужчин и 313 (75,1%) женщин, различия статистически значимы ($p = 0,007$). Учитывая половозрастные различия в группах СД1 и СД2, дальнейший анализ проводился в этих группах отдельно.

Уровни сывороточного железа при СД1 были выше у мужчин ($16,6 \pm 8,0$ мкмоль/л) по сравнению с женщинами ($13,6 \pm 6,9$ мкмоль/л), $p = 0,005$. При СД2 при той же тенденции, различия не были статистически значимыми (у мужчин $15,3 \pm 5,7$ мкмоль/л; у женщин $14,1 \pm 5,6$ мкмоль/л, $p = 0,053$).

Уровни ферритина у мужчин также были выше. Так, при СД1 у мужчин был $130,1 \pm 80,9$ нг/мл, у женщин – $54,9 \pm 55,3$ нг/мл, $p < 0,001$. При СД2 ферритин у мужчин был $131,9 \pm 102,6$ нг/мл, у женщин – $97,9 \pm 90,2$ нг/мл ($p = 0,005$).

В целом, уровни сывороточного железа были снижены у 162 пациентов (22,1%), из них у 38 мужчин (24,2% от 157 мужчин) и у 124 женщины (21,5% от 577 женщин). Среди пациентов с СД1 уровни сывороточного железа снижены у 81 из 317 пациентов (25,6%), причем у 14 из 53 мужчин (26,4%) и у 67 из 264 женщин (25,4%). Среди пациентов с СД2, снижение сывороточного железа наблюдалось в 81 случае (19,4%), среди мужчин – у 24 из 104 (23,1%), среди женщин – у 57 из 313 (18,2%). Однако статистически значимых различий по полу не было выявлено ($p = 0,87$ и $p = 0,28$ для СД1 и СД2 соответственно). А при сравнении частоты сниженных уровней сывороточного железа при СД1 и СД2 выявлены значимые различия ($\chi^2 = 3,9$; $p = 0,047$).

Повышение сывороточного железа было выявлено у 12 пациентов (1,6% в общей группе), из них у 9 (2,8%) с СД1, и у 3 (0,7%) – с СД2.

Снижение ферритина встречалось реже: у 48 из 572 пациентов в общей группе (8,4%), причем исключительно у женщин. У 25 пациенток из 48 (52,1%) снижение ферритина сочеталось со снижением сывороточного железа, подтверждая наличие дефицита железа в организме. При СД1 ферритин был снижен у 35 из 249 (14,1%), при СД2 – у 13 из 323 (4,0%), различия статистически значимы ($\chi^2 = 18,4$; $p < 0,001$). Нормальный уровень сывороточного железа при снижении ферритина требует дообследования для уточнения

возможного железодефицита, заболеваний желудочно-кишечного тракта, влияния сахароснижающих препаратов.

Еще реже выявлялось повышение уровня ферритина (у 31 из 572, что составляет 5,4%), которое сочеталось с повышением сывороточного железа у 2 пациентов (мужчины), его снижением – у 5, у остальных пациентов уровень сывороточного железа был нормальным. Сочетание повышенных уровней сывороточного железа и ферритина указывает на синдром перегрузки железом или на наследственный гемохроматоз, что также требует дополнительного обследования. Изолированное повышение ферритина может говорить о наличии воспалительного процесса.

Выводы

1. У пациентов с сахарным диабетом определение сывороточного железа и ферритина может установить наличие железодефицитного состояния у 4,4%, либо, напротив, синдрома перегрузки железом у 0,3%.

2. Не выявлено различий уровней сывороточного железа и ферритина по полу, однако чаще дефицит сывороточного железа и ферритина встречается у пациентов с СД1.

3. У 23,7% пациентов с СД были изменены уровни железа, а у 13,8% - уровни ферритина, что требует дополнительного обследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Особенности параметров обмена железа и воспалительного статуса у пациентов с сахарным диабетом и дислипидемией / Н.Н. Мусина [и др.] // Ожирение и метаболизм. – 2020. – Т. 17. – №3. – С. 269–282. doi: 10.14341/omet12497.

2. Huang, B. Iron-Deficiency Anemia Elevates Risk of Diabetic Kidney Disease in Type 2 Diabetes Mellitus / B. Huang, W. Wen, S. Ye // J. Diabetes. – 2025. – Vol. 17, No 2. – P. e70060. doi: 10.1111/1753-0407.70060.

3. The Effect of Anemia and the Goal of Optimal HbA1c Control in Diabetes and Non-Diabetes / P.C. Katwal [et al.] // Cureus. – 2020. – Vol. 12, No 6. – P. e8431. doi: 10.7759/cureus.8431.

4. К вопросу о дифференциальной диагностике анемии при сахарном диабете / Т.В. Саприна [и др.] // Сахарный диабет. – 2023. – Т.266 №2. – С.131-144. <https://doi.org/10.14341/DM12979>.

КОНЦЕНТРАЦИЯ ГОМОЦИСТЕИНА У ДЕТЕЙ С ПАТОЛОГИЕЙ СУСТАВОВ

Мысливец М.Г., Парамонова Н.С., Наумов А.В.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. В результате экспериментальных и клинических исследований установлено, что высокий уровень гомоцистеина (ГЦ) связан с хроническим воспалением, индукцией оксидативного стресса, нарушением

процессов метилирования ДНК и др. [1]. Метаболизм ГЦ достаточно изучен при хронической болезни почек, сердечно-сосудистой патологии [3]. Однако в доступной литературе не встречено публикаций, отражающих концентрацию серосодержащих аминокислот и их производных у детей при ювенильном идиопатическом артрите (ЮИА) [2].

Цель – установить концентрацию гомоцистеина у пациентов с ЮИА и воспалительными заболеваниями суставов разного генеза.

Материалы и методы исследования: в исследование включены 47 детей группы 1 (ЮИА), 33 ребенка группы 2 (артриты разного генеза) и 41 пациент группы 3 (условно здоровые). Число мальчиков и девочек – 64 (52,9%) и 57 (47,1%), соответственно. Среди обследованных пациентов с ЮИА в неактивной стадии находились 12 (25,5%) пациентов, I степень диагностирована у 18 (38,3%) детей, II и III степень активности – у 14 (29,8%) и 3 (6,4%) детей, соответственно.

Метод определения гомоцистеина в сыворотке крови основан на обращенофазной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) продуктов предколоночной дериватизации аминокислоты с офталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой (ОРА-3-МРА) с градиентным элюированием и детектированием по флуоресценции. Использовали прибор ВЭЖХ Agilent 1200 в конфигурации, включающей 4-канальную систему подачи растворителя с вакуумным дегазатором, термостатируемый автосамплер (ALS), термостат колонок с краном-переключателем потоков элюентов, детектор флуоресценции.

Результаты и обсуждение. Исследовано содержание ГЦ в сыворотке крови у обследованных пациентов в зависимости от пола. Уровень ГЦ у девочек и мальчиков составил 6,0 (4,1; 9,7) мкмоль/л и 4,7 (3,5; 6,3) мкмоль/л, соответственно ($p>0,05$). Гендерный анализ внутри каждой из групп не показал статистически значимых различий ($p>0,05$).

Оценивалось содержание ГЦ в каждой группе в зависимости от нозологической формы заболевания. Анализ полученных результатов показал, что содержание ГЦ в сыворотке крови у детей с ЮИА составило 8,3 (4,5-13,2) мкмоль/л, что значительно превышало его уровень у детей из группы 3 – 4,5 (3,8-5,5) мкмоль/л ($p=0,00003$) и группы 2 – 4,5 (3,2-6,4) мкмоль/л ($p=0,001$).

Статистически значимой разницы между содержанием ГЦ у пациентов группы 2 и группы 3 не наблюдалось ($p>0,05$). Повышение концентрации ГЦ в сыворотке крови при ЮИА может свидетельствовать об изменении его клеточного метаболизма при аутоиммунном воспалении [4].

Изменение содержания ГЦ в сторону его повышения у пациентов с ревматоидным артритом, по данным некоторых авторов, связано с применением цитостатических препаратов, в том числе метотрексата. Проведен анализ концентрации ГЦ в сыворотке крови в зависимости от приема данного лекарственного средства. Не выявлено статистически значимых различий в уровне ГЦ у пациентов, получавших метотрексат, – 8,1 (4,6; 11,0) мкмоль/л, и без метотрексата в терапии – 9,1 (4,5; 18,8) мкмоль/л ($p>0,05$).

У пациентов с ЮИА определено содержание ГЦ в зависимости от

степени активности заболевания. В неактивном периоде заболевания уровень ГЦ был достоверно ниже 4,4 (2,0; 5,0) мкмоль/л, чем у детей, имеющих I – 7,6 (4,6; 9,7) мкмоль/л ($p=0,006$), II – 14,0 (10,3; 18,8) мкмоль/л ($p=0,00002$) и III – 19,4 (8,5; 34,0) мкмоль/л степень активности ($p=0,009$). Отмечено практически линейное нарастание концентрации ГЦ в зависимости от степени активности заболевания.

Выводы. Содержание ГЦ в сыворотке крови у детей с ЮИА значительно выше, чем в группе сравнения ($p<0,05$) и у пациентов с артритами разного генеза ($p<0,05$). Пациенты, получающие терапию метотрексатом и без таковой, не имели статистически значимых различий уровня ГЦ. Дети с артритами разного генеза по концентрации ГЦ были сопоставимы с условно здоровыми детьми. При повышении степени активности воспалительного процесса у детей с ЮИА отмечается увеличение концентрации ГЦ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Наумов, А. В. Гомоцистеин. Медико-биологические проблемы : монография / А. В. Наумов. – Минск : Проф. изд., 2013. – 311 с.
2. Rheumatoid arthritis: Extra-articular manifestations and comorbidities / F. A. Figus [et al.] // Autoimmun Rev. – 2021. – Vol. 20 (4). – P. 102776.
3. Hermann, A. Homocysteine: Biochemistry, Molecular Biology and Role in Disease / A. Hermann, G. Sitdikova // Biomolecules. – 2021. – Vol. 11 (5). – P. 737.
4. Homocysteine as a trigger and potential therapeutic target for autoimmune diseases / X. Hu // Autoimmun Rev. – 2023. – Vol. 22 (9) – P.103389.

КОНЦЕНТРАЦИЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ПНЕВМОНИЕЙ

Парфёнова И.В.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Пневмония – это инфекционно-воспалительное заболевание, для которой характерно возникновение очагово-инфильтративных изменений в паренхиме легочной ткани и наличие внутриальвеолярной экссудации [2].

По данным Всемирной организации здравоохранения, на долю пневмоний приходится более 10% всех госпитализаций от острой патологией системы дыхания [1]. Заболеваемость пневмонией в экономически развитых странах составляет 1,5–3 случая на 1000 детей 0–15 лет и 3,4–6,8 на 1000 детей 0–5 лет [3]. В Республике Беларусь этот показатель – 15–20 случаев на 1000 детей раннего возраста и 5–6 случаев на 1000 детей старше трёх лет.

Механизмы развития пневмоний разнообразны. Среди основных механизмов повреждения лёгких при пневмонии, можно выделить внедрение патогенных возбудителей в организм, в её основе лежит нарушение бронхиальной проходимости, альвеолярной вентиляции и перфузии, что

определяет ту или иную степень тяжести пневмонии за счёт снижения газообмена в тканях и органах у детей.

Так как пневмония в своём развитии проходит через несколько классических стадий острого воспалительного ответа, при её развитии задействуется большое количество иммунных процессов.

К ним можно отнести цитокины, активация которых запускается рядом внутриклеточных каскадов, клетками бронхиального эпителия, а также альвеолоциты 2-го типа [4]. Активация классических провоспалительных сигнальных каскадов, приводит к экспрессии основных цитокинов воспаления – интерлейкина 1 (IL-1 β), фактора некроза опухоли (TNF α) и ряда других цитокинов [5, 6].

По концентрации цитокинов в крови можно оценить функциональную активность разных типов иммунокомпетентных клеток, тяжесть и системности воспалительного процесса, а также определить их ведущую роль в прогнозе и течении пневмоний.

Цель. Изучить концентрацию IL-1 β и TNF- α в крови у детей с пневмонией.

Материалы и методы исследования. Обследовано 130 детей в возрасте от 10 до 17 лет. Медиана возраста детей – 12,4 (10,6; 14,2) года. В зависимости от вида пневмонии (n=100) были сформированы 2 группы: группа 1 (n=40) – дети с очаговой пневмонией, группа 2 (n=60) – дети с сегментарной и долевой пневмонией. В группу 3 составили 30 здоровых детей.

Концентрацию IL-1 β и TNF- α в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с помощью ИФА-набора Вектор Бест (Россия) на иммуноферментном анализаторе SunriseTECAN (Австрия).

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы Statistica 10.0., для сравнения значений показателей в выборках использовался непараметрический критерий Манна-Уитни. Критический уровень значимости принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждение. Установили, что концентрация IL-1 β и TNF- α в сыворотке крови у детей с пневмонией, были выше по сравнению со здоровыми детьми. Выявлено, что у детей группы 1 концентрация IL-1 β составила 1,2 (1,1; 1,7) пг/мл, в группе 2 – 1,7 (1,1; 2,2) пг/мл, в то время как у здоровых детей – 0,2 (0,1; 0,3) пг/мл. Концентрация IL-1 β в сыворотке в группе детей с очаговой пневмонией была выше (p=0,03), чем у здоровых детей. При сегментарной пневмонии уровень IL-1 β был в 8,5 раза выше по сравнению со здоровыми детьми (p=0,001) и в 1,4 раза по сравнению с детьми с очаговой пневмонией p=0,05).

Определили, что концентрация TNF- α в сыворотке крови у пациентов с очаговыми пневмониями составила 1,8 (0,2; 2,8) пг/мл и была ниже, чем у детей с сегментарными 2,4 (1,8; 3,5) пг/мл (p=0,03), и выше, чем у здоровых детей 0,05 (0,04; 0,06) пг/мл (p=0,001). Содержание TNF- α у детей группы 2 было статистически выше, чем у детей из группы 3.

Выводы. У детей с пневмонией по сравнению со здоровыми детьми наблюдается более высокая концентрация IL-1 β и TNF- α . Наибольшее увеличение содержания провоспалительных цитокинов наблюдается у

пациентов с сегментарными и долевыми пневмониями, что может быть использовано как дополнительный критерий для оценки тяжести течения данного заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Внебольничная пневмония: эпидемиология, этиология и клинικο-морфологические параллели / А. П. Надеев [и др.] // J. of Siberian Med. Sciences. – 2019. – № 4. – С. 20–29.
2. Дворецкий, Л. И. Внебольничная пневмония. Клинические рекомендации. Вчера, сегодня и завтра. (Круглый стол: терапевт, пульмонолог, клинический фармаколог) / Л. И. Дворецкий, С. В. Яковлев, М. А. Карнаушкина // Consilium Medicum. – 2019. – Т. 21, № 3. – С. 9–14.
3. Клинико-anamнестический анализ течения внебольничных пневмоний у детей в целях оптимизации лечения и профилактики / М. Я. Ледяев [и др.] // Лекарств. вестн. – 2021. – Т. 15, № 4. – С. 35–41.
4. Below the surface: The inner lives of TLR4 and TLR9 / L. Marongiu [et al.] // J. Leukoc Biol. – 2019. – Vol. 106, № 1. – 147–160.
5. Cytokine activation patterns and biomarkers are influenced by microorganisms in community-acquired pneumonia / R. Menéndez [et al.] // Chest. – 2012. – Vol. 141, № 6. – P. 1537–1545.
6. IL-1a released from damaged epithelial cells is sufficient and essential to trigger inflammatory responses in human lung fibroblasts / M. I. Suwara [et al.] // Mucosal Immunol. – 2014. – Vol. 7, № 3. – P. 684–693.

СОДЕРЖАНИЕ ГЕМОГЛОБИНА В РЕТИКУЛОЦИТАХ У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ

Протасевич Т.С.¹, Денисик Н.И.², Дехтярук М.В.²

¹Гродненский государственный медицинский университет;

²Гродненская областная детская клиническая больница,
Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Содержание гемоглобина в ретикулоцитах (RET-He) или ретикулоцитарный гемоглобиновый эквивалент является отражением мгновенного синтеза гемоглобина. Этот параметр позволяет проводить раннюю диагностику железодефицитной анемии и оценку эффективности терапии препаратами железа. Недоношенные дети находятся в группе повышенного риска развития железодефицитной анемии. Ретикулоциты развиваются из эритробластов после синтеза гемоглобина и через 1-2 дня после попадания в периферическую кровь трансформируются в зрелые эритроциты. RET-He является наиболее быстрым способом выявления изменений в текущей обеспеченности железом, а также качества клеток. Тест RET-He – это автоматизированный вариант, который можно выполнить, используя тот же образец крови, используемый для обычного анализа крови. Это надежный анализ, на значение которого не влияют инфекции или воспаление по

сравнению с уровнями сывороточного ферритина. В случае задержки тестирования водная конфигурация ретикулоцита может измениться, влияя на объем ретикулоцита и концентрацию гемоглобина, но никак не изменит содержание гемоглобина [1].

Цель – анализ данных анамнеза, клинической картины, лабораторных (данные общего анализа крови с оценкой уровня RET-He в капиллярной крови) при поступлении недоношенных детей в стационар на этап выхаживания.

Материалы и методы исследования. Проведен ретроспективный анализ 67 историй болезни недоношенных детей, поступивших в Гродненскую областную детскую больницу в период с января по ноябрь 2024 г. Статистический анализ проводился с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA 10.0» и «EXCEL».

Результаты и обсуждение. Гестационный возраст недоношенных детей составил 33 [30-36] недель. Средние параметры при рождении детей были равны: длина тела при рождении – 45 [41;47] см, масса тела при рождении – 1950 [1420;2410] г, окружность головы – 31 [28;32] см. По данным акушерского анамнеза угроза выкидыша диагностирована в 22 (32,8%) случаев, преэклампсия – в 11 (16,4%), острые респираторные заболевания наблюдались в 22 (32,8%) случаев, другие заболевания – у 62 (92,5%) случаев. У 24 (35,8%) матерей наблюдалась анемия.

По клиническим проявлениям врожденная инфекция установлена у 53 (79,1%) недоношенных новорожденных, респираторный дистресс-синдром – у 48 (71,6%), синдром угнетения центральной нервной системы – у 29 (43,3%), внутриутробная гипоксия – у 19 (28,4%), сердечная недостаточность – у 6 (9%). По данным ультразвукового исследования у 19 детей (28,4%) зафиксировано расширение задних рогов боковых желудочков в сагиттальной плоскости. У 23 детей выявлены кисты головного мозга: у 17 (25,4%) визуализировались кисты сосудистых сплетений и у 6 (9%) субэпендимальные кисты. У 30 детей (44,8%) наблюдались признаки незрелости церебральных структур. Эхокардиографические исследования новорожденных показали, что количество детей с дефектом межжелудочковой перегородки (ДМЖП) составило 5 [7,5%], с дефектом межпредсердной перегородки (ДМПП) – 27 [40,3%]. На рентгенограммах легких у 12 (17,9%) наблюдаемых новорожденных были выявлены признаки пневмонии.

По данным общего анализа крови уровень эритроцитов составил 4,31 [3,88;4,80] $\cdot 10^{12}/л$, гемоглобина – 153 [133;168] г/л, лейкоцитов – 12,97 [10,4;17,3] $\cdot 10^9/л$ тромбоцитов – 304 [217;429] $\cdot 10^9/л$. Показатели эритроцитарных индексов находились в пределах нормативных значений для новорожденных: MCV 100 [96,3;102,5] f/l, MCH 35,8 [34,0;36,8] pg, MCHC 359 [338;368] g/l.

При поступлении в стационар по данным лабораторных исследований у 12 недоношенных детей уровень RET-He определялся в общем анализе крови в возрасте 6 (4,0;8,0) суток и составил: 33,6 (32,15;35,15) пг, что соответствовало нормальным значениям в первые недели жизни. По данным литературы референтные значения RET-He у недоношенных детей составляют 27-34 пг.

Уровень ретикулоцитарного гемоглобина ниже 29 пг может указывать на дефицит железа у недоношенных новорожденных <32 недель беременности с чувствительностью 85% и специфичностью 73% [1, 2].

Выводы. По литературным данным снижение RET-He является ранним диагностическим маркером дефицита железа у недоношенных новорожденных, так как предшествует снижению сывороточного железа и ферритина. На момент поступления в стационар у недоношенных новорожденных при отсутствии анемии уровень RET-He соответствовал возрастным нормативам, что требует определения в динамике для выявления ранней диагностики дефицита железа у недоношенных детей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sriranjana, Janahan. Prevalence of iron deficiency among extreme preterm neonates based on Reticulocyte-Hemoglobin levels: a single center cross-sectional study / J. Sriranjana, K. Thomas, G. Fusch // Paediatr Child Health. – 2022. – Vol. 27, Suppl 3. – P. e7–e8. doi: 10.1093/pch/pxac100.017.

2. Шарафутдинова, Д. Р. Содержание гемоглобина в ретикулоцитах как маркер дефицита железа у недоношенных новорожденных с очень низкой массой тела при рождении. Простые методы диагностики дефицита железа / Д. Р. Шарафутдинова, Е. Н. Балашова // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2023. – Т. 22, № 3. – С. 146–155.

КИСЛОРОДСВЯЗУЮЩИЕ СВОЙСТВА КРОВИ ПРИ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЕ

Романчук В.В.¹, Зинчук В.В.¹, Каленик Р.П.²

¹Гродненский государственный медицинский университет

²Гродненская университетская клиника,
Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Глаукома представляет собой нейродегенеративное заболевание, сутью которого является медленно прогрессирующая гибель ганглиозных клеток сетчатки (ГКС) и их аксонов от апоптоза [5]. Тот факт, что ишемия является важной причиной апоптоза ГКС, не вызывает сомнений [6]. Во многих работах было показано, что именно ишемия лежит в основе дисфункции нейронов, изменяя их цитоскелет [4], а также активизирует глутаматкальциевый каскад, приводя к апоптозу ГКС через эксайтотоксический феномен [8]. Согласно современным представлениям, в прогрессировании глаукомной оптической нейропатии важная роль принадлежит изменениям в сосудистом кровотоке, а именно, дисфункции эндотелия, в результате которой нарушается универсальный механизм регулирования сосудистого тонуса [2]. Неспособность кровеносной системы адаптироваться к тканевым требованиям или изменениям внутриглазного давления могут привести к хронически низкой или нестабильной глазной перфузии [7], что, в свою очередь, может вызвать ишемию, окислительный

стресс или и то, и другое, что может привести к глаукоматозному повреждению диска зрительного нерва.

Способность гемоглобина связывать и высвобождать кислород имеет решающее значение для доставки кислорода в ткани. Отсутствие в клетке кислорода – конечного акцептора электронов – полностью тормозит активность окислительно-восстановительных процессов в дыхательной цепи, приводя к естественному в этих условиях падению синтеза АТФ [1]. Формирование дисфункции эндотелия ведет к изменению кислородсвязывающих свойств крови, возникновению гипоксии и усилению проявления дисфункции эндотелия [3].

Цель. Оценить кислородсвязывающие свойства крови при первичной открытоугольной глаукоме.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования были 130 пациентов (мужчин – 70, женщин – 60), средний возраст ($64,5 \pm 6,53$ лет), из них 100 человек (мужчин – 53; женщин – 47) с диагнозом ПОУГ I-IV стадий на одном или обоих глазах (средний возраст пациентов – $65,0 \pm 6,56$ лет) и 30 относительно здоровых человек без глаукомы (мужчин – 17; женщин – 13), средний возраст – ($63,0 \pm 6,46$ лет). Допустимая сопутствующая офтальмопатология – катаракта, аметропия слабой степени. Сопутствующая общесоматическая патология имела возрастной характер и была представлена, в основном, ишемической болезнью сердца, атеросклерозом, гипертонической болезнью 1-2 стадий.

Диагноз ПОУГ выставлялся на основании комплексного офтальмологического обследования, включающего: визометрию, рефрактометрию, биомикроскопию, гониоскопию, тонометрию, офтальмоскопию с фоторегистрацией, оптическую когерентную томографию зрительного нерва, перипапиллярных нервных волокон и сетчатки, оптическую биометрию, периметрию. А также сбора жалоб и анамнеза.

Для проведения исследования кислородсвязывающих свойств крови всем пациентом был выполнен забор крови утром, натощак, из локтевой вены без пережатия жгутом. Оценка показателей газового состава и кислотно-основного состояния крови: pO_2 , степень оксигенации (SO_2), количество гемоглобина (Hb), а также показателей её кислотно-основного состояния, таких как pCO_2 , концентрация водородных ионов (pH), стандартный бикарбонат (SBC), реальный/стандартный недостаток (избыток) буферных оснований (ABE/SBE), гидробикарбонат (HCO_3^-) и общая углекислота плазмы крови (TCO_2) – выполнялась при температуре $37^\circ C$ на анализаторе газов крови Stat Profile pHox plus L., США (Instrumentation Laboratory).

Сродство гемоглобина к кислороду определяли по показателю $p50$ (pO_2 крови при 50% насыщении ее кислородом), а затем рассчитывали $p50$ при реальных условиях этих показателей ($p50_{\text{реал}}$).

Полученные показатели проверяли на соответствие признака закону нормального распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. С учетом этого была использована непараметрическая статистика с применением программы “Statistica 10.0” и рангового дисперсионного анализа Крускала-

Уоллиса. Достоверность полученных данных оценивалась методом попарных сравнений Двасс-Стил-Кричлоу-Флингера. Результаты представлены как медиана (Ме), 25-й и 75-й квартильный размах. Уровень статистической значимости принимали за $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. У пациентов с глаукомой наблюдается снижение уровня SO_2 и pO_2 , а также увеличение pCO_2 крови в сравнении с группой контроля. Выявлено снижение показателя сродства гемоглобина к кислороду $p50_{\text{реал}}$ у лиц, страдающих глаукомой в сравнении со здоровыми, а также снижении значения $p50_{\text{станд}}$. Статистически достоверных изменений уровня pH , HCO_3^- и АВЕ не выявлено.

В нашем исследовании отмечается сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина влево, свидетельствуя об увеличении сродства гемоглобина к кислороду, что в свою очередь ведет к снижению диссоциации оксигемоглобина и затруднению высвобождения кислорода и его доставки к тканям.

Патогенез глаукомы все еще в значительной степени неизвестен, хотя совместный вклад сосудистых, биомеханических и биохимических факторов широко признан. Можно предположить, что в связи с длительным течением глаукомного процесса, сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина, происходящий при ПОУГ в условиях окислительного стресса и нарушения утилизации кислорода тканями ведет к образованию активных форм кислорода и активации процессов свободнорадикального окисления и может явиться фактором, способствующим прогрессированию глаукомной нейрооптикопатии.

Выводы. На основании проведенного исследования установлен характер изменений показателей кислородсвязывающих свойств крови, проявляющихся в снижении их основных показателей, у лиц, страдающих ПОУГ. Выявленные изменения данных свойств крови могут участвовать в патогенезе данного заболевания через эндотелийзависимые механизмы.

Данная работа выполнена в рамках гранта БРФФИ № М24-083.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы гипоксии // Вестник РАМН. 2000. № 9. С. 3-12.
2. Горшунова Н. К., Мауер С. С. Взаимодействие вазотонических биоэффекторов в патогенезе эндотелиальной дисфункции при артериальной гипертензии на фоне старения // Успехи геронтологии. – 2012. – Т. 3. – №. 25. – С. 461-467.
3. Зинчук В.В. Дисфункция эндотелия и кислородсвязывающие свойства гемоглобина // Кардиология. – 2009. – Т. 49, № 7-8. – С. 81-89.
4. Balaratnasingam C. et al. Time-dependent effects of focal retinal ischemia on axonal cytoskeleton proteins // Investigative ophthalmology & visual science. – 2010. – Т. 51. – №. 6. – С. 3019-3028.
5. Engin K. N. et al. Structural and functional evaluation of glaucomatous neurodegeneration from eye to visual cortex using 1.5 T MR imaging: a pilot study // Journal of Clinical & Experimental Ophthalmology. – 2014. – Т. 5. – №. 3. – С. 341.

6. Kyhn M. V. et al. Acute retinal ischemia caused by controlled low ocular perfusion pressure in a porcine model. Electrophysiological and histological characterisation //Experimental eye research. – 2009. – Т. 88. – №. 6. – С. 1100-1106.

7. Leske M. C. et al. Predictors of long-term progression in the early manifest glaucoma trial // Ophthalmology. – 2007. – Т. 114. – №. 11. – С. 1965-1972.

8. Romano C. et al. Excitotoxic neurodegeneration induced by deprivation of oxygen and glucose in isolated retina // Investigative ophthalmology & visual science. – 1998. – Т. 39, №. 2. – С. 416-423.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ИСХОДА ПОСЛЕ ПОЛУЧЕННОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

Рутковская Ж.А., Мурашко Д.И., Решетов К.Д., Возьмитель Л.Г.

*Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является одной из основных причин смертности и инвалидности. В последние десятилетия распространенность ЧМТ значительно возросла, что во многом связано с увеличением использования автотранспортных средств [1]. Ежегодно более 10 миллионов человек умирает или госпитализируется с ЧМТ, что делает эту проблему крайне актуальной для здравоохранения.

Одним из наиболее информативных методов оценки динамики течения и прогноза заболевания является биохимический анализ крови. Несмотря на внедрение современных методов диагностики повреждений головного мозга, таких как определение белков-маркеров [3], стоимость этих технологий остается высокой и может быть недоступна для многих медицинских учреждений. В то же время, рутинные биохимические показатели крови демонстрируют значительную информативность при сравнительно низких затратах.

Цель. Установить различия в содержании альбумина, общего белка, С-реактивного белка и активности трансаминаз в крови пациентов с благоприятным и летальным исходом после полученной закрытой ЧМТ тяжелой степени.

Материалы и методы. Было обследовано 46 пациентов разных возрастов с закрытой ЧМТ тяжелой степени, из них 16 восстановились после травмы (группа 1), а 30 – нет (группа 2). Пациенты поступили в стационар в первые сутки после получения травмы, и всем проводился стандартный комплекс интенсивной терапии в соответствии с рекомендациями Приказа МЗРБ № 1110 в условиях реанимационного отделения стационара. В качестве материала для исследования использовали результаты биохимических анализов крови, полученные на 1, 3, 5, 7 и 9 сутки пребывания в стационаре. Изучались

следующие показатели: общий белок, альбумин и С-реактивный белок (СРБ), активность трансаминаз. Статистический анализ собранных данных проводился с использованием программ Excel 2019 и SPSS Statistcs 23.0, с использованием непараметрических методов анализа. Результаты представлены в виде медиан и интерквартильных размахов. При всех видах статистического анализа критерий значимости принимали равным 0,05.

Результаты и выводы. Установлено, что динамика изменения содержания общего белка сходна у пациентов с благоприятным и летальным исходом на протяжении первых пяти суток. Так, в первые сутки уровень общего белка соответствует физиологической норме и затем снижается на 3 и 5 сутки после травмы. Различия между группами наблюдаются спустя неделю после полученной ЧМТ: у восстановившихся пациентов содержание общего белка остается на нижней границе физиологических значений (55,6 [53,9; 58,1] г/л), в то время как у пациентов 2-й группы этот показатель продолжает снижаться и на 9,3% ($p<0,05$) ниже, чем в группе 1. На 9 сутки у восстановившихся пациентов содержание общего белка продолжает увеличиваться до физиологически нормальных значений (60,5 [58,4; 63,4] г/л), в то время как у скончавшихся уровень общего белка остается ниже на 9,1% по сравнению с пациентами 1 группы ($p<0,05$).

Содержание альбумина снижается уже в первые сутки пребывания пациентов в стационаре. Наименьшее количество альбуминов наблюдается в крови на 5, 7 сутки после травмы у пациентов обеих групп, но через 9 суток у пациентов 1 группы их уровень начинает увеличиваться, в то время как у пациентов с неблагоприятным исходом этот показатель остается сниженным ($p<0,05$). При сравнении между группами в эти сроки (9-й день) уровень альбуминов в первой группе на 9,5% выше, чем во второй.

Гипопротеинемия, особенно гипоальбуминемия, может быть следствием подавления синтеза нормальных физиологических белков, что связано с увеличением продукции белков острой фазы (БОФ), таких как С-реактивный белок. Также уже присутствующие в крови белки распадаются до аминокислот, которые активно используются печенью для синтеза БОФ.

С-реактивный белок – наиболее чувствительный показатель повреждения тканей при воспалении, некрозе, травме. Нами обнаружено, что уровень этого белка прогрессивно растет у пациентов с ЧМТ начиная с первых суток после полученной травмы. Характерно, что на 3 сутки уровень СРБ у восстановившихся пациентов (1 группа) в 1,4 раза выше ($p<0,05$), чем у пациентов 2 группы. Через 5 дней после травмы содержание С-реактивного белка в крови пациентов 1 и 2 групп достигает максимальных значений за весь период исследования, и различий между группами не наблюдается. Однако на 7 и 9 день у пациентов, восстановившихся после травмы, содержание СРБ достоверно снижается в 1,6 и 2,2 раза соответственно ($p<0,05$) по отношению к первому дню исследований, в то время как у пациентов, скончавшихся после травмы (2 группа), уровень СРБ продолжает оставаться высоким по сравнению с пациентами 1 группы на 7,2% и на 45,3% соответственно ($p<0,05$).

Таким образом, у пациентов с неблагоприятным исходом на всём протяжении исследования снижается синтез физиологически нормальных белков на фоне более активного синтеза БОФ. В то же время, у пациентов с благоприятным исходом количество синтезируемых физиологических белков имеет выраженную тенденцию к нормализации, а содержание белков острой фазы прогрессивно снижается уже начиная с 7 суток, что можно расценивать как благоприятный прогностический признак.

Функциональное состояние печени, по мнению ряда авторов, является одним из основных факторов, определяющих успешность восстановления пациента после черепно-мозговой травмы [2]. Для оценки функционального состояния печени мы исследовали динамику изменения активности аминотрансфераз у пациентов обеих групп.

Аспарагиновая аминотрансфераза (АсАТ) является ферментом, участвующим в трансаминировании аминокислот. Фермент имеет изоформы, которые локализуются как в цитозоле, так и в митохондриях, при этом в митохондриях находится около 80% этого фермента. Различия в уровне АсАТ наблюдается на третий день исследования: у пациентов, восстановившихся после травмы, уровень этого фермента составляет 79,8 [64,7; 95,4] ед/л, что в 1,5 раза больше, чем у пациентов с летальным исходом, у которых показатель составил 52,8 [35,4; 57,0] ед/л ($p < 0,05$). Аланиновая трансаминаза (АлАТ) также является ферментом обмена аминокислот и преимущественно находится в цитоплазме гепатоцитов. Различия в уровне АлАТ становятся статистически значимыми на девятый день исследования: в первой группе этот показатель составляет 19,1 [14,6; 46,5] ед/л, что в 2,4 раза меньше ($p < 0,05$), чем во второй группе (46,2 [27,1; 89,3] ед/л). Повышение активности трансаминаз может свидетельствовать о повреждении клеток и высвобождению ферментов в кровь.

Мы также оценили коэффициент де Ритиса, который показывает соотношение активности АсАТ/АлАТ в сыворотке крови. На третий день наблюдаются различия ($p < 0,05$) в величине этого показателя: у восстановившихся после травмы, он составляет 1,69 [1,17; 2,17], а у группы пациентов с летальным исходом - 2,93 [1,20; 3,40]. По данным литературы, значение коэффициента де Ритиса более 2 может свидетельствовать о глубоком поражении тканей [3].

Выводы

1. Исследование показало значительные различия в результатах биохимического анализа крови между пациентами с благоприятным и летальным исходом после ЧМТ. Эти различия становятся особенно заметными на 7 и 9 сутки после травмы.

2. Уровень общего белка и альбумина у пациентов с благоприятным исходом имеет тенденцию к нормализации, в то время как у пациентов с неблагоприятным исходом наблюдается продолжительное снижение этих показателей.

3. Уровень С-реактивного белка у пациентов с благоприятным исходом снижается после 5 суток, что может служить благоприятным прогностическим

признаком. У пациентов с летальным исходом уровень СРБ остается высоким, что свидетельствует о продолжающемся воспалительном процессе.

4. Динамика активности аминотрансфераз и выявленный характер изменений коэффициента де Ритиса свидетельствует о более глубоком повреждении печени у пациентов с летальным исходом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е.Л. Богдан. Эпидемиология черепно-мозговой травмы и организация специализированной помощи в Республике Беларусь / Е.Л. Богдан, Ю.Г. Шанько и др. // Здоровоохранение. — 2016. — №6. — С. 25–33

2. Попов С.С. Оценка и коррекция антиоксидантного статуса и апоптических процессов у больных с диффузными заболеваниями печени: дис. ... док. мед. наук. – Воронеж, 2015. – 451 с.

3. Е.А. Сосновский. Биохимические маркеры черепно-мозговой травмы / Ю.В. Пурас, А.Э. Талыпов // Нейрохирургия. — 2014. — №2. — С. 83–91

ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ IL-10 ПРИ СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИИ

Рябцева Т.В., Улосевич Д.С., Рутковская Ж.А., Апанасович В.Г.

*Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. Системная склеродермия (ССД) представляет собой интегративное аутоиммунное заболевание, характеризующееся хроническим воспалением, прогрессирующим фиброзом и сосудистыми нарушениями. Интерлейкин-10 (IL-10), являясь противовоспалительным цитокином, играет важную роль в ограничении избыточного иммунного ответа, подавлении продукции провоспалительных цитокинов и поддержании иммунной толерантности. При ССД дисбаланс между провоспалительными и противовоспалительными механизмами способствует прогрессированию заболевания, и изучение уровня IL-10 позволяет оценить степень активации компенсаторных противовоспалительных процессов. Определение уровня IL-10 у пациентов с ССД также актуально с точки зрения прогнозирования течения заболевания и оценки эффективности лечения. Уровень IL-10 может коррелировать с тяжестью клинических проявлений, таких как степень фиброза, поражение внутренних органов и сосудистые осложнения. Это делает IL-10 потенциальным маркером для стратификации пациентов и выбора оптимальных терапевтических стратегий. Оптимальная концентрацией IL-10 в сыворотке крови не должна превышать 10 пг/мл у здорового человека [1].

Цель – определить концентрацию IL-10 у пациентов с системной склеродермией (ССД) и условно здоровых доноров (без системных заболеваний соединительной ткани).

Материалы и методы исследования. В исследование было включено 11 пациентов с системным склерозом, проходивших лечение в ревматологическом

центре ГУ «МНПЦ хирургии, трансплантации и гематологии» (Минск, Республика Беларусь). Группа контроля включала практически здоровых доноров (n=5). Концентрацию IL-10 определяли в сыворотке, иммуноферментным методом с использованием набора реактивов Human IL-10 ELISA Kit (Китай). Обработка полученных данных проводилась в программном обеспечении STATISTICA 10.

Результаты и обсуждение. Полученные результаты свидетельствуют о нормальном содержании IL-10 у здоровых доноров, где концентрация IL-10 была равна 2,6 (2,4; 3,75) пг/мл, в то время как у пациентов с ССД уровень IL-10 повышен, медиана концентрации составила 45,77 (7,65; 145,7) пг/мл (рисунок 1).

Результаты анализа уровня IL-10 с использованием критерия Манна-Уитни выявили статистически значимые различия между здоровыми донорами и пациентами с системной склеродермией. Сумма рангов для группы здоровых доноров составила 20,00, в то время как для группы пациентов с ССД — 116,00, что указывает на более высокие концентрации IL-10 у последних. Значение U-критерия (5,00) и Z-статистики (-2,49) подтверждают значимость различий на уровне $p < 0,05$, что дополнительно подкрепляется двусторонним точным р-уровнем (0,0087).

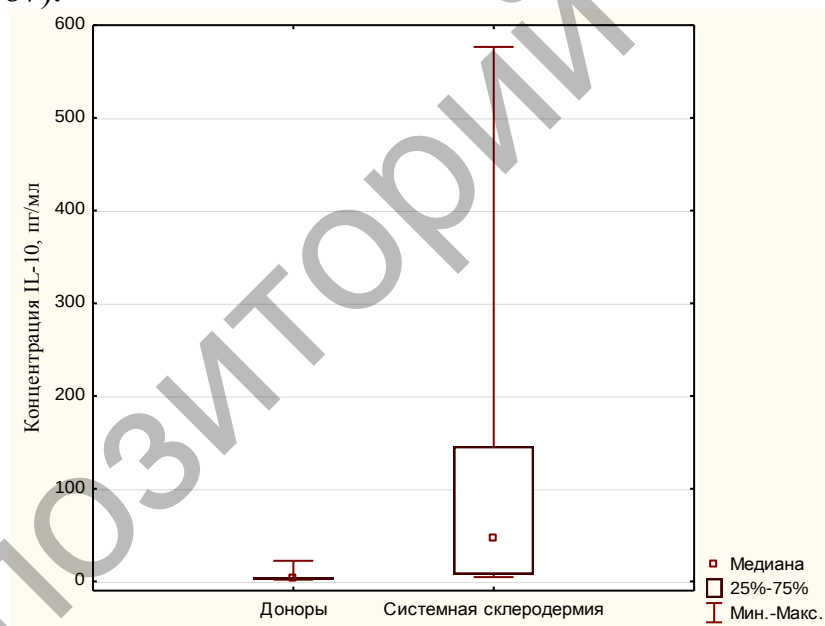


Рисунок 1 - Диаграмма размаха уровня IL-10 у пациентов с системной склеродермией и условно здоровых доноров

IL-10 является цитокином с выраженными противовоспалительными свойствами, который вырабатывается различными иммунными клетками, включая регуляторные Т-клетки (Treg), макрофаги, дендритные клетки и В-клетки. Основные функции IL-10 включают подавление продукции провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α , IL-1 β , IL-6 и IL-12, ингибирование активации антигенпрезентирующих клеток (например, дендритных клеток и макрофагов) и ограничение пролиферации эффекторных Т-клеток. Кроме того, IL-10 способствует дифференцировке и функциональной

активности регуляторных Т-клеток (Treg), которые играют ключевую роль в поддержании иммунной толерантности и предотвращении аутоиммунных реакций [2].

При ССД наблюдается хроническое воспаление, которое является движущей силой фиброза тканей и сосудистых изменений. Аутоиммунные процессы при этом заболевании включают активацию Т- и В-клеток, что приводит к продукции аутоантител, таких как антицентромерные антитела и антитела к топоизомеразе I. Кроме того, дисфункция эндотелия и активация фибробластов способствуют избыточному отложению коллагена и фиброзу. На фоне этих процессов отмечается повышенная экспрессия провоспалительных цитокинов, таких как IL-6, TGF- β и IL-17. В ответ на хроническое воспаление и аутоиммунные процессы организм может активировать компенсаторные механизмы, одним из которых является повышение уровня IL-10 [3].

Повышенный уровень IL-10 у пациентов с ССД может быть интерпретирован как компенсаторный механизм, направленный на ограничение чрезмерного воспаления и предотвращение дальнейшего повреждения тканей. Этот процесс может быть объяснен реакцией на провоспалительные стимулы, при которой хроническое воспаление и активация иммунных клеток стимулируют продукцию IL-10 как часть отрицательной обратной связи для сбалансирования иммунного ответа. Регуляторные Т-клетки (Treg), экспрессирующие IL-10, могут активироваться в ответ на аутоиммунные процессы для подавления активности эффекторных Т-клеток и уменьшения воспаления. Кроме того, IL-10 может играть роль в защите от фиброза, подавляя активацию фибробластов и продукцию TGF- β , ключевого медиатора фиброза.

Однако роль IL-10 при ССД неоднозначна и может быть парадоксальной. Несмотря на свои противовоспалительные свойства, IL-10 может также способствовать иммуносупрессии, что потенциально облегчает персистенцию аутоиммунных реакций. В некоторых случаях IL-10 может опосредованно влиять на продукцию TGF- β или других профибротических факторов, что способствует развитию фиброза. Это делает роль IL-10 в патогенезе ССД сложной и многогранной [4].

Клиническое значение повышенного уровня IL-10 заключается в его потенциальной роли как биомаркера активности заболевания. Уровень IL-10 может варьироваться в зависимости от стадии заболевания, подтипа ССД (например, ограниченная или диффузная форма) и активности фиброза. Взаимодействие IL-10 с другими цитокинами и иммунными клетками может определять его конечный эффект, будь то противовоспалительный или профибротический.

Понимание роли IL-10 открывает возможности для разработки новых терапевтических стратегий. Модуляция IL-10, например, увеличение его продукции, может быть полезной для подавления воспаления, но требует осторожности из-за потенциального риска усиления фиброза.

Выводы. Наблюдаемое статистически значимое повышение уровня IL-10 у пациентов с системной склеродермией в 17,6 раз по сравнению со здоровыми донорами отражает сложную иммунную регуляцию, направленную

на ограничение хронического воспаления и аутоиммунных процессов, требующую дальнейшего изучения для определения его роли в патогенезе заболевания. Однако двойственная роль IL-10 в патогенезе заболевания требует дальнейших исследований для разработки эффективных терапевтических стратегий, учитывающих баланс между противовоспалительными и антифибротическими эффектами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Interleukin-10 in Health and Disease. Current Topics in Microbiology and Immunology. / Fillatreau, S., & O'Garra, A. (Eds.), 2016. – 246 p.
2. Mavropoulos, A. IL-10-producing regulatory B cells (B10 cells), IL-17+ T cells and autoantibodies in systemic sclerosis / A. Mavropoulos, C. Liaskos, T. Simopoulou etc. // Clin Immunol. – 2017. – V.184. – p.26 – 32.
3. Muruganandam, M. Biomarkers in the Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment of Systemic Sclerosis / M. Muruganandam, A. Ariza-Hutchinson, R.A. Patel etc. // J Inflamm Res. – 2023. – V.16. – p.4633 – 4660.
4. Jin, J. Systemic Sclerosis is a Complex Disease Associated Mainly with Immune Regulatory and Inflammatory Genes / J. Jin, C. Chou, M. Lima, etc. // Open Rheumatol J. – 2014. – V.8. – p.29 – 42.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ДЕТЕЙ ШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА С МИКОПЛАЗМЕННОЙ ПНЕВМОНИЕЙ

Сорокопыт З.В.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Микоплазменная инфекция встречается повсеместно в любое время года. Климат и география не являются важными детерминантами в ее эпидемиологии. Глобальные данные о частоте возникновения данной инфекции в мире отсутствуют, т. к. в большинстве стран не ведется регистрация. В эпидемический период у детей школьного возраста до 40–60% всех пневмоний могут быть обусловлены этим возбудителем [1, 3]. Клинические проявления микоплазменной инфекции малоотличимы от других ОРИ, что в ряде случаев усложняет постановку правильного диагноза и откладывает назначение специфической терапии, способствуя рецидивирующему или затяжному течению заболевания. Микоплазма вызывает у детей и взрослых широкий спектр легочных и внелегочных заболеваний, которые развиваются как с поражением респираторного тракта, так и изолированно. Входными воротами для Мр являются слизистые респираторного тракта. Заражение происходит воздушно-капельным путем, источником выступает инфицированный человек. *Mycoplasma pneumoniae* является внутриклеточным возбудителем и может длительно персистировать в клетках эпителия и лимфоузлах, обуславливая более тяжелое

течение заболеваний легких [2, 3]. Для *Mp* характерно постепенное развитие заболевания, поэтому ее называют «walking pneumonia», т. е. «медленно развивающаяся». Клинические проявления *Mp* варьируют, нет однозначных клинико-лабораторных и рентгенологических признаков заболевания [1, 2, 3]. У микоплазм обнаружена потенциальная способность к обмену генетической информацией с вирусами, но не доказано, что это происходит в природе, к примеру, при смешанной вирусно-микоплазменной инфекции. Роль микоплазм в развитии патологии человека продолжает изучаться.

Цель. Установить клинико-лабораторные и рентгенологические особенности микоплазменной пневмонии у детей школьного возраста.

Материалы и методы исследования. Проведен ретроспективный анализ 104 карт (ф. 003у–07) пациентов школьного возраста (6–17 лет) с инфекцией *Mycoplasma pneumoniae*. Критерием включения в исследование была верифицированная микоплазменная пневмония (*MpП*). Всем пациентам проводилось комплексное клиническое обследование. Верификация диагноза «Пневмония» проводилась методом рентгенографии органов грудной клетки. Для уточнения этиологии пневмонии исследовали материалы назофарингеального мазка методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Исследование проводилось с помощью тест-системы «АртТест ОРИбакт», предназначенной для выявления и идентификации ДНК возбудителей острых респираторных инфекций человека *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydia pneumoniae* в биологическом материале методом одностадийной ПЦР с детекцией результатов в «режиме реального времени». Тест применяют для подтверждения текущей инфекции *M. pneumoniae*, а также для дифференциальной диагностики атипичной пневмонии от других инфекционных заболеваний дыхательных путей.

Результаты и обсуждение. Обследованы 104 ребенка с верифицированной микоплазменной пневмонией: 63 (60%) девочек и 41 (40%) мальчиков. При поступлении в стационар состояние всех пациентов было средней тяжести. Семейный очаг респираторной инфекции установлен у 11% детей. Симптомы ОРЗ у них наблюдались за 5–7 дней до госпитализации. У всех пациентов отмечалось острое начало заболевания с повышением температуры и появлением кашля. Согласно нашим данным, фебрильная лихорадка (39–40°C) наблюдалась у большинства пациентов – 77%, субфебрильная – у 20% детей. У 3% пациентов пневмония протекала с нормотермией. Длительность периода лихорадки у детей с микоплазменной пневмонией составила $6,5 \pm 2,7$ дней. Всем пациентам при поступлении была проведена пульсоксиметрия, сатурация кислорода была в пределах нормы и составила $97,10 \pm 0,75\%$. Характерным и постоянным признаком микоплазменной пневмонии был кашель, возникающий одновременно с повышением температуры, наблюдался у всех пациентов. Частый, непродуктивный, навязчивый кашель был у 78% детей, значительно реже – у 22% заболевших – превалировал продуктивный кашель ($p < 0,01$). Продуктивный кашель сохранялся длительно – $15,7 \pm 6,2$ дней. К концу лечения в стационаре кашель становился реже и мягче, но не исчезал полностью.

Наряду с кашлем у детей с МрП имели место поражение верхних дыхательных путей: острый фарингит у 47%, острый ринофарингит у 26%, острый катаральный отит у 5%. Влажные хрипы выслушивались значительно чаще – у 87% пациентов, чем сухие – у 13%, $p < 0,001$. У 21% детей из группы были выявлены сухие свистящие хрипы, удлинение выдоха, что трактовалось как обструктивный синдром.

У детей с МрП при рентгенологическом обследовании чаще встречалась односторонняя локализация пневмонии (84%): правосторонняя – у 54%, левосторонняя – у 30%, значительно реже двусторонняя – у 16%. Воспалительный процесс в верхней доле был лишь в 19% случаев, 81% – в нижней, $p < 0,001$. Согласно критериям степени тяжести в представленной выборке достоверно преобладали пациенты со среднетяжелой степенью заболевания – 89 (86%). 25 (14%) детей в связи с наличием осложнений (плеврит) и развитием дыхательной недостаточности, нуждались в наблюдении и лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии. Потребности в кислородотерапии у половины из них (13 из 25) не было, троим понадобилась неинвазивная респираторная поддержка. Четверым пациентам был проведен торакоцентез для активной аспирации плеврального выпота. У 1 ребенка (мальчик 12 лет с правосторонней нижнедолевой полисегментарной пневмонией) развилась легочная деструкция. Других легочных и внелегочных осложнений не диагностировано.

В ОАК лейкоцитоз констатирован у 21 (19%) пациентов с МрП, нейтрофилез у 13 (12%), лимфоцитоз у 40 (36%), повышение СОЭ было у всех изучаемых детей и составило $24,10 \pm 7,25$ мм/ч, анемия легкой степени тяжести была диагностирована у 5 пациентов. В биохимическом анализе крови повышение С-реактивного белка было выявлено в большей половине (65%) случаев, его уровень составил $28,7 \pm 11,54$ г/л. Лечение микоплазменной пневмонии проводилось согласно клиническому протоколу Министерства здравоохранения Республики Беларусь «Диагностика и лечение атипичных пневмоний у детей» № 65 от 24.04.2023. Продолжительность стационарного периода лечения детей с МрП составила $14,55 \pm 1,72$ дня. Показатели гемограммы у детей в процессе лечения выявили достоверное снижение лейкоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов и СОЭ. Также статистически значимые позитивные различия установлены в процессе наблюдения с уровнем СРБ: I обследование ($28,7$ (5,1; 69,6)) и при выписке $4,33$ (1,2; 9,1)), $p < 0,05$.

Выводы.

1. В большинстве изучаемых случаев заболевания диагностировалась очаговая пневмония средней степени тяжести с преимущественной локализацией в правой нижней доле. Количество осложненных форм было небольшим: 14% в виде плевритов и дыхательной недостаточности, что потребовало наблюдения и лечения в отделении реанимации.

2. Клинически микоплазменная пневмония у обследованных детей сопровождалась фебрильной температурой при относительно нетяжелом состоянии, длительно сохраняющимся малопродуктивным кашлем, наличием

стойких, преимущественно влажных, хрипов при аускультации.

3. Нами не выявлено четких лабораторных критериев микоплазменной пневмонии при проведении стандартных методов обследования. Лабораторными маркерами МрП были повышение СОЭ (100%), нормальный уровень лейкоцитов (81%), увеличение СРБ (55%) и лимфоцитоз (36%).

4. Для уточнения этиологии и выбора тактики терапии применяли исследование материалов назофарингеального мазка методом одностадийной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией результатов в «режиме реального времени».

5. Пневмонии во всех анализируемых случаях протекали с положительной клинической, лабораторной и рентгенологической динамикой и закончились выздоровлением.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ибрагимова, М. Ф. Оптимизация диагностики и лечения атипичной пневмонии у детей / М. Ф. Ибрагимова, М. С. Атаева // Журнал кардиореспираторных исследований. – 2022. – Т. 3. – № 2. – С. 62–64.

2. Клиника, диагностика и лечение респираторной *Mycoplasma pneumoniae*-инфекции у детей / А. Л. Заплатников [и др.] // Медицинский совет. – 2019. – № 17. – С. 91–98.

3. Румянцев, А. Г. Диагностические критерии атипичной микоплазменной пневмонии у детей / А. Г. Румянцев, М. Ф. Ибрагимова // Журнал гепато-гастроэнтерологических исследований. – 2022. – № 51 (3). – С. 95–98.

МАРКЕРЫ МЕТАБОЛИЗМА КОСТНОЙ ТКАНИ У ДЕТЕЙ РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

***Степанова Ю.И., Юрага Т.М., Хоровец А.И., Соловей О.М.,
Насибянец Н.В.***

*Белорусский государственный медицинский университет,
Минск. Республика Беларусь*

Актуальность. В детском возрасте патология височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС), к которой относят костные анкилозы и остеоартрозы, оказывает пагубное влияние на развитие лицевого черепа, ведет к лицевой асимметрии, микрогнатии и аномалиям прикуса. В настоящее время число детей, страдающих этими заболеваниями, не имеет тенденции к снижению и составляет, по данным литературы, от 53 до 79% среди всей детской патологии ВНЧС [3], причем 73% случаев дебюта патологического процесса приходится на первый год жизни, что обуславливает необходимость ранней диагностики и проведения лечения в максимально сжатые сроки.

Изучение маркеров метаболизма костной ткани за последние 20 лет привел к открытию и внедрению широкого спектра биохимических показателей в научные исследования и клиническую практику [4, 5]. К ним в первую следует отнести маркеры костеобразования, синтезируемые остеобластами –

карбокситерминальные пропептиды проколлагена 1 типа (P1CP), аминоконцевые пропептиды проколлагена 1 типа (P1NP), остеокальцин и костноспецифическую щелочную фосфатазу (BALP). Поиск литературных источников, посвященных исследованию маркеров остеогенеза у здоровых детей, выявил единичные работы с противоречивыми результатами [1, 2].

В связи с этим важное научно-практическое значение имеет определение биохимических показателей метаболизма костной ткани у детей, поскольку это дает возможность объективно оценивать состояние костно-суставного аппарата в детском возрасте с учетом возрастной периодизации.

Цель – установить уровень маркеров метаболизма костной ткани в сыворотке крови у детей разных возрастных групп.

Методы и материалы. Обследовано 85 детей I-II групп здоровья от 3 до 15 лет, проходящих ежегодное профилактическое обследование в амбулаторно-поликлиническом отделении УЗ «Минская областная детская клиническая больница». Группа исследования была стратифицирована на подгруппы в соответствии с возрастной периодизацией: дети от 1 года до 3 лет, n=26; от 4 до 6 лет, n=27; от 7 до 10 лет, n=25; дети от 11 до 15 лет, n=25.

Путем иммуноферментного анализа с использованием тест-наборов «Bioassay Technology Laboratory» (Китай) оценивали содержание в сыворотке крови следующих маркеров: P1CP (чувствительность метода 2,26 нг/мл), P1NP (чувствительность метода 2,51 нг/мл), BALP (чувствительность метода 0,52 IU/L), остеокальцин (чувствительность метода 0,026 нг/мл). Сывороточную концентрацию ионов кальция (Ca) и фосфора (P) определяли спектрофотометрическим методом с помощью реагентов CORMAY (Польша).

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%)).

Результаты. Физиологические процессы в костно-суставной ткани представляют собой скоординированную систему множества биохимических реакций, которые обеспечивают тканевой гомеостаз и восстановление после травмы, хирургического лечения. Репаративная регенерация кости регулируется многочисленными полифакторными сигнальными системами, которые реализуются на системном уровне посредством нейрогуморальных механизмов, локально – на уровне микроокружения, представленного экстрацеллюлярным матриксом. К основным локальным регуляторным факторам метаболизма костной ткани относят следующие [5,6]: остеокальцин, ионы фосфора и кальция, ферменты (BALP или остаса), матриксные белки (коллагены и их дериваты (P1NP, P1CP)).

Необходимо отметить, что на сывороточные уровни маркеров остеогенеза главным образом влияют изменения костного метаболизма, их концентрация практически не имеет суточных и сезонных колебаний. Однако в ряде исследований были зафиксированы межиндивидуальные различия, отражающие значительную разницу в скорости обновления костной ткани у

детей и взрослых людей [4]. Кроме того, популяционные референтные интервалы имеют достаточно широкий диапазон для использования, поэтому считаем целесообразным в рамках концепции доказательной медицины при проведении проспективных когортных исследований определять имманентные нормальные величины изучаемых показателей.

В таблице представлены уровни маркеров костной ткани у детей в возрасте от 1 до 15 лет.

Таблица 7 – Маркеры метаболизма костной ткани у детей в возрасте от 1 до 15 лет, Ме [25%; 75%]

Показатель	Подгруппы по возрасту			
	1-3 года, n=26	4-6 лет, n=27	7-10 лет, n=29	11-17 лет, n=30
PINP, нг/мл	994,0 [954,0;1120,0]	727,0 [665,0;821,0]	636,0 [621,0;704,0]	437,0 [387,5;489,3]
PICP, нг/мл	159,9 [124,6;182,6]	124,3 [78,6;1158,3]	116,5 [104,3;138,2]	110,5 [46,2;132,2]
Остеокальцин, нг/мл	13,5 [7,1;21,5]	6,5 [2,7;18,5]	6,1 [3,6;8,4]	4,68 [2,7;5,3]
BALP, IU/L	21,0 [15,3;25,8]	22,0 [18,0;26,0]	24,6 [20,0;32,2]	32,4 [27,0;42,0]
Ca, ммоль/л	2,32 [2,23;2,43]	2,46 [2,30;2,63]	2,29 [2,12;2,32]	2,37 [2,31;2,50]
P, ммоль/л	1,66 [1,45;1,71]	1,72 [1,53;1,83]	1,57 [1,47;1,69]	1,27 [0,97;1,36]

Достоинством определения представленных остеомаркеров является доступность взятия образцов крови и проведения анализа в учреждениях здравоохранения на различных уровнях, а также их высокая диагностическая значимость при оценке метаболической активности костной ткани для мониторинга эффективности лечения детей с патологией костно-суставного аппарата.

Выводы. В сыворотке крови у здоровых детей установлены возрастные уровни ряда остеомаркеров (остеокальцина, амино- и карбокситерминальных пропептидов проколлагена 1 типа, костноспецифической щелочной фосфатазы, ионов кальция и фосфора), что позволит при патологических состояниях выявлять их отклонения и оценивать скорость обменных процессов в костной ткани, а также проводить мониторинг эффективности лечения и профилактики осложнений артропластики у детей с заболеваниями ВНЧС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Викторова, И.А. Несовершенный остеогенез: полиморфизм клинических проявлений и тактика лечения / И.А. Викторова, Н.В. Коншу, Д.С. Иванова // Архив внутренней медицины. – 2015. – Т. 22, № 2. – С. 69-73.
2. Жекайте, Е.К. Диагностика и профилактика остеопороза у детей с муковисцидозом/ Е.К. Жекайте, Н.Д. Одинаева, А.Ю. Воронкова // Пульмонология. – 2024. – Т. 34, №2. – С. 289–294.

3. Миронов, С.П. Болезни костно-мышечной системы как социально-экономическая проблема/ С.П. Миронов, Н.А. Еськин, Т.М. Андреева // Вестник травматологии и ортопедии. – 2017. – № 2. – С.3-7.

4. Michelsen, J. Reference intervals for serum concentrations of bone turnover markers for men and women/ J. Michelsen, H. Wallaschofski, N. Friedrich, C. Spielhagen // Bone. – 2013. – Vol.57, №2. – P. 399-404.

5. Safari, B. Osteogenic potential of the growth factors and bioactive molecules in bone regeneration/ B. Safari, S. Davaran, A. Aghanejad // Int. J. Biol. Macromol. - 2021. - Vol. 175. – P. 544-557.

6. Schini, M. Bone Turnover Markers: Basic Biology to Clinical Applications/ M. Schini, T. Vilaca, F. Gossiel, S. Salam // Endocr. Rev. – 2023. - Vol. 44, №3. – P. 417-473.

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СЫВОРОТОЧНОГО БИОМАРКЁРА KREBS VON DEN LUNGEN-6 ПРИ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЛЁГКИХ

***Суркова Л.К., Иванова А.Л., Будник О.А., Богуш Л.С.,
Давидовская Е.И.***

*Республиканский научно-практический центр
пульмонологии и фтизиатрии, Минск, Республика Беларусь*

Актуальность. Интерстициальные заболевания лёгких (ИЗЛ) составляют гетерогенную группу заболеваний, поражающих интерстиций и паренхиму лёгких, приводящих к воспалению, фиброзу и нарушению легочной функции. При большинстве ИЗЛ, несмотря на адекватное лечение, на определённых стадиях развития может наблюдаться прогрессирование с развитием фиброзных изменений, от типа формирования которых зависит дальнейшее течение заболевания и прогноз.

В настоящее время выделяют особую форму ИЗЛ, которая определяется как прогрессирующий фиброзный фенотип ИЗЛ (ИЗЛ-ПФФ) и характеризуется быстрым нарастанием в легочной ткани фиброза, снижением легочной функции, увеличением выраженности клинических симптомов и неблагоприятным исходом [1, 6]. Поиск надёжных молекулярных биомаркеров, которые могли бы прогнозировать развитие прогрессирующего фиброза на более ранних сроках для проведения адекватного антифибротического лечения, является актуальным и востребованным клиникой. Наиболее изученным является сывороточный биомаркер Krebs von den Lungen-6 (KL-6), который рассматривается в качестве биомаркера прогрессирования легочного фиброза при ИЗЛ [2, 3, 7].

Сывороточный биомаркер KL-6 является основным маркёром повреждения и регенерации клеток альвеолярного эпителия и представляют собой высокомолекулярный гликопротеин, присутствующий в человеческом

муцине (MUC1), экспрессируемый на альвеолоцитах II типа и бронхиальных эпителиальных клетках.

KL-6 имеет различные патофизиологические функции, такие как ингибирование межклеточной адгезии эпителиальных клеток и индукцию миграции и выживания фибробластов, участвующих в процессах фиброзирования легочной ткани [4, 6].

Цель исследования. Определение диагностического и прогностического значения сывороточного биомаркера KL-6 при интерстициальных заболеваниях лёгких.

Материалы и методы. В исследование были включены 46 пациентов в возрасте от 28 до 77 лет (мужчины – 20, женщины – 26) с заболеваниями органов дыхания, из них 35 пациентов были с интерстициальными заболеваниями лёгких и 11 пациентов – с не-ИЗЛ (хронические неспецифические заболевания органов дыхания – 8 пациентов и постковидный поствоспалительный фиброз – 3 пациента) – группа сравнения. Контрольную группу составили 7 здоровых лиц.

Пациенты находились на обследовании и стационарном лечении в клинике РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии в период 2023-2024 гг.

Диагноз ИЗЛ основывался на результатах клинικο-рентгенологических, компьютерно-томографических исследованиях (КТВР), лабораторных данных, функциональных исследованиях лёгких и результатах хирургической биопсии лёгких - у 18 пациентов (39%). Различные типы ИЗЛ классифицировали в соответствии с рекомендациями ATS/ERS/JRS/ALAT [7].

Всем пациентам и здоровым лицам определяли концентрацию KL-6 в сыворотке крови с использованием набора реагентов KL-6 (Boditech, Корея) на основе флуоресцентного иммуноанализа в соответствии с протоколом производителя. Результаты измеряли с использованием иммунофлуоресцентного анализатора ICHROMA II Reader, Республика Корея, в U/mL.

С учётом клинικο-лабораторных данных, динамики КТВР и функции лёгких выделены две подгруппы пациентов с ИЗЛ: с прогрессирующим фиброзирующим фенотипом (ИЗЛ-ПФФ) – 18 пациентов (51,42%) и ИЗЛ с непровгрессирующим фиброзом – 17 пациентов (48,50%).

Статистическую обработку материала осуществляли с помощью программы Statistica 10.0. Использовали 95% ДИ, критерий χ^2 Пирсона и t-критерий Стьюдента. Оптимальное пороговое значение KL-6 оценивали с помощью ROC-анализа. Различия в сравниваемых группах считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждения. Повышение уровня KL-6 у пациентов регистрировалось независимо от основного механизма и триггера повреждения легких. С помощью ROC-анализа установлена диагностическая эффективность экспрессии KL-6 при ИЗЛ со специфичностью 85,7% и чувствительностью 80,8% (площадь под кривой ROC – 0,885). Пороговое значение сывороточного KL-6 составило 911,98 U/mL.

Уровень сывороточного KL-6 был значительно выше в группе пациентов с идиопатическим легочным фиброзом и составил $2172,12 \pm 273,19$ U/mL по сравнению с пациентами не-ИЗЛ (с хроническими неспецифическими воспалительными заболеваниями легких) – $964,07 \pm 306,26$ U/mL ($p=0,00827$) и здоровыми контрольными лицами – $620,73 \pm 113,63$ U/mL ($p=0,000080$).

Уровни KL-6 были выше у пациентов с прогрессирующими фиброзным фенотипом ИЗЛ ($2556,26 \pm 208,36$ U/mL), по сравнению с пациентами ИЗЛ без прогрессирующего фиброза ($851,26 \pm 131,73$ U/mL, $p=0,000001$).

При ИЗЛ-ПФФ отмечалась более тяжелая степень снижения диффузионной способности легких ($<40\%$ должного) у $73,33\%$ (95% ДИ 50,9-95,7) пациентов по сравнению с пациентами с не-ИЗЛ – у $10,0\%$ (95% ДИ -8,6-28,6), ($p=0,002$; $\chi^2=9,642$).

Прогрессирующий фиброзный фенотип ИЗЛ с высоким уровнем сывороточного биомаркера KL-6 наиболее часто отмечался при идиопатическом легочном фиброзе – у $50,0\%$ (9/18, 95% ДИ 26,9-83,1) пациентов, значительно реже – при ИЗЛ, ассоциированных с системными заболеваниями соединительной ткани – у $22,2\%$ (4/18, 95% ДИ 3,0-41,4), ещё реже при неклассифицированных ИЗЛ – у $16,6\%$ (3/18, 95% ДИ -0,6-33,8) пациентов. При саркоидозе повышение уровня KL-6 в сыворотке крови отмечалось только в двух случаях ($11,1\%$). Повышение уровня KL-6 в сыворотке крови при различных ИЗЛ указывает на важность идентификации KL-6 по всему спектру ИЗЛ.

Уровень KL-6 отражает степень повреждения и регенерации пневмоцитов II типа и может предсказывать риск прогрессирования фиброза при ИЗЛ. Ряд исследователей показали, что повреждённые альвеолоциты секретируют большое количество KL-6, которое способствует фиброзированию лёгких посредством множественных механизмов, включая активацию фибробластов [4].

Заключение. Таким образом, экспрессия сывороточного уровня KL-6 может рассматриваться как перспективный биомаркер ИЗЛ и предиктор неблагоприятного исхода.

Определение сывороточного биомаркера KL-6 в комплексе с данными КТВР и функциональными показателями легких может быть использовано при оценке тяжести прогрессирующего течения ИЗЛ с нарастающими фиброзными изменениями интерстиция легочной ткани. Для подтверждения наших результатов необходимо проведением многоцентровых исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авдеев С.Н., Чикина С.Ю., Тюрин И.Е. и соавт. Хронические фиброзирующие интерстициальные заболевания легких с прогрессирующим фиброзным фенотипом: резолюция Междисциплинарного Совета экспертов. Пульмонология. 2021;31(4):505-510. doi.org/10.18093/0869-0189-2021-31-4-505-510
2. Hambly N, Shimbori C, Kolb M. Molecular classification of idiopathic pulmonary fibrosis: personalized medicine, genetics and biomarkers. Respirology 2015; 20: 1010–1022. doi:10.1111/resp.12569.
3. He J., Zhang J., Ren X. Krebs von den lungen-6 as a clinical marker for hypersensitivity pneumonitis: A meta-analysis and bioinformatics analysis. Front Immunol. 2022; 13. doi: 10.3389/fimmu.2022.1041098.

4. Ohshimo S., Ishikawa N., Horimasu Y. et al. Baseline KL-6 predicts increased risk for acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Med.* 2014; 108 (7): 1031-39. doi: 10.1016/j.rmed.2014.04.009

5. Raghu G, Collard HR, Egan JJ, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183: 788–824. doi:10.1164/rccm.2009-040GL

6. Selman M, Pardo A. When things go wrong: exploring possible mechanisms driving the progressive fibrosis phenotype in interstitial lung diseases. *Eur Respir J* 2021; 58: 2004507. doi:10.1183/13993003.04507-2020.

7. Wang Ch., Wang Q., Liu T. et al. Krebs von den Lungen-6 (KL-6) as a diagnostic marker for pulmonary fibrosis: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Biochem.* 2023; 114: 30-38. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2023.01.010.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ФАКТОРОВ РОСТА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И СЛЕЗЕ У ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИОННЫМИ КЕРАТИТАМИ И ЯЗВАМИ РОГОВИЦЫ

**Урбан О.С.¹, Ситник Г.В.², Степанова Ю.И.², Лебедева П.А.²,
Хоровец А.И.²**

¹*10-я городская клиническая больница г. Минска;*

²*Белорусский государственный медицинский университет,
Минск. Республика Беларусь*

Актуальность. Инфекционно-воспалительные заболевания роговицы представляют собой большую медико-социальную проблему, что обусловлено не только их большой распространенностью, но и длительностью лечения, частыми рецидивами, а также снижением остроты зрения вплоть до слепоты. Инфекционные кератиты и язвы роговицы характеризуются наличием повреждения эпителия, выраженным воспалением в строме роговицы и передней камере глаза, а также его прогрессированием с развитием очага деструкции ткани вплоть до перфорации, что является показанием для экстренной лечебной пересадки роговицы. Язвы и тяжелые кератиты, лечение которых было своевременным и успешным, разрешаются с последующим формированием помутнения роговицы и снижением остроты зрения [2, 5].

Межклеточные взаимодействия, опосредованные различными цитокинами и ростовыми факторами, имеют решающее значение в поддержании гомеостаза глазной поверхности, заживлении и восстановлении структуры роговицы, в которой эпителиальная и соединительная ткани контактируют анатомически и влияют друг на друга функционально [4].

Слезная жидкость является мультикомпонентной системой, которая обеспечивает гомеостаз глазной поверхности посредством происходящих в ней биохимических, иммунологических, регуляторных и протективных процессов [3]. В связи с этим немалый интерес в научном и прикладном аспектах

вызывает изучение экспрессии биохимических маркеров не только в крови, но и в слезе для оценки локальных и системных патобиохимических изменений и нарушения гомеостаза глазной поверхности при развитии тяжелых воспалительных и дегенеративных заболеваний роговицы, протекающих с деструкцией ее ткани.

Цель исследования – сравнительная оценка экспрессии сосудистого эндотелиального фактора роста (СЭФР) и трансформирующего фактора роста бета (ТФР- β 1) в сыворотке крови и слезной жидкости у пациентов с инфекционными кератитами и язвами роговицы.

Материал и методы исследования. Обследовано 38 пациентов с инфекционными кератитами и язвами роговицы, развившимися при нарушении целостности эпителия роговицы в результате травмы, нарушенного режима ношения мягких контактных линз; средний возраст $48,1 \pm 16,8$ лет, 10 мужчин, 28 женщин. Пациенты находились на лечении в офтальмологическом отделении 10-й городской клинической больницы г. Минска. Всем проводили полное офтальмологическое обследование. Определяли содержание СЭФР, ТФР- β 1 в сыворотке крови и слезе методом иммуноферментного анализа с помощью тест-наборов производства BTLab (Китай). Взятие крови у пациентов осуществляли в день поступления в стационар утром натощак путем пункции локтевой вены в количестве 5 мл при помощи вакутайнеров. Слезную жидкость получали по ранее описанному методу [1]. Концентрации аналитов в слезной жидкости определяли с учетом кратности разведения слезы на преаналитическом этапе по разработанному методу [1].

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%)). Наличие связи двух случайных величин и оценка существенности этой связи определена с помощью корреляционного анализа Спирмена, где линейный коэффициент корреляции (r) принимает значения от -1 (обратная связь) до +1 (прямая функциональная связь), а при $r = 0$ связь отсутствует. Статистически значимыми являлись различия при $<0,05$ независимо от метода применяемого анализа.

Результаты исследования. В сыворотке крови экспрессия ростовых факторов СЭФР и ТФР- β 1 составила соответственно $248,4 [179, 2; 697, 6]$ нг/л и $107,8 [51,6; 171,6]$ нг/л. В слезной жидкости уровни СЭФР и ТФР- β 1 составили соответственно $7650,0 [4998,0; 15150, 0]$ нг/л и $1811,0 [1155,6; 3737,0]$ нг/л. Активность изоформ ТФР- β проявляется стимуляцией роста мезенхимальных клеток и формирования межклеточного матрикса, а также иммуносупрессивным эффектом, в то время как СЭФР играет ведущую роль в регуляции ангиогенеза и нейрорегенерации, в том числе в структурах глаза [6].

Ранее нами установлено, что изменение элементного состава слезы играет важную роль в этиопатогенезе различных патологических состояний органа зрения [3]. Однако вопрос о взаимосвязи биохимического состава слезной

жидкости и сыворотки крови до сих пор не изучен. В связи с этим актуальным представляется сопоставление биохимического состава этих биологических жидкостей для оценки содержания различных маркеров в слезе в качестве универсального малоинвазивного диагностического инструмента в офтальмологии. Для сравнительной оценки и сопоставления содержания изучаемых биохимических маркеров в разных биологических средах был проведен корреляционный анализ, результаты которого представлены на рисунках 1 и 2.

Установлена сильная прямая зависимость между содержанием в слезе и сыворотке крови ТФР- $\beta 1$ ($r_s = 0,84$, $p = 0,001$), а также выявлена заметная прямая связь по уровню СЭФР в исследуемых биологических жидкостях ($r_s = 0,55$, $p = 0,024$). Полученные результаты демонстрируют однозначную взаимосвязь между составом слезной жидкости и сыворотки крови у пациентов с инфекционными кератитами и язвами роговицы.

Следовательно, определение состава слезы имеет самостоятельное диагностическое значение и обладает рядом преимуществ: получение слезной жидкости малоинвазивно и не требует специальных устройств, имеется возможность многократного проведения анализа в динамике.

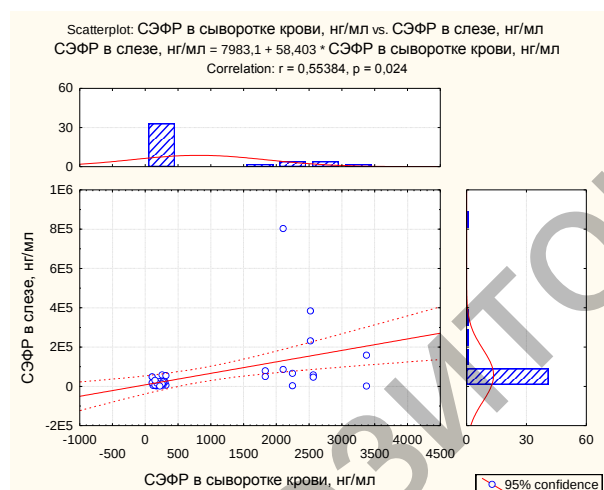


Рисунок 1 – Корреляционная зависимость между содержанием СЭФР в слезе и сыворотке крови у пациентов с инфекционной язвой роговицы

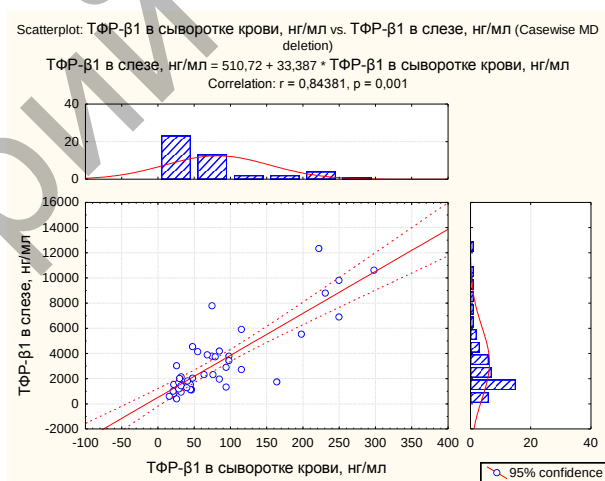


Рисунок 2 – Корреляционная зависимость между содержанием ТФР- $\beta 1$ в слезе и сыворотке крови у пациентов с инфекционной язвой роговицы

Выводы. В результате проведенного исследования установлено, что определение состава слезной жидкости можно использовать в качестве доступного диагностического инструмента, который может стать альтернативой инвазивным методам для оценки эффективности лечения и прогнозирования течения заболевания у пациентов с инфекционными кератитами и язвами роговицы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лабораторное исследование слезной жидкости на основе использования стандартизированной технологии ее сбора и пробоподготовки: результаты валидации метода сбора биологической жидкости/ Г.В. Ситник [и

др.] // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2021. – Т.10, № (4). – С. 483–492.

2. Оптимизация этиологической диагностики и повышение эффективности лечения инфекционных язв роговицы центральной локализации/ В.В. Нероев [и др.] // Российский офтальмологический журнал. – 2017. – Т.10, №3. – С. 56-61.

3. Ситник, Г.В. Нарушение гомеостаза глазной поверхности при прогрессировании кератоконуса/ Г.В. Ситник, Ю.И. Степанова// Офтальмология. Восточная Европа. – 2024. – Т.14, №1. – С.8-16.

4. Protection in the Cornea: Failure and Rescue / T. Volatier [et al.] // Biology. – 2022. – Vol.11, №2. – P.278-284.

5. Infectious keratitis: an update on epidemiology, causative microorganisms, risk factors, and antimicrobial resistance/ D.S. Ting [et al.] // Eye. – 2021. – Vol.35, №4. – P. 1084–1101.

6. Wilson, S.E. TGF beta -1, -2 and -3 in the modulation of fibrosis in the cornea and other organs// Exp. Eye Res. – 2021. – Vol. 207. - P.108594.

CHRONIC KIDNEY DISEASE AND BLOOD SERUM BIOCHEMICAL MARKERS IN HEMODIALYSIS PATIENTS

Devina E.A., Kubeko A.V., Yamasaki Y.L.

Belarussian State Medical University, Minsk, Belarus

Background. Chronic kidney disease (CKD) is currently a significant medical and socio-economic problem in the modern society. The prevalence of CKD varies from 3.6% to 25% among adults. CKD is a progressive condition characterized by structural and functional changes to the kidney due to various causes. Irreversible glomerular and tubular damage develops during CKD pathogenesis, which can be predicted using several biochemical markers. The course and prognosis of CKD largely depend on the timely identification and elimination of factors that contribute to the acceleration of nephrosclerosis and the development of complications.

Currently, the only methods of treatment for the terminal stage of CKD are renal replacement therapy – hemodialysis (artificial kidney), peritoneal dialysis and kidney transplantations. Hemodialysis, a method of extrarenal blood purification from substances with low and medium molecular weight, is based on selective diffusion and ultrafiltration of substances through an artificial semipermeable membrane (dialyzer) [6].

Objective. Analysis of biochemical blood markers in patients with chronic renal failure before and after hemodialysis. The results allow the evaluation of the extent to which hemodialysis is able to compensate for the work of healthy kidneys.

Materials and methods. The blood serum of 56 patients (54% men and 46% women) aged 38 to 82 years diagnosed with chronic kidney disease in the terminal stage (CKD5) was studied. All patients were undergoing treatment in the nephrology and hemodialysis department of the State Institution “Minsk Scientific and Practical

Center for Surgery, Transplantology and Hematology”. Hemodialysis was performed using a standard bicarbonate solution through an arteriovenous fistula. The device used was Fresenius 5008S with FX70 dialyzers. The procedures lasted 4 hours and were performed 3 times per week. Biochemical markers (creatinine, urea, uric acid, potassium, total calcium, phosphorus) were determined on the analyzer Architect c8000. The statistics of the results were processed using the program Statistica 10. Results were considered statistically significant when $p < 0.05$.

Results and discussion. The dynamics of the main biochemical blood markers in patients suffering from chronic renal failure were assessed before and after hemodialysis.

Epidemiological studies suggest a relationship between CKD and hyperuricemia, with increasing evidence that elevated uric acid levels are a cause of kidney damage. Possible mechanisms for the development of CKD because of hyperuricemia include immune inflammation, both uric acid crystallization-mediated and crystal-independent inflammation. This data leads to the presentation of uric acid as a potential and modifying risk factor for kidney disease [1]. We determined that the average level of uric acid in the pre-dialysis period in patients with CKD was $453.2 \pm 31.5 \mu\text{mol/l}$, which is 2.2 times higher than normal. After dialysis, uric acid levels decrease, but do not reach normal values. However, whether hyperuricemia is simply a result of decreased renal excretion of uric acid or contributes to the progression of kidney disease remains undetermined [4].

It was determined that in patients with CKD creatinine concentration before the hemodialysis procedure was 10 times the normal amount and was equal to $880.6 \pm 180.7 \mu\text{mol/l}$. After the hemodialysis procedure the creatinine level decreased to $234.9 \pm 47.2 \mu\text{mol/l}$, but exceeded the referenced value of this indicator in a healthy person by 2.1 times. It was found that in the blood serum of patients with CKD urea content increased to more than 3 times the normal amount ($24.0 \pm 3.7 \text{ mmol/l}$). After the programmed dialysis procedure, the urea level decreased to $7.18 \pm 2.1 \text{ mmol/l}$, which corresponds to normal values. For many years, urea was considered to be a relatively inert, nontoxic molecule. But several studies have shown that urea is a direct and indirect uraemic toxin. Although the mechanisms of urea's direct toxicity still require further investigation, *in vitro* and *in vivo* studies have shown that uraemia modulates the smooth muscle cell's phenotype, induces the expression of pro-apoptotic family genes. Other studies have shown that urea has an indirect toxic effect via protein carbamylation, which interferes with the proteins' molecular and cellular functions and is associated with CKD progression after adjustment for conventional risk factors.

It has been shown that calcium-phosphorus metabolism is disrupted in patients with CKD. According to literature data, CKD patients with a decrease in the glomerular filtration rate (GFR) $\leq 60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ experience an increase in the level of phosphorus in their blood [3]. To prevent the development of hyperphosphatemia, osteocytes secrete Fibroblast Growth Factor-23, FGF-23, which binds to and activates FGF receptor type 1 (FGF-R1). FGF-R1 functions in conjunction with the transmembrane protein Klotho in the renal tubules as a receptor complex that blocks the formation of the enzyme $\alpha 1$ -hydroxylase in the kidneys (the

formation of calcitriol decreases) and reduces the expression of sodium-phosphorus cotransporters type 2, which ensures the reabsorption of phosphorus in the proximal tubules of the kidneys. This prevents the development of hyperphosphatemia in the early stages of CKD. However, when the GFR decreases to less than 50 ml/min/1.73 m², this compensatory mechanism loses the ability to maintain the proper level of phosphorus in the blood, which leads to hyperphosphatemia. CKD5 is characterized by a GFR of less than 15 ml/min/1.73 m² [4]. We found an increase in phosphate ions in the blood serum (2.12±0.32 mmol/l) and a decrease in the level of total calcium to 1.84±0.14 mmol/l. After the hemodialysis procedure, the content of phosphate ions was restored to 1.32±0.21 mmol/l, which corresponds to normal reference values. After the hemodialysis procedure, we observed a tendency towards an increase in the blood serum calcium level (1.91±0.5 mmol/l) relative to the pre-dialysis level, however the indicator was still below normal.

It was found that patients with CKD have hyperkalemia, the concentration of potassium ions before dialysis was 5.9±0.3 mmol/l. After dialysis, the level of potassium in the blood decreased and was 3.8±0.4 mmol/l, which corresponds to the normal value.

Conclusion. In the patients with CKD5 nitrogen and mineral metabolism is disrupted, characterized by azotemia, hyperuricemia, hyperkalemia, hypocalcemia, and hyperphosphatemia, which are compensated to a certain extent after programmed hemodialysis.

REFERENCES

1. Eliseev M.S. Chronic kidney disease: the role of hyperuricemia and the possibility of urate-lowering therapy / M.S. Eliseev // *Modern Rheumatology Journal*. – 2018. – Vol.12(1). – P. 60-65. <https://doi.org/10.14412/1996-7012-2018-1-60-65>. – (Date of access 03.02.2025).
2. Feng T. Prevalence of and risk factors for chronic kidney disease in ten metropolitan areas of China: a cross-sectional study using three kidney damage markers / T.Feng [et al] // *Ren Fail.* – 2023. – Vol. 45 (1). – P. 160-165.
3. Hruska K.A. Chronic kidney disease - mineral and bone disorders. / K.A. Hruska [et al] // *Chronic Renal Disease*. Academic Press. – 2020 – P. 551-569.
4. Kampmann J.D. Prevalence and incidence of chronic kidney disease stage 3-5: results from KidDiCo / J.D. Kampmann [et al] // *BMC Nephrol.* – 2023. – 24 (1). – P.17.
5. Kunitskaya N.A. The role of uric acid in the development of inflammation in kidney disease/ N.A.Kunitskaya [et al]//*Nephrology (Saint-Petersburg)*. – 2023. – 27(2) – P. 39-46. <https://doi.org/10.36485/1561-6274-2023-27-2-39-46/>. – (Date of access 03.02.2025).
6. Rumyantsev A.S. Sarcopenic obesity in patients receiving treatment with programmed hemodialysis / A.S.Rumyantsev [et al] // *Nephrology (Saint-Petersburg)*. — 2022. – 26(2) – P. 77-84. DOI: 10.36485/1561-6274-2022-26-2-77-84.

Раздел 5.

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ПРЕПОДАВАНИЯ ОБЩЕЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ В ВУЗАХ

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ РЕЙТИНГОВОЙ СИСТЕМЫ ОЦЕНКИ ЗНАНИЙ ПО БИОХИМИИ НА ФАКУЛЬТЕТЕ ИНОСТРАННЫХ УЧАЩИХСЯ ГРОДНЕНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Виницкая А.Г., Петушок Н.Э.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Введение. Предоставление образовательных услуг на английском языке (English medium) является важным направлением в работе Гродненского государственного медицинского университета. Этот вид деятельности повышает рейтинг учреждения образования и позволяет привлекать большее количество иностранных студентов, что, в свою очередь, несет определенную экономическую выгоду [2].

Преподавание биологической химии иностранным студентам на русском языке в ГрГМУ ведется с 1992 года, с 2003 года обучение проводится и на английском языке. Учебный процесс осуществляется в соответствии с учебной программой дисциплины «Биологическая химия» для специальности 7-07-0911-01 «Лечебное дело». Организация учебной деятельности граждан других государств имеет свою специфику и требует учета различий, как в базовой, так и в языковой подготовке.

В 2023 г. на кафедре биологической химии было разработано «Положение о рейтинговой системе оценки знаний студентов факультета иностранных учащихся по дисциплине «Биологическая химия», в основу которого легли требования «Положения о рейтинговой системе оценки знаний студентов по дисциплине», утвержденного приказом ректора университета (02.06.2015 № 196).

Цель. Анализ применения рейтинговой системы оценки знаний по биохимии для студентов факультета иностранных учащихся (English medium), сдававших экзамен в 2023-2024 годах.

Материалы и методы. Была использована статистическая информация о студентах факультета, освобождаемых от сдачи курсового экзамена по биологической химии в 2023 и 2024 годах.

Результаты и обсуждение. Согласно рейтинговой системе при обучении дисциплине «биологическая химия» оценка успеваемости студентов факультета иностранных учащихся проводится с учетом: **текущего, промежуточного, и**

итогового контроля (текущей аттестации) на курсовых экзаменах. Знания студентов оцениваются в соответствии с критериями оценки знаний и компетенций студентов по 10-балльной шкале, разработанными Министерством образования Республики Беларусь [1].

Текущий контроль осуществляется в виде устных опросов, письменных работ, тестов, рефератов на практических, лабораторных и семинарских занятиях. По результатам текущего контроля рассчитывается балл успеваемости как среднеарифметическое значение отметок, полученных в течение учебного года.

Промежуточный контроль представляет собой контроль знаний на четырех итоговых контрольных занятиях, информация о которых доводится преподавателем до сведения студентов на первом занятии в каждом семестре. В конце учебного года по результатам **промежуточного контроля (ПК)** рассчитывается среднеарифметический балл отметок, полученных студентом на промежуточном контроле при изучении дисциплины.

Итоговый контроль (текущая аттестация) представляет собой экзамен в сессионный период по дисциплине в целом [1].

Для расчета итоговой оценки на экзамене по дисциплине «Биологическая химия» (**рейтинг учебный = R_y**) используется следующее уравнение:

$$R_y = T_{\text{Кср}} \times 0,2 + П_{\text{Кср}} \times 0,3 + И_{\text{Кср}} \times 0,5 + Б^*,$$

где **$T_{\text{Кср}}$** – средняя отметка, полученная студентом по результатам текущего контроля;

$П_{\text{Кср}}$ - средняя отметка, полученная студентом по результатам промежуточного контроля;

$К_{\text{ср}}$ - средняя отметка, полученная студентом по результатам ответа на вопросы экзаменационного билета;

Б – бонусная отметка.

Бонусная отметка добавляется к рейтингу учебному (R_y) по решению кафедры за различные виды учебно-исследовательской деятельности студента, включая активное участие в работе студенческого научного кружка, выступление с докладом на студенческой научной конференции университета, участие и занимание призовых мест на 2-м туре предметной олимпиады, или другие виды деятельности. Значение округляется до целого числа.

Согласно положению о рейтинговой системе, иностранные студенты со средней текущей оценкой не ниже 7,0 и, имеющие высокие баллы (8-10 баллов) по промежуточному контролю, получили возможность получения итоговой оценки за экзамен на основе среднеарифметического значения отметок промежуточного контроля. При желании студенту, имеющему оценку 7 за одно из контрольных занятий, разрешается повысить свой учебный рейтинг, пересдав контрольную работу до начала экзаменационной сессии. В случае несогласия студента с предлагаемой отметкой он проходит итоговый контроль по учебной дисциплине на общих основаниях.

В 2023 году от сдачи экзамена по биохимии было освобождено 24 студента факультета иностранных учащихся, обучающихся на английском языке, что составило примерно 20% от списочного состава курса. В 2024 г. от сдачи экзамены были освобождены 9 человек, или 7,7% от списочного состава обучающихся на курсе. Победители олимпиады освобождались от сдачи экзамена по биологической химии с выставлением высшей оценки за экзамен (10).

Заключение. Таким образом, применение рейтинговой системы оценки на факультете иностранных учащихся способствуют повышению интереса студентов к биохимии. Информирование студентов об этой системе на первых занятиях является стимулирующим фактором для успевающих студентов тщательнее готовиться к занятиям и получать высокие оценки. Разработанная нами система бонусов также способствует привлечению студентов к другим видам деятельности: участию в олимпиаде и конференциях, подготовке докладов по биохимической тематике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Леднёва. И.О. Рейтинговая система как форма контроля знаний / И. О. Леднёва // Актуальные проблемы биохимии. Сборник материалов научно-практической конференции с международным участием. – Гродно : ГрГМУ, 2021. - С. 46-49.
2. Современные тенденции преподавания биологической химии в медицинском университете / В. В. Лелевич, И. О. Леднёва, С. С. Маглыш, [и др]. - Гродно : ГрГМУ, 2022. – 192 С.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ПРИ ИЗУЧЕНИИ БИОХИМИИ

Громыко М.В., Мышковец Н.С., Логвинович О.С, Литвинчук А.В.

*Гомельский государственный медицинский университет,
Гомель, Республика Беларусь*

Актуальность. Предметные компетенции студентов-медиков – это совокупность знаний, умений и навыков, необходимых для успешной профессиональной деятельности в области медицины, которые формируются на основе изучения основных учебных дисциплин медицинского профиля, таких как анатомия, физиология, патология, фармакология, хирургия и т.д. Однако формирование предметных компетенций будущего врача невозможно без знаний биологической химии. Сложность понимания учебного материала, обилие формул, множество специализированных терминов и понятий, трудных для восприятия и запоминания и большие объемы изучаемой информации приводят к тому, что студентам тяжело ориентироваться и усваивать учебный материал по биологической химии.

Однако, эффективность усвоения учебного материала во многом зависит от правильно выстроенного процесса обучения, продуманного выбора форм и

методов его реализации. Клиническое мышление представляет собой гармоничное соединение мыслительных операций, таких как анализ и синтез, дедукция и индукция, суждение и умозаключение, обобщение, и других, направленных на продуктивную реализацию медицинской диагностики, прогностики и тактики лечения [3]. Необходимо понимать, что профессиональная деятельность врача напрямую зависит от качества мышления, поэтому креативное мышление представляет собой часть эффективного клинического мышления. Креативное мышление в системе высшего образования, основывается на активной работе обоих полушарий головного мозга, поэтому абстракция и логика дополняются способностью к активному созданию образов [2]. Развитие подобного вида мышления в медицинском учреждении высшего образования играет ключевую роль в подготовке будущих специалистов. Данный процесс включает в себя использование различных методов и средств, которые помогают студентам лучше усваивать материал и развивать практические навыки. Особую роль при этом играют графические методы обучения, которые включают творческие задания по учебным дисциплинам, изображённые при помощи геометрических фигур, линий и разнообразных символических образов.

Изучение биологической химии предполагает обширный объём материала, а также интеграцию знаний из различных областей, таких как химия, биология, физика и математика, поэтому коллективом авторов УО «Гомельский государственный медицинский университет» было разработано учебно-методическое пособие (УМП) «Биохимия для самостоятельной работы» [1]. УМП содержит иллюстрации, таблицы и схемы метаболических путей, биохимических реакций и процессов, требующие самостоятельной доработки, что выделяет данное УМП от всех других изданий такого типа. Кроме того, в учебно-методическом пособии приведены задания различного уровня сложности, что, несомненно, способствуют формированию более осмысленной деятельности и умению студентов применять полученные теоретические знания при постановке и решении практических задач.

Например, по теме «Биохимия белков и нуклеиновых кислот» в УМП приведены следующие задания:

Задание 1:

а) Пользуясь схемой рисунка 1 напишите реакции синтеза аланина, глутамата, глутамина, аспартата и аспарагина из глюкозы. Назовите ферменты и укажите их класс.

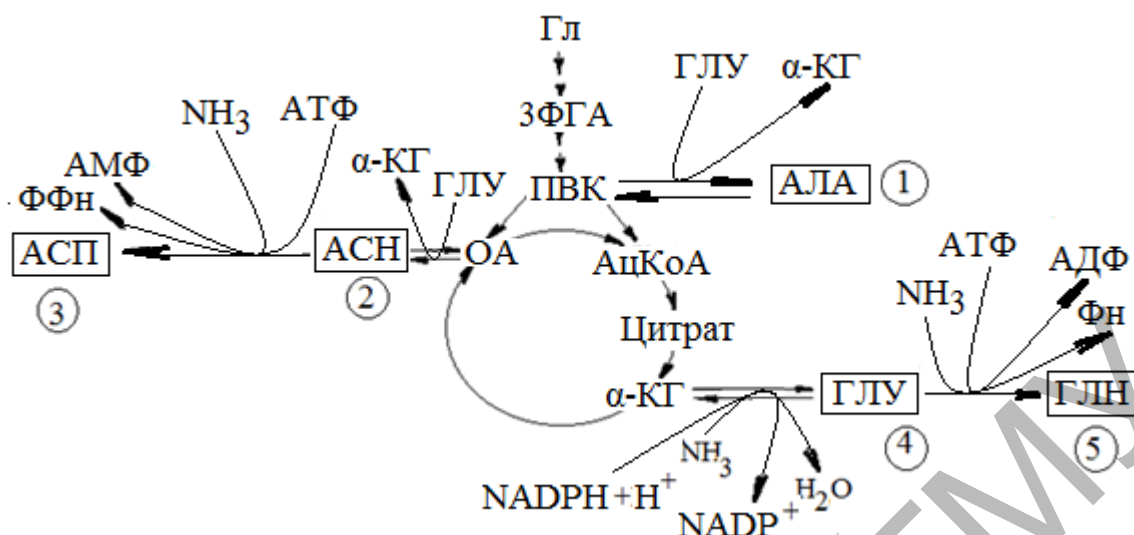


Рисунок 1 – Синтез некоторых заменимых аминокислот из глюкозы

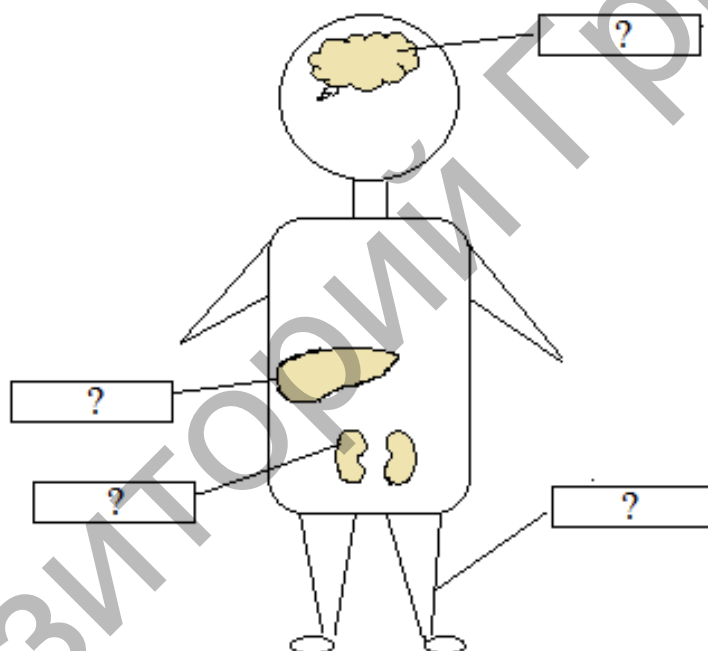


Рисунок 2 – Локализация путей обезвреживания аммиака в организме

Задание 2:

а) Нарисуйте рисунок 2 и обозначьте на нем следующие механизмы обезвреживания аммиака: цикл Фелига, цикл синтеза мочевины, образование амидов аминокислот, аммонийогенез;

б) Какие механизмы направлены на связывание аммиака, а какие на его выведение из организма?

Цель. Оценить эффективность внедрения в образовательный процесс на кафедре биологической химии УО «Гомельский государственный медицинский университет» графических методов обучения.

Материалы и методы исследования. В качестве целевой аудитории были выбраны студенты 1,2 курса обучающиеся по специальности 7-07-0911-02 «Медико-профилактическое дело», в образовательный процесс которых была

внедрена методика активного использования разноуровневых заданий, представленных в УМП «Биохимия для самостоятельной работы». После проведения практического занятия студентам было предложено пройти анкетирование.

Вопросы анкеты:

- Графические задания позволяют лучше понять учебный материал *(да / нет / затрудняюсь ответить)*;
- Решение графических задач требует креативного подхода к информации *(да / нет / затрудняюсь ответить / помогает развивать навыки анализа и синтеза, необходимые для научной работы / задания делают процесс обучения более увлекательным)*;
- Развиваются навыки сотрудничества и коммуникации *(да, нет, затрудняюсь ответить)*;
- Улучшается запоминание информации *(да, нет, затрудняюсь ответить)*;
- Создается более дружелюбная атмосфера во время практического занятия *(да, нет, затрудняюсь ответить)*;

Статистическая обработка результатов анкетирования проводилась с использованием программы Excel.

Результаты и обсуждение. По результатам анкетирования 90% опрошенных считают, что графические задания способствуют более глубокому осмыслению биохимических понятий, так как студенты вынуждены анализировать и интерпретировать информацию, а не просто запоминать факты. 98% обучающихся согласны, что решение графических задач требует от студентов креативного подхода к информации, что помогает развивать навыки анализа и синтеза, необходимые для научной работы. Абсолютно все отметили, что решение графических задач требует от студентов креативного подхода к информации, поскольку креативные задания делают процесс обучения более увлекательным, что усиливает интерес студентов к предмету и желание изучать его глубже. Развитие навыков сотрудничества и коммуникации положительно оценили 88% анкетированных, так как многие графические задания выполняются в группах. Большинство, 78% студентов, отметили улучшение запоминания информации: графический подход к обучению помогает лучше запомнить сложные биохимические понятия, ведь они ассоциируются с личным опытом и эмоциональным вовлечением. Создание положительной атмосферы в учебной аудитории: графические задания способствовали созданию более дружелюбной и поддерживающей атмосферы во время практических занятий, что важно для успешного обучения, по мнению 90% респондентов.

Таким образом, применение на практических занятиях учебно-методического пособия «Биохимия для самостоятельной работы», содержащего графические задания по основным темам учебной дисциплины «Биологическая химия» было оценено студентами как высокоэффективное средство запоминания информации.

Кроме того, результаты промежуточной аттестации 2023/2024 учебного года по итогам изучения учебной дисциплины «Биологическая химия»

показали повышение уровня качественной успеваемости: 50% студентов сдали годовой экзамен с оценками от 7 до 10 баллов, что на 8% выше предыдущего учебного года. Данная тенденция указывает на эффективность внедрения новых обучающих методик в образовательный процесс.

Выводы

Внедрение графических методов в образовательный процесс помогает студентам не только лучше усваивать материал, но и развивать навыки, которые будут полезны в их будущей профессиональной деятельности. Использование графических методов при изучении биологической химии в медицинском учреждении высшего образования является важным аспектом, который способствует более глубокому пониманию сложных биохимических процессов и совершенствованию абстрактно-логического и образного мышления, являющихся фундаментом креативного и клинического мышления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биохимия для самостоятельной работы: учеб. пособие / М. В. Громыко, И. А. Никитина, О. С. Логвинович [и др.]. – Гомель: ГомГМУ, 2021. – 148 с.
2. Боровинская, Д. Н. Креативное мышление: основные направления исследования / Д. Н. Боровинская // Вестник Томского государственного университета. Философия. Социология. Политология. – 2017. – № 40. – С. 22–31.
3. Чупрова Д. В. Применение технологии графического проектирования в процессе подготовки будущих врачей: методический аспект / Д. В. Чупрова, К. А. Стародубцева // Общество: социология, психология, педагогика. – 2020. – № 8. – С. 98-106.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ТЕСТИРОВАНИЯ СТУДЕНТОВ ЛЕЧЕБНОГО ФАКУЛЬТЕТА И ФАКУЛЬТЕТА ИНОСТРАННЫХ СТУДЕНТОВ ПО БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ В СИСТЕМЕ MOODLE

***Коваль А.Н., Логвинович О.С., Литвинчук А.В., Мышковец Н.С.,
Скрынникова Л.П., Сергеенко С.М.***

*Гомельский государственный медицинский университет,
Гомель, Республика Беларусь*

Актуальность. Современные образовательные технологии, включая систему управления обучением Moodle, играют ключевую роль в оценке знаний студентов медицинских вузов. Использование автоматизированных тестов позволяет не только упростить процесс проверки, но и получить детализированные статистические данные для анализа успеваемости. В условиях интернационализации образования особое значение приобретает сравнение результатов студентов разных факультетов, таких как лечебный факультет (ЛФ) и факультет иностранных студентов (ФИС). Различия в

языковых навыках, базовой подготовке и подходах к обучению могут существенно влиять на освоение сложных дисциплин, таких как биологическая химия. Данное исследование направлено на выявление этих различий и разработку рекомендаций по оптимизации тестовых заданий, что соответствует современным трендам в медицинском образовании [1, 3].

Целью исследования является сравнительный анализ статистических показателей результатов тестирования студентов ЛФ и ФИС по биологической химии в системе Moodle, с оценкой сложности вопросов, надежности теста и предложением улучшенных формулировок заданий для повышения понимания студентами.

Материалы и методы исследования. Исследование основано на данных тестирования 424 студентов ЛФ и 97 студентов ФИС Гомельского государственного медицинского университета в октябре 2024 и марте 2025 года. Тесты по курсу «Биологическая химия» включали разделы: «Введение в биохимию. Строение и функции белков», «Энзимология» и «Биологическое окисление». Тест для ЛФ содержал 30 случайных вопросов, для ФИС – 32, адаптированных к английскому языку обучения. Данные экспортированы из Moodle в формате CSV и обработаны с использованием языка программирования Python (библиотеки Pandas, NumPy, SciPy). Применялись методы описательной статистики (среднее значение, медиана, стандартное отклонение), анализ асимметрии и эксцесса распределения, а также расчет коэффициента внутренней согласованности (альфа Кронбаха). Индексы легкости и дискриминации вопросов оценивались для определения их качества и соответствия образовательным целям [4].

Результаты и обсуждение. Средняя оценка студентов ЛФ составила 72% (медиана 77%, стандартное отклонение 19%), что значительно превышает результаты студентов ФИС — 53% (медиана 47%, стандартное отклонение 22%). Это свидетельствует о более высоком уровне освоения материала студентами ЛФ. Распределение оценок ЛФ характеризуется небольшой левой асимметрией (-0,44), что указывает на преобладание высоких баллов, тогда как у ФИС наблюдается правая асимметрия (0,31), связанная с большим числом низких оценок. Коэффициент эксцесса (-0,78 для ЛФ и -0,63 для ФИС) отражает умеренную уплощенность распределения, что говорит о вариации знаний в обеих группах.

Надежность теста, измеренная коэффициентом альфа Кронбаха, составила 0,84 для ЛФ и 0,87 для ФИС, что подтверждает высокую внутреннюю согласованность и пригодность тестов для оценки знаний. Средний индекс легкости для ЛФ достиг 72% (диапазон 23,73–100%), для ФИС – 53% (0-100%). Раздел «Введение в биохимию» был проще для ЛФ (81,7%) по сравнению с ФИС (57,8%), что может быть обусловлено языковыми трудностями у иностранных студентов. «Энзимология» оказалась сложнее для обеих групп (68,3% для ЛФ и 52,6% для ФИС), а «Биологическое окисление» – особенно трудным для ФИС (48,9% против 73,3% у ЛФ). Это подчеркивает необходимость адаптации материала для студентов ФИС, особенно в сложных разделах [5].

Индекс дискриминации вопросов варьировался от 25,52% до 45,95% для ЛФ и от 17,30% до 53,67% для ФИС, демонстрируя способность тестов различать студентов с разным уровнем подготовки. Однако в обеих группах выявлены проблемные вопросы: для ЛФ минимальный индекс составил -3,04% (вопрос 15.23), для ФИС – -61,29% (вопрос 14.59), что указывает на необходимость их переработки. Высокая вариабельность результатов ФИС (22%) по сравнению с ЛФ (19%) может быть связана с неоднородностью языковых компетенций и базовой подготовки иностранных студентов [2].

Для улучшения понимания студентами предложены варианты переформулировки проблемных вопросов. Например, вопрос для ЛФ («Какой фермент участвует в субстратном фосфорилировании в цикле Кребса?»; индекс легкости 23,73%) можно упростить: «Назови фермент, который помогает образовать АТФ в цикле Кребса без участия кислорода». Это снижает сложность терминологии и акцентирует ключевую идею. Для ФИС вопрос («Какие химические связи с функциональными группами активного центра фермента участвуют в его каталитической активности?»; индекс дискриминации -61,29%) можно переформулировать: «Какие связи помогают активному центру фермента работать?» Упрощение языка и структуры повышает доступность для студентов с ограниченным владением английским [1].

Различия в успеваемости объясняются несколькими факторами: студенты ЛФ обучаются на родном языке и имеют более сильную базу, тогда как ФИС сталкивается с языковыми барьерами и меньшим объемом предварительной подготовки. Это подтверждает важность разработки адаптированных методик обучения и тестирования для иностранных студентов [3].

Выводы

1. Студенты ЛФ демонстрируют более высокую успеваемость (72%) по сравнению с ФИС (53%), что, возможно, обусловлено языковыми и образовательными различиями.
2. Тесты обладают высокой надежностью (0,84 для ЛФ и 0,87 для ФИС), но содержат вопросы с экстремальными значениями легкости и отрицательной дискриминацией, требующие переработки.
3. Для повышения результатов ФИС рекомендуется адаптировать тестовые задания с учетом языковых особенностей (например, упрощенные формулировки) и усилить подготовку по разделу «Биологическое окисление».

ЛИТЕРАТУРА

1. Громыко М.В. Анализ организации учебно-познавательной деятельности студентов второго курса медицинского вуза / М.В. Громыко, А.А. Жукова // Актуальные проблемы медицины: Сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции с международным участием. В 3-х томах, Гомель, 10 ноября 2022 года. Том 1. Выпуск 23. – Гомель: Учреждение образования "Гомельский государственный медицинский университет", 2022. – С. 11-13.

2. Громыко М.В. Применение игровых методик в медицинском ВУЗе на примере имитационно-ролевой игры "Липопротеиды" на практических

занятиях по биологической химии / М.В. Громыко, А.И. Грицук, И.А. Никитина // Актуальные проблемы медицины: Сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции и 23-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета: в 4 томах, Гомель, 13–14 ноября 2014 года / Гомельский государственный медицинский университет; Редколлегия: А.Н. Лызиков. Том 1. – Гомель: Учреждение образования "Гомельский государственный медицинский университет", 2014. – С. 166-168.

3. Стома И.О. Инновационные методы обучения при подготовке специалистов с медицинским образованием / И.О. Стома, В.А. Мельник // Education. Quality Assurance. – 2021. – № 3(24). – С. 54-57.

4. Улучшение качества обучения по биологической химии: новые педагогические методики и технологии / А.Н. Коваль, О.С. Логвинович, А.В. Литвинчук [и др.] // Актуальные проблемы медицины: Сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции с международным участием. В 3-х томах, Гомель, 13 ноября 2024 года. – Гомель: Гомельский государственный медицинский университет, 2024. – С. 138-140.

5. Хаданович А.В. Роль информационных компетенций в обучении химии студентов-биологов / А.В. Хаданович, О.В. Пырх // Современное образование: преемственность и непрерывность образовательной системы «школа – университет – предприятие» [Электронный ресурс]: XIV международная научно-методическая конференция (Гомель, 2 февраля 2023 г.): [материалы] / М-во образования Республики Беларусь, Гомельский гос. ун-т им. Ф. Скорины, Главн. управл. образования Гомельского облисполкома; редкол.: Ю.В. Никитюк (гл. ред.) [и др.]. – Электрон. текст. данные (7,22 МБ). – Гомель: ГГУ им. Ф. Скорины, 2023. – С. 412-414.

ХИМИЧЕСКОЕ МЫШЛЕНИЕ КАК КОМПОНЕНТ ФОРМИРОВАНИЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО МЫШЛЕНИЯ ВРАЧА

Лебедева Е.Н., Карнаухова И.В.

*Оренбургский государственный медицинский университет,
Оренбург, Российская Федерация*

Не мыслям надобно учить, а мыслить
Иммануил Кант

Актуальность. Профессиональное мышление – это мышление специалиста, позволяющее ему успешно выполнять профессиональные задачи на высоком уровне мастерства: быстро, точно, оригинально решать как ординарные, так и неординарные задачи в определенной предметной области. Формирование профессионального мышления выступает как составная часть системы профессионального образования [4].

Профессиональное мышление медика общеизвестно как клиническое мышление. Блистательный клиницист И.А. Кассирский в своей монографии о клиническом мышлении отмечает, что «во врачевании переплетаются элементы науки, эмпирики и искусства». Говоря «грамотный клиницист», традиционно мы, в первую очередь, подразумеваем врача, имеющего хорошую базу теоретических знаний и практических навыков, а также способного клинически мыслить. Неумение клинически мыслить, небрежное, а то и формальное применение этого важнейшего инструмента врачевания приводит к возникновению разного рода профессиональных дефектов. В основе большинства врачебных ошибок оказываются дефекты клинического мышления.

Обсуждение. Современное представление о клиническом мышлении выходит далеко за традиционные рамки интуитивного умения точно поставить диагноз. Клиническое мышление в настоящее время является интегративным понятием и включает в себя способность и желание врача: оценить объективное состояние пациента на основании данных анамнеза, физикальных и лабораторно-инструментальных методов исследования; интерпретировать полученные сведения и провести дифференциальную диагностику предполагаемого заболевания (что фактически невозможно без глубоких теоретических знаний); найти и тщательно проанализировать существующие клинические рекомендации, основанные на доказательствах; оценить их применимость к конкретному пациенту (необходима ли персонализация рекомендаций и в какой степени?) [2].

Таким образом, клиническое мышление равно компетентности специалиста и подразумевает высочайший уровень развития мыслительных операций (анализ, синтез, сравнение, обобщение) и мыслительных процессов (оценивание, понимание, умозаключение, предсказывание, планирование) в приложении к определенной клинической задаче.

Мышление как психологическая способность развивается в течение всей жизни, проходит определенные онтологические этапы и, при наличии благоприятной среды, выходит на высокий теоретический и творческий уровень, что абсолютно необходимо в профессиональной деятельности врача. Для этого необходимо грамотное планирование обучения и воспитания врача-клинициста. В нём должна прослеживаться фундаментальность и последовательность. На 1-ом и 2-ом курсах необходима глубокая теоретическая подготовка студента, требующаяся для понимания клинических дисциплин. На 3-ем курсе изучается пропедевтика внутренних болезней с широким охватом вопросов общей и частной патологии, на 4-ом курсе подробно изучается курс факультетской терапевтической клиники, и далее, на кафедре госпитальной терапевтической клиники студенты знакомятся с вариациями проявления заболеваний, обобщая вопросы общей и частной патологии.

Преимущество теоретических и клинических дисциплин в процессе обучения выступает в качестве необходимого условия для совершенствования главных мыслительных операций: сравнение (сопоставление явлений и их свойств, выделение сходств и различий); анализ (мысленное расчленение вещи

или явления для выделения составляющих элементов); синтез (процесс, обратный анализу, который восстанавливает целое, находя существенные связи и отношения); абстракция (выделение одной отличительной стороны свойства предмета или явления); обобщение (генерализация) - отбрасывание единичных признаков при сохранении общих, с раскрытием существенных связей.

Именно эти мыслительные операции при изучении дисциплин теоретического блока (органической химии; биологической химии) предельно ясны, а процессы востребованы постоянно. Анализ деятельности студента при изучении химических дисциплин позволяет выделить следующие основные мыслительные действия:

- выбор объекта изучения – вещества, свойства веществ, превращения веществ и явления, сопровождающие эти превращения;
- классификация веществ и изучение их свойств;
- анализ качественного и количественного состава;
- кодирование и декодирование качественного и количественного состава, химических процессов и явлений, используя семиотическую систему химического языка;
- установление тождества-различия;
- выявление причинно-следственных связей и оценивание качественно-количественных отношений между веществами при химическом взаимодействии;
- прогнозирование – способность на основании качественного и количественного состава вещества предсказывать свойства, а по свойствам определять качественный и количественный состав вещества и предположить (предложить) способ получения [1].

Специфическая особенность любой химической дисциплины состоит в том, что ее очень трудно вызубрить, но легко усвоить, научившись предметному химическому мышлению. Как показано в исследованиях, целенаправленное формирование химического мышления ведет за собой развитие интеллекта. Сформированное химическое мышление является условием успешного освоения биологической химии: понимания логики метаболических процессов, их назначения, ключевых биохимических концепций.

Биохимия – одна из базовых дисциплин, обеспечивающих фундаментальную подготовку будущего врача. Изучение строения и функций химических компонентов организма способствует формированию физиолого-биохимического мышления необходимого для развития и становления его клинического мышления [3].

Заключение. Профессиональному мышлению современного врача должны быть присущи следующие качества: поисковый и аналитико-синтетический характер, глубина и широта, логичность и организованность, доказательность и непротиворечивость, способность мыслить при «информационных пустотах», умение выдвигать гипотезы и тщательно исследовать их, гибкость, быстрота, ясность, прогностичность, креативность,

критичность. А изучение биохимии является хорошим средством для достижения этой цели.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волкова Е. В. О химическом мышлении и методах его исследования //Естественно-научное образование: новые горизонты: сборник статей / под общ. ред. В. В. Лунина, Н. Е. Кузьменко /Москва: МГУ, 2017. С.44-58.

2. Тетенев Ф.Ф., Бодрова Т.Н., Калинина О.В. Формирование и развитие клинического мышления – важнейшая задача медицинского образования // Успехи современного естествознания. – 2008. – № 4 – С. 63-65.

3. Современные тенденции преподавания биологической химии в медицинском университете : монография / В. В. Лелевич, И. О. Леднёва, С. С. Маглыш [и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2022. – 192 с. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/326039> (дата обращения: 02.04.2025).

4. Шамина С.В. Характеристики профессионального мышления обучающихся вуза // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – № 3.;URL: <https://science-education.ru/article/view?id=29776> (дата обращения: 19.02.2023)

ОБЪЕКТИВНЫЙ СТРУКТУРИРОВАННЫЙ КЛИНИЧЕСКИЙ ЭКЗАМЕН КАК ЭЛЕМЕНТ ИТОГОВОЙ АТТЕСТАЦИИ ПО КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ

Лелевич С.В., Лелевич В.В.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Объективный структурированный клинический экзамен (ОСКЭ) представляет собой метод, используемый для оценки клинической компетентности студентов. Роналд Харден, в 1975 г. впервые применивший этот метод оценки, дал ему следующее определение: «это подход к оценке клинической или профессиональной компетентности, в котором компоненты компетентности оценивают планомерно и структурированно, с особым вниманием к объективности оценки». В основе данного метода лежит комплексная оценка умений с конечным множеством оценочных станций, моделирующих различные аспекты клинической компетентности. Все участники проходят одинаковые испытания, последовательно переходя от станции к станции, результаты выполнения заданий при этом оценивают с использованием разработанных чек-листов [1].

Для проведения ОСКЭ могут быть использованы различные тренажеры и симуляторы, стандартизированные или реальные пациенты, а также дополнительные диагностические элементы (результаты лабораторных и инструментальных исследований). Суть ОСКЭ заключается в создании для экзаменуемых клинических ситуаций, позволяющих продемонстрировать

приобретенные технические, дедуктивные (диагностические, когнитивные) и коммуникативные навыки. ОСКЭ имитирует процесс обследования и лечения пациента, поэтому практические испытания на его станциях обычно представляют собой задания на интерпретацию исследований, оценку коммуникативных, а также технических навыков. Таким образом, ОСКЭ – это больше, чем комплексный экзамен. Грамотно разработанные станции ОСКЭ позволяют проверить клинические компетенции, связанные с самостоятельным осуществлением медицинской деятельности. В отличие от традиционных методов аттестации, эта методика позволяет оценить и продемонстрировать, что учащиеся умеют делать, а не то, что они знают теоретически.

Цель. Оценить эффективность применения ОСКЭ в качестве способа итоговой аттестации студентов медицинского ВУЗа по клинической биохимии.

Материалы и методы исследования. Описательные.

Результаты и обсуждение. Изучение лабораторных дисциплин студентами медико-диагностического факультета медицинского университета, безусловно, должно сопровождаться овладением навыками самостоятельного выполнения, а также последующей интерпретации результатов лабораторных исследований.

На кафедре клинической лабораторной диагностики и иммунологии Гродненского государственного медицинского университета уже начиная с третьего курса обучения студенты начинают изучать дисциплины диагностического профиля, включающие основы клинического лабораторного анализа, клиническую микробиологию и биохимию, лабораторную гематологию и клиническую цитологию. Проверка практических навыков у них осуществляется в виде ОСКЭ в рамках государственного экзамена по дисциплине «Лабораторная диагностика».

Для проведения структурированного экзамена на кафедре разработаны паспорта экзаменационных станций. В качестве примера можно привести один из них: паспорт экзаменационной станции «Определение содержания общего белка в сыворотке крови» объективного структурированного клинического экзамена (ОСКЭ) разработан по учебной дисциплине «Клиническая лабораторная диагностика» в соответствии с типовым учебным планом по специальности 1-79 01 04 «Медико-диагностическое дело» (регистрационный № L 79-1-009/пр-тип.), утвержденным первым заместителем Министра образования Республики Беларусь 09.07.2021, приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 31.05.2021 № 629 «Об организации субординатуры», приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 27.10.2021 № 1347 «О субординатуре по специальности 1-79 01 04 «Медико-диагностическое дело».

Задачи станции: демонстрация экзаменуемым навыка проведения измерения уровня общего белка в сыворотке крови.

Функции экзаменаторов: внесение в оценочный чек-лист номера в соответствии с порядковым номером ситуации; идентификация личности экзаменуемого, заполнение идентификационной части в оценочном чек-листе (ФИО студента или идентификационный номер, факультет, группа, курс,

кафедра, практический навык (манипуляция), дата); регистрация последовательности и правильности действий/расхождения действий экзаменуемого в соответствии с параметрами действий в чек-листе; обеспечение экзаменуемого информацией, которую необходимо предоставить в процессе выполнения действий на станции; контроль времени выполнения экзаменуемым задания на станции, своевременное напоминание об окончании времени, отведенного на выполнение задания, предложение экзаменуемому покинуть станцию.

Действия экзаменаторов перед началом работы станции: ознакомиться с используемыми на станции чек-листами; уточнить, какие ситуации и чек-листы определены для проведения экзамена на станции; ознакомиться с информацией, которую необходимо предоставить экзаменуемому в процессе выполнения действий на станции.

Действия экзаменаторов в ходе работы станции: разрешать вход экзаменуемому на станцию после заполнения идентификационной части чек-листа; озвучивать информацию, которую необходимо предоставить экзаменуемому в процессе выполнения действий на станции; оценивать выполняемые экзаменуемым действия в соответствии с чек-листом; строго соблюдать продолжительность работы станции; напоминать экзаменуемому о времени окончания выполнения задания и необходимости покинуть станцию; по окончании экзамена дооформить оценочные чек-листы; подсчитать итоговую отметку в баллах с учетом «штрафа» за неудовлетворительное выполнение «критических» элементов (при наличии шкалы снятия баллов); преобразовать итоговую отметку в баллах в отметку по 10-балльной шкале оценивания, используя шкалу преобразования (пересчета) баллов (при необходимости).

Выводы. Таким образом, использование ОСКЭ позволяет оценить действительно приобретенные и подлежащие проверке знания, навыки и умения, которые отражают поведение аттестуемого в реальной клинической ситуации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева, А.Ю. Объективный структурированный клинический экзамен как инструмент аккредитации медицинских специалистов / А. Ю. Алексеева [и др.] // Симуляционные технологии. – 2018. – № 1. – С. 15–53.

СТУДЕНЧЕСКАЯ ОЛИМПИАДА ПО КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ – ЭФФЕКТИВНЫЙ СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ

Лелевич С.В.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Олимпиада среди обучающихся учреждения образования является одной из эффективных форм организации образовательной деятельности и должна способствовать повышению уровня подготовки студентов, развитию их профессиональных и творческих навыков. Предметная олимпиада представляет собой мероприятие, предусматривающее выполнение теоретических и практических заданий с последующей оценкой качества их выполнения в соответствии с критериями, разработанными на кафедре. Участники олимпиады должны продемонстрировать теоретическую и практическую подготовку, профессиональные умения и навыки, владение профессиональной лексикой с учетом специфики дисциплины в пределах учебной программы, умение на практике применять современные технологии.

Предметная олимпиада проводится в целях повышения качества подготовки студентов, формирования компетенций, закрепления знаний и умений, полученных в процессе обучения, стимулирования творческого роста, повышения престижа университета, выявления наиболее одаренных и талантливых студентов. Основными задачами олимпиады являются: выявление талантливых студентов и привлечение их к научно-исследовательской деятельности; определение способностей студентов к творческой работе; совершенствование навыков самостоятельной работы; повышение ответственности студентов за выполняемую работу, способности самостоятельно и эффективно решать проблемы в области изучаемых на кафедре дисциплин; усиление мотивации студентов к изучению учебных дисциплин.

Цель. Оценить эффективность студенческой предметной олимпиады при изучении клинической биохимии.

Материалы и методы исследования. Описательные.

Результаты и обсуждение. На кафедре клинической лабораторной диагностики и иммунологии Гродненского государственного медицинского университета ежегодно проводится предметная студенческая олимпиада по клинической биохимии среди студентов 4 курса медико-диагностического факультета.

Работу по подготовке и проведению олимпиады осуществляет организационный комитет кафедры, председателем которого является заведующий, профессор Лелевич С.В. Организационный комитет устанавливает регламент проведения олимпиады, обеспечивает подготовку заданий и осуществляет непосредственное проведение олимпиады,

разрабатывает и утверждает критерии оценки конкурсных заданий, проверяет и оценивает результаты выполнения заданий, определяет победителей и призеров олимпиады.

Олимпиада по клинической биохимии включает теоретический и практический этап. На первом из них студенты подвергаются компьютерному тестированию, во второй входят тематические задания по дисциплине.

В качестве практических заданий по клинической биохимии студенты выполняют работу на фотометрической технике по определению различных компонентов в биологических материалах [1], а также решают ситуационные задачи. Победители и призеры олимпиады получают дипломы и бонусы на промежуточной аттестации.

Выводы. Таким образом, предметная олимпиада, без сомнения, является важным способом повышения медицинского образования, позволяет выявить наиболее талантливых и одаренных студентов, а также мотивирует ее участников к более углубленному и обстоятельному изучению учебной дисциплины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич, С. В. Теория и практика лабораторных биохимических исследований / С.В. Лелевич – Санкт-Петербург : ЛАНЬ, 2022. – 303 с.

О ПОВЫШЕНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАБОТЫ СО СЛАБОУСПЕВАЮЩИМИ СТУДЕНТАМИ

Масловская А.А.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Актуальность. Качественная подготовка студентов медицинского университета по теоретическим базовым дисциплинам, и в частности, по биологической химии, является основой успешного освоения студентами клинических дисциплин. Значительная часть обучающихся без проблем овладевает необходимыми знаниями и справляется с требованиями учебной программы. Однако, определенное количество студентов, которых условно можно назвать слабоуспевающими (неуспевающими), несмотря на проводимую кафедрами индивидуальную работу, показывают отсутствие знаний по дисциплине либо минимальный удовлетворительный уровень усвоения учебного материала во время пересдачи экзамена.

Цель. Представляло интерес изучить причины низкой успеваемости отдельных студентов для учета в индивидуальной работе с этой категорией обучающихся и поиска возможностей повышения уровня их успеваемости.

Материалы и методы исследования. Мы сознательно отказались от проведения анкетирования с заранее придуманными вариантами ответов и предложением выбора студентами того или иного утверждения о причинах их низкой успеваемости (неуспеваемости). Во время проведения индивидуальной

работы со студентами им задавали конкретные вопросы о подготовке к занятиям, а также предлагались для выполнения некоторые простые задания, для последующего анализа и обобщения результатов.

Результаты и обсуждение. Считается, что в течение первого курса происходит адаптация студента к новому виду учебной деятельности [1], переключение от школьного к вузовскому обучению. Тем не менее, даже среди успевающих второкурсников, встречается немало студентов, которые не умеют учиться, не владеют навыками самостоятельного приобретения знаний, не всегда могут выделять главное, перерабатывать информацию, не пользуются приемами, облегчающими запоминание, не могут контролировать четкость мысли при изложении выученного материала. Важной проблемой в обучении является также то, что большинство студентов не умеет слушать, а только делает вид, что слушает [2]. Неудивительно, что многие, казалось бы, простые вещи студент, даже успевающий, усваивает только после повторного (троекратного) произнесения преподавателем.

Наш многолетний опыт преподавания биологической химии позволяет поделиться некоторыми наблюдениями и размышлениями, которые могли бы оказаться полезными для целенаправленной индивидуальной работы со студентами, повышению ее эффективности и возможного снижения количества слабоуспевающих студентов.

В среднем, среди списочного состава студентов в группе обычно 1-3 человека (7-23 %) можно рассматривать как слабоуспевающих. Реже встречаются группы без неуспевающих студентов либо с их большим (4-5 человек) количеством. Индивидуальные беседы с неуспевающими студентами разных факультетов проводились на протяжении нескольких лет. Во время разговора со студентом ему объяснялись важность дисциплины для его будущей профессии, последствия наличия пробелов в знаниях, необходимость накопления знаний для успешной сдачи экзамена. Призывы преподавателя к студенту начинать серьезно учиться, сдавать итоговые (контрольные) темы, регулярно готовиться к занятиям очень часто ни к чему не приводили: студент соглашался, что надо учиться, что иначе он может не сдать экзамен, но продолжал оставаться в разряде неуспевающих.

Для более глубокого выяснения причин низкой успеваемости студентов были предприняты попытки индивидуально выяснить у студента, что мешает (не дает возможности) ему справиться с требованиями учебной программы. На вопрос «почему вы не учитесь?» обычно студент отвечает стандартной фразой «я учусь». Если уточнить у студента «тогда какова причина вашей неуспеваемости?», почти у всех студентов готов ответ «мне трудно дается», который предполагает разжалобить преподавателя или родителей. Интересным является ответ таких студентов на вопрос «сколько времени вы готовитесь к занятию по биологической химии?». Чаще всего ответ звучит от «где-то час» до «2-3 часа». Ежегодно встречаются студенты, которые заявляют, что учили «весь вечер и всю ночь», даже если тема была простая (описательный материал) и короткая; подобные фразы обычно говорят, чтобы привлечь к себе внимание и вызвать сочувствие.

Следующий вопрос «если вы учили несколько часов, то почему вы ничего не знаете?» ставит студента в тупик, и он обычно отвечает «я не понимаю биохимию». На вопрос «что вам было непонятно в сегодняшнем занятии» студент часто не может ничего сказать конкретно и отвечает «всё было не понятно». Тогда студенту предлагается внимательно, не спеша, прочитать описание какого-нибудь нетрудного вопроса, чтобы выяснить, что в данном вопросе вызывало затруднение для восприятия или было не понятно. Оказывается, что все было понятно. После этого студенту предлагается рассказать (пересказать) прочитанный текст. В таких случаях часто возникает парадоксальная ситуация – студенту, оказывается, «всё понятно», но пересказать прочитанное он не может.

Некоторые студенты прямо говорят, что, когда они читают учебник или слушают преподавателя, они все понимают и поэтому считают, что «выучили материал к занятию». Однако, во время устного или письменного опроса на занятии выясняется, что студент не может изложить свои знания, либо делает это с большим количеством ошибок, путая понятия, причины и следствия, смешивая воедино термины из несоединимых процессов.

Когда у студента спрашивали, пересказывает ли он самому себе прочитанный материал во время подготовки к занятию, такие студенты обычно отвечали, что «не знают» (или притворялись, что не знают) о том, что учебный материал можно считать выученным, если он при домашней подготовке к занятию воспроизводится студентом в графическом виде (рисунок, схема, формулы) или текстовом (пересказ, изложение сути в устной или письменной форме). Но даже «впервые узнав» о том, как надо работать с учебным материалом, некоторые студенты впоследствии не пытаются (ленятся) использовать методику пересказывания или графического изображения прочитанной информации во время подготовки к занятию.

Возможно, еще в школьные годы, когда ввиду высокой пластичности мозговых процессов закладываются в сознание определенные жизненные ориентиры, у данного молодого человека не были сформированы навыки того, как надо учиться, и что учеба предполагает большую работу над собой. Примерно у половины слабоуспевающих студентов, на фоне отрицательных оценок на текущих занятиях, результаты компьютерного тестирования, проводимого перед итоговым (контрольным) занятием, оказываются сданными на положительную, часто даже высокую, оценку. И этому есть своё объяснение. Во время подготовки дома к компьютерному тестированию по тестам с предложенными ответами студенты, не затрачивая больших усилий, тренируются «угадывать», «узнавать» или «чувствовать» правильный готовый ответ (фамилии авторов, названия молекул, ферментов, болезней). Но тот же вопрос без возможности выбора варианта из предложенных ответов ставит студента в тупик из-за отсутствия фактических истинных знаний.

Выводы. Таким образом, при проведении индивидуальной работы с неуспевающими студентами, для повышения ее эффективности, преподавателю, возможно, необходимо подсказать студенту процесс, как надо учиться, овладевать знаниями; довести до сознания студента мысль о том, что

усвоение содержания учебной дисциплины проходит через преодоление определенных трудностей в приобретении знаний, и что преодоление этих трудностей должно проходить при обязательном активном участии самого студента (не узнавание знакомых слов в тексте, не пассивное созерцание графических изображений, а их воспроизведение в устной или письменной форме), возможно, изначально под контролем преподавателя.

ЛИТЕРАТУРА

1. Курчевская, О.Г. Изучение мотивации выбора профессии и уровня адаптированности к учебному процессу у первокурсников / О.Г.Курчевская, И.Г. Жук, Е.М. Тищенко // Журнал ГрГМУ, 2008. – № 1. – С. 126-127.

2. Шейнов, В.П. Скрытое управление человеком (Психология манипулирования) / В.П. Шейнов. – Мн.: Харвест, 2005. – 816 с.

ПРЕПОДАВАНИЕ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ В ПОДГОТОВКЕ ВРАЧА ЛЕЧЕБНОГО ПРОФИЛЯ

Новикова И.А., Макеева К.С., Зубкова Ж.В., Барсукова Е.А.

*Гомельский государственный медицинский университет,
Гомель, Республика Беларусь*

Актуальность. В эпоху стремительного развития медицины, особенно с акцентом на персонализированный подход и доказательную практику, клиническая биохимия приобретает критически важное значение. Являясь неотъемлемой частью лабораторной медицины, она лежит в основе точной диагностики, эффективного мониторинга лечения и прогностической оценки заболеваний.

Современная клиническая биохимия характеризуется экспоненциальным ростом количества доступных тестов и параметров. Если ранее врачи оперировали ограниченным набором рутинных анализов, то сегодня спектр исследований расширился до тысяч позиций, предоставляя беспрецедентные возможности для углубленной диагностики.

Такая доступность и разнообразие биохимических тестов, с одной стороны, открывают новые горизонты в персонализированной медицине, с другой – предъявляют повышенные требования к уровню знаний и компетенций врачей лечебного профиля. Современный клиницист должен не только свободно ориентироваться в многообразии биохимических маркеров, но и глубоко понимать их клиническую значимость, факторы, влияющие на результат, правила подготовки пациента, а также уметь интегрировать лабораторные данные в клиническую картину для принятия обоснованных диагностических и лечебных решений. Недостаток этих знаний не только ведет к нерациональному использованию ресурсов здравоохранения, но и, что гораздо важнее, повышает риск диагностических ошибок, задержек в постановке верного диагноза и, в конечном итоге, может негативно сказаться на исходах лечения и качестве жизни пациентов. В условиях ограниченного

финансирования здравоохранения, эффективное использование лабораторной диагностики и предотвращение диагностических ошибок приобретают особое значение [1].

В связи с этим введение в план подготовки врачей по специальности «Лечебное дело» субдисциплин клинической лабораторной диагностики является актуальным и очень своевременным.

Цель. Анализ особенностей преподавания клинической биохимии для студентов лечебных факультетов и возможных подходов для улучшения его качества

Материал и методы исследования. Работа носит описательно-аналитический характер.

Результаты и обсуждение. Впервые преподавание клинической биохимии как одного из компонентов учебной дисциплины «Клиническая лабораторная диагностика» было включено в учебный план специальности «Лечебное дело» в 2018 году для профилей субординатуры «Терапия», «Общая врачебная практика» (в том числе и для иностранных граждан. Преподавание велось на 6-ом курсе в объеме 21 аудиторный час (только практические занятия) профессорско-преподавательским составом кафедры клинической лабораторной диагностики, аллергологии и иммунологии. В рамках учебной дисциплины рассматривались следующие вопросы: Организация лабораторных исследований; этапы выполнения лабораторного анализа; лабораторный мониторинг системы гемостаза, клинико-лабораторная оценка результатов общеклинических исследований; клиническая оценка биохимических исследований крови. На занятиях демонстрировалось современное лабораторное оборудование, новые технологии и подходы к диагностике и мониторингу заболеваний.

В учебном плане 2024 года в рамках подготовки по специальности «Лечебное дело» предусмотрена учебная дисциплина «Клиническая оценка лабораторных исследований», которая преподается студентам лечебного факультета на 4 курсе. Учебная дисциплина включает всего 28 часов подготовки, из них 4 часа – лекционных занятий и 24 часа практических занятий и является составной частью модуля «Клиническая патология и клиническая диагностика». Программой планируется рассмотрение тех же вопросов, которые указаны выше, однако преподавание перенесено с диагностической кафедры на терапевтическую. Изучение темы «Клиническая оценка биохимических исследований крови. Маркеры и синдромы заболеваний внутренних органов» предусмотрено в течение 6 часов — 1 практическое занятие цикла учебной дисциплины.

Перемещение учебной дисциплины с 6-го курса на 4-й, с одной стороны, позволяет до изучения клинических дисциплин ознакомить студентов с общими правилами организации преаналитического этапа лабораторных исследований, понятиями «норма», «референтный интервал», «критические величины». Это подготовит их к работе с результатами биохимических лабораторных данных пациентов на далее изучаемых клинических дисциплинах. С другой стороны, отсутствие необходимой базы знаний по

внутренним болезням, эндокринологии, кардиологии, хирургии и другим клиническим дисциплинам не позволяет обучить их интерпретации полученных результатов лабораторных исследований, формированию лабораторно-диагностических алгоритмов, планирования динамического обследования пациентов. В этом аспекте более целесообразным, на наш взгляд, было бы сохранение преподавания лабораторной медицины на старших курсах.

Безусловно следует подчеркнуть явно ограниченный объем часов на изучение вопросов, предусмотренных программой учебной дисциплины «Клиническая оценка лабораторных исследований». Это практически не оставляет времени на рассмотрение механизмов изменения лабораторных параметров при различных патологических состояниях. Вероятно, основное внимание следует уделить разбору результатов лабораторных исследований с целью обучения студентов грамотной их трактовке, что в последующем может помочь четко составлять программу обследования пациента. Существенную помощь могли бы оказать факультативы по основам интерпретации результатов лабораторных исследований при нарушениях различных видов обмена. Важным аспектом является разработка объективных оценочных средств для контроля компетенций студентов в интерпретации лабораторных данных и их клиническом применении – объективный структурированный клинический экзамен, который успешно используется со студентами диагностического профиля [2].

Выводы. Для обеспечения профессиональной деятельности будущих врачей-лечебников в условиях доказательной медицины необходимо расширение изучения клинической биохимии и лабораторной диагностики в целом.

Преподавание учебной дисциплины «Клиническая оценка лабораторных исследований» для студентов лечебного профиля наиболее целесообразно на 6-ом курсе и должно проводиться профильными специалистами. В качестве формы контроля знаний и компетенций студентов рекомендовано использовать объективный структурированный клинический экзамен.

ЛИТЕРАТУРА

1. Новикова, И.А. Перспективы преподавания клинической лабораторной диагностики для студентов высших медицинских учебных заведений / И.А. Новикова //Материалы VIII съезда врачей клинико-лабораторной службы Министерства здравоохранения Республики Беларусь. – Минск, 10-11 ноября 2016. – Минск, 2016. – С.130-131
2. Первый опыт проведения объективного структурированного экзамена по клинической биохимии / И.А. Новикова, Ж. В. Зубкова, С. С. Прокопович, [и др.] // Актуальные проблемы общей и клинической биохимии – 2023 : сб. материалов республиканской научно-практической конференции, г. Гродно, 26.05.2023 / отв. ред. В. В. Лелевич. – Гродно : ГрГМУ, 2023. – С.396-399.

Научное издание

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ
ОБЩЕЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ – 2025**

*Материалы республиканской
научно-практической конференции с международным участием,
посвященной 100-летию
со дня рождения академика Ю.М. Островского*

26 июня 2025 года

Ответственный за выпуск С. Б. Вольф

Компьютерная верстка С. В. Петрушиной, А. А. Хартанович
Корректурa А. Г. Веницкая

Подписано в печать 24.06.2025
Тираж 9 экз. Заказ 73.

Издатель и полиграфическое исполнение
Учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет»
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013.
Ул. Горького, 80, 230009, Гродно