

Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ  
ОБЩЕЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ - 2023**

*Материалы республиканской  
научно-практической конференции*

26 мая 2023 года

Гродно  
ГрГМУ  
2023

УДК 577.1:005.745(06)

ББК 28.072я431

А 43

Рекомендовано Редакционно-издательским советом ГрГМУ (протокол № 9 22.05.2023).

Редакционная коллегия:

зав. каф. биологической химии, д-р мед. наук, проф. В. В. Лелевич  
(ответственный редактор);

зав. каф. клинической лабораторной диагностики и иммунологии,  
д-р мед. наук, С. В. Лелевич

доц. каф. биологической химии, канд. биол. наук А. Г. Виницкая;

доц. каф. биологической химии, канд. биол. наук И. О. Леднева.

Рецензенты: зав. каф. нормальной физиологии, д-р мед. наук, проф.

В. В. Зинчук;

зав. каф. общей гигиены и экологии, д-р мед. наук,

проф. И.А. Наумов.

**Актуальные проблемы** общей и клинической биохимии – 2023 :  
А 43 сб. материалов республиканской научно-практической конференции,  
[Электронный ресурс], г. Гродно, 26.05.2023 / отв. ред. В. В. Лелевич. –  
Гродно : ГрГМУ, 2023. – Электрон. текст. дан. (объем 5,8 Мб). –  
1 эл. опт. диск (CD-ROM).  
ISBN 978-985-595-812-4.

*В материалах республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы общей и клинической биохимии - 2023» представлены работы, посвященные широкому кругу актуальных проблем в области фундаментальной и клинической биохимии, а также вопросам преподавания этих дисциплин в медицинских вузах.*

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

УДК 577.1:005.745(06)

ББК 28.072я431

ISBN 978-985-595-812-4

© ГрГМУ, 2023

## СОДЕРЖАНИЕ

### **ОБЗОРНЫЕ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ**

ТКАНЕВАЯ СПЕЦИФИКА УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ <i>Лелевич В.В.</i> .....	15
ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОМЕНА АЛКОГОЛЬНОЙ МОТИВАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ НАРКОЛОГИИ <i>Лелевич В.В.</i> .....	23
НОВЫЙ АСПЕКТ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНА АСПРОСИНА ПРИ ИЗБЫТОЧНОЙ МАССЕ ТЕЛА <i>Аль-Джебур Д.Ш.О., Зинчук В.В., Подопригора М.В.</i> .....	28
ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ОЗОНА НА КРОВЬ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПАРЦИАЛЬНЫХ ДАВЛЕНИЯХ КИСЛОРОДА И УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА <i>Билецкая Е.С., Зинчук В.В., Володина А.А.</i> .....	37
ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕЙРОМЕДИАТОРНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИЯХ ПСИХОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ <i>Величко И.М., Лелевич С.В., Лелевич В.В.</i> .....	45
СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ГОМЕОСТАЗЕ ГЛУТАМАТА И ГАМК В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ ПРИ ДЕЙСТВИИ АЛКОГОЛЯ <i>Виницкая А.Г.</i> .....	52
ДОФАМИНЕРГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ <i>Гуща В.К., Лелевич С.В.</i> .....	57
СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ И РОДСТВЕННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ СЕРДЦА И СОСУДОВ: АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА, ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ <i>Дорошенко Е.М.</i> .....	64

НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И МОРФОЛОГИИ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИТОХОНДРИЙ КАРДИОМИОЦИТОВ КРЫС В ПРИСУТСТВИИ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ. ПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ФЛАВОНОИДА НАРИНГИНА <i>Заводник И.Б., Коваленя Т.А., Ильич Т.В., Кравчук Р.И., Островская О.Б., Климович И.И. ....</i>	<b>72</b>
МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГИПОДИНАМИИ <i>Мамедова А. Е., Лелевич В. В. ....</i>	<b>80</b>
ПУТИ МЕТАБОЛИЗМА НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ <i>Новгородская Я.И. ....</i>	<b>88</b>
АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВАЯ И САЛИЦИЛОВАЯ КИСЛОТЫ КАК РЕГУЛЯТОРЫ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ <i>Савко А. И. ....</i>	<b>97</b>
ВЛИЯНИЕ ТАУРИНА И L-ТРИПТОФАНА НА ФОНД СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ МОЗЖЕЧКА И КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ КРЫС ПРИ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА <i>Смирнов В.Ю., Разводовский Ю.Е., Троян Э.И., Максимович Н.Е.....</i>	<b>104</b>
НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОБЕСПЕЧЕНИЯ АМИНОКИСЛОТАМИ В ПЕРИОДЕ НОВОРОЖДЕННОСТИ <i>Шейбак Л.Н., Юркевич Е.А. ....</i>	<b>113</b>
КИШЕЧНЫЙ БАРЬЕР И ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЕГО ПРОНИЦАЕМОСТЬ <i>Шейбак В.М., Павлюковец А.Ю. ....</i>	<b>117</b>
ДЕМИНЕРАЛИЗАЦИЯ КАК НАЧАЛЬНЫЙ ЭТАП РАЗРУШЕНИЯ ЭМАЛИ ЗУБОВ <i>Амелина Э.Д., Полежаева А.С., Юзефович О.Н. ....</i>	<b>127</b>
ХИМИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ В ПОЛОСТИ РТА. ЗУБНОЙ НАЛЕТ <i>Балобан С.И., Майсюк И.С., Юзефович О.Н. ....</i>	<b>134</b>

## **Секция 1. ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ**

УЧАСТИЕ МОНООКСИДА АЗОТА В АДАПТАЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ К ГИПОКСИИ/РЕОКСИГЕНАЦИИ <i>Акулич Н.В., Зинчук В.В.</i> .....	144
ВЛИЯНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ KLEBSIELLA PNEUMONIAE К ЦЕФТАЗИДИМУ И ИМИПЕНЕМУ <i>Артюх Т.В., Сидорович Е.А., Топальский Д.В.</i> .....	146
СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ IN VITRO <i>Байгом Е.С, Цинцевич А.В.</i> .....	149
АНТИГИПОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ N-ПРОИЗВОДНЫХ ЦИТИЗИНА ПРИ ТКАНЕВОЙ ГИПОКСИИ У МЫШЕЙ <i>Богдевич Е.В., Букиа Е.В., Турсунходжаева Ф.М., Шляхтун А.Г.</i> .....	151
ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕЙРОМЕДИАТОРНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭТАНОЛОМ И МОРФИНОМ <i>Величко И.М.</i> .....	154
ЭФФЕКТЫ ПРЕРЫВИСТОЙ МОРФИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА СОДЕРЖАНИЕ ДОФАМИНА И ЕГО МЕТАБОЛИТОВ В КОРЕ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ КРЫС <i>Виницкая А.Г., Юзафзай Н.А., Болдак Е.А.</i> .....	157
ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В УСЛОВИЯХ СОЧЕТАННОГО ВВЕДЕНИЯ L-АРГИНИНА И АМИНОГУАНИДИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПЕРИТОНИТЕ <i>Гусаковская Э.В., Максимович Н.Е., Ковалева В.А., Тивунчик А.Ю.</i> .....	160
РАСТИТЕЛЬНЫЙ ЭКСТРАКТ САМШИТ ( <i>Buxus sempervirens</i> ) В ЛЕЧЕНИИ РАН <i>Джаббар Мустафа Салех Джаббар</i> .....	163
СОСТОЯНИЕ ПУЛА СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В МЫШЦАХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА <i>Дорошенко Е.М.</i> .....	165

РЕГУЛЯЦИЯ ИОНАМИ КАЛЬЦИЯ РЕСПИРАТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИТОХОНДРИЙ КАРДИОМИОЦИТОВ КРЫС <i>Заводник И.Б., Коваленя Т.А., Ильич Т.В., Климович И.И. ....</i>	<b>167</b>
ВЛИЯНИЕ АТОРВАСТАТИНА, ПАНТЕНОЛА И N- АЦЕТИЛЦИСТЕИНА НА ОКИСЛИТЕЛЬНО- ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ БАЛАНС В ПЛАЗМЕ КРОВИ И ПЕЧЕНИ СТАРЫХ КРЫС <i>Канунникова Н.П., Бородина Т.А., Гуринович В.А., Катковская И.Н., Лукиенко Е.П., Титко О.В., Мойсеёнок А.Г. ....</i>	<b>170</b>
ФУНКЦИОНАЛЬНО ЗНАЧИМЫЕ АМИНОКИСЛОТНЫЕ ОСТАТКИ АКТИВНОГО ЦЕНТРА ТИАМИНДИФОСФАТКИНАЗЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА, ОТВЕТСТВЕННЫЕ ЗА БИОСИНТЕЗ ТРИФОСФОРНОГО ЭФИРА ТИАМИНА <i>Костеневич Н.Н., Черникевич И.П., Барановская Е.А. ....</i>	<b>173</b>
НОВЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К РАЗРАБОТКЕ НЕЙРОТРОПНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ <i>Кравченко Е.В., Бизунок Н.А. ....</i>	<b>176</b>
АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ РЕСВЕРАТРОЛА В ОПЫТАХ IN VITRO <i>Кузьмицкая И.А., Романчук А.В., Ерошенко Ю.В., Мороз В.Л., Белоновская Е.Б., Курко С.Н. ....</i>	<b>179</b>
АКТИВНОСТЬ АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ В ПЕЧЕНИ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ МОРФИН-АЛКОГОЛЬНОМ АБСТИНЕНТНОМ СИНДРОМЕ <i>Леднёва И.О., Величко И.М. ....</i>	<b>182</b>
ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕКОТОРЫХ ПРЕПАРАТОВ С ПРОТИВОАЛКОГОЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ У КРЫС <i>Лелевич В.В. ....</i>	<b>1850</b>
ЭФФЕКТЫ ПРЕПАРАТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АЛКОГОЛИЗМА, НА УРОВЕНЬ ЭТАНОЛА И АЦЕТАЛЬДЕГИДА В КРОВИ <i>Лелевич В.В. ....</i>	<b>188</b>

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПОЗИЦИЙ АМИНОКИСЛОТ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ПРЕРЫВИСТОЙ МОРФИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ <i>Лелевич В.В., Виницкая А.Г.</i> .....	191
КОНЦЕНТРАЦИЯ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СИНДРОМЕ ОТМЕНЫ ЭТАНОЛА И МОРФИНА ГИДРОХЛОРИДА <i>Лелевич С.В., Величко И.М., Клещенко П.В.</i> .....	199
СОДЕРЖАНИЕ СЕРОТОНИНА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПРИ КОМПЛЕКСНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ И МОРФИНОМ <i>Лелевич С.В., Величко И.М., Лелевич В.В.</i> .....	201
АКТИВНОСТЬ АМИНОТРАНСФЕРАЗ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ НА ФОНЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО МОДЕЛИРОВАННОГО ИММУНОДЕФИЦИТА <i>Маглыш С.С.</i> .....	204
ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ ПУЛА АМИНОКИСЛОТ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС С ЧАСТИЧНОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИЕЙ <i>Максимович Н.Е, Бонь Е.И, Дорошенко Е.М, Смирнов В.Ю, Разводовский Ю.Е, Голик С.В.</i> .....	207
ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ АЛКОГОЛЬНОГО АБСТИНЕНТНОГО СИНДРОМА И ГИПОДИНАМИИ НА ОБМЕН ДОФАМИНА В НЕКОТОРЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС <i>Мамедова А. Е.</i> .....	210
ОБМЕН СЕРОТОНИНА В НЕКОТОРЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ АЛКОГОЛЬНОГО АБСТИНЕНТНОГО СИНДРОМА И ГИПОДИНАМИИ <i>Мамедова А. Е.</i> .....	213

<p>СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА МОЗЖЕЧКА ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ И ГИПОДИНАМИИ <i>Мамедова А. Е., Лелевич В. В., Шулика В. Р., Курбат М. Н. ....</i></p>	<b>216</b>
<p>СОДЕРЖАНИЕ КОФЕРМЕНТА А В КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ – БИОМАРКЕР ДЕФИЦИТА ВИТАМИННОГО ПРЕДШЕСТВЕННИКА И НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНОЙ ПАТОЛОГИИ <i>Мойсеёнок А.Г., Омельянчик С.Н., Катковская И.Н. ....</i></p>	<b>219</b>
<p>ГЛЮКАГОНОПОДОБНЫЙ ПЕПТИД (GLP-1): КОРРЕКЦИЯ УРОВНЯ ПРИ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ И ДИАБЕТЕ 2 ТИПА У КРЫС <i>Надольник Л.И., Полубок В.Ч., Виноградов В.В. ....</i></p>	<b>227</b>
<p>МЕТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ: ПОЛИОЛЬНЫЙ ПУТЬ <i>Наумов А.В., Петушок Н.Э.....</i></p>	<b>230</b>
<p>МОДИФИКАТОР МИКРОБИОМА ОРЕГОНИН ВЛИЯЕТ НА ПРОФИЛЬ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ В МИКРОБНО- ТКАНЕВОМ КОМПЛЕКСЕ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА <i>Николаева И.В., Шейбак В.М., Павлюковец А.Ю., Жмакин А.И., Островская О.Б., Смирнов В.Ю. ....</i></p>	<b>234</b>
<p>ИССЛЕДОВАНИЕ СРАВНИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ 1,3-ДИИНДОЛИЛПРОПЕНОНОВ В РЕАКЦИИ ПРИСОЕДИНЕНИЯ ТИОЛОВ ПО МИХАЭЛЮ <i>Панада Я.В., Фалетров Я.В., Фролова Н.С., Шкуматов В.М.....</i></p>	<b>236</b>
<p>БИОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РОЛИ ВИТАМИНА D В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА <i>Першин Р.В., Сулова В.А., Китан И.Н. ....</i></p>	<b>239</b>
<p>КОРРЕКЦИЯ ИЗМЕНЕНИЙ АКТИВНОСТИ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ И СОДЕРЖАНИЯ НЕБЕЛКОВЫХ SH- СОЕДИНЕНИЙ В ЛЕГКИХ НОВОРОЖДЕННЫХ ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРОКСИЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЛЬФА-ТОКОФЕРОЛА И N-АЦЕТИЛЦИСТЕИНА <i>Рутковская Ж. А., Котович И. Л., Матюхевич А. С., Саттаров Р. М., Таганович А. Д. ....</i></p>	<b>242</b>

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МОЛЕКУЛЫ СЗА С СИНТЕТИЧЕСКИМИ ПЕПТИДАМИ <i>IN VITRO</i> <i>Рябцева Т.В., Макаревич Д. А., Мартинович В.П.</i> .....	245
ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ 48-МИНУТНЫХ УЛЬТРАДИАННЫХ БИОРИТМОВ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КРЫС В ТЕСТЕ АКТОМЕТРИИ В УСЛОВИЯХ «ИНЪЕКЦИОННОГО» СТРЕССА <i>Саванец О.Н.</i> .....	248
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЛИТИЯ ТАУРАТА И ЛИТИЯ КАРБОНАТА НА УЛЬТРАДИАННЫЕ БИОРИТМЫ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В ТЕСТЕ АКТОМЕТРИИ <i>Саванец О.Н., Кравченко Е.В., Ольгомец Л.М., Зильберман Р.Д., Каранкевич Е.Г., Куваева З.И.</i> .....	251
ИЗМЕНЕНИЯ В ПУЛЕ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЫ КРЫС ПРИ 28-ДНЕВНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ <i>Семенчук А.К.</i> .....	254
ТРАНСФОРМАЦИЯ ПУЛА СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ 28-ДНЕВНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ <i>Семенчук А.К.</i> .....	257
ЗАКОНОМЕРНОСТИ СВЯЗЫВАНИЯ ФНО-АЛЬФА С ОЛИГОПЕПТИДАМИ С РАЗЛИЧНЫМ ЧИСЛОМ АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ <i>Смурага Д. Д., Рябцева Т. В., Таганович А. Д.</i> .....	260
АМИНОКИСЛОТНЫЙ СПЕКТР КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ И СТВОЛА ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ЗИДОВУДИНА И S-АДЕНОЗИЛМЕТИОНИНА <i>Филина Н.И.</i> .....	263
ДИЗАЙН, СИНТЕЗ И СВОЙСТВА НОВЫХ ВОДИРУ-СОДЕРЖАЩИХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ $\beta$ -ЛАКТАМНЫХ АНТИБИОТИКОВ <i>Хорецкий М.С., Чилик Ю.А., Добровольская П.В., Горбацевич Г.С., Шкуматов В.М.</i> .....	266
АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ МЕЛАТОНИНА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА <i>IN VIVO</i> И <i>IN VITRO</i> <i>Цинцевич А.В., Байгот Е.С.</i> .....	269

СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ ВВЕДЕНИИ  
АМИНОКИСЛОТНОЙ КОМПОЗИЦИИ  
И ЛИПОПОЛИСАХАРИДА E. COLI K-235  
*Шейбак В.М., Павлюковец А.Ю., Дорошенко Е.М., Мойсеёнок А.Г.,  
Канунникова Н.П. .... 272*

РАЗРАБОТКА СОСТАВА МИНИЗОЛЯ, СТАБИЛИЗИРУЮЩЕГО  
СОСТОЯНИЕ КИШЕЧНИКА ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ  
АЦЕТАМИНОФЕНОМ  
*Шейбак В.М., Николаева И.В., Островская О.Б., Кравчук Р.И. .... 275*

МИТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ  
БИОСИНТЕЗА НИКОТИНАМИДА ДЕНИНДИНУКЛЕОТИДА ПРИ  
ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ  
*Шляхтун А.Г., Максимчик Ю.З., Букиа Е.В., Сутько И.П., Радута  
Е.Ф., Богдевич Е.В., Мотылевич Ж.В., Гуринович В.А. .... 278*

КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ЦИТОХРОМОВ P450  
ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ЛЕКАРСТВ,  
МЕЖЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ И ПОИСКА НОВЫХ  
ПРЕПАРАТОВ В КАЧЕСТВЕ СУБСТРАТОВ И ИНГИБИТОРОВ ЭТИХ  
ФЕРМЕНТОВ  
*Шумянцева В.В., Королева П.И., Булко Т. В., Агафонова Л.Е.,  
Масамрех Р.А., Кузиков А.В. .... 281*

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС КАК БИОХИМИЧЕСКАЯ ПРИЧИНА  
СТАРЕНИЯ ЧЕЛОВЕКА  
*Юсафзай Н. А., Болдак Е. А., Виницкая А.Г. .... 284*

## **Секция 2. КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ**

ОЦЕНКА ПОКАЗАНИЙ И ЧАСТОТЫ НАЗНАЧЕНИЯ В  
ПЕДИАТРИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ МОЗГОВОГО  
НАТРИЙУРЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА КАК ОСНОВНОГО  
ПРОГНОСТИЧЕСКОГО ИНДИКАТОРА РАЗВИТИЯ СЕРДЕЧНОЙ  
НЕДОСТАТОЧНОСТИ  
*Арцименя В.А., Прокопович В.Г., Зеневич О.В. .... 288*

УСТАНОВЛЕНИЕ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ КРИТЕРИЕВ РИСКА  
ДИСЛИПИДЕМИИ У ЛИЦ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА  
*Байда А.В., Степанова Ю.И., Алехнович Л.И., Кузнецова Н.Б.,  
Михалюк Р.А. .... 290*

<p>ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ИНФЕКЦИИ COVID-19 У БЕРЕМЕННЫХ <i>Ганчар Е.П., Гутикова Л.В., Наумов А.В., Дорошенко Е.М., Смирнов В.Ю.</i> .....</p>	<b>293</b>
<p>СЕРОСОДЕРЖАЩИЕ АМИНОКИСЛОТЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ У БЕРЕМЕННЫХ С ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19 <i>Ганчар Е.П., Гутикова Л.В., Наумов А.В., Дорошенко Е.М., Смирнов В.Ю.</i> .....</p>	<b>296</b>
<p>ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ПЛОВЦОВ <i>Гилеп И.Л., Будко А.Н., Гаврилова С.О.</i> .....</p>	<b>399</b>
<p>ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ У НОСИТЕЛЕЙ ГЕНОТИПОВ ПО ПОЛИМОРФНОМУ МАРКЕРУ rs34532313 ГЕНА MTNR1A В ОТВЕТ НА СРЕСС-РЕАКЦИЮ <i>Глуткин С.В., Зинчук В.В., Гуляй И.Э., Грицевич Д.Г., Гритченко К.М.</i></p>	<b>302</b>
<p>АКТИВАЦИЯ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ У ПАЦИЕНТОВ С КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19 <i>Глуткина Н.В., Гуляй И.Э., Рабковская Е.М., Норик С.В.</i> .....</p>	<b>304</b>
<p>ОЦЕНКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БЕРЕМЕННЫХ С COVID-19 ПРИ ГОСПИТАЛИЗАЦИИ В СТАЦИОНАР <i>Гриневич Т.Н., Островская К.А., Кот М.О., Бизунова О.П., Селезень Ж.Н.</i> .....</p>	<b>307</b>
<p>ОЦЕНКА МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА У БЕРЕМЕННЫХ С COVID-19 <i>Гриневич Т.Н., Бах М.С., Кот М.О., Скурашевская Т.Л.</i> .....</p>	<b>311</b>
<p>БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ У ДЕТЕЙ ДО И ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ <i>Девина Е.А., Драчан В.А.</i> .....</p>	<b>314</b>
<p>ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ <i>Девина Е.А., Ванда А.С., Малькевич Л.А., Осипова И.С.</i> .....</p>	<b>317</b>
<p>ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ НЕФРОТОКСИЧНОСТИ <i>Довнар Р.И.</i> .....</p>	<b>320</b>

ОЦЕНКА ОБЕСПЕЧЕННОСТИ ДЕТЕЙ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ЕСТЕСТВЕННОМ ВСКАРМЛИВАНИИ, ЭССЕНЦИАЛЬНЫМИ МИКРОЭЛЕМЕНТАМИ <i>Карнаухова И.В., Мачнева И.В., Лебедева Е.Н.</i> .....	322
БИОХИМИЧЕСКИЕ ОБОСНОВАНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ СХЕМ ЛЕЧЕНИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ <i>Коваль А.Н., Лесковец А. И.</i> .....	325
ПРИМЕНЕНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ПОДХОДА В ОЦЕНКЕ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА <i>Колоцей В.Н., Климович И.И., Страпко В.П.</i> .....	329
ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛА IN VITRO НА КИСЛОДТРАНСПОРТНУЮ ФУНКЦИЮ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С СОСТОЯНИЕМ ОТМЕНЫ АЛКОГОЛЯ <i>Лелевич А.В.</i> .....	331
РОЛЬ ГОМОЦИСТЕИНА И ЦИСТЕИНИЛГЛИЦИНА В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У ДЕТЕЙ <i>Лукиша А.В., Наумов А.В., Дорошенко Е.М., Максимович Н.А., Смирнов В.Ю.</i> .....	334
СОДЕРЖАНИЕ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ В ПЛАЗМЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ <i>Лукиша А.В., Наумов А.В., Дорошенко Е.М., Максимович Н.А.</i> .....	337
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ХРОНИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ, АССОЦИИРОВАННЫХ С НАРУШЕНИЕМ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА <i>Людчик Т.Б., Степанова Ю.И., Насибяниц Н.В., Журко П.Т., Соловей О.М.</i> .....	339
АНАЛИЗ РОЛИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В ПРОГРЕССИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ <i>Макаревич В.В., Пикуза А.Р.</i> .....	343

УРЕАЗНЫЙ ТЕСТ КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ МЕТОД ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ HELICOBACTER PYLORI-АССОЦИИРОВАННОГО ГАСТРИТА У ДЕТЕЙ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ БИОПТАТОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА <i>Масюк О.В.</i> .....	346
СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ «L-АРГИНИН-NO» И ПЕРЕКИСНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ДЕТЕЙ <i>Парфёнова И.В.</i> .....	348
АМИНОКИСЛОТНЫЙ ФОНД ПЛАЗМЫ КРОВИ МУЖЧИН С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ПОТРЕБЛЕНИЯ АЛКОГОЛЯ <i>Разводовский Ю.Е., Смирнов В.Ю., Дорошенко Е.М., Климович И.И., Шуриберко А.В., Бадун Е.Г., Казинец Е.О., Переверзев В.А.</i> .....	350
ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ МАКРОЭЛЕМЕНТАМИ ДЕТЕЙ ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА <i>Ровбуть Т.И., Онегин Е.Е., Скакун В.И.</i> .....	353
РЕТИНОПАТИЯ ПУРЧЕРА ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ <i>Солодовникова Н.Г., Ильина С.Н., Хаткевич О.В., Семянович Т.В., Голуб Е.И.</i> .....	356
КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ДЕТЕЙ С КОВИДНЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ <i>Сорокопыт З.В., Рачковская И.Е., Сергеюк Э.Г.</i> .....	359
ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРЕДИКТОРЫ РЕЦИДИВА У ПАЦИЕНТОВ С АДЕНОКАРЦИНОМОЙ ЛЕГКОГО (I-II СТАДИИ) <i>Таганович А.Д., Ковганко Н.Н., Колб А.В., Принькова Т.Ю., Хотько Е.А., Готько О.В., Царик А.А.</i> .....	362
ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫЕ МАРКЕРЫ В ДООПЕРАЦИОННОЙ ОЦЕНКЕ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО I-III СТАДИЙ <i>Таганович А.Д., Ковганко Н.Н., Турута Я.Д., Струневский В.А., Герасименко А.Г., Готько О.В., Царик А.А.</i> .....	365

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ БЕЗРЕЦИДИВНОЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ ПАЦИЕНТОВ С ОПЕРАБЕЛЬНЫМИ IIIA И IIIB СТАДИЯМИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО <i>Таганович А.Д., Ковганко Н.Н., Броницкий С.К., Шумельчик В.В., Готько О.В.</i> .....	368
---	-----

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ <i>Халецкая Д. А., Дубовик В.Ю.</i> .....	371
--	-----

ПОИСК МАРКЕРОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РИСКА РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ <i>Хотько Е.А., Таганович А.Д., Шабает Г.В., Кадушкин А.Г.</i> .....	374
---	-----

ПАТОГЕНЕЗ ГИПОАЛЬБУМИНЕМИИ И МЕТОДЫ ЕЕ КОРРЕКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С СЕПСИСОМ И СЕПТИЧЕСКИМ ШОКОМ. <i>Якубцевич Р.Э., Белявский Н.В., Калашникова Е. А., Кузьмич А.А., Сак Е.Ю., Кашиц П.Ф.</i> .....	376
--	-----

БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ ПРОТЕИНУРИИ <i>Ярец Ю.И.</i> .....	381
--	-----

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

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОБУЧАЮЩИХ ВИДЕО YOUTUBE-КАНАЛА «РИСУЕМ БИОХИМИЮ» В ОБРАЗОВАТЕЛЬНОМ ПРОЦЕССЕ <i>Громыко М. В., Мышковец Н. С., Коваль А. Н., Никитина И. А.</i> .....	385
---	-----

ЛЕКЦИЯ КАК ФОРМА УЧЕБНОГО ПРОЦЕССА <i>Леднева И.О.</i> .....	388
---	-----

ПРЕПОДАВАНИЕ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ В ГРОДНЕНСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ МЕДИЦИНСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ <i>Лелевич С.В.</i> .....	391
---	-----

МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ПРЕПОДАВАНИЯ РАЗДЕЛА «БИОХИМИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ» В ДИСЦИПЛИНЕ «БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ» НА МЕДИКО-ПСИХОЛОГИЧЕСКОМ ФАКУЛЬТЕТЕ <i>Маглыш С.С., Лелевич В.В.</i> .....	<b>394</b>
ПЕРВЫЙ ОПЫТ ПРОВЕДЕНИЯ ОБЪЕКТИВНОГО СТРУКТУРИРОВАННОГО ЭКЗАМЕНА ПО КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ <i>Новикова И.А., Зубкова Ж.В., Прокопович С.С., Макеева К.С.</i> .....	<b>396</b>
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭЛЕКТРОННОГО РЕСУРСА «БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ АПОПТОЗА» ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ УПРАВЛЯЕМОЙ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ ПО ДИСЦИПЛИНЕ «ПРОТЕОМИКА» <i>Халецкая Е.И.</i> .....	<b>399</b>

# **ОБЗОРНЫЕ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ**

## **ТКАНЕВАЯ СПЕЦИФИКА УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ**

**Лелевич В.В.**

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

Механизмы функционирования головного мозга в условиях нормы и патологии уже давно привлекают внимание широкого круга специалистов медицинского и биологического профиля. Высокоспециализированная деятельность ЦНС предопределяет особенности ее морфологического состава и метаболического фона. Детальное изучение различных аспектов деятельности головного мозга выявило, что процессы, лежащие в основе таких специфических для нервной ткани явлений, как возбудимость, проведение нервного импульса, хранение и переработка поступающей информации, обеспечение пространственно-функциональной цитоархитектоники, деятельность синаптических структур протекают с существенными энергетическими и пластическими затратами [1]. Это предполагает существование определенных метаболических особенностей в ЦНС, которые обеспечивают ее функциональную активность. С этих позиций особенно важное значение занимает углеводный обмен, имеющий непосредственное отношение к энергопроизводящим процессам в нервной ткани. В данном обзоре систематизированы и охарактеризованы основные особенности метаболизма глюкозы и других углеводов, характерных для головного мозга.

В сравнении с другими органами, функциональная активность мозга в наибольшей степени зависит от обмена углеводов. При нормальных условиях энергетические потребности головного мозга обеспечиваются почти исключительно за счет глюкозы [2]. Однако, в последнее время устоявшиеся взгляды на глюкозу как эксклюзивный энергетический субстрат для нервной ткани существенно меняются. Формируется новая концепция гибкого и сложно организованного взаимодействия ряда энергетических субстратов для головного мозга в различных функциональных и патологических состояниях. Это совпадает с трансформацией представлений о роли глюкозы как основного гомеостатического макронутриента в масштабах целого организма [3].

Высокая зависимость функционирования головного мозга от притока глюкозы с кровью объясняется прежде всего тем, что ее запасы в нервной ткани малы по сравнению с большой интенсивностью потребления. Запасы глюкозы в головном мозге будут полностью исчерпаны за 4-6 минут в случае, если она используется только для окисления [4]. Снижение уровня глюкозы в нейронах сопровождается снижением скорости гликолиза, вследствие этого – уменьшением поступления пирувата в цикл трикарбоновых кислот и ингибированием генерации АТФ митохондриями. Следствиями данного гипознергетического состояния является целый комплекс нейрохимических

отклонений – нарушение ионного баланса нейронов, формирование окислительного стресса, освобождение возбуждающих аминокислот и аденозина, смещение редокс-потенциала ряда окислительно-восстановительных систем за счет превалирования окисленных форм [5]. Следует подчеркнуть, что понижение концентрации глюкозы в нейронах рассматривают как важное патогенетическое звено при формировании тяжелой патологии нервной системы.

Моделирование гипогликемии, а также понижение уровня глюкозы в среде культивирования, повышает чувствительность нейронов к токсическому действию глутамата [4]. Данный механизм реализуется через гиперстимуляцию глутаматных рецепторов и рассматривается как ведущий патогенетический фактор при развитии большинства нейродегенеративных заболеваний. Гипогликемия приводит к формированию разностороннего нейрохимического дисбаланса, важными аспектами которого являются массивная деполяризация, выход ионов калия из клеток и быстрое снижение уровня межклеточного кальция, снижение энергетических функций митохондрий, увеличение продукции активных форм кислорода в нейронах и клетках нейронального происхождения [3,4].

Для обеспечения достаточного энергетического уровня нейронов катаболизм глюкозы должен осуществляться по аэробному механизму. С этим связана более высокая чувствительность мозга к гипоксии, чем к гипогликемии [1]. По расчетам Г.Мак-Ильвейна дыхательный коэффициент головного мозга взрослого человека близок к единице. Это указывает на то, что преобладающим путем метаболизма глюкозы в головном мозге является ее окисление в реакциях аэробного гликолиза, сопряженных с функционированием цикла трикарбоновых кислот (ЦТК). Наряду с аэробным метаболизмом углеводов, мозговая ткань способна к интенсивному анаэробному гликолизу. Значение этого явления пока недостаточно ясно, так как последний метаболический путь как источник энергии ни в коем случае не может заменить в ткани мозга аэробный гликолиз [2]. В последние годы проведены обстоятельные исследования по изучению специфических особенностей функционирования и регуляции углеводного обмена в ткани головного мозга. Как уже отмечалось выше, головной мозг в качестве энергетического материала использует главным образом глюкозу. Это объясняется тем, что при окислении других субстратов образуются вещества, неблагоприятно влияющие на метаболизм ткани головного мозга. Глюкоза, как субстрат гликолиза, необходима еще и для поддержания нейромедиаторных процессов, функционирования  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -насоса. Нарушения гомеостаза глюкозы сопровождаются поражениями нервной системы. Патогенетический механизм этих поражений связан с нарушениями энергозависимых нейромедиаторных превращений, межполушарных взаимодействий, дезинтеграцией электрофизиологических процессов некоторых функциональных систем мозга [5]. Глюкоза является специфическим, главным, но не единственным субстратом, окисляющимся в мозге. При некоторых патологических состояниях в головном мозге человека и животных в качестве дополнительного, а в исключительных случаях и

самостоятельного источника энергии, могут выступать кетоновые тела, свободные жирные кислоты и аминокислоты, поглощаемые из крови [3].

Глюкоза в мозге является не только источником энергии, но и одним из важнейших исходных пластических метаболитов. Она служит основным источником глицерина, входящего в состав глицерофосфолипидов и нейтральных липидов. Пировиноградная кислота и кетокислоты ЦТК, получаемые при катаболизме глюкозы, занимают центральное место в метаболизме заменимых аминокислот в нервной ткани [1].

Транспорт глюкозы в мозг осуществляется преимущественно с помощью специальной системы переносчиков, активно функционирующих в широких пределах концентрации глюкозы в крови – от 2,75 до 16,5 ммоль/л. На долю пассивной диффузии приходится не более 5% от общего потока глюкозы. Исследования с радиоактивно меченой  $C^{14}$  – глюкозой показали, что уже через 2 минуты после внутривенного введения она в значительном количестве обнаруживается в ткани мозга. При этом максимальная радиоактивность определяется в коре больших полушарий и базальных ганглиях, а минимальная в продолговатом мозге и гипофизе [6].

Имеются некоторые количественные характеристики доставки и содержания глюкозы в головном мозге человека. При средней скорости циркуляции крови мозг человека получает в минуту приблизительно 7 мг глюкозы на 100 грамм ткани [5]. Энергетические запасы мозга в виде глюкозы невелики и составляют 7 ммоль, а в анаэробных условиях эта энергетическая ценность резко снижается. Таким образом, анализируя энергетический бюджет головного мозга, следует отметить, что собственных энергетических ресурсов он практически не имеет и снабжение его энергией зависит от постоянной доставки кислорода и глюкозы. При этом для мозга требуется абсолютная синхронизация между доставкой и потреблением кислорода и энергетических субстратов (глюкозы).

Глюкоза входит в ткань мозга в виде глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф) с участием гексокиназы (ГК), причем мозг отбирает аномеры глюкозы из двух пулов артериальной крови [2]. В опытах на гомогенатах и с суспензией интактных клеток мозга показана специфичность системы метаболизма углеводов в отношении  $\beta$ -изомера Д-глюкозы.

Комплексное исследование 10 ферментов, связанных с превращениями Г-6-Ф и его метаболитов показали, что из трех основных обменов глюкозы (гликолиз, синтез гликогена и ПФП) в мозге основным является первый [1]. Скорость гликолиза по мере развития и формирования мозга возрастает. Изменение содержания глюкозы в крови сопровождается трансформацией ее метаболизма в мозговой ткани. При острой гипогликемии наблюдается двукратное увеличение объема распределения глюкозы в мозге и повышение скорости частичной утилизации 2-дезоксиглюкозы [4]. Понижение уровня гликемии в течение нескольких часов сопровождается резким снижением содержания глюкозы, Г-6-Ф, гликогена и пирувата в мозговой ткани [7]. В регуляции метаболизма глюкозы и энергетического гомеостаза организма принимают участие нервная система и непосредственно особые,

глюкозосенсорные нейроны, функциональная активность которых зависит от содержания глюкозы в межклеточном пространстве [4]. Эти специализированные нейроны используют глюкозу и продукты ее метаболизма как регуляторы своей активности и секреции нейротрансмиттеров. Механизм данной регуляции до конца не понятен, но известно, что главными его участниками являются фермент гексокиназа и калиевые АТФ-чувствительные каналы.

Характеризуя любую часть метаболизма в головном мозге следует учитывать его выраженную морфофункциональную гетерогенность. Это было показано и в отношении метаболизма глюкозы [2]. Так, медиальные ядра миндалина головного мозга представляют собой глюкозо-сенсорную область, содержащую глюкозо-чувствительные нейроны, опосредующие реакцию стресса на гипогликемию [4]. Важное значение в регуляции метаболизма глюкозы в миндалине играют инсулиновые рецепторы [8]. Миндалину рассматривают как инсулинчувствительный орган с четко выраженной экспрессией рецепторов инсулина [9]. Транспорт глюкозы в тела нейронов миндалина осуществляется инсулин-зависимыми транспортерами GLUT 4 и GLUT 8. Инсулин вызывает миграцию GLUT 4 из цитозоля к плазматической мембране для транспорта глюкозы в клетку, а GLUT 8 обеспечивает восстановление уровня глюкозы в цитозоле после гликолизирования белков. При этом отмечается, что патогенез ряда нейродегенеративных заболеваний связан с отклонениями метаболизма глюкозы в миндалине и нарушением передачи сигналов с участием инсулиновых рецепторов [10].

Гипоксия мозга различной этиологии сопровождается снижением здесь метаболизма глюкозы. По данным ядерно-магнитного резонанса более выраженные изменения происходят для  $\alpha$ -глюкозы, чем для  $\beta$ -форм, что может быть обусловлено избирательной утилизацией  $\alpha$ -формы по пути гликолиза [5].

Начальной реакцией превращения глюкозы является ее фосфорилирование в Г-6-Ф гексокиназой (АТФ; Д-гексозо-6-фосфотрансфераза, К.Ф. 2.7.1.1.). Фермент обнаружен во многих органах и тканях. Активность ГК в мозге в 10-20 раз выше, чем в других тканях млекопитающих [2]. От 80 до 90% суммарной активности ГК мозговой ткани обнаружено в митохондриях. В культуре глиальных клеток, выделенных из мозга крысы, 80% ГК находится в растворимой форме. По кинетическим свойствам глиальная ГК схожа с цитоплазматическим ферментом и отличается от митохондриальной ГК мозга. По-видимому, в глиальных клетках локализована основная часть цитоплазматической ГК головного мозга. В головном мозге ГК имеет особое значение для регуляции энергетического метаболизма, так как в результате данной реакции образуется основное количество (90-95%) глюкозо-6-фосфата. Это позволяет рассматривать ГК как важный элемент контроля над скоростью энергетического обмена в нервной ткани. Связывание ГК с митохондриальной мембраной – обратимый процесс. В этой связи, быстрые взаимопереходы солубизированной и связанной с митохондриями ГК обеспечивают значительный запас ее мощности, что

позволяет быстро менять скорость фосфорилирования глюкозы при сдвигах в энергетическом балансе мозга [1,2].

Преимущественное использование Г-6-Ф в реакциях гликолиза является характерной особенностью углеводного обмена головного мозга. Оно обусловлено значительным превышением активности фосфогексоизомеразы и фосфофруктокиназы (ФФК) над другими ферментами, конкурирующими за этот субстрат. ФФК является поливалентным, аллостерическим ферментом, активность которого подавляется АТФ и цитратом, но стимулируется АДФ. В то же время действие этих основных регуляторных факторов дополняется другими. Так, АМФ и фосфат неорганический снимают ингибирующее действие АТФ, аналогичный эффект оказывает фруктозодифосфат. Рост отношения АТФ/АДФ как аллостерических эффектов и компонентов цикла фосфорилирования-дефосфорилирования фермента приводит к снижению активности ФФК, а уменьшение отношения АТФ/АДФ, напротив, повышает ее активность. По всей вероятности, этот механизм регуляции является ведущим в системе множественного контроля над активностью ФФК в головном мозге. Следует отметить, что такое отношение АТФ/АДФ одновременно с ФФК контролирует и активность ГК, причем направленность изменений одинакова для обоих ферментов. Это дало основание рассматривать ГК и ФФК в мозге как единый функциональный механизм. Другой механизм контроля активности ФФК – ингибирование цитратом в головном мозге, по всей вероятности, играет значительно меньшую роль, чем в других тканях [11].

Еще одной отличительной чертой гликолиза в нервной ткани является необычная внутриклеточная локализация фермента лактатдегидрогеназы (ЛДГ). В большинстве тканей подавляющая доля активности ЛДГ связана с цитоплазмой. В головном мозге до 10% от общей активности ЛДГ клеток обнаруживается в митохондриях. Это, предположительно, способствует более полному использованию конечных продуктов гликолиза (пирувата и лактата) в митохондриях [2].

ЛДГ является практически единственным путем метаболизма лактата в тканях и, поэтому, его можно рассматривать как резервный фонд пирувата. Легкая обратимость ЛДГ-реакции и ее высокая активность определяют важную роль данного фермента в поддержании редокс состояния пиридиновых нуклеотидов и обеспечении динамического равновесия в системе пируват-лактат.

По ранее установившимся представлениям лактат рассматривался как «метаболический тупик», в лучшем случае бесполезный, а нередко и крайне нежелательный субстрат. В более поздних исследованиях были получены доказательства, что лактат не только индифферентный метаболит, но наоборот, крайне необходимый энергетический субстрат, эффективно поддерживающий нейрональную функцию наряду с глюкозой [12]. Используя различные методические подходы (микродиализ, ядерно-магнитный резонанс высокого разрешения и др.) было показано, что мозг человека может использовать лактат как энергетический субстрат в аэробных условиях. В дальнейшем была подтверждена важная роль лактата в процессах обучения, формирования

долговременной памяти, функционировании нейрональных сетей [13]. Это привело к формированию представлений о нейрональном шаттле лактата. Впервые гипотеза лактатного шаттла была сформулирована для мышечной ткани. Она основывалась на данных, что митохондрии скелетной и сердечной мышцы способны к прямому окислению лактата. Для реализации данного процесса они нуждаются в монокарбоксилатных транспортерах и ферменте ЛДГ. Концепция нейронального внутриклеточного лактатного шаттла была разработана Шурром [14]. Согласно его предположению в нервной ткани в аэробных и анаэробных условиях конечным этапом катаболизма глюкозы является лактатдегидрогеназная реакция с наработкой лактата. В свою очередь последний рассматривается как оксидативный субстрат цикла трикарбоновых кислот в митохондриях. Последнее предположение основывается на обнаружении митохондриальной ЛДГ, что утверждает лактат таким же естественным субстратом в митохондриальном цикле трикарбоновых кислот, как и пируват. С позиции лактатного шаттла в различных функциональных условиях и морфологической локации (анаэробный и аэробный гликолиз, нейроны, астроциты) лактат является основным продуктом. Это предположение нивелирует разногласия о главенстве глюкозы или лактата для энергообеспечения мозговой ткани. Оба этих субстрата одинаково важны, но с различных позиций: глюкоза – как начальный субстрат гликолиза, лактат – как субстрат митохондриального цикла трикарбоновых кислот.

С учетом сложной цитоархитектоники ткани головного мозга концепция нейронального лактатного шаттла продолжила свое развитие в отношении отдельных клеточных фракций. Это привело к формированию гипотезы нейронально-астроцитарного лактатного шаттла (НАЛШ), ключевым моментом которого является предположение, что астроциты играют существенную роль в захвате глюкозы при глутаматэргической активности [15]. Последняя в астроцитах метаболизируется до лактата, который переносится во внеклеточное пространство, далее захватывается нейронами и используется как один из альтернативных энергетических субстратов. К настоящему времени гипотеза НАЛШ подтверждена рядом экспериментальных доказательств, полученных *in vitro* и *in vivo* [3]. Гликолитические ферменты в астроцитах экспрессируются более динамично, что предполагает здесь высокую поточную скорость данного метаболического пути. То есть астроциты являются производителем достаточно большого количества лактата, который в свою очередь, активно утилизируется нейронами в качестве энергетического субстрата. При этом следует учитывать, что астроциты – это количественно доминирующая фракция глиальных клеток, которая в 10 раз превышает количество нейронов. Астроциты имеют прочную морфо-функциональную связь с нейронами благодаря отросткам, обращенным к пресинаптической области последних. На этих отростках расположен специфический транспортер глюкозы – ГЛЮТ-1, который обеспечивает ее предпочтительный захват после выхода из кровотока в мозговую паренхиму.

Обобщая вышеприведенные данные можно выделить следующие специфические для ткани головного мозга особенности функционирования гликолиза:

1. Необычно важную роль для метаболизма играет гексокиназная реакция как основной механизм вовлечения окисляемых субстратов в гликолитические превращения.

2. Однонаправленные и синхронные эффекты со стороны адениловых нуклеотидов на скорость наиболее медленных этапов гликолиза – ГК и ФФК позволяет объединить эти два фермента в единый функциональный комплекс.

3. Необычная внутриклеточная локализация ЛДГ не только в цитоплазме, но и в митохондриях позволяет более эффективно использовать лактат и пируват в дальнейших митохондриальных превращениях.

Пентозофосфатный путь (ПФП) метаболизма глюкозы – это установленная последовательность промежуточных реакций диссимиляции глюкозы, в которой образуются пятиуглеродные фосфорилированные сахара. ПФП следует отнести к числу метаболических систем, осуществляющих в тканях важнейшие реакции пластического обмена. Удельный вес ПФП в общем метаболизме углеводов в большинстве тканей человека и животного невелик, но выполняемые им функции весьма ответственны. ПФП тесно связан с гликолизом и другими видами обменов – нуклеиновым, белковым, липидным [2].

В норме основная часть глюкозы метаболизируется нейронами по пути гликолиза и лишь небольшое количество в ПФП. Отмечают, что суммарно в ПФП катаболизируется около 5% пула глюкозы в мозге. Головной мозг обладает низкой активностью ферментов ПФП в сравнении с печенью, надпочечниками, жировой тканью. Однако последнему отводится важная роль в снабжении структур нервной ткани восстановительными эквивалентами в липогенезе, а также пентозами в биосинтезе нуклеиновых кислот [16]. Поражения ЦНС, отклонения в ее функциональной активности нередко сопровождаются изменениями ПФП в мозге, усугубляющими патохимическую картину нарушений в нейронах. Особую роль выполняет ПФП в синаптасомах, которая заключается в защите от перекисного повреждения путем детоксикации перекиси водорода и восстановления альдегидов и биогенных аминов от НАДФ и глутатиона. Такие важные для мозговой ткани соединения, как глутамат и ГАМК, могут нарабатываться при обмене глюкозы не только в гликолизе, но и через ПФП. Отмечается зависимость активности ключевых ферментов и содержания основных метаболитов ПФП от функционального состояния ЦНС.

ПФП специфически реагирует на протекание многих физиологических, патологических и экстремальных состояний организма, определяя в известной мере его адаптационные возможности. При этом ферменты неокислительной ветви ПФП нарабатывают фосфорилированные сахара, уровень которых оптимально соответствовал бы метаболическим запросам ткани, направленным на обеспечение клеточного гомеостаза, целостность структуры ткани, ее регенерационной способности. Эта метаболическая направленность ПФП является, очевидно, главной для большинства тканей высших животных, в том числе и для головного мозга. При физиологических состояниях гликолиз и ПФП в организме сопряжены. Второй изофермент транскетолазы может

сформировать комплекс с трансальдолазой, в то время как первый изофермент находится в комплексе с глицеральдегидфосфатдегидрогеназой и ответственен за переключение ПФП на гликолиз [16].

Еще одной важной характеристикой углеводного обмена в ткани головного мозга является его зависимость от регуляторного действия инсулина. Данный гормон занимает одно из центральных мест в поддержании гомеостаза глюкозы в организме, однако до настоящего времени нет четких представлений о его эффектах на обмен углеводов в ткани мозга. Системный скрининг позволил выявить наличие инсулина почти во всех исследуемых тканях животных, в том числе и в мозге [16]. Концентрация инсулина в ЦНС относительно низкая, данные о его биосинтезе в нейронах и возможности проникновения инсулина через гемато-энцефалический барьер до сих пор дискутируются. Инсулин оказывает отчетливо выраженное воздействие на состояние ЦНС. Во-первых, он стимулирует проникновение глюкозы в мозг, ее метаболизм и синтез гликогена в мозговой ткани. Во-вторых, инсулин взаимодействует с глюкорегуляторным центром в гипоталамусе, который модулирует освобождение глюкозы из печени и секрецию панкреатического инсулина. Наконец, инсулин оказывает регуляторное действие на синтез белка, нуклеиновых кислот, рост и пролиферацию клеток в ткани головного мозга [17]. Распределение инсулина по структурам мозга неодинаково: больше всего его в гипоталамусе и обонятельной луковице, меньше – в стволовой части мозга. Известно [16], что панкреатический инсулин довольно легко достигает цереброспинальной жидкости, что можно расценивать как доказательство периферического происхождения инсулина. С другой стороны, рецепторы периферического и центрального инсулина различаются между собой как по молекулярной массе, так и по структурным характеристикам.

Нет однозначного мнения по поводу изменения скорости утилизации глюкозы тканью мозга при диабете. Введение животным инсулина повышает содержание пирувата и снижает уровень лактата в ткани мозга [18]. Активность пируватдегидрогеназы и ЛДГ при этом существенно не изменяется. Однако изменение величины окисленных и восстановленных коферментов в цитоплазме нейронов свидетельствует о сдвиге ЛДГ-реакции в сторону образования пирувата. Инсулин оказывает влияние на некоторые звенья нейромедиаторных превращений в мозге. У крыс с диабетом отмечается увеличение активности холинацетилтрансферазы во всех участках мозга, за исключением коры и среднего мозга, а ацетилхолинэстеразы в продолговатом мозге и мозжечке [19]. Считают, что инсулин способен индуцировать нейрохимические изменения путем влияния на активность фосфатпереносящих ферментов в микрососудах мозга. Из этого следует, что инсулин модулирует состояние нейромедиаторных систем, а неврологические осложнения при диабете, вероятно, в значительной мере имеют в своей основе нейромедиаторную природу.

Таким образом, резюмируя основные особенности углеводного обмена в ткани головного мозга следует подчеркнуть несколько принципиальных положений. Функциональная активность мозга в наибольшей степени зависит

от обмена углеводов, причем головной мозг в качестве энергетического материала использует почти исключительно глюкозу. Доминирующим путем метаболизма глюкозы в нервной ткани является аэробный гликолиз, в котором существует единый функциональный комплекс из двух ферментов – гексокиназы и фосфофруктокиназы синхронно и однонаправленно регулируемого пулом адениловых нуклеотидов. В последнее время пересматривается роль лактата, как важного энергетического субстрата для нервной ткани, что привело к созданию концепции нейронального внутриклеточного лактатного шаттла. Для головного мозга характерна специфическая внутриклеточная локализация лактатдегидрогеназы не только в цитоплазме, но и в митохондриях, что позволяет более эффективно использовать лактат и пируват в дальнейших превращениях.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич В.В. Алкоголь и мозг / В.В. Лелевич, С.В. Лелевич, А.Г. Виницкая. – Гродно: ГрГМУ, 2019. – 244 с.
2. Лелевич В.В. Нейрохимия / В.В. Лелевич. – Гродно: ГрГМУ, 2021. – 260 с.
3. Зильбертер Ю.И. Энергетический метаболизм: от нейрона и глии к целому мозгу; норма, патология и коррекция / Ю.И. Зильбертер, Т.М. Зильбертер // Успехи физиол. наук. – 2012. – Т. 43, № 2. – С. 37-53.
4. Исаев Н.К. Клеточные механизмы гипогликемии головного мозга / Н.К. Исаев // Биохимия. – 2007. – Т.72, № 5. – С. 586-595.
5. Иванов К.П. Гипоксия мозга и роль активных форм кислорода и недостатка энергии в дегенерации нейронов / К.П. Иванов // Успехи физиол. наук. – 2012. – Т. 43, № 1. – С. 95-110.
6. Regulation of glucose transporter in developing rat brain / W. Sivitz [et al.] // *Endocrinology*. – 1989. – Vol. 124, № 4. – P. 1875-1880.
7. Телушкин П.К. Гликолиз и активность окислительных ферментов в головном мозге крыс при инсулиновой гипогликемии на фоне аллоксанового диабета / П.К. Телушкин, А.Д. Ноздрачев, П.П. Потапов // Бюлл. exper. биол. и мед. – 2005. – Т. 140, № 12. – С. 647-649.
8. Миндалина головного мозга: контроль эмоций и особенности метаболизма глюкозы / Ю.А. Успенская [и др.] // Успехи физиол. наук. – 2017. – Т. 48, № 3. – С. 45-55.
9. Derakhshan F. Jusulin and the brain / F. Derakhshan, C. Toth // *Curr. Diabetes Rev.* – 2013. – Vol. 9, № 2. – P. 102-116.
10. Benarroch E. Brain glucose transporters: implications for neurologic disease / E. Benarroch // *Neurology*. – 2014. – Vol. 82, № 15. – P. 1374-1378.
11. Нельсон Д. Основы биохимии Ленинджера / Д. Нельсон, М. Кокс. – Москва: Лаборатория знаний, 2015. – Т. 2. – 636 с.
12. Gallagher C. The human brain utilizes lactats via the tricarboxylic acid cycle : a <sup>13</sup>C-labelled mikrodialysis and high-resolution nuclear magnetic resonans study / C. Gallagher, K. Carpenter, P. Grice // *Brain*. – 2009. – V. 132. – P. 2839-2849.

13. Suzuki A. Astrocyte-neuron lactate transport is required for long-term memory formation / A. Suzuki, S. Stern, O. Bozdagi // *Cell*. – 2011. – V. 144. – P. 810-823.
14. Schurr A. Lactate: the ultimate cerebral oxidative energy substrate / A. Schurr // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2006. – V. 26. – p. 142-152.
15. Magistretti P. Role of glutamate in neuron-glia metabolic coupling / P. Magistretti // *Amer. J. Clin. Nutr.* – 2009. – V. 90. – P. 875S-880S.
16. Лелевич В.В. Роль нарушений углеводно-энергетического обмена головного мозга в патогенезе экспериментального алкоголизма: дисс. ... д-ра мед. наук: 14.00.45 : / В.В. Лелевич; Центр наркологии РФ. – М., 1992. – 402 с.
17. Roger L. Stimulation of ornithine decarboxylase activity by insulin in developing rat brain / L. Roger, R. Fellows // *Endocrinology*. – 1980. – V. 106. – P. 619-625.
18. Garris D. Glucose utilization by the mouse brain: influence of age and diabetes / D. Garris, S. Williams, D. Coleman // *Dev. Brain. Res.* – 1984. – V. 15. – P. 141-146.
19. Wahba Z. Effect of diabetes on the enzymes of the cholinergic system of the rat brain / Z. Wahba, K. Soliman // *Experientia*. – 1988. – V. 44, № 9. – P. 742-746.

## **ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОМЕНА АЛКОГОЛЬНОЙ МОТИВАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ НАРКОЛОГИИ**

**Лелевич В.В.**

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

Современные представления о патогенезе влечения к алкоголю у пациентов с алкогольной зависимостью базируются не только на клинических наблюдениях, но и на достаточно обширной платформе экспериментальных исследований. В них использовались самые разные методологические подходы, модельные ситуации, связанные с влечением к алкоголю и его воздействием на организм, большое количество физиологических, биохимических, морфологических изучаемых параметров [1]. Расшифровка механизмов мотивации к употреблению алкоголя является одной из основных в современной наркологии. В классическом понимании мотивация – это психическая сила, лежащая в основе направленности, интенсивности и устойчивости поведения. Выделяют несколько важнейших видов мотиваций: мотивации, обусловленные потребностями человека (голод, жажда, сон и др.); социальные мотивации (близость с другими, власть, агрессия); мотивации достижения, и другие. По мнению некоторых исследователей [2] термин «первичная патологическая мотивация употребления алкоголя» является частью понятия «патологическое влечение».

Выделяют несколько групп мотивов потребления алкоголя – социально-психологические, псевдокультурные, личностные, гедонистические,

атарактические, собственно патологические. Другие авторы выделяют две основные мотивации потребления психоактивных веществ, к которым относится и алкоголь, экспериментирование и восполнение собственной дефицитарности [3]. К настоящему времени не вызывает сомнений, что в патогенезе алкогольной зависимости наряду с психолого-психиатрическими значительную роль играют и сугубо биологические компоненты. Изучение различных аспектов этих биологических компонентов проводится достаточно давно, что привело к получению большого количества фактологического материала. Его анализ и обобщение привело к дискуссионному обсуждению проблемы – с какими конкретными генами связана предрасположенность к алкоголизму, или какими биологическими маркерами она может определяться? Исследования в этом плане стихийно разделились на несколько направлений, проводимых в различных научных учреждениях со своей специализацией. На экспериментальных животных было показано, что предпочтительное потребление алкоголя детерминировано не одним, а несколькими генами и их консолидированная активность определяет конечный результат [4]. Это подчеркивает актуальность изучения биохимической гетерогенности особей с различной алкогольной мотивацией.

Путем генетической селекции получены инбредные линии экспериментальных животных, предпочитающих воду или этанол в условиях свободного выбора. Однако метод выведения этих линий, связанный с длительным контактом их с этанолом, не позволяет дифференцировать генетически обусловленные и искусственно вызванные этанолом особенности метаболизма. Учитывая это, в Гродненской биохимической школе под руководством академика АН БССР Ю.М. Островского был применен оригинальный метод отбора животных по признаку предпочтения этанола или воды, основанный на минимальном контакте с этанолом [4]. Каждую из используемых в отборе крыс помещали в индивидуальную клетку, содержащую две поилки – с водой и 5% раствором этанола. В условиях обычного питания и свободного выбора регистрировали количество выпитой жидкости за 48 часов. В результате различного характера потребления жидкости выделяли 2 группы крыс: предпочитающие воду (ПВ) и предпочитающие этанол (ПЭ). Такой отбор проводили еще дважды с интервалом в две недели. Крыс, изменяющих характер предпочтения той или иной жидкости в последующих сериях отбора, исключали из эксперимента. В среднем группы особей ПВ и ПЭ составляли 7-10% от общей популяции. В дальнейшем на этих полярных группах был изучен их метаболический статус по широкому спектру показателей как в интактном состоянии, так и при алкогольной интоксикации [4].

Крысы ПЭ, существующие в естественной популяции, отличаются от ПВ по активности печеночных альдегиддегидрогеназ, в основном, за счет повышенной активности фермента с высокой константой Михаэлиса к ацетальдегиду. Окисление двухуглеродных альдегидов (ацетальдегид, гликолевый альдегид) более интенсивно протекает в печени ПЭ особей. Окисление пропионового альдегида и бензальдегида происходит одинаково у обеих групп животных.

В печени крыс с высоким уровнем алкогольной мотивации на 30% повышено отношение уровня заменимых аминокислот к незаменимым. ПЭ крысы характеризуются более высоким содержанием фосфоэтаноламина, глутамата, глутамина и аланина в печени, таурина, фосфоэтаноламина и аланина в плазме крови и глицина в мозге. Отмечается прямая корреляция уровней фосфоэтаноламина и этаноламина в печени ПЭ и отсутствие таковой у ПВ животных. Кратковременный (в течение 4-х дней) прием небольших количеств этанола (5% раствор как единственный источник жидкости) неодинаково влияет на содержание свободных аминокислот в тканях ПЭ и ПВ крыс. У первых слабая алкоголизация приводит к снижению уровня глицина в мозге, фосфоэтаноламина и глутамина в печени, таурина и глутамата в плазме крови. У вторых прием этанола снижает количество аспартата в мозге, таурина, аланина и этаноламина в печени. Этанол (незначительная алкоголизация и острая алкогольная интоксикация) и глутамин нивелируют имеющиеся различия в уровне отдельных аминокислот в тканях между группами с различным уровнем алкогольной мотивации. Предпочтительное потребление этанола и большее потребление глутамина одними и теми же животными можно рассматривать как способ метаболической самокоррекции, направленной на оптимизацию процессов обмена аминокислот.

Выявлены существенные различия показателей липидного обмена в тканях крыс с различной алкогольной мотивацией. Животные ПЭ отличаются от ПВ по использованию меченых предшественников (ацетат, пируват, этанол, этаноламин) в биосинтезе различных липидных фракций печени и головного мозга. Усиленное включение ацетата и этаноламина в липидные фракции печени ПЭ животных и сниженное их внедрение во фракции липидов головного мозга свидетельствует о проявлении конкурентных взаимоотношений между печенью и мозгом в использовании общих предшественников в биосинтезе липидов.

Крысы ПЭ, находящиеся в естественной популяции, отличаются от ПЭ более низкой активностью глюкокиназы в печени, пониженным содержанием гексозомонофосфатов в печени. В сыворотке крови ПЭ животных отмечается сниженный уровень инсулина в сравнении с ПВ особями. При острой алкогольной интоксикации (2,5 г/кг) исчезают имеющиеся до этого различия в активности глюкокиназы, содержание гексозомонофосфатов между ПВ и ПЭ группами. Протамин цинк-инсулин (10 ЕД/кг) более выражено активирует начальные реакции гликолиза в печени ПЭ животных в сравнении с ПВ.

Представленные выше данные свидетельствуют о наличии значительных различий в обмене веществ у животных с различной алкогольной мотивацией. Разнородность сравниваемых групп захватывает широкий круг биохимических показателей, при этом ПЭ особи отличаются от ПВ по снижению уровня эндогенного этанола, более высокой активности ферментов катаболизма алкоголя и ацетальдегида, более интенсивному использованию ацетата в различных реакциях, замедленному функционированию начальных этапов катаболизма глюкозы.

Стратегическая оценка ПЭ и ПВ животных как модели потенциальных лиц с алкогольной зависимостью показала, что феномен предпочтения этанола у животных не является аналогией алкогольной зависимости в человеческой популяции, что следует учитывать при оценке полученных экспериментальных данных.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич С.В. Алкоголь и углеводный обмен / С.В. Лелевич, В.В. Лелевич – Гродно, ГрГМУ, 2018 – 140 с.
2. Альтшулер В.Б. Алкоголизм / В.Б. Альтшулер – Москва, ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 264 с.
3. Копытов А.В. Алкогольная зависимость у подростков и молодых людей мужского пола / А.В. Копытов – Минск: БГУ, 2012. – 400 с.
4. Островский Ю.М. Метаболические предпосылки и последствия потребления алкоголя / Ю.М. Островский, В.И. Сатановская, С.Ю. Островский – Мн: Наука и техника, 1988 – 263 с.

## НОВЫЙ АСПЕКТ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНА АСПРОСИНА ПРИ ИЗБЫТОЧНОЙ МАССЕ ТЕЛА

<sup>1</sup>Аль-Джебур Д.Ш.О., <sup>2</sup>Зинчук В.В., <sup>2</sup>Подопригора М.В.

<sup>1</sup> УО «Гродненский государственный университет им. Янки Купалы»;

<sup>2</sup> УО «Гродненский государственный медицинский университет,  
г.Гродно, Республика Беларусь

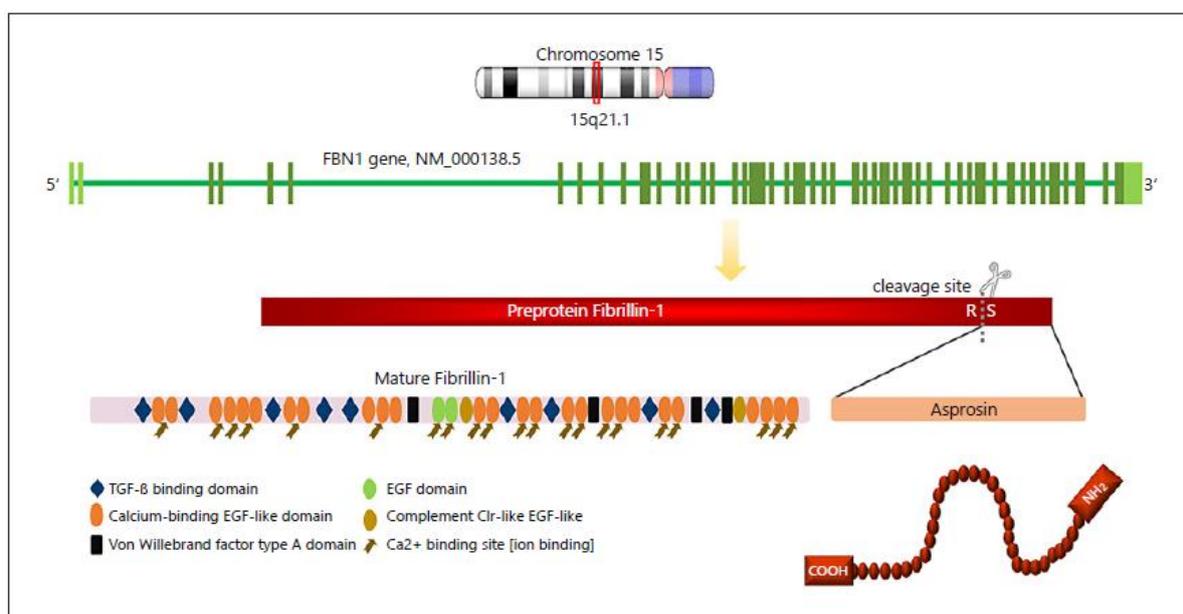
В настоящее время избыточная масса тела, в частности, ожирение являются одной из важнейших проблем здравоохранения, приводящей к ранней инвалидизации и высокой смертности, что связано с риском развития тяжелых гормональных и метаболических сдвигов в организме [7]. Жировая клетчатка, как эндокринный и паракринный орган, способна влиять на другие органы и системы, а при избыточной массе тела происходит не только пролиферация и гипертрофия адипоцитов, но и их инфильтрация макрофагами с последующим развитием воспалительных реакций, вследствие чего изменяется ее метаболическая активность, что позволяет рассматривать ожирение, как системный воспалительный процесс. Данная патология является хроническим мультифакторным заболеванием, проявляющееся избыточным накоплением жировой ткани и сопровождающееся повышенным риском сердечно-сосудистых событий, а также целостностью нормального эндотелия, приводя к эндотелиальной дисфункции [12].

В последние годы пусковую роль в развитии метаболических нарушений, ведущих к избыточной массе тела, отводят жировой ткани, которая представляет собой метаболически активный эндокринный орган, продуцирующий класс особых сигнальных веществ – адипокины [11]. В жировой ткани происходит синтез существенного количества соединений, которые способны воздействовать на функцию эндотелия, такие как

адипокины, фактор некроза опухоли- $\alpha$ , интерлейкин-6, белок хемоаттрактант моноцитов-1, белки ренин-ангиотензиновой системы [12]. Висцеральная жировая ткань и возникающий адипокиновый дисбаланс сопряжены с повышенным риском развития кардиометаболических нарушений [1]. Несоответствие уровней образования про- и противовоспалительных адипокинов является одним из пусковых механизмов, влияющих на снижение функциональных возможностей кардиореспираторной системы. Необходимы дальнейшие исследования для изучения патогенетических значимых механизмов развития ожирения, что позволит улучшить состояние сердечно-сосудистой системы и индивидуализировать профилактику ее заболевания [12].

В 2016 году Romere C. et al. [13] обнаружили новый гормон из группы адипокинов, названный аспросином, который является регулятором важнейших реакций организма на непродолжительное голодание, высвобождение глюкозы из печени и усиление аппетита, влияет на общее количество запасов энергии в жировой ткани, а это, в свою очередь, изменяет регулирование энергетического гомеостаза, нейроэндокринных функций, метаболизма. Аспросин играет существенную роль в развитии ряда метаболических расстройств, в частности, связанных с инсулинорезистентностью (ИР).

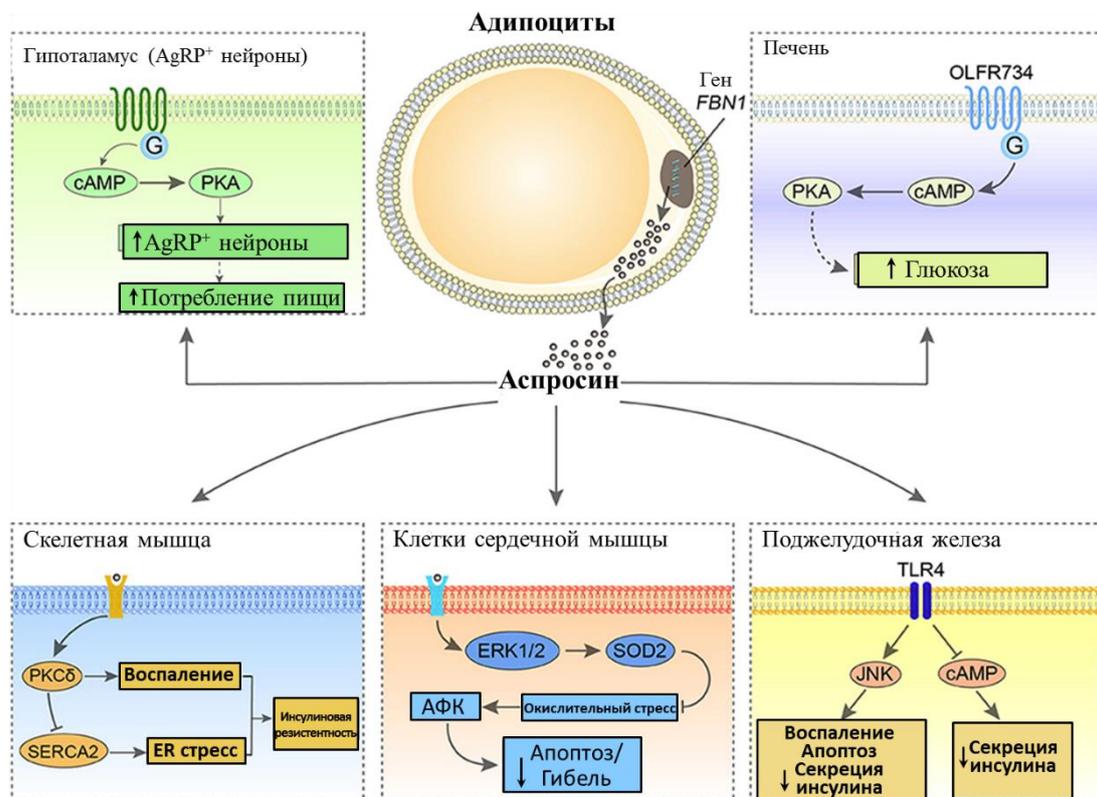
Характеристика гена, отвечающего за образование аспросина, представлена на рисунке 1. Ген, отвечающий за выработку аспросина (фибриллин 1), располагается в хромосоме 15q21.1. Он относится к семейству белков фибриллина. Профибриллин-1 (2871 аминокислота) подвергается протеолитическому расщеплению с образованием двух отдельных белков (внеклеточный матричный компонент фибриллина 1 и белковый гормон аспросина). Ген фибриллин 1 состоит из 66 экзонов и предпоследнего 2 экзона (экзоны 65 и 66). В состав аспросина входит 140 аминокислот и он имеет молекулярную массу приблизительно 30 кДа [17].



**Рисунок 1 - Ген, отвечающий за образование аспросина, – фибриллин 1 [17]**

Центральные и периферические эффекты аспросина описаны на рисунке 2. В гипоталамусе аспросин усиливает активность нейронов, содержащих белок, родственный агути (AgRP) посредством активации пути G-белки-цАМФ-зависимой протеинкиназы, что приводит к повышению аппетита. В печени аспросин связывается с OLF734, усиливая выработку и высвобождение глюкозы через CREB путь (цАМФ response element-binding protein). В  $\beta$ -клетках поджелудочной железы аспросин связывается с Toll-подобным рецептором 4, способствуя воспалению и апоптозу этих клеток и снижая секрецию инсулина посредством стимуляции активности Jun-киназы и ингибирования уровней цАМФ. В стромальных клетках сердечной мышечной ткани аспросин предотвращает апоптоз и гибель этих клеток, вызванных окислительным стрессом за счет активации сигнального киназного пути ERK1/2-SOD2. В скелетных мышцах аспросин активирует PKC $\delta$ /SERCA2-опосредованные пути стресса/воспаления эндоплазматического ретикулума, способствуя развитию ИР [15].

Увеличение концентрации аспросина приводит к нарушениям многих важнейших функций, в частности, вызывает бесплодие, ожирение, ИР, метаболический синдром и аутоиммунные заболевания. Изучение эффектов аспросина является актуальным направлением для разработки различных лечебно-профилактических мероприятий.



**Рисунок 2 - Возможные центральные и периферические эффекты аспросина [15]**

Аспросин влияет на процессы энергообмена организма и, соответственно, его кислородный гомеостаз. Возможно, влияние данного гормона не только на

функциональное состояние организма, но и на его кислородное обеспечение, в частности, механизмы транспорта кислорода кровью. В клеточной культуре кардиомиобластов данный гормон предотвращает гибель клеток, вызванную гипоксией, и стимулирует митохондриальное дыхание [19]. Можно предположить, что аспросин, определяя энергозависимые процессы организма, влияет на внутриклеточное содержание кислорода, и соответственно, на механизмы транспорта кислорода кровью, в частности, на ее кислородсвязывающие свойства.

По нашим данным концентрация аспросина в крови лиц с нормальным индексом массы тела, составила 8,6 (8,00; 9,20) пмоль/л, а у исследуемых с избыточной массой тела этот параметр имел более высокое значение, как и при ожирении I степени (29,86 (28,16; 32,83),  $p < 0,05$ , пмоль/л), что свидетельствует о взаимосвязи между концентрацией аспросина и массой тела [3].

В нашем исследовании у здоровых лиц с избыточной массой тела и ожирением I степени, у которых была повышена концентрация аспросина, наблюдалось снижение  $SO_2$  в венозной крови в сравнении с исследуемыми мужчинами с нормальным индексом массы тела, также уменьшение  $pO_2$  [3]. В данных группах установлено увеличение показателя  $p50_{реал}$  до 25,9 (24,94; 28,96) ( $p < 0,05$ ) и 29,1 (25,14; 32,31) ( $p < 0,05$ ) в сравнении с исследуемыми лицами с нормальным индексом массы тела 24,6 (23,87; 26,7) мм рт.ст., что характеризуется сдвигом кривой диссоциации оксигемоглобина к кислороду вправо. Увеличение  $p50$  способствует росту потока кислорода в ткани в условиях нормоксии или умеренной гипоксии. Сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо у исследуемых с повышенным значением индекса массы тела можно расценивать при снижении  $pO_2$  в крови как механизм компенсации кислородной недостаточности, хотя в условиях окислительного стресса, когда нарушена утилизация кислорода тканями и значительная его часть используется в оксигеназных реакциях, ведущих к образованию активных форм кислорода, это может приводить к активации процессов свободнорадикального окисления [2].

Состояние системы микроциркуляции зависит как от статуса сосуда, так и от реологических свойств крови, функциональных свойств гемоглобина, что важно для обеспечения необходимого уровня метаболизма тканей. Важным фактором, влияющим на механизмы транспорта кислорода кровью, являются газотрансмиттеры монооксид азота (NO) и сероводород ( $H_2S$ ) [3]. Нами были получены данные, что при избыточной массе тела и при ожирении I степени концентрация нитрат/нитритов возрастает, а уровень сероводорода в данных группах снижается [3]. Активация NO-ергической системы за счет экспрессии индуцибельной изоформы NO-синтазы вносит вклад в дисбаланс регуляции углеводного обмена [10]. При этом состоянии фактор некроза опухоли- $\alpha$ , образующийся либо в мелких сосудах, либо в периваскулярной жировой ткани, стимулирует генерацию активных форм кислорода, в основном за счет активации НАДФН-оксидазы, что снижает доступность монооксида азота, что может быть в основе механизма, с помощью которого фактор некроза опухоли- $\alpha$  вмешивается в систему эндотелина-1/NO [12]. Эффекты газомедиаторов

могут быть опосредованы их взаимодействием друг с другом, осуществляемым как на уровне регуляции ферментов синтеза, так и мишеней их действия.

Предполагается участие системы газотрансмиттеров, прежде всего, NO и H<sub>2</sub>S, в изменении кислородсвязывающих свойств крови. Как известно, данные газотрансмиттеры вносят вклад в модификацию сродства гемоглобина к кислороду, что достигается через различные механизмы: модификацию гемопротейна, модулирование внутриэритроцитарной системы, а также опосредовано через системные механизмы формирования функциональных свойств гемоглобина [20]. При ожирении характерна, как не парадоксально, гипероксия жировой ткани, даже при наличии снижения кровотока в ней, что может быть объяснено уменьшением потребления в жировой ткани кислорода и ИР, нарушением кровоснабжения, развитием воспаления, в результате чего развивается местный гипоксический ответ, который в макрофагах и адипоцитах может быть причиной хронического воспаления [12]. Физиологические уровни газотрансмиттера NO играют ключевую роль в поддержании метаболической функции жировой ткани [10]. Как известно, адипокины (пептидные гормоны, синтезируемые жировой тканью), передающие сигнал к мишеням (сосуды, мозг, печень, мышцы), сопряжены с L-аргинин-NO-зависимым сигнальным каскадом, влияющим на патогенез метаболических нарушений [6].

Показана взаимосвязь одного из адипокинов, а именно лептина, с показателями транспорта кислорода кровью у пациентов с инфарктом миокарда в сочетании с метаболическим синдромом [8], свидетельствуя, что данный фактор может влиять на кислородное обеспечение, как за счет модификации кислородтранспортной функции крови, так и через механизмы внешнего дыхания, кровообращения, L-аргинин-NO системы. Выявлено также участие H<sub>2</sub>S в регуляции переноса кислорода в эритроцитах через рост продукции 2,3-дифосфоглицерата ведущего к повышению сродства гемоглобина к кислороду [16]. Газотрансмиттеры монооксид азота и сероводород, синергически взаимодополняя друг друга, вовлечены во внутри- и межклеточную коммуникацию с высокой специфичностью во многих клетках, тканях и органах, обеспечивая через центральные и периферические механизмы регуляции процессов транспорта кислорода кровью [3]. В нашем исследовании при избыточной массе тела повышенная продукция NO сопровождается снижением синтеза сероводорода. Следует отметить, что адипокины участвуют в регуляции экспрессии эндотелиальной NO-синтазы. Так, адипонектин, адиполин, оментин, активируя 5-АМФ протеинкиназу или протеинкиназу В, увеличивают активность эндотелиальной NO-синтазы и синтез монооксида азота, а воспалительные, такие как васпин, висфатин, апеллин, ингибируют активность эндотелиальной изоформы NO-синтазы, что вызывает снижение синтеза NO и подавление его биодоступности при метаболическом синдроме, что, как правило, приводит к развитию эндотелиальной дисфункции и увеличению инсулиновой резистентности [6]. Возможно влияние данного гормона аспросина на функциональное состояние организма через вклад в механизмы продуцирования газотрансмиттеров монооксида азота и сероводорода.

Система газотрансмиттеров оказывает модулирующее действие на кислородтранспортную функцию крови при различных условиях кислородного обеспечения, сопровождающихся развитием гипоксии [3]. Эти эффекты реализуются через различные уровни регуляции эритроцитарных и системных механизмов. Пересечение на тех или иных уровнях NO- и H<sub>2</sub>S-зависимых сигнальных каскадов может приводить как к взаимному активированию, так и к ингибированию этих систем, в результате чего может быть вариативность физиологических реакций со стороны отдельных клеток, органов и систем. Выявленные в нашем исследовании изменения концентрации газотрансмиттеров у здоровых лиц с различной концентрацией аспросина, обусловленные дисбалансом синтеза различных гормонов жировой ткани (адипокинов), важны для формирования механизмов транспорта кислорода кровью. Участие гормона аспросина в регуляции системы газотрансмиттеров и в формировании механизмов транспорта кислорода крови открывает определённые возможности для разработки новых подходов для коррекции нарушений кислородного гомеостаза, для повышения адаптационного потенциала у лиц с метаболическими нарушениями.

Проблема ожирения и метаболических нарушений является актуальной у лиц различного возраста, при развитии нарушений углеводного обмена и ИР. Показано, что ИР с ожирением характеризуется снижением индуцированного инсулином транспорта и метаболизма глюкозы в адипоцитах, скелетных мышцах и печени, что обусловлено нарушением передачи сигнала инсулина в тканях-мишенях вследствие ингибирования транслокации и регуляции действия глюкозных транспортеров 4-го типа (GLUT4), уменьшением числа рецепторов инсулина (IR) в миоцитах и адипоцитах, нарушением аутофосфорилирования рецепторов, снижением активности тирозинкиназы и фосфорилированием IRS [14]. Дисфункция жировой ткани (адипопатия) приводит к развитию избыточной массы тела и, как следствие, формированию ИР и целого ряда сопутствующих заболеваний, в связи с чем понимание молекулярных механизмов индукции ИР на фоне ожирения имеет важное значение для разработки новых более эффективных терапевтических средств для предотвращения развития эндокринных осложнений.

Согласно нашим исследованиям, концентрация аспросина в плазме крови лиц с ИР при нормальном индексе массы тела была значительно выше, чем у здоровых [4]. У исследуемых с избыточной массой тела этот параметр имел более высокое значение 40,26 (37,36; 41,26) пмоль/л,  $p < 0,05$ , а при ожирении I степени его величина была равной 66,81 (62,33; 69,6) пмоль/л,  $p < 0,05$ . ИР представляет собой такое патологическое состояние, при котором чувствительность ряда тканей (жировая, мышечная и печень) к инсулину снижается и наиболее часто выявляется при ожирении, определенную роль в развитии которого играет увеличение синтеза гормонов жировой ткани (адипокинов), и очевидно, аспросина, что и наблюдалось в нашем исследовании.

Как следует из наших данных, у исследуемых с ожирением I степени [4], у которых было наиболее повышено содержание аспросина, наблюдалось

снижение  $SO_2$  и  $pO_2$  венозной крови в сравнении с исследуемыми при ИР с нормальной и избыточной массой тела. Выявлено увеличение показателя сродства гемоглобина к кислороду  $p50_{реал}$  у лиц при ИР с нормальной массой тела до 26,3 (22,34; 30,0) ( $p < 0,05$ ) в сравнении со здоровыми 24,6 (23,87; 26,7) мм рт.ст., что характеризуется сдвигом кривой диссоциации оксигемоглобина к кислороду вправо. Этот рост  $p50$  способствует массопереносу кислорода в ткани при малых нарушениях кислородного обеспечения. Однако, следует отметить, что при ИР у лиц с избыточной массой тела и при ожирении I степени выявлено уменьшение  $p50_{реал}$  в сравнении с лицами с нормальной массой тела. Выявленный сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина влево отражает срыв компенсаторных механизмов доставки кислорода в ткани. Как известно, аэробный потенциал организма определяется экономичностью функционирования системы кровообращения, как на уровне макро-, так и микроциркуляции и эффективной текучестью крови с ее кислородтранспортным потенциалом [5]. При высоком сродстве гемоглобина к кислороду у лиц во время гипоксии и физической нагрузки наблюдается дисбаланс механизмов регуляции кардиореспираторной системы.

Гормон аспросин снижает продукцию активных форм кислорода, уменьшает апоптоз и увеличивает продукцию газотрансмиттера NO в эндотелиальных клетках микрососудов сердца [18]. Система газотрансмиттеров оказывает модулирующее действие на кислородтранспортную функцию крови при различных условиях кислородного обеспечения, сопровождающихся развитием гипоксии [2]. Эти эффекты реализуются через различные уровни регуляции эритроцитарных и системных механизмов. Газотрансмиттер NO вносит вклад в патогенез ИР, так ингибирование индуцибельной изоформы NO-синтазы предотвращает, а её эндотелиальной изоформы, наоборот, способствует возникновению этой патологии [10].

В нашем исследовании были получены данные об увеличении концентрации монооксида азота и снижении сероводорода в крови у лиц с ИР в сравнении со здоровыми [4]. У лиц с ожирением I степени с высоким уровнем аспросина содержание монооксида азота было наиболее увеличенным и составляет 29,52 (27,24; 32,85) мкмоль/л. Концентрация сероводорода в этой группе уменьшалась до 9,38 (8,64; 10,81),  $p < 0,05$  мкмоль/л, что было существенно ниже в сравнении с исследуемыми при ИР с нормальной массой тела. Важно отметить, что у данных лиц, также как и с избыточной массой тела выявлено более значимое изменение содержания данных газотрансмиттеров в сравнении со здоровыми.

Газотрансмиттеры (NO и  $H_2S$ ) могут обладать синергичным действием, но в ряде случаев, отмечаются разнонаправленные изменения в их содержании, что оказывает влияние на механизмы регуляции сродства гемоглобина к кислороду на различных уровнях: моделирующее действие аллостерических эффекторов на молекулу гемоглобина, а также на системном. Взаимодействие NO- и  $H_2S$ -зависимых сигнальных каскадов может приводить к различным физиологическим реакциям со стороны отдельных клеток, органов и систем. В частности, подавление продукции NO при сахарном диабете, артериальной

гипертензии приводит к ослаблению эффектов  $H_2S$ , что также имеет место при кардиоваскулярных нарушениях, возникающих при метаболическом синдроме [9]. Разнонаправленные изменения содержания данных газотрансмиттеров могут быть обусловлены конкуренцией за места связывания SH-групп цистеина при S-нитрозилировании и S-сульфгидрировании, либо взаимодействием  $H_2S$  с NO с образованием тиоазотистой кислоты.

Дисбаланс уровней про- и противовоспалительных адипокинов является одним из факторов, снижающих функциональные ресурсы функциональной системы транспорта кислорода. Гормон аспросин влияет на общее количество запасов энергии в жировой ткани, а это, в свою очередь, изменяет регулирование энергетического гомеостаза, нейроэндокринных функций, метаболизма. Аспросин, определяя биоэнергетический статус организма, влияет на содержание кислорода в тканях, и соответственно, на механизмы транспорта кислорода крови, в частности, на ее кислородтранспортную функцию крови. Участие гормона аспросина в регуляции системы газотрансмиттеров и в формировании механизмов транспорта кислорода крови важно для формирования кислородного обеспечения, для повышения адаптационного потенциала у лиц с метаболическими нарушениями.

Таким образом, вклад гормона аспросина в регуляцию кислородсвязывающих свойств крови посредством газотрансмиттеров (NO,  $H_2S$ ) имеет значение для формирования кислородного обеспечения и адаптационных резервов у лиц с метаболическими нарушениями, что отражает новый аспект механизма действия гормона аспросина при избыточной массе тела.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Адипокины крови у молодых людей с ранней ишемической болезнью сердца на фоне абдоминального ожирения / Ю. И. Рагино [и др.] // Кардиология. – 2021. – Т. 6, № 4. – С. 32-38.
2. Зинчук, В. В. Кислородтранспортная функция крови и газотрансмиттер сероводород / В. В. Зинчук // Успехи физиологических наук. – 2021. – Т. 52, № 3. – С. 41-55.
3. Зинчук, В. В. Роль аспросина в регуляции механизмов транспорта кислорода кровью и системы газотрансмиттеров у мужчин с различным индексом массы тела / В. В. Зинчук, Аль-Джебур Джаафар Шати Оваид, Н. В. Глуткина // Физиология человека. – 2023. – Т. 49, № 2. (принята в печать).
4. Зинчук, В. В. Кислородсвязывающие свойства крови при инсулинорезистентности с различным содержанием аспросина / В. В. Зинчук, Аль-Джебур Джаафар Шати Оваид, Н. В. Глуткина // Биомедицинская химия. – 2023. – Т. 69, № 2. (принята в печать).
5. Исследование микроциркуляции и реологии крови у лиц с разным уровнем максимального потребления кислорода / П. В. Михайлов [и др.] // Физиология человека. – 2022. – Т. 48, № 4. – С. 93-102.

6. Кузнецова, Л. А. Метаболический синдром: влияние адипокинов на L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнальный путь / Л. А. Кузнецова // Acta Biomedica Scientifica. – 2021. – Т. 6, № 2. – С. 22-40.
7. Панова, Е. И. Клинические особенности и инсулинорезистентность у мужчин с метаболически нездоровым фенотипом ожирения / Е. И. Панова, М. С. Пиманкина, О. В. Каратаева // Архивъ внутренней медицины. – 2020. – Т. 10, № 4(54). – С. 288-295.
8. Пырочкин, В. М. Механизмы транспорта кислорода и свободнорадикального окисления липидов при инфаркте миокарда в сочетании с метаболическим синдромом, сахарным диабетом 2-го типа / В. М. Пырочкин, Н. В. Глуткина. – М.: Новое знание, 2014. – 136 с.
9. Роль H<sub>2</sub>S в регуляции сосудистого тонуса при метаболических нарушениях / Ю. Г. Бирулина [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2021. – Т. 171, № 4. – С. 436-440.
10. Роль NO-ергической системы в регуляции углеводного обмена и развитии сахарного диабета / Д. В. Куркин [и др.] // Успехи физиологических наук. – 2022. – Т. 53, № 1. – С. 88-104.
11. Роль и значение аспросина в регуляции пищевого поведения и метаболизма / Р. Х. Салимханов [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2020. – 27, № 1. – С. 96-104.
12. Шишкин, А. Н. Эндотелиальная дисфункция у больных с ожирением / А. Н. Шишкин, А. И. Князева // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2022. – Т. 21, № 3. – С. 4-11.
13. Asprosin, a fasting-induced glucogenic protein hormone / C. Romere [et al.] // Cell. – 2016. – Vol. 165, № 3. – P. 566-579.
14. Asprosin, a novel pleiotropic adipokine implicated in fasting and obesity-related cardio-metabolic disease: Comprehensive review of preclinical and clinical evidence / K. Shabir [et al.] // Cytokine Growth Factor Rev. – 2021. – Vol. 60. – P. 120-132.
15. Asprosin: a novel player in metabolic diseases / M. Yuan [et al.] // Front Endocrinol. – 2020. – Vol. 11. – P. 64. 1-7.
16. Hydrogen sulfide is a regulator of hemoglobin oxygen-carrying capacity via controlling 2,3-BPG production in erythrocytes / G. Wang [et al.] // Oxid Med Cell Longev. – 2021. – Vol. 2021. – P. 1-26.
17. Ovali, M. A. Asprosin, a C-terminal cleavage product of fibrillin 1 encoded by the FBN1 gene, in health and disease / M. A. Ovali, I. Bozgeyik // Mol. Syndromol. – 2022. – Vol. 13, № 3. – P. 175-183.
18. Study of the role and mechanism of asprosin/spartin pathway in cardiac microvascular endothelial injury induced by diabete mellitus / S. Chen [et al.] // Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. – 2019. – Vol. 50, № 6. – P. 827-834.
19. The role of asprosin in patients with dilated cardiomyopathy / M. S. Wen [et al.] // BMC Cardiovasc Disord. – 2020. – Vol. 20, № 1. – P. 1-8.
20. Zinchuk, V. Association of endothelial nitric oxide synthase gene G894T polymorphism with blood oxygen transport / V. Zinchuk, D. Zhadko // Nitric Oxide. – 2019. – Vol. 84. – P. 45-49.

# ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ОЗОНА НА КРОВЬ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПАРЦИАЛЬНЫХ ДАВЛЕНИЯХ КИСЛОРОДА И УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА

Билецкая Е.С., Зинчук В.В., Володина А.А.

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

Озон ( $O_3$ ) обладает противовоспалительными, иммуномодулирующими, антибактериальными эффектами и в терапевтических концентрациях не оказывает побочного действия. Его мультимодальные свойства оказывают положительное системное воздействие на функционирование ключевых гомеостатических систем многократно подтвержденные клиническими и экспериментальными наблюдениями [9]. В основе патофизиологических механизмов действия озона на молекулярном уровне лежит его высокая биохимическая активность к соединениям, содержащим двойную  $C=C$  связь [10]. В первую очередь к таким соединениям относятся жирные кислоты, входящие в состав фосфолипидов клеточных мембран. В результате ряда биохимических реакций образуются промежуточные перекисные соединения так называемые «озониды» — соединений озона с органическими соединениями, которые содержат «двойные связи» (рисунок) [2]. Основная масса двойных связей находится в ненасыщенных жирных кислотах, что позволяет считать органическим озонидом перекись ненасыщенных жирных кислот, которая владеет неспецифическим бактерио-, фунги-, вирусцидным действием и оказывает систематический метаболический эффект на все ткани и клетки организма. Именно эти соединения, по мнению ряда авторов, определяют большинство биологических эффектов озона [4]. Однако влияние данного газа на кислородтранспортную функцию крови при различных парциальных давлениях кислорода и углекислого газа является недостаточно изученным и является предметом исследования данного обзора.

В наших исследованиях установлено, что оксигенация усиливает влияние озона на кислородтранспортную функцию (КТФ) крови [1]. Гидросульфид натрия и нитроглицерин увеличивают данный эффект, особенно последний. Гипероксия в условиях действия озона приводит к росту содержания  $NO_3^-/NO_2^-$  и  $H_2S$ , а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия увеличивают эти показатели. Предварительная оксигенация существенно не меняет состояния прооксидантно-антиоксидантного баланса, а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия в данных условиях способствует увеличению диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, активности каталазы. В этих опытах отмечается участие газотранзиттеров в изменениях КТФ крови при воздействии озоном в условиях оксигенации (рост  $pO_2$ ,  $SO_2$ ,  $p50_{реал}$ ). Эритроциты за счёт экспрессии каталитически активной синтазы монооксида азота (NOS3 типа 1), которая идентична экспрессируемой в эндотелии, индуцируют синтез NO. Эта субстанция является мощным митохондриальным регулятором, снижая сродство к кислороду цитохром-с-оксидазы, терминального акцептора электронов митохондриальной цепи транспорта электронов [17]. Как видим из проведённых нами исследований, нитроглицерин и гидросульфид натрия

приводят к увеличению содержания  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  и  $\text{H}_2\text{S}$ . Эритроциты участвуют в поддержании кислородзависимого баланса между образованием и окислением  $\text{H}_2\text{S}$  за счёт своей способности генерировать данный газотрансмиттер.



**Рисунок - Морфометаболические эффекты озона в кровеносном русле [2]**

Озон может оказывать, как про-, так и антиоксидантный эффект в зависимости от используемых концентраций. Так, в образцах крови, подвергнутых воздействию  $\text{O}_3$  в дозе 160 мг/мл, наблюдается рост МДА [15], а у пациентов с бессонницей и ишемической болезнью сердца озонотерапия способствует росту каталазы [7]. В наших опытах в условиях оксигенации при воздействии озона и добавлении нитроглицерина наблюдается рост МДА и ДК, а гидросульфид натрия подобного эффекта не оказывает [1]. Изоформы  $\text{NO}$  рассматривают как динамические датчики клеточного окислительного стресса и регуляторы редокс-гомеостаза. Механизм положительного влияния озонотерапии проявляется в повышении активности антиоксидантных ферментов сыворотки крови. В нашем эксперименте добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия в условиях оксигенации приводит к росту активности каталазы.

Согласно полученным нами данным выявлено, что предварительная дезоксигенация ослабляет влияние озона на кислородтранспортную функцию крови [6]. Нитроглицерин препятствует проявлению данного эффекта. Действие озона в гипоксических условиях приводит к росту содержания  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  и  $\text{H}_2\text{S}$ , а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия увеличивают эти показатели. Дезоксигенация под влиянием озона приводит к уменьшению показателей перекисного окисления липидов (малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты), а также снижению ретинола и  $\alpha$ -токоферола, в том числе, в группе с нитроглицерином.

При гипоксии наблюдается ухудшение процессов тканевого трансапиллярного обмена кислорода, снижение возможностей микроциркуляторного русла для доставки кислорода в ткани. Выявлены функциональные взаимосвязи различных компонентов регуляции

микрогемодинамики и показателей КТФ крови при проведении гипоксического теста. Озон значительно улучшает микроциркуляцию за счет повышения функциональной активности капилляров, изменения физико-химических характеристик крови и, в частности, кислородсвязывающих свойств крови [14]. Как видим, из проведенных нами опытов [6], отмечаются изменения КТФ крови под влиянием озона в гипоксических условиях и при добавлении доноров газотрансмиттеров. Инкубация крови с озоном и нитроглицерином (донором NO) приводит к усилению эффекта данного газа на КТФ крови (рост  $pO_2$ ,  $SO_2$ ), что приводит к уменьшению СГК и сопровождается ростом газотрансмиттеров (NO,  $H_2S$ ). Данный факт свидетельствует о важной роли NO в автономной внутриэритроцитарной системе регуляции СГК, действие которого определяется параметрами кислородного обеспечения. Кроме того, следует обратить внимание, что противогипоксическое действие  $O_3$  реализуется, в том числе, за счет влияния на синтез монооксида азота, увеличения концентрации 2,3-дифосфоглицерата в эритроцитах, повышения пластичности мембран красных кровяных клеток и уменьшения вязкости крови [12].

NO обеспечивает адаптацию организма к изменениям  $pO_2$  через влияние на механизмы формирования функционального статуса эритроцитов. Кроме того, данный газотрансмиттер является основным регулятором тонуса сосудов и ангиопротектором, что обуславливает его влияние на локальную микроциркуляцию. Описаны сложные взаимоотношения между  $O_3$  и группой ферментов NO-синтаз, генерирующих образование NO [12].  $O_3$  может активировать индуцибельную синтазу оксида азота, что приводит к росту концентрации последнего, а также восстанавливает  $NO_2^-$  при низких значениях pH. В этих механизмах участвует и другой газотрансмиттер сероводород. Эритроциты продуцируют эндогенный  $H_2S$ , используя в качестве субстрата 3-меркаптопируват.

Продукция  $H_2S$  в красных клетках крови зависит от уровня NO в сыворотке крови. Взаимодействие доноров монооксида азота и сероводорода может иметь значение для модификации сродства гемоглобина к кислороду через образование различных дериватов гемоглобина. В наших исследованиях показана роль  $H_2S$  в эффекте озона на кислородзависимые процессы.  $H_2S$  участвует в защите от окислительного стресса, вызванного гипоксией. Наблюдается увеличение данного газотрансмиттера в условиях дезоксигенации, а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия способствует еще более значительному его росту. В результате действия S-нитрозосоединений происходит трансформация молекул гемоглобина: окисление в их составе железа, нитрозилирование гема и, вероятно, SH-групп, что изменяет свойства гемопротейна, его способность связывать и удерживать кислород.  $H_2S$  выполняет и антиоксидантные функции за счет модификаций активности ферментов, в том числе каталазы.

Как видим, предварительная обработка крови дезоксигенирующей газовой смесью уменьшает влияние озона на КТФ крови, что проявляется в снижении  $pO_2$ ,  $SO_2$ ,  $p50$  по сравнению с группой, в которую вводили только озон [6]. Введение нитроглицерина препятствует проявлению данного эффекта,

а гидросульфид натрия подобного действия не оказывает. Действие озона в данных условиях приводит к росту содержания  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  и  $\text{H}_2\text{S}$ , а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия существенно увеличивает эти показатели, что отражает участие данных газотрансмиттеров в модификации КТФ крови. В крови, обработанной дезоксигенирующей газовой смесью при добавлении озона, а также в группе с нитроглицерином наблюдается уменьшение показателей перекисного окисления липидов (МДА, ДК) и антиоксидантной защиты (ретинола и  $\alpha$ -токоферола) [6]. Полученные результаты демонстрируют влияние озона на КТФ крови и синтез NO, что будет важно для понимания механизмов оксигенации тканей на микроциркуляторном уровне в гипоксических условиях.

В следующей части нашего исследования в условиях предварительной обработки гипокапнической газовой смесью эффект озона на КТФ крови существенно увеличивается, что проявляется в росте следующих показателей:  $p\text{O}_2$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $p50_{\text{реал}}$ ,  $p50_{\text{станд}}$  и сдвигом КДО вправо [3]. Добавление нитроглицерина в этих условиях приводит к ещё более выраженному усилению эффекта озона на КТФ крови, сопровождающееся ростом содержания  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  и  $\text{H}_2\text{S}$ . Гидросульфид натрия подобного действия на кислородсвязывающие свойства крови не оказывает, несмотря на увеличение концентраций  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  и  $\text{H}_2\text{S}$ . Предварительная гипокапния с озоном, как и добавление нитроглицерина либо гидросульфида натрия существенно не влияют на состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса исследуемой крови. В наших опытах наблюдается увеличение эффекта озона на КТФ крови при проведении предварительной её обработки гипокапнической газовой смесью, особенно выражено при добавлении доноров газотрансмиттеров. Можно было предположить по характеру изменения pH и  $p\text{CO}_2$ , что вследствие эффекта Бора произойдет сдвиг КДО влево, однако, полученные нами результаты свидетельствуют об обратном.

Снижение концентрации ионов водорода и парциального давления углекислого газа существенно уменьшает афинность крови к кислороду, что затрудняет поступление кислорода в ткани на уровне капилляров большого круга кровообращения, и наоборот при увеличении этих параметров (эффект Бора). Вероятно, это связано с действием других факторов внутриэритроцитарной системы регуляции кислородсвязывающих свойств крови, которая представляет собой аллостерическое взаимодействие между гемоглобином и различными физиологическими модуляторами ( $\text{H}^+$ , 2,3-дифосфоглицерата,  $\text{CO}_2$  и др.). Как известно, действие озона приводит к увеличению уровня 2,3-дифосфоглицерата способствующего повышению SGK [12], что способствует ослаблению эффекта Бора. В ряде работ было показано, что гипокапния содействует увеличению концентрации 2,3-дифосфоглицерата в эритроцитах. Кроме того, известно, что гипокапнические условия усиливают генерацию синтеза озона, эффекты которого, в свою очередь, проявляются дозозависимо. Следует отметить, как было показано в наших опытах способность пероксинитрита в гипокапнической среде увеличивать значения показателей SGK  $p50_{\text{реал}}$  и  $p50_{\text{станд}}$  в сравнении с контрольной группой, что

свидетельствует о существенном вкладе газотрансмиттера монооксида азота в регуляцию транспорта кислорода кровью. Вероятно, перечисленные факты приводят к усилению эффекта  $O_3$  в заданных условиях.

Газотрансмиттеры  $NO$  и  $H_2S$  участвуют в реализации эффектов озона на кислородзависимые процессы в связи, с чем была проведена серия экспериментов с их участием в гипокапнических условиях. Как видим, из проведённых нами исследований, нитроглицерин и гидросульфид натрия при обработке гипокапнической газовой смесью и добавлении озона приводят к увеличению содержания  $NO_3^-/NO_2^-$  и  $H_2S$ . Биоактивность  $NO$  сохраняется в эритроцитах благодаря его взаимодействию с цистиолами в гемоглобине с образованием S-нитрозотиола, S-нитрозогемоглобина [20], высвобождение которых происходит при уменьшении СГК. В гипокапнических условиях добавление  $O_3$ , вероятно, приводит к увеличению содержания производных  $NO$ , а добавление нитроглицерина (донора  $NO$ ) усиливает данный эффект. Озон также способствует увеличению уровня монооксида азота, активируя механизмы его образования в эритроците [16]. Сероводород и монооксид азота влияют на синтез друг друга, а также могут напрямую взаимодействовать с образованием новых соединений ( $HSNO$ ,  $RSNOs$  и др.), которые, в свою очередь, модулируют их биологические эффекты и биодоступность. В ответ на действие озона в эритроцитах происходит изменение образования газотрансмиттеров  $NO$  и сероводорода, которое влияет непосредственно на модификацию свойств гемоглобина, так и опосредованно через гемоглобин-независимые механизмы изменение структурной организации эритроцитарной мембраны. Как видим, в этот процесс может вовлекаться и молекулы углекислого газа, а именно снижение парциального давления этого газа. Как видим, гипокапния и газотрансмиттеры монооксид азота и сероводород существенно не влияют на основные показатели прооксидантно-антиоксидантного равновесия крови в условиях действия озона. Таким образом, анализ собственных результатов исследований указывает на то, что гипокапния усиливает эффект озона за счёт механизмов автономной регуляции свойств крови и системы газотрансмиттеров.

В наших исследованиях установлено, что гиперкапния усиливает эффект озона на кислородтранспортную функцию крови и характеризуется сдвигом кривой диссоциации оксигемоглобина вправо, а также увеличивает синтез сероводорода при отсутствии изменений концентрации нитратов/нитритов [5]. Нитроглицерин и гидросульфид натрия в этих условиях не изменяют параметры газотранспортной функции крови, однако, повышают уровень нитрат/нитритов и сероводорода. Предварительная гиперкапния не устраняет активирующего воздействия озона на процессы свободнорадикального окисления, а введение используемых доноров газотрансмиттеров не вносит вклад в регуляцию исследуемых показателей. Результаты нашего эксперимента показывают, что эффект озона на КТФ крови при проведении предварительной обработки гиперкапнической газовой смесью увеличивается. Гиперкапния влияет на систему крови, в частности, увеличивает средний объём эритроцитов [13]. Кроме того, молекула  $CO_2$  связывается с дезоксигемоглобином

(присоединяется к гистидину по 146 позиции бета-цепи, которая образует неполярную связь с концевыми  $\text{NH}_2$ -группами  $\alpha$ -цепи), что приводит к стабилизации Т-структуры гемоглобина (эффект Бора). Повышение концентрации ионов водорода и напряжения углекислого газа существенно снижает аффинность крови к кислороду, что изменяет поступление его в ткани на уровне капилляров большого круга кровообращения. В проведенных нами исследованиях снижение рН и рост  $\text{pCO}_2$ , возникающие через реализацию механизмов эффекта Бора, приводят к усилению влияния озона на показатели КТФ крови, проявляющемуся в более выраженном сдвиге КДО вправо.

Механизмы внутриэритроцитарной регуляции SGK реализуются на различных уровнях: изменение структурной организации эритроцитов, моделирующее действие аллостерических эффекторов на молекулу гемоглобина. В ответ на действие озона в эритроцитах происходит изменение образования газотрансмиттеров NO и  $\text{H}_2\text{S}$ , которое влияет непосредственно, как на модификацию свойств гемоглобина, так и опосредованно – через гемоглобин-независимые механизмы – на изменение структурной организации эритроцитарной мембраны. Как видим, в этот процесс вовлекается и молекула углекислого газа, а именно, при повышении его напряжения. Газотрансмиттеры (NO и  $\text{H}_2\text{S}$ ) в ряде случаев могут обладать синергичным действием, но в опытах при гиперкапнии этого не наблюдалось – отмечался рост содержания сероводорода при отсутствии изменения активности L-аргинин-NO системы, не ведущей к увеличению концентрации NO. В наших исследованиях показано, что предварительная гиперкапния с добавлением озона приводит к росту уровня сероводорода, что может быть связано с повышением продукции 3-меркаптопируват-сульфуртрансферазы в этих условиях, которая способствует синтезу  $\text{H}_2\text{S}$  в эритроцитах. Однако, в данной группе не отмечается изменений содержания  $\text{NO}_x$ , что, возможно, связано с участием эритроцитарной карбоангидразы в регулировании распределения  $\text{NO}_x$  между плазмой и эритроцитами в этих условиях [19]. При добавлении нитроглицерина и гидросульфида натрия наблюдается рост NO и  $\text{H}_2\text{S}$ , что обусловлено их взаимно сопряженным влиянием на синтез друг друга.

Значимый рост МДА, ДК, отмечаемый в исследуемых группах, к которым добавлялся  $\text{O}_3$ , свидетельствует об активации процессов свободнорадикального окисления, что отражает определённый риск при применении озона в качестве терапевтического средства. Следовательно, гиперкапния не устраняет активирующее действие данного газа на процессы пероксидации липидов, а нитроглицерин и гидросульфид натрия, более того, усугубляют его. Напряжение механизмов антиоксидантной защиты, судя по повышению концентрации ретинола и  $\alpha$ -токоферола, очевидно, связано с их высвобождением из эритроцитарной мембраны и является следствием окислительного повреждения, вызванного озоном. В то же время, отмечается рост активности каталазы в гемолизатах при добавлении  $\text{O}_3$ . Данный газ, являясь донором кислорода, влияет на ферментативный компонент антиоксидантной системы эритроцитов, обеспечивающей защиту от активных

форм кислорода [1], при нейтрализации которых образуется пероксид водорода, что и приводит к возрастанию активности каталазы [8].

Гиперкапния снижает сродство гемоглобина к кислороду, меняя в целом и кислородсвязывающие свойства крови. Обработка крови гиперкапнической газовой смесью не предотвращает эффект озона по увеличению активности процессов ПОЛ и напряжение системы антиоксидантной защиты. Доноры газотрансмиттеров (нитроглицерин и гидросульфид натрия) в заданных условиях не вносят вклад в регуляцию исследуемых показателей, характеризующих процессы свободнорадикального окисления липидов.

Таким образом, результаты выполненного исследования раскрывают новые аспекты действия озона на систему крови при различных парциальных давлениях углекислого газа и кислорода, которые реализуются через влияние на КТФ крови, процессы ПОЛ, а также за счёт воздействия на систему газотрансмиттеров (монооксида азота, сероводорода).

Работа выполнена в рамках Государственной программы научных исследований Республики Беларусь № договора 30-24/549-21.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Билецкая, Е.С. Вклад газотрансмиттеров (NO, H<sub>2</sub>S) в эффект озона на кислородзависимые процессы крови в условиях оксигенации / Е.С. Билецкая, В.В. Зинчук, А.В. Муравьев, И.Э. Гуляй, К.М. Дорохин // Новости медико-биологических наук. - 2021.- Т.21 (2).- С.18-24.

2. Бояринов, Г.А. Озонированное искусственное кровообращение (экспериментальное обоснование и результаты клинического применения) / Г.А.Бояринов, В.В. Соколов – Н. Новгород: изд-во «Покровка», –1999. – 318 с.

3. Влияние газотрансмиттеров и озона на микрореологию эритроцитов и кислородтранспортную функцию крови / В. В. Зинчук, А. В. Муравьев, Е. С. Билецкая [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2022. – № 2. – С. 73-83. – doi: 10.25555/THR.2022.2.1022.

4. Гаврилов, В. В. Эффективность озонотерапии в сравнении с антибактериальными дисками "Моксифлоксацин" в эксперименте *in vitro* / В. В. Гаврилов, И. О. Гаврилюк // Известия Российской военно-медицинской академии. – 2022. – Т. 41, № S2. – С. 98-103.

5. Зинчук, В. В. Особенности действия озона на кислородзависимые процессы крови в условиях гиперкапнии / В. В. Зинчук, Е. С. Билецкая, И.Э. Гуляй // Биомедицинская химия. – 2022. – № 3. – С. 212-217.

6. Зинчук, В.В. Особенности влияния озона на кислородзависимые процессы крови при гипоксических условиях / В.В. Зинчук, Е.С. Билецкая // Регионарное кровообращение и микроциркуляция.- 2021.- Т.20 (3).- С.70-76.

7. Низкодозовая озонотерапия улучшает качество сна у пациентов с бессонницей и ИБС путём повышения уровней BDNF и ГАМК в сыворотке крови/ Li Y. [et al. ] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – Т.170, №10. – С. 508–514.

8. Орлов, Ю. П. Внутрисосудистый гемолиз эритроцитов в развитии органических дисфункций при критических состояниях / Орлов Ю.П. // *Общая реаниматология.* – 2008. – Т.4, №2. – С 88-93. – doi: 10.15360/1813-9779-2008-2-88.
9. Ковалев, М. А. Клинико-иммунологическая эффективность применения топической озонотерапии после хирургического лечения экссудативных поражений пространства Рейнке / М.А. Ковалев, Е.В. Давыдова, А.В. Зурочка, Ю.А. Первухина // *Южно-Уральский медицинский журнал.* – 2023. – №1. – С.18-26.
10. Змызгова, А. В. Клинические аспекты озонотерапии / А. В. Змызгова, В.А. Максимов - М.: НПЦ озонотерапии. - 2003. - С. 287.
11. Investigation of the effects of major ozone autohemotherapy application on erythrocyte deformability and aggregation / Akbudak I.H. [et al.] // *Clin Hemorheol Microcirc.* – 2019. – Vol. 71, №3. – P. 365-372. – doi:10.3233/CH-180417
12. Ozone Therapy as Adjuvant for Cancer Treatment: Is Further Research Warranted? / Clavo B. [et al.] // *Evid Based Complement Alternat Med.* – 2018. – Vol. 2018. – P.7931849. – doi:10.1155/2018/7931849.
13. The effects of hypercapnia on cortical capillary transit time heterogeneity (CTH) in anesthetized mice / Gutiérrez-Jiménez E. // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism.* – 2018. – Vol. 38, №2. – P. 290-303. – doi:10.1177/0271678X17692598
14. Effects of ozone autohemotherapy on blood VEGF, TGF- $\beta$  and PDGF levels after finger replantation. / He S. [et al.] // *Ann Palliat Med.* – 2020. – Vol. 9, № 5. – P.3332-3339. – doi: 10.21037/apm-20-1467.
15. Melatonin alleviates oxidative stress in sleep deprived mice: Involvement of small intestinal mucosa injury / Gao T. [et al.] // *Int Immunopharmacol.* – 2020. – doi:10.1016/j.intimp.2019.106041.
16. Ozone therapy: an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility / Smith N.L [et al.] // *Med Gas Res.* – 2017. – Vol. 7, №3. – P. 212-219. – doi:10.4103/2045-9912.215752.
17. Strahl, J. Nitric oxide mediates metabolic functions in the bivalve *Arctica islandica* under hypoxia / J. Strahl, D. Abele // *PLoS One.* – 2020. – Vol.15, №5. – P. 1-19. – doi: 10.1371/journal.pone.0232360.
18. The effects of systemic ozone application and hyperbaric oxygen therapy on knee osteoarthritis: an experimental study in rats / Yilmaz O. [et al.] // *Int. Orthop.* – 2021. – Vol.45, №2. – P. 489-496.
19. Even and carbon dioxide independent distribution of nitrite between plasma and erythrocytes of healthy humans at rest / Tsikas D. [et al.] // *Nitric Oxide.* – 2013. – Vol. 31. – P. 31-37. – doi:10.1016/j.niox.2013.03.002
20. Hemoglobin betacy93 is essential for cardiovascular function and integrated response to hypoxia / Zhang R. [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2015. – Vol. 112. – P. 6425–6430.

# ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕЙРОМЕДИАТОРНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИЯХ ПСИХОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Величко И.М., Лелевич С.В., Лелевич В.В.

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

Чрезмерное употребление алкоголя относится к одной из ведущих причин ухудшения здоровья и уменьшения продолжительности жизни населения многих стран. Злоупотребление алкоголем является причиной не менее 2,5 млн ежегодных смертей во всем мире, что составляет около 4% общей смертности [10].

Этанол – одно из наиболее широко используемых и часто употребляемых психоактивного вещества (ПАВ), он быстро распространяется по всему телу и связывается с определенным спектром молекул. Эффекты различаются в зависимости от дозы, времени воздействия, истории потребления людьми и их генетической структуры [4]. Хотя первое воздействие этанола редко приводит непосредственно к алкоголизму, оно вызывает изменения в поведении, отражающие изменения в функциях мозга, что может сопровождаться последующим приемом и повышать риск привыкания. Известно, что головной мозг – один из главных органов-мишеней для действия алкоголя.

К настоящему времени накопилось большое количество сведений о механизмах токсического действия алкоголя, что позволяет четко выявить его прямые и опосредованные эффекты. Прямое токсическое действие этанола основано на его способности оказывать мембранотропное и конформационное действие, непосредственно взаимодействовать с некоторыми компонентами тканей. Опосредованное действие алкоголя определяется каскадом метаболических расстройств, возникающих при его окислении, а также эффектами ацетальдегида и продуктов его метаболизма.

Среди многочисленных эффектов этанола следует выделить его действие на нервную систему, поскольку именно нарушение функции ЦНС – лежит в основе формирования влечения к алкоголю и развития алкогольной зависимости. Ключевым в понимании механизмов действия этанола на головной мозг являются его эффекты на нейромедиаторные системы [6]. В литературе детально описаны изменения дофаминергической системы при алкогольной интоксикации [7].

Однократное введение этанола называют острой алкогольной интоксикацией (ОАИ), клинические проявления которой сопровождаются снижением темпа мышления, двигательной неловкостью, эйфорическими эффектами, нарушениями когнитивных функций, что подтверждено экспериментально [2, 4].

Дофаминовая система играет важную роль в формированииощрения и подкрепления алкоголем. Многие исследования подчеркивают изменения в этой системе как ключевые факторы острых эффектов этанола, а также долгосрочные нейроадаптации, которые могут способствовать развитию

алкоголизма [4, 7].

Расширенная миндалина (*corpus amygdaloideum*), вентральная тегментальная область среднего мозга, прилежащее ядро (*nucleus accumbens*) стриатума и префронтальная кора – основные участки мозга, которые опосредуют усиление эффектов алкоголя [6]. Эти области ЦНС были идентифицированы с помощью разных нейрофармакологических исследований, включая эксперименты с поражениями различных отделов мозга, микроинъекциями и микродиализом.

Ключевую роль в положительных свойствах этанола играют дофаминергические нейроны вентральной тегментальной области среднего мозга [8]. Алкоголь (40-160 мМ) увеличивает скорость возбуждения дофаминергических нейронов в данной области, что было доказано с помощью внутриклеточной записи на срезах головного мозга [13]. Повышенная активность этих нейронов приводит к высвобождению нейромедиаторов в терминальных областях мезолимбического, нигростриатного путей, при этом доказано участие  $\mu$ -опиатных рецепторов в функциональной модификации дофаминергических нейронов при однократном воздействии этанола.

Использование метода быстрой сканирующей циклической вольтометрии позволило *in vivo* обнаружить изменения концентрации моноаминов у свободноподвижных животных. Так, однократная инъекция низкой дозы этанола (0,5 г/кг) сопровождалась достоверно значимым снижением содержания дофамина в прилежащем ядре стриатума [9]. Умеренные дозы алкоголя приводили к повышению внеклеточного содержания дофамина и уменьшению дофамина в более высоких дозах в прилежащем ядре. Авторами отмечается отсутствие изменений содержания дофамина и продуктов его метаболизма в мозжечке при однократном введении 25% раствора этанола в дозе 3,5 г/кг. Однократное внутрижелудочное введение крысам-самцам 25% раствора этанола в дозе 3,5 г/кг сопровождалась активацией норадренергической нейромедиаторной системы в коре больших полушарий и мозжечке, что приводило к увеличению концентрации норадреналина, в свою очередь в гипоталамусе изучаемые показатели дофаминергической системы остаются неизменными [1]. Нейрохимические эффекты этанола могут быть опосредованы образованием специфических продуктов метаболизма. После острого введения этанола обнаружено увеличение оборота дофамина, измеряемого как содержание 3,4-ДОФУК в стриатуме крыс. Утверждается, что ацетальдегид (продукт распада этанола) вызывает модификации содержания 3,4-ДОФУК в полосатом теле, которые становятся значительными после более короткого латентного периода по сравнению с острой инъекцией этанола [15]. ОАИ сопровождается признаками усиления оборота дофамина в стриатуме, что подтверждается увеличением содержания дофамина и продукта его распада – ГВК, а в среднем мозге выявлено статистически значимое снижение концентрации – ГВК, что может свидетельствовать о снижении активности дофаминергической системы в данном отделе головного мозга [1].

Известно, что этанол действует на несколько молекулярных мишеней на нейрональном и синаптическом уровнях в разных областях мозга, тогда

как опиаты воздействуют на ограниченные молекулярные мишени [13]. Это специфические рецепторы клеточной поверхности ( $\mu$ -,  $\kappa$ - и  $\delta$ -опиоидных рецепторы). Они обнаруживаются преимущественно в ЦНС. Вовлечение опиоидных рецепторов, которые связаны с G-белками, генерирует серию внутриклеточных сигналов, включая ингибирование аденилатциклазы, снижение концентрации цАМФ, уменьшение открытия кальциевых каналов, увеличение калиевых токов и активацию протеинкиназы C. Основным эффектом этих путей – снижение возбудимости клеток и нейротрансмиссии.

Первое воздействие морфина не обходится без длительных нейрохимических адаптаций, что было подтверждено экспериментально: однократная доза морфина (10 мг/кг) препятствовала нигростриатному высвобождению дофамина и экстранейрональному метаболизму, опосредованному  $\mu$ -опиоидными рецепторами, при повторном воздействии морфином через 7 дней в той же дозе. Предварительная обработка опиатом снижала соотношение ГVK/дофамин, вызванное повторным введением морфина, но не влияла на соотношение 3,4-ДОФУК/дофамин в базальных ядрах [9]. В стриатуме наиболее значительные сдвиги концентрации дофамина и его метаболитов у мышей-самцов наблюдались при введении морфина в дозе 20 мг/кг, что сопровождалось проявлением гиперлокомоторной активности животных и не влияло на баланс моноаминов в префронтальной коре, гипоталамусе, гиппокампе и миндалевидном теле.

С использованием разных приборов авторы изучили изменение уровня дофамина при однократном воздействии морфина в отделах мозга, связанных с циклом зависимости. С помощью техники микродиализа *in vivo* выявлено, что при введении наркотика в дозе 20 мг/кг значительно увеличивался внеклеточный уровень дофамина в прилежащем ядре и не изменялся в дорсальной части полосатого тела [14]. С помощью циклической вольтамперометрии с быстрым сканированием у крыс при острой морфиновой интоксикации (10 мг/кг, подкожно) отмечено увеличение передачи дофаминергических сигналов в прилежащем ядре.

Вентральная тегментальная область дофаминовых нейронов играет первостепенную роль в механизме действия морфина. Известно, что опиаты и опиоиды могут быстро вызвать активацию дофаминовых нейронов A10 вентральной области покрышки среднего мозга посредством блокирования тормозных ГАМК-интернейронов. При этом повышается уровень дофамина в прилежащем ядре [18]. Активация дофаминергической мезолимбической системы связана с  $\mu$ - и  $\delta_1$ -опиоидными рецепторами. Следует отметить, что усиленное высвобождение дофамина при введении морфина связано с активацией D1-, D2-рецепторов в префронтальной коре и играют решающую роль в процессах вознаграждения в прилежащем ядре, гиппокампе, среднем мозге, зубчатой извилине.

Изучены изменения уровней нейромедиаторов при моделировании острой морфиновой интоксикации (10, 20 и 40 мг/кг, внутрибрюшинно) в разных регионах ЦНС [4]. Введение низкой дозы наркотика оказывало на крыс легкое возбуждающее действие, уровень дофамина при этом снижался в

мозжечке и таламической области, не изменялся в коре больших полушарий и стволе мозга. Увеличение дозы вводимого морфина до 20 мг/кг сопровождалось снижением концентрации дофамина и ростом продуктов его распада в таламической области, мозжечке и стволе мозга крыс. Введение морфина в высокой дозе (40 мг/кг) приводило к снижению уровня нейромедиатора в мозжечке, а в таламической области были выявлены признаки повышения активности дофаминергической системы. В гипоталамусе, гиппокампе и среднем мозге при острой морфиновой интоксикации выявлен сниженный уровень дофамина на фоне его ускоренного обмена.

Однократное введение морфина в дозе 10 мг/кг массы тела крысы приводит к противоположному алкогольной интоксикации изменению уровня дофамина в стриатуме, где выявлено его снижение, а в среднем мозге происходит падение уровня продуктов катаболизма нейромедиатора, что является признаком замедления активности дофаминергической системы в данных условиях [1].

Опиоидная наркомания, возникшая на фоне предшествующего алкоголизма (или наоборот), сопровождается ускоренной клинической динамикой и тенденцией к интенсивному течению. В литературе описаны типологические варианты (викарная алкоголизация, смена формы наркотизма) клинической динамики опиоидной зависимости, осложненной алкоголизмом у населения [3]. К числу характерных сочетаний зависимости от разных видов ПАВ относятся комбинации «героин–алкоголь», «кокаин–алкоголь», «метадон–алкоголь» и др. Научный и практический интерес представляет анализ взаимоотношений опиоидной/опиатной и алкогольной зависимости. При сочетанном употреблении нескольких ПАВ характерна способность одного вещества подавлять симптомы отмены другого и тем самым поддерживать состояние зависимости. Кроме того, у лиц, имеющих зависимость от одного вида ПАВ, употребление другого для достижения желаемого эффекта требует более высокой его дозы. Встречаются случаи употребления алкоголя и опиоидов среди лиц молодого возраста и взрослого населения, а также употребление этанол содержащих напитков людьми с хронической болью, которые используют рецептурные опиоиды для ее снятия.

В клинической практике изучены изменения состава биологических жидкостей лиц, умерших при комплексном отравлении алкоголем и опиоидом [11]. Поскольку героин в организме человека быстро превращается в морфин, селективное изменение толерантности к морфину этанолом может быть фактором, способствующим смерти от передозировки героина. Посмертный анализ выявил обратную зависимость между содержанием героина и этанола в крови.

Изучены образцы крови людей, находящихся в нетрезвом виде, с положительным результатом на морфин [16]. Выявлено, что метаболизм морфина изменяется в присутствии этанола, что приводит к меньшему образованию метаболитов наркотика. Это в свою очередь может привести к увеличению конечного периода полувыведения морфина, а также, возможно, к большему накоплению после повторного приема.

Судебно-медицинские анализ указывает, что этанол и опиоидные наркотики в сочетании обладают разносистемным агонизмом за счет стимуляции рецепторов ГАМК-ергической и опиатной систем, что позволяет рассматривать их низкие концентрации как смертельные. Наступление смерти от острого отравления алкоголем и опиоидными наркотическими веществами при их низких концентрациях в биологических тканях возможно при «пороговых» концентрациях наркотика и алкоголя [2]. Механизм, посредством которого этанол потенцирует передозировку опиоидов, не ясен.

В ряде экспериментальных работ изучались механизмы совместного действия алкоголя и опиоидов и приводятся данные об изменении толерантности к респираторным депрессантным эффектам морфина у крыс при действии этанола [12]. Доказано, что этанол значительно и дозозависимо снижал антиноцицептивную толерантность, вызываемую морфином, что обусловлено действием этанола как на уровень ГАМК, так и на ГАМКВ-рецепторы.

Имеющиеся в настоящее время данные доказывают, что этанол увеличивает опиоидную нейротрансмиссию и эта активация является частью механизма, ответственного за его усиливающие эффекты [19]. Результаты доклинических исследований показывают, что как потребление этанола, так и вызванное этанолом высвобождение дофамина снижаются опиоидными антагонистами.

Имеются экспериментальные данные о совместном влиянии этанола и морфина направленности изменений показателей дофаминергической нейромедиаторной системы в разных регионах ЦНС (кора больших полушарий, стриатум, гипоталамус, средний мозг, мозжечок) при острой комплексной интоксикации этанолом и морфином, где острая алкогольная интоксикация (ОАИ) и острая морфиновая интоксикация (ОМИ) являлись группами сравнения [1, 17]. При ОАИ (внутрижелудочное введение этанола (25%, в дозе 3,5 г/кг) были выявлены незначительные изменения показателей дофаминергической системы в исследованных отделах мозга, при этом отмечался рост уровня дофамина только в стриатуме. В коре больших полушарий и мозжечке выявлена наиболее выраженная активация норадренергической нейромедиаторной системы в изучаемых группах. ОМИ (внутрибрюшинная инъекция 1% морфина гидрохлорида (в дозе 10 мг/кг) приводило к противоположному алкогольной интоксикации изменению уровня дофамина в стриатуме: выявлено его снижение, а в среднем мозге происходит падение уровня продуктов катаболизма нейромедиатора.

Комплексная интоксикация двумя ПАВ в последовательности морфин+этанол с интервалом 12 часов в тех же дозах сопровождается ускорением метаболизма дофамина в гипоталамусе на фоне сниженной концентрации самого нейромедиатора, а также накоплением концентрации норадреналина в коре больших полушарий и мозжечке [1, 17]. Введение веществ в очередности этанол+морфин приводит к расходованию дофамина и ростом концентрации 3,4-ДОФУК в гипоталамусе и повышению содержания норадреналина в коре больших полушарий [17].

Нейромедиаторные изменения при комплексной интоксикации алкоголем и наркотиком отличаются от таковых при введении одного ПАВ в стриатуме, среднем мозге, гипоталамусе и во многом соответствуют эффектам последнего вводимого вещества (этанол или морфина) в коре больших полушарий и мозжечке [1].

Таким образом, многочисленные данные доказывают вовлеченность алкогольной и морфиновой интоксикации, а также комплексного введения данных ПАВ в изменение активности дофаминергической нейромедиаторной системы и тем самым в работу всех систем организма, находящихся под их контролем. Обращают на себя внимание принципиальные различия характера реакции дофаминергической системы мозга на однократное введение этанола и морфина, а также их комплексного воздействия. В основе предпочтения этанола и морфина животными лежат изменения в дофаминергической передаче нервного импульса, а принцип этой передачи наследуется на генетическом уровне. Процесс высвобождения нейромедиаторов связан с возникновением специфической активности нервной клетки, но одновременно медиаторы становятся доступными для инактивирующих ферментов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Величко, И. М. Состояние нейромедиаторных систем в некоторых отделах головного мозга крыс при острой комплексной интоксикации морфином и алкоголем / И. М. Величко, С. В. Лелевич, В. В. Лелевич // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2019. – Т. 17, № 5. – С. 523–529.
2. Долгова, О. Б. Судебно-медицинская оценка сочетанного действия опиоидных наркотических веществ и этанола при несмертельных концентрациях в тканях трупа / О. Б. Долгова, И. А. Грехов // Вятский медицинский вестник. – 2020. – № 2 (66). – С. 56–61.
3. Коммуникативные особенности больных с сочетанной зависимостью от героина и алкоголя / С. П. Елшанский [и др.] // Вестник Мининского университета. – 2019. – Т. 7, № 1. – С. 1–12.
4. Лелевич, С. В. Центральные и периферические механизмы алкогольной и морфиновой интоксикации : монография / С. В. Лелевич. – Гродно : ГрГМУ, 2015. – 252 с.
5. Лелевич, С. В. Центральные и периферические механизмы алкогольной и морфиновой интоксикации : монография / С. В. Лелевич. – Гродно : ГрГМУ, 2015. – 252 с.
6. Мамедова, А. Е. Содержание дофамина и его метаболитов в мозжечке при острой алкогольной интоксикации на фоне гиподинамии / А. Е. Мамедова, Е. М. Дорошенко // Актуальные проблемы медицины : сборник материалов итоговой науч.-практ. конф., Гродно, 28-29 января 2021 г. / Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет» ; редкол.: Е. Н. Кроткова (отв. ред.), С. Б. Вольф, М. Н. Курбат. – Гродно, 2021. – С. 524–527.

7. Мамедова, А. Е. Содержание серотонина, его предшественников и метаболитов в головном мозге крыс в условиях острой алкогольной интоксикации и гиподинамии / А. Е. Мамедова, В.В. Лелевич, Е.М. Дорошенко // Вопросы наркологии – 2022. – № 1 (208). – С. 69-82.
8. Мельник, А. А. Генетические факторы и биохимические маркеры алкоголизма / А. А. Мельник // Газета Новости медицины и фармации. – 2019. – № 4 (686). – С. 1–10.
9. Михайлова, М. А. Влияние острой инъекции этанола на мезолимбическую систему дофамина свободноподвижных крыс / М. А. Михайлова, Р. Р. Гайнетдинов // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. –2019. – Т. 105, № 7. – С. 853–860.
10. Сиволап, Ю. П. Аминокислотные расстройства: мишени и средства терапии / Ю. П. Сиволап // Наркология. – 2014. – № 3. – С. 34–38.
11. Шигеев, С. В. Алкоголь – фактор риска смертельного отравления опиатами / С. В. Шигеев, Ю. М. Жук // Проблемы экспертизы в медицине. – 2005. – Т. 5, № 19. – С. 30–33.
12. Anterior Cingulate Cortex in Addiction: New Insights for Neuromodulation / Y. Zhao Masukawa [et al.] // Neuromodulation. – 2021. – Vol. 24 (2). – P. 187–196.
13. Bunney, E. B. Electrophysiological effects of cocaethylene, cocaine, and ethanol on dopaminergic neurons of the ventral tegmental area / E. B. Bunney, S. B. Appel, M. S. Brodie // J Pharmacol Exp Ther. – 2001. – Vol. 297 (2). – P. 696–703.
14. Dopamine and serotonin release in dorsal striatum and nucleus accumbens is differentially modulated by morphine in DBA/2J and C57BL/6J mice / P. Fadda [et al.] // Synapse. – 2005. – Vol. 56 (1). – P. 29–38.
15. Ethanol metabolism and striatal dopamine turnover / M. L. Barbaccia [et al.] // J Neural Transm. – 1982. – Vol. 53 (2-3). – P. 169–177.
16. Nedahl, M. Brain-blood ratio of morphine in heroin and morphine autopsy cases / M. Nedahl, S. Stybe Johansen, K. Linnet // Forensic Sci Int. – 2019. – Vol. 301. – P. 388–393.
17. Neurotransmitter Impairments in the Brain Induced by Acute Combined Intoxication of Rats with Ethanol and Morphine / I. M. Vialichko, S. V. Lelevich, V. V. Lelevich, E. M. Doroshenko, V. Yu. Smirnov // Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry. – 2022. – Vol. 16, № 1. – P. 66–73.
18. Oleanolic Acid Attenuates Morphine Withdrawal Symptoms in Rodents: Association with Regulation of Dopamine Function / Z. Shi [et al.] // Drug Des Devel Ther. – 2021. – Vol. 15. – P. 3685–3696.
19. Oswald, L. M. Opioids and alcoholism / L. M. Oswald, G. S. Wand // Review Physiol Behav. – 2004. – Vol. 81 (2). – P. 339–358.

# СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ГОМЕОСТАЗЕ ГЛУТАМАТА И ГАМК В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ ПРИ ДЕЙСТВИИ АЛКОГОЛЯ

Виницкая А.Г.

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

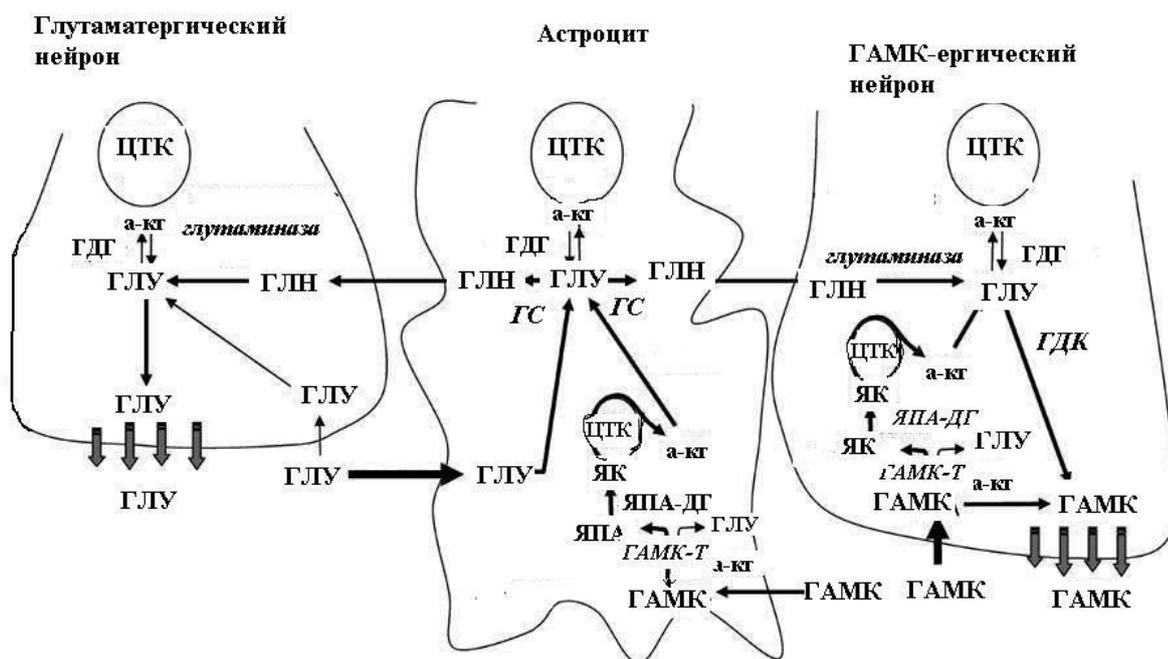
Головной мозг характеризуется неравномерным распределением пулов отдельных метаболитов в нейронах и окружающих их глиальных клетках. Доказательством метаболической компартментализации в мозге являются эксперименты *in vivo* с введением крысам радиоактивно меченного глутамата [15]. Через некоторое время было обнаружено неравное распределение радиоактивной метки в нейронах и глиальных клетках, что позволило предположить существование малого и большого пулов глутамата в нервной ткани [15]. «Малый глутаматный компартмент» был обнаружен в астроцитах и используется для синтеза глутамина [4]. В отличие от астроцитов, синтез глутамина в нейронах отсутствует, и они содержат так называемый «большой глутаматный компартмент» [12, 13, 14, 16, 20]. Распределение пулов глутамата, глутамина и гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) было открыто в ГАМК-ергических нейронах и окружающих их астроцитах, и было описано как ГАМК/глутамат/ глутаминовый цикл [6, 8, 9].

Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) и глутамат – важные нейромедиаторные аминокислоты, с доказанной ролью в регуляции многих функций ЦНС и физиологических процессов [1, 2, 5, ]. Глутамат является одним из нейромедиаторов возбуждения и, одновременно, предшественником ГАМК в ГАМК-ергических нейронах. Источниками обеих аминокислот являются глюкоза, субстраты ЦТК и глутамин. Концентрация ГАМК в головном мозге, определяется балансом между ее синтезом из глутамата и деградацией до сукцината и гамма-оксимасляной кислоты. Другой важной функцией этих аминокислот является интегрирование процессов производства энергии в разных видах клеток головного мозга [10, 11, 17].

Концепция ГАМК/глутамат/ глутаминового цикла основана на многочисленных фактах о роли глиальных клеток в снабжении энергией глутамат- и ГАМК-ергических нейронов во время нейротрансмиссии [11, 12]. Было показано, что усиление в астроглии окислительного метаболизма глюкозы и анаэробного - до лактата значительно коррелировало с повышенной нейрональной активностью этих нейронов [10]. Для оценки глиального вклада в энергетический метаболизм мозга были измерены нейрональные и глиальные метаболические потоки в бодрствующем мозге крысы, используя метод двойной изотопной маркировки. С этой целью крысам вводили одновременно  $^{14}\text{C}$ -бикарбонат и  $[1-^{13}\text{C}]$ -глюкозу в течение одного часа. По прошествии времени в тканевых экстрактах измеряли распределение радиоактивной метки  $^{14}\text{C}$  и  $^{13}\text{C}$  в новообразованном глутамате, глутамине и аспартате. По расчетам активность ЦТК в глиальных клетках составила приблизительно 30% от общей активности цикла Кребса мозга [14, 16].

Еще одним доказательством, почему астроциты рассматриваются, как ключевой элемент в поддержании глутаматергической и ГАМК-ергической нейротрансмиссии, является преимущественная экспрессия в них глутаминсинтетазы [14]. При этом ГАМК- и глутаматергические нейроны рассматриваются, как метаболически неполноценные клетки, не способные к синтезу собственных нейромедиаторов из глюкозы [19].

Согласно модели Shousboe A., et al, (2015) обмен глутамата и ГАМК в мозге протекает одновременно в соответствующих нейронах и окружающих их глиальных клетках и сопровождается обратимым превращением глутамата в  $\alpha$ -кетоглутарат с включением в ЦТК (рисунок).



**Рисунок - Ключевые метаболические процессы в глутаматергическом и ГАМК-ергическом синапсах и окружающих их астроцитах. ГДГ-глутаматдегидрогеназа; ГС-глутаминсинтетазы;  $\alpha$ -кГ -  $\alpha$ -кетоглутарат; ГДК – глутамат декарбоксилаза; ГАМК-Т – ГАМК-трансаминаза; ЯПА – янтарный полуальдегид; ЯПА-ДГ – ЯПА – дегидрогеназа. (адаптировано из Shousboe A., et al, 2015 [5])**

В глутаматергических нейронах синтез глутамата происходит преимущественно в нейронах, тогда как большая часть глутамин находится в астроглии, окружающей нейроны [5. 8]. Для стохиометрического оперирования глутамат-глутаминового цикла, весь глутамат, захваченный астроцитами при помощи высокоаффинных переносчиков, должен быть преобразован в глутамин посредством глутаминсинтетазы (ГС) [10]. Однако, как показали многочисленные исследования метаболизма астроцитов, метаболизм глутамата в мозге имеет свои особенности. Значительное количество этой аминокислоты метаболизируется окислительным путем через ЦТК, что объясняет высокую

концентрацию внеклеточного глутамата в ЦНС [18]. Глутамин, синтезируемый астроцитами, выделяется в межклеточное пространство и поглощается нейронами, где происходит его гидролиз глутаминой до аммиака и глутамата. Выделение глутамата в синаптическую щель приводит к передаче возбуждающего нервного импульса. В дальнейшем использованный нейромедиатор захватывается окружающими астроцитами и вновь превращается в глутамин, замыкая цикл [5, 18].

В 1980-х годах прошлого столетия было выдвинуто предположение о существовании в мозге двух пространственно разделенных пулов ГАМК, причем в первом, «нейрональном», осуществляется синтез нейромедиатора, а во втором, «метаболическим» - происходит катаболизм ГАМК [15]. Соотношение между нейрональным и глиальным пулами ГАМК имеет существенное значение в генезе судорожных состояний при эпилепсии, что учитывается при назначении некоторых препаратов – ингибиторов ГАМК-трансаминазы [5, 15].

Согласно модели *Shousboe A., et al, (2015)* в ГАМК-ергических нейронах глутамин дезаминируется с образованием глутамата. В дальнейшем часть глутамата превращается в субстраты ЦТК через альфа-кетоглутарат. Остальной глутамат подвергается декарбоксилированию ГДК с образованием нейромедиатора [5] (рисунок). Следует отметить, что ГАМК удаляется из внесинаптического пространства преимущественно транспортерами в пресинаптические нейроны и в меньшей степени в астроциты [5]. Кроме того, было продемонстрировано, что ГАМК, поглощаемая пресинаптическим нейроном, вносит преимущественно вклад в везикулярный пул ГАМК в этих нейронах, в то время как меньшая часть поступает в метаболический пул [9]. Таким образом, потеря углеродных скелетов из ГАМК-ергических нейронов в астроциты менее выражена, чем из глутаматергических нейронов, и можно предположить, что перенос глутамин из астроцитов в ГАМКергические нейроны менее важен, чем в глутаматергические нейроны [5].

Для функциональной активности ГАМК-ергических нейронов большое значение имеют захват нейромедиатора астроцитами и превращения за пределами нейронов. В пользу этого предположения свидетельствует применение ингибиторов ГАМК-трансаминазы (ГАМК-Т) и переносчиков ГАМК в астроциты в качестве противосудорожных препаратов [20]. Фармакологическое действие этих препаратов связано с увеличением концентрации ГАМК в межклеточном пространстве и синаптической щели, что приводит к активации ГАМК-ергического торможения [20]. В нормальных условиях захваченная ГАМК метаболизируется в янтарный полуальдегид (ЯПА) в астроцитарных митохондриях, которые содержат значительную активность ГАМК-аминотрансферазы. ЯПА-дегидрогеназа катализирует последующее окисление ЯПА до сукцината. Четырехуглеродный скелет ГАМК может быть использован синтеза глутамата и глутамин путем использования в  $\alpha$ -кетоглутарата, образованного из глюкозы или он может быть окислен в  $\text{CO}_2$  через рециркуляцию пирувата [5].

В настоящее время накоплено достаточно данных об активном участии глутаматергических и ГАМК-ергических нейронов в проявлении действия этанола и других наркотических веществ. По принятой гипотезе подкрепляющие эффекты этанола, фенамина и морфина регулируются дофаминергическими, ГАМК-ергическими и глутамат-ергическими нейронами структур головного мозга, объединенных в так называемую «систему награды» [3]. В состав этой системы входят структуры гипоталамуса, расширенной миндалины, стриатум, гиппокамп, а также мезолимбическая дофаминовая система [3]. Согласно этой модели, активность дофаминергических нейронов в вентральной области покрышки среднего мозга контролируется тормозными ГАМК-ергическими интернейронами, которые в свою очередь, контролируются опиоидными пептидами и проекциями глутаматергических нейронов из префронтальной коры [1, 3].

Однократный прием алкоголя приводит к активации ДА-ергических нейронов в вентральной области покрышки, аксоны которых проецируют этот сигнал в прилежащее ядро. Этому эффекту предшествует снижение активности ГАМК-ергических нейронов за счет выброса глутамата на ГАМК-ергические нейроны. Активация дофаминергического проведения в этом отделе мозга объясняет возбуждающее действие, при приеме небольших доз алкоголя [7].

В отличие от острой алкогольной интоксикации его длительное поступление в организм вызывает адаптивные изменения в нейрональной активности во многих структур ЦНС, включая «систему награды» [3]. Прекращение приема алкоголя зависимыми пациентами сопровождается усиленным выбросом глутамата из нейронов префронтальной коры на ГАМК-ергические нейроны вентральной области покрышки. Это приводит к усилению тормозного ГАМК-ергического контроля и уменьшает выброс дофамина в прилежащее ядро [7].

В пользу этой гипотезы свидетельствуют данные о взаимодействии этанола с различными глутаматергическими рецепторами. Так, в опыте *in vitro* этанол угнетал активность NMDA-рецепторов на изолированных нейронах гиппокампа и мозжечка. В дальнейшем это исследование было повторено на других системах, включая нейроны коры больших полушарий, прилежащее ядро, структуры миндалины и вентральной области покрышки [7]. Эти исследования продемонстрировали, что этанол ингибирует активность NMDA-рецепторов, не конкурируя при этом с глутаматом за место связывания. Этанол также ингибировал активность ионотропных AMPA рецепторов по неконкурентному механизму.

Таким образом, функциональная активность глутамат- и ГАМК-ергических систем определяется множеством взаимосвязанных факторов, в числе которых поддержание динамического баланса субстратов между нейронами и окружающими их глиями. Процессы метаболизма ГАМК напрямую связаны с обменом интермедиатов ЦТК, глутаматом и глутамином и пространственно разделены в ЦНС. Задачами дальнейших исследований является определение места этих процессов в развитии некоторых патологических состояний ЦНС.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич, В. В. Алкоголь и мозг (метаболические аспекты) / В. В. Лелевич, С. В. Лелевич, А. Г. Виницкая, - Гродно : ГрГМУ, 2019. - 252 с.
2. Лелевич, В.В. Современные представления об обмене  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (ГАМК) в головном мозге / В.В. Лелевич, А. Г. Виницкая, С.В. Лелевич // Нейрохимия. - 2009.- Т. 26, № 4. - С. 275-281.
3. Шабанов, П. Д. Участие ГАМК- и дофаминергических механизмов ядра ложа конечной полоски в подкрепляющих эффектах психотропных средств, реализуемых через латеральный гипоталамус / П. Д. Шабанов, А. А. Лебедев // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2011. – Т. 97. – №. 8. – С. 804-813.
4. Albrecht, J. Glutamine: a Trojan horse in ammonia neurotoxicity / J. Albrecht, M.D. Norenberg // *Hepatology*. – 2006. – Vol. 44. – P. 788-794.
5. Astroglia and Brain Metabolism: Focus on Energy and Neurotransmitter Amino Acid Homeostasis Colloquium Series on Neuroglia in Biology and Medicine / A. Schousboe, [et al]. - *Physiology to Disease*. – 2015. – 64 p. (<https://doi.org/10.4199/C00130ED1V01Y201506NGL007>)
6. Bak, L.K. The glutamate/GABA-glutamine cycle: aspects of transport, neurotransmitter homeostasis and ammonia transfer / L.K. Bak, A. Schousboe, H.S. Waagepetersen // *J Neurochem*. - 2006. – Vol. 98. – P. 641-653.
7. Clapp, P. How adaptation of the brain to alcohol leads to dependence: a pharmacological perspective / P. Clapp, S.V. Bhave, P.L. Hoffman // *Alcohol Res Health*. – 2008. – Vol. 31, N 4. – P.310-39
8. Hertz L and Chen Y (2017) Integration between Glycolysis and Glutamate-Glutamine Cycle Flux May Explain Preferential Glycolytic Increase during Brain Activation, Requiring Glutamate. *Front. Integr. Neurosci.* 11:18. doi: 10.3389/fnint.2017.00018
9. Metabolic distinction between vesicular and cytosolic GABA in cultured GABAergic neurons using  $^{13}\text{C}$  magnetic resonance spectroscopy / H. S. Waagepetersen, [et al] // *J Neurosci Res*. - 2001. – Vol. 63. – P. 347–355.
10. Neuroglial metabolism in the awake rat brain:  $\text{CO}_2$  fixation increases with brain activity / G. Oz , [et al] // *J Neurosci*. – 2004. – Vol. 24. – P. 11273-11279.
11. Ransom, B. New roles for astrocytes (stars at last) / B. Ransom, T. Behar, M. Nedergaard // *Trends Neurosci*. – 2003. – Vol. 26. – P. 520-522.
12. Role of astrocytic transport processes in glutamatergic and GABAergic neurotransmission / A. Schousboe, [et al] // *Neurochem Int*. - 2004. – Vol. 45. – P. 521–527.
13. Role of glutamine and neuronal glutamate uptake in glutamate homeostasis and synthesis during vesicular release in cultured glutamatergic neurons / H. S. Waagepetersen, [et al] // *Neurochem Int*. - 2005. – Vol. 47. – P. 92–102.
14. Schousboe, A. Role of astrocytes in homeostasis of glutamate and GABA during physiological and pathophysiological conditions / A. Schousboe, H. S. Waagepetersen // *Adv Mol Cell Biol*. - 2004. – Vol. 31. – P. 461–474.

15. Shank, R.P. Glutamine and 2-oxoglutarate as metabolic precursors of the transmitter pools of glutamate and GABA: Correlation of regional uptake by rat brain synaptosomes / R. P. Shank, W. J. Baldy, C. W. Ash // *Neurochem Res.* – 1989. – Vol. 14. – P. 371–376.

16. 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. – P. 1153–1161.

17. Study of tricarboxylic acid cycle flux changes in human visual cortex during hemifield visual stimulation using  $^1\text{H}$ - $\{^{13}\text{C}\}$  MRS and fMRI / W. Chen, [et al] // *Magn. Reson. Med.* – 2001. – Vol. 45. – P. 349–355.

18. Tricarboxylic Acid Cycle Activity Measured by  $^{13}\text{C}$  Magnetic Resonance Spectroscopy in Rats Subjected to the Kaolin Model of Obstructed Hydrocephalus / T. M. Melø, [et al] // *Neurochem Res.* – 2011. – Vol. 36, N 10. – P.1801–1808. doi: 10.1007/s11064-011-0497-z

19. Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner / A. Araque, [et al] // *Trends Neurosci.* – 1999. – Vol. 22. – P. 208-215.

20. Waagepetersen, H. S. Compartmentation of glutamine, glutamate, and GABA metabolism in neurons and astrocytes: Functional implications / H. S. Waagepetersen, U. Sonnewald, A. Schousboe // *Neuroscientist.* - 2003. – Vol. 9. – P. 398–403.

## **ДОФАМИНЕРГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ**

**Гуца В.К., Лелевич С.В.**

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

Чрезмерное употребление алкоголя может привести ко многим проблемам со здоровьем, а также к отрицательным социально-экономическим последствиям. Этанол – вещество, обладающее наркотическим, нейротоксическим, нейротропным и протоплазматическим действием, оказывающее влияние на все органы и ткани человека, в том числе центральную нервную систему (ЦНС), разрушающее их структуру на молекулярном, мембранном, клеточном, тканевом и организменном уровнях. Даже небольшие дозы этанола изменяют специфическую активность синаптического аппарата, регуляторных белков мембран, участвующих в передаче нервного импульса [12].

Этиловый спирт быстро поступает в мозг через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). У человека снижение функции ГЭБ возникает при содержании алкоголя в крови, равном 0,2 ‰, т.е. до появления клинических признаков опьянения. При алкогольном отравлении повреждение ГЭБ сопровождается отеком вещества головного мозга и расстройством клеточного метаболизма. В свою очередь длительное употребление алкоголя вызывает нарушение функциональной целостности ГЭБ. Этанол напрямую воздействует на

эндотелиальную стенку микрокапилляров мозга. Этиловый спирт влияет на мозг путем модуляции многочисленных нейромедиаторных систем, включая, но не ограничиваясь, ГАМК, глутамат, серотонин, норадреналин, вазопрессин, аденозин и дофамин [18].

Дофамин, или 2-(3,4-дигидроксифенил)-этиламин – эндогенный катехоламин, проявляющий себя как нейромедиатор в ЦНС и как паракринный или аутокринный фактор на периферии. Впервые его описали Джордж Баргер, Джеймс Юэнс и Генри Дейл в 1910 году как моноаминовое соединение, подобное адреналину [13].

В дофаминергической системе мозга различают семь подсистем: нигростриатную, мезокортикальную, мезолимбическую, тубероинфундибулярную, инцертоталамическую, диенцефалоспинальную и ретинальную. Первые три являются основными. Мезолимбическая подсистема включает вентральную область покрышки и частично компактную часть черной субстанции. Отростки нейронов в основном идут в прилежащее ядро, обонятельный бугорок, иннервирующий перегородку, амигдалу и гиппокамп. Нейроны мезокортикальной подсистемы также отходят от вентральной области покрышки, а волокна простираются в префронтальной, поясной и периферической коре. Из-за некоторых совпадений между этими двумя подсистемами их часто объединяют и называют мезокортиколимбической подсистемой [4]. В течение 50 лет, с момента открытия, дофаминергические нейроны остаются одними из наиболее широко изучаемых структур головного мозга.

Важнейшим звеном этиологии и патогенеза болезней зависимости от психоактивных веществ являются нарушения обмена дофамина в мезокортиколимбической системе. При алкогольной зависимости дисфункция данной системы связана в том числе со снижением плотности  $D_2$  рецепторов в стриатуме [1].

### **Дофаминергическая система головного мозга при острой алкогольной интоксикации**

Многие патогенетические звенья алкогольной интоксикации были установлены и устанавливаются в экспериментах на животных, в основном на крысах и мышах. В литературе упоминаются различные модели экспериментального алкоголизма, описывающие патологическое воздействие этанола на различные органы и ткани животных. Среди них достаточно часто встречается модель острой алкогольной интоксикации, которая достигается путем единовременного введения высоких доз алкоголя [11].

Острая алкогольная интоксикация относится к основным клиническим проявлениям поражения нервной системы человека. Данное состояние развивается после приема алкоголя и зависит от индивидуальной толерантности, темпа адсорбции и метаболизма. Клиническая картина складывается из нарушений поведения, когнитивных функций, эмоциональной сферы, моторики, вегетативных проявлений. В зависимости от дозы она

меняется – от состояния легкой эйфории до нарушений координации, атаксии, спутанности, сужения сознания вплоть до комы [11].

Воздействие этанола и других наркотических средств усиливает высвобождение дофамина из аксонов нейронов вентральной области покрышки, который воздействует на дофаминовые рецепторы нейронов прилежащего ядра и префронтальной коры, что приводит к формированию ощущения удовольствия и блаженства. Этанол может увеличивать высвобождение дофамина путем прямого возбуждения дофаминергических нейронов либо действием на ГАМК-рецепторы, вызывая растормаживание нейронов дофамина [18].

Существует гипотеза “первого попадания”, согласно которой метаболиты алкоголя обладают собственным подкрепляющим действием. Первый метаболит этанола, ацетальдегид, является чрезвычайно активным соединением, обладающим выраженным нейротропным, а в повышенных концентрациях и нейротоксическим действием. Доказано, что экзогенный этанол способен окисляться непосредственно в мозге с образованием ацетальдегида, который опосредует многие эффекты алкоголя, включая поведенческие, биохимические и нейротоксические [6]. Ацетальдегид стимулирует освобождение катехоламинов из адренергических окончаний. Продукт конденсации ацетальдегида с дофамином – сальсолинол, или 1-метил-6,7-дигидрокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин, проявляет свойства поверхностно активного вещества. Данное вещество рассматривается как один из нейротоксических факторов, вовлеченных в нейродеградацию. Тетрагидрохолины способны вызывать галлюцинации и провоцировать состояние абстиненции. В задних отделах покрышки сальсолинол модулирует нейроны через дофаминовые рецепторы 2-го и 3-го подтипов и серотониновые рецепторы 3-го типа [10].

Согласно результатам экспериментальных исследований, однократное введение этанола в дозах 1, 2,5 и 5 г/кг однотипно, но не дозозависимо снижает концентрацию дофамина преимущественно в таламической области и стволе головного мозга крыс. Однократное введение этанола в дозе 1 г/кг не приводило к существенным изменениям в дофаминовой нейромедиации в коре больших полушарий, таламической области, стволе мозга и мозжечке. 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. 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 их метаболитов [8]. При внутрибрюшинном введении этанола в дозе 3,5 г/кг на 30 минут наблюдали повышение уровня ГВК в стриатуме гипоталамуса и стволе мозга, рост синаптического выброса и, в большей степени, деградации дофамина в стриатуме [7].

Из анализа литературных данных известно, что стресс может усиливать реакцию мезалимбических дофаминергических нейронов на острое введение этанола, а притупление чувствительности мезокортикальных дофаминергических нейронов может быть нейроадаптивной реакцией к хроническим стрессовым раздражителям. Данное явление может нарушать баланс между функциями мезокортикальной и мезолимбической систем, который имеет решающее значение для развития аддиктивного поведения [17].

Результаты недавних исследований говорят о снижении концентрации дофамина и гомованилиновой кислоты в мозжечке при острой алкогольной интоксикации на фоне гиподинамии, что может указывать на активацию дофаминергической системы в этом отделе мозга при одновременном влиянии указанных факторов [9]. Мозжечок не считается избирательной дофаминергической областью, но морфологические, химические и функциональные исследования доказывают существование мозжечковой дофаминергической системы у млекопитающих, включая человека. Она состоит из внешних волокон, происходящих в основном из дофаминергических ядер среднего мозга, и внутренних субпопуляций дофаминергических нейронов, состоящих из кортико-мозжечковых проективных нейронов [15].

Таким образом, даже однократное введение этанола приводит к изменениям в функционировании дофаминергической системы головного мозга, проявляющееся главным образом усилением передачи дофамина.

### **Дофаминергическая система головного мозга при хронической алкогольной интоксикации.**

Хроническое употребление алкоголя оказывает выраженное действие на организм человека через сложные механизмы. Чрезмерное и длительное злоупотребление алкоголем приводит к полиорганным проблемам, включая изменения в нервной системе, необратимому повреждению нейронов и нарушению работы нейромедиаторных систем [20].

Анализ данных нейробиологических исследований позволил сделать вывод о принципиальном единстве центральных механизмов зависимости от разных психоактивных веществ, способных вызвать синдром зависимости. Воздействие алкоголя и наркотиков на начальных стадиях приводит к интенсивному выбросу из депо нейромедиаторов, в первую очередь дофамина, в отделах, участвующих в «системе подкрепления», что сопровождается сильным возбуждением данной системы [5].

По-видимому, наиболее важными нейромедиаторными изменениями при переходе от случайного употребления алкоголя к зависимости является снижение активности дофаминергической и ГАМК-ергической нейромедиаторных систем, а также постоянной активацией оборота глутамата и нарушение регуляции систем мозга, отвечающих за реакцию на стресс. Интересно, что и агонисты, и антагонисты дофамина снижают потребление этанола экспериментальными животными [2]. Привыкание к алкоголю при хроническом алкоголизме связывают с избыточным накоплением в тканях

головного мозга метаболита дофамина – тетрагидропапаверолина - продукта химической конденсации дофамина с собственным альдегидом [4].

Дофамин регулирует эмоциональное и мотивационное поведение посредством мезолимбической подсистемы, которая связана с вознаграждением. Ряд авторов считает, что данная подсистема участвует также в поведении, связанном с отвращением. Установлено, что дофаминергические нейроны вентральной области покрышки, которая является весомой частью системы подкрепления, сигнализируют о несоответствии между ожидаемым и фактическим вознаграждением. В регуляции процессов подкрепления основная роль принадлежит  $D_1$  и  $D_2$  рецепторам [16]. Дофамин отвечает за «чувство награды», которое позволяет принимать решения, обдумывая действие подсознательно. Выработка нейромедиатора происходит уже в процессе ожидания. Доказано, что люди с нарушением синтеза или транспорта дофамина испытывают затруднения при принятии решений [4].

При длительном употреблении алкоголя дофамин под влиянием химического воздействия постоянно высвобождается из депо, что влечет истощение его запасов. Часть свободного нейромедиатора частично разрушается, а другая часть с помощью механизма обратного захвата возвращается в депо. Повторные приемы этанола приводят к дальнейшему истощению запасов дофамина и снижению чувствительности дофаминовых рецепторов. Это приводит к недостаточному возбуждению системы подкрепления, что выражается ощущением упадка сил, снижением настроения, соответствующим психоэмоциональным «дефицитом» [10]. Прием ПАВ на этом фоне вызывает дальнейшее высвобождение дофамина из депо, что временно нормализует деятельность лимбических структур. Нейромедиатор вновь быстро разрушается, что приводит к дальнейшему падению уровня его содержания и ухудшению психоэмоционального состояния. Возникает стремление вновь принимать алкоголь, формируется зависимость.

При многократном приеме этанола, «система поощрения» реагирует снижением собственной выработки дофамина и уменьшению числа чувствительных к нему рецепторов. Это один из механизмов нейроадаптации, когда повышение концентрации нейромедиатора компенсируется гомеостатическими механизмами. Данный эффект носит временный характер [10].

При длительном употреблении алкоголя может развиваться дефицит дофамина, который может угрожать жизнедеятельности организма. В качестве механизма компенсации этого явления выступает усиленный синтез дофамина и подавление активности ферментов его метаболизма, в первую очередь моноаминоксидазы и дофамин-бета-гидроксилазы. Возникает ускоренный кругооборот дофамина: усиленный синтез – усиленный распад. При прекращении приема этанола усиленного высвобождения нейромедиатора не происходит, а усиленный синтез сохраняется. В крови и мозге накапливается дофамин, что обуславливает основные симптомы абстинентного синдрома: тревожности, напряженности, возбуждения, тремора, подъема артериального давления, ускорения пульса появления других вегетативных расстройств,

нарушения сна, возникновения психотических состояний и т.п. Выявлена прямая корреляция между степенью повышения концентрации дофамина в крови и тяжестью течения абстинентного синдрома [3].

Согласно литературным данным внутрижелудочное введение этанола дважды в сутки в дозе 3,5 г/кг на протяжении 7 дней сопровождалось снижением концентрации дофамина в коре больших полушарий, таламической области и стволе головного мозга. Увеличение сроков эксперимента до 14, 21 и 28 суток приводило также к достоверному снижению концентрации дофамина [8].

Таким образом, хроническое воздействие алкоголя сопровождается снижением уровня дофамина в горловном мозге, что приводит к когнитивной дисфункции и ангедоническому состоянию отмены, что может способствовать рецидиву [17]. Также снижается количество D<sub>2</sub> рецепторов, которые в основном локализованы на ГАМК-синтезирующих клетках, что свидетельствует о вовлеченности ГАМК-ергической системы в дофаминергические нарушения у людей, злоупотребляющих алкоголем [1].

Многочисленные исследования позволили определить молекулярные мишени, через которые этанол воздействует на мозговые цепи. Тем не менее механизмы нарушения регуляции высвобождения дофамина под влиянием алкоголя *in vivo* и их взаимодействие до конца ещё не описаны [14]. Также недостаточно ясными являются сроки формирования нейромедиаторных нарушений и их региональная выраженность в динамике алкоголизации [8].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Агонисты дофаминовых D<sub>2</sub> рецепторов в фармакотерапии экспериментального алкоголизма / П. К. Анохин [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2019. – Т. 63, № 1. – С. 33–39.
2. Анохина, И. П. Основные биологические механизмы зависимости от психоактивных веществ / И. П. Анохина // Вопросы наркологии. – 2017. – № 2-3. – С. 15–41.
3. Анохина, И. П. Этиология и патогенез алкоголизма / И. П. Анохина // Алкоголизм: руководство для врачей / И. П. Анохина; под ред. Н. Н. Иванца, М. А. Винниковой. – М., 2011. – С. 65–77.
4. Богданова, И. В. Роль дофамина в механизмах формирования некоторых расстройств ЦНС и состояний зависимости (обзор литературы) / И. В. Богданова // Украинский вестник неврологии. – 2011. – Т. 2, № 19. – С. 5–8.
5. Бочаров, Е. В. Функциональные грани дофаминергической системы и рак (часть 1) / Е. В. Бочаров, В. Г. Кучеряну, О. А. Богачарова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2017. – Т. 61, № 3. – С. 116–126.
6. Долгополова, Т. В. Алкогольные поражения нервной системы / Т. В. Долгополова, В. А. Куташов // Молодой ученый. – 2015. – № 21. – С. 269–274.
7. Дорошенко, Е. М. Формирование фонда биогенных аминов и нейроактивных аминокислот в головном мозге крыс при алкогольной интоксикации и отмене этанола : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.04 –

биохимия / Евгений Михайлович Дорошенко ; АН Беларуси, Ин-т радиобиологии. – Минск, 1994. – 20 с.

8. Лелевич, С. В. Центральные и периферические механизмы алкогольной и морфиновой интоксикации : монография / С. В. Лелевич. – Гродно : ГрГМУ, 2015. – 248 с.

9. Мамедова, А. Е. Содержание дофамина и его метаболитов в мозжечке при острой алкогольной интоксикации на фоне гиподинамии / А. Е. Мамедова, Е. М. Дорошенко // Актуальные проблемы медицины : сборник материалов итоговой научно-практической конференции, Гродно, 28–29 января 2021 года. – Гродно: Гродненский государственный медицинский университет, 2021. – С. 524–527.

10. Михайлова, М. А. Влияние острой инъекции этанола на мезолимбическую систему дофамина свободноподвижных крыс / М. А. Михайлова, Р. Р. Гайнетдинов // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2019. – Т. 105, № 7. – С. 853–860.

11. Никифоров, И. И. Неврологические осложнения алкоголизма / И. И. Никифоров [и др.] // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2017. – Том 9, №4. – С. 95–100.

12. Неделько, Н. Ф. Некоторые аспекты танатогенеза при смерти от острой алкогольной интоксикации / Н. Ф. Неделько // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2018. – Т. 152, № 1. – С. 42–47.

13. Costa, K. M. Dopamine / K. M. Costa, G. Schoenbaum // Curr Biol. – 2022. – Vol. 32(15). – P. 81–824.

14. Dynamical ventral tegmental area circuit mechanisms of alcohol-dependent dopamine release / M di Volo [et al.] // Eur J Neurosci. – 2019. – Vol. 50(3). – P. 2282–2296.

15. Flace, P. The Cerebellar Dopaminergic System / P. Flace [et al.] // Front Syst Neurosci. – 2021. Vol. – 15:650614.

16. Garcia-Borreguero, D. Withdrawal symptoms following dopaminergic treatment of RLS /D. Garcia-Borreguero // Sleep Med. – 2019. – Vol. 59. – P. 117–118.

17. Lallai, V. Social Isolation Blunted the Response of Mesocortical Dopaminergic Neurons to Chronic Ethanol Voluntary Intake / V. Lallai, L. Manca, L. Dazzi // Front Cell Neurosci. – 2016. – Vol.10:155.

18. Long-term consumption of alcohol exacerbates neural lesions by destroying the functional integrity of the blood-brain barrier / J. Wei [et al.] // Drug Chem. Toxicol. – 2019. – Vol. 20. – P. 1–8.

19. Most, D. Molecular basis of alcoholism / D. Most, L. Ferguson, R. A. Harris // Handb Clin Neurol. – 2014. – Vol. 125. – P. 89–111.

20. Role of Alcohol Drinking in Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Amyotrophic Lateral Sclerosis / B. Peng [et al.] // Int J Mol Sci. – 2020. – Vol. 21(7):2316.

# СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ И РОДСТВЕННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ СЕРДЦА И СОСУДОВ: АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА, ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ

Дорошенко Е.М.

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

## Введение

В большинстве стран, включая Беларусь, наблюдается рост удельного веса и общего числа смертей от болезней системы кровообращения (VII класс по МКБ) и резкого увеличения смертей от заболеваний невыясненной этиологии (XVI класс). Указанные две причины смертности составляют более 60% в структуре причин смертности населения РБ и фактически определяют общую неблагоприятную динамику в состоянии здоровья населения. Глобальный характер проблемы сердечно-сосудистых заболеваний, а также хронической сердечной недостаточности (ХСН), обусловлен их высокой распространенностью и смертностью пациентов, поэтому анализ факторов, способных влиять на тяжесть проявлений и выживаемость пациентов, является актуальным, в том числе из-за необходимости совершенствования методов оценки прогноза и контроля эффективности терапии. До настоящего времени проблема эффективного выявления пациентов с высоким риском неблагоприятного исхода не решена, несмотря на большое количество способов оценки риска, предсказывающая ценность их положительного результата остается недостаточно высокой [6].

Остается невыясненным целый ряд метаболических предпосылок развития и прогрессирования патологии сердца и сосудов. Это в определенной степени может быть обусловлено ограничениями в доступности материала (тканей) при клинических исследованиях. Даже для показателей с известной диагностической информативностью часто нет достаточных данных, позволяющих говорить о механизмах и источниках (ткани, органы) метаболических нарушений.

Ранее нами были получены данные, свидетельствующие о перспективности применения анализа свободных аминокислот и родственных соединений для характеристики состояния метаболического гомеостаза при патологиях внутренних органов, в том числе сердца [1], имеется ряд работ, обосновывающих центральную роль нарушений обмена свободных аминокислот (в том числе предшественников биогенных моноаминов) при интоксикациях и зависимостях, в частности, экспериментальном алкогольном поражении ЦНС и периферических тканей [4]. Данные, полученные в этих исследованиях, позволяют предполагать, что уровни ароматических аминокислот, а также их биологически активных метаболитов, включая биогенные амины, могут отражать активность патологического процесса, эффективность лечения, причем особая роль в этом принадлежит триптофану и продуктам гидроксилазного пути его превращений. Известно, что снижение доступности триптофана и синтеза серотонина приводит к снижению

вариабельности сердечного ритма, что является неблагоприятным прогностическим признаком при сердечно-сосудистых заболеваниях [18].

Другой аспект проблемы нарушений обмена аминокислот при патологии сердца и сосудов связан с изучением роли нарушений в обмене свободных серосодержащих аминокислот, в частности, метионина и гомоцистеина, а также метаболически родственных им соединений (цистатинина, предшественников таурина), который в данном аспекте слабо изучен [1].

Изучение взаимосвязи между важнейшими метаболитами основных путей обмена триптофана, уровнями серосодержащих аминокислот и их производных, клиническими маркерами ИБС и ХСН и показателями сердечного ритма, включая риск возникновения и развития желудочковых аритмий, наличием сопутствующих депрессивных расстройств, а также уровнями других компонентов пула свободных аминокислот, до сих пор не проводилось.

### **Обмен триптофана и сердечно-сосудистая патология**

L-триптофан –  $\beta$ -(3-индолил)- $\alpha$ -аминопропионовая кислота – незаменимая аминокислота. Серотонин – 5-гидрокситриптамин – биогенный амин из группы индолилалкиламинов. Эти вещества связаны двумя реакциями: гидроксилирование триптофана с образованием 5-гидрокситриптофана и декарбоксилирование последнего до серотонина. Серотонин, помимо того, что является нейромедиатором – предшественник одного из самых мощных и доступных эндогенных антиоксидантов и регуляторов иммунной системы – мелатонина (N-ацетил-5-метокситриптамина) [19].

Триптофан является предшественником серотонина, мелатонина, бета-карболинов, кинуренина, а изменениями (нарушениями) серотонинергических функций сопровождаются заболевания сердца и сосудов, включая патологию ЦНС сосудистого генеза, интоксикации, острый и хронический стресс. Несмотря на относительную автономность пула нейромедиаторов в аминергических системах, не вызывает сомнений зависимость их синтеза от доступности и транспорта соответствующих предшественников и возможность вызывать стимуляцию либо, наоборот, торможение аминергических функций путем влияния на пул предшественников – ароматических аминокислот (прекурсорный контроль) [18]. Особенно обширные данные в этом отношении накоплены о серотонинергической системе и метаболизме триптофана, включая и основной путь его превращений в периферических тканях – кинурениновый. Имеются сведения о нейроактивных свойствах метаболитов кинуренинового пула превращений триптофана, в частности, центральных эффектах кинуреновой кислоты, образующейся в мозге, связи её центрального синтеза с формированием когнитивных нарушений у лиц, перенесших инфаркт миокарда [8].

Учитывая высокую распространённость депрессивных расстройств у пациентов, перенесших инфаркт миокарда и в целом высокую коморбидность сердечно-сосудистых заболеваний и депрессивных расстройств [18], вопросы о влиянии таких расстройств, тесно связанных со снижением

серотонинергических функций, на результаты лечения ИБС и сердечной недостаточности и необходимости коррекции обмена триптофана и серотонина требуют более подробного изучения.

По гидроксилазному пути метаболизируется лишь небольшая часть триптофана (в основном в мозге и энтерохромаффинных клетках, а также тромбоцитах); основной же его пул (до 90%) подвергается воздействию гем-содержащих ферментов: триптофан-2,3-диоксигеназы и индоламин-2,3-диоксигеназы – мощных окислителей, осуществляющих диоксигеназное (пирролазное) расщепление триптофана до N-формилкинуруениа (пирролазный или кинуруениновый путь). Первый из указанных ферментов имеет более узкую субстратную специфичность и метаболизирует только L-триптофан и некоторые его дериваты, тогда как второй участвует в более широком круге реакций: превращает также D-триптофан, триптамин, серотонин (таким образом происходит сопряжение двух основных путей метаболизма триптофана). Дальнейшие продукты превращений триптофана по кинуруениновому пути – кинуруенин, антраниловая кислота, их 3-окси-производные, кинуруеновая кислота и в конечном счете – хинолиновая кислота и синтезируемые из неё никотинамидные коферменты. При этом кинуруенин в основном проникает в головной мозг из крови, а не синтезируется в нем, и является исходным субстратом для синтеза кинуруеновой кислоты, которая через гематоэнцефалический барьер не проникает. Описанные реакции могут запустить ряд физиологических и патологических реакций, являющихся как следствием локального снижения концентрации триптофана, серотонина, так и действием продуктов кинуруенинового метаболизма [8,13]. Так, высокий уровень кинуруенина на периферии тормозит транспорт триптофана в мозг. Установлена отрицательная прогностическая значимость высокой активности кинуруенинового пути превращений триптофана в отношении выживания после внезапной остановки сердца [8], причем в качестве наиболее значимого показателя рассматривается уровень кинуруенина в крови.

В отношении триптофана и продуктов гидроксилазного пути его превращений – серотонина и мелатонина выявлена их вовлеченность в регуляцию ряда физиологических и патологических процессов в организме человека и животных. Основная роль этих продуктов вытекает из нейромедиаторной функции серотонина в ЦНС (регуляция поведенческих реакций – сна и бодрствования, пищевого и полового поведения, восприятия боли, формирования эмоциональных реакций и аффективных расстройств, состояния тревоги и депрессии, мигрень) [12,19]. Серотонинергические механизмы регуляции функции сердца опосредованы через 5-НТ<sub>2</sub>-рецепторы, включая экспрессию последних [12]. Показан вклад деградации биогенных аминов в продукцию прооксидантов в сердце [14].

Если ранее считалось, что в сердце содержатся только парасимпатические холинергические ганглии, то последующие исследования показали, что в ганглиях сердца имеется активность тирозин-гидроксилазы, L-ДОФА-декарбоксилазы, дофамин-бета-гидроксилазы, гистидин-декарбоксилазы,

фенилэтаноламин-N-метилтрансферазы, триптофан-гидроксилазы, т.е. они имеют также собственную катехоламинергическую активность [14].

Показано, что метаболиты триптофана L-кинуренин, 3-гидроксикинуренин, ксантуруеновая и хинолиновая кислоты в концентрации  $10^{-6}$ – $10^{-3}$  моль/л вызывали брадикардию, хинолиновая и ксантуруеновая кислота в ряде случаев также кратковременную остановку сердечной деятельности. 3-гидроксиантраниловая кислота в концентрации  $10^{-5}$  и  $5 \cdot 10^{-5}$  М способствовали активации эктопических очагов (экстрасистолии и пароксизмы тахикардии), а кинуреновая кислота в концентрации  $10^{-6}$ - $10^{-3}$  моль/л не оказывала влияния на электрофизиологические процессы в миокарде. Экспериментальные данные подтверждаются и клиническими наблюдениями: повышение уровня кинуренина наблюдали при брадиформе фибрилляции предсердий, синдроме слабости синусового узла, хронических атриовентрикулярных блокадах. Коррекция промежуточного обмена триптофана и нормализация концентрации кинуренина в эксперименте сопровождалась стабилизацией также и электрофизиологического состояния миокарда [13]. Таким образом, на основании приведенных данных можно предполагать, что триптофан и метаболиты кинуренинового пути его превращений принимают участие в регуляции кардиоваскулярной системы и генезе сердечных аритмий.

До последнего времени основной областью медицинского применения триптофана была патология ЦНС. Однако, в последние годы активно развиваются исследования негормональных эффектов мелатонина, в том числе его антиоксидантной и антирадикальной активности [8]. Учитывая наличие мелатонина, а также ключевого фермента его синтеза (гидроксииндол-O-метилтрансферазы – HIOMT) [19], в тромбоцитах и возможное его участие в реакциях, ассоциированных с NO-системой, его содержание, как и содержание его предшественников и самого триптофана, может отражать состояние антиоксидантной системы при дисфункции эндотелия, тромбоцитарных факторов гемостаза. Так, установлено, что мелатонин является мощным эндогенным антиоксидантом, а также регулятором иммунной системы [8].

Окислительный стресс играет важную роль в развитии и прогрессировании атеросклероза и ИБС. Известно, что эндотелий играет главную роль в поддержании сосудистого тонуса через синтез и высвобождение оксида азота (NO), который является вазодилататором. Эндотелиальная дисфункция, связанная с нарушением эндотелийзависимой дилатации, возникает вследствие повышенной активности свободных радикалов, которые нарушают синтез оксида азота.

Все вышеперечисленное позволяет предполагать вовлечение мелатонина в патогенетические механизмы заболеваний сердца и сосудов, включая и сосудистые поражения ЦНС и возможность использования уровней продуктов гидроксилазного пути обмена триптофана, включая мелатонин, для комплексной характеристики метаболических нарушений у пациентов с ИБС, в том числе при развитии ХСН.

Хроническое воспаление, как патогенетический процесс, является ключом к коронарной болезни сердца вследствие активации атеро- и тромбогенеза [17].

Теоретическими предпосылками к возможности тестирования уровня мелатонина в крови в качестве диагностически или прогностически информативного показателя является то, что содержание мелатонина в крови является величиной, относительно независимой от функционирования как центральных мелатонинсинтезирующих структур (пинеалоциты), так и основных периферических. Концентрация мелатонина в слизистой кишечника по сравнению с кровью различается на несколько порядков, но они не коррелируют между собой [9]. Кроме этого, мРНК основного фермента синтеза мелатонина 5-гидроксииндол-О-метилтрансферазы (HIOMT) обнаружена в тромбоцитах человека [9]. Возможно, этим объясняется то, что хирургическое удаление эпифиза не сказывается на уровне мелатонина в кишечнике, а введение триптофана при этом увеличивает концентрацию мелатонина в крови [9].

Известно, что появление тревожно-депрессивных расстройств у пациентов с ИБС и ХСН даже при её стабильном течении становится неблагоприятным прогностическим фактором и часто встречается у пациентов с ХСН, повышая риск внезапной сердечной смерти [8]. Так как ингибиторы обратного захвата серотонина активно применяются при депрессивных расстройствах, представляется рациональным оценить клиническую эффективность триптофана у пациентов с ХСН при наличии у них депрессивных расстройств, эмоциональной лабильности и расстройств сна, которые являются показаниями к применению триптофана как лекарственного препарата, зарегистрированного в РФ.

С 70-х годов прошлого века триптофан используется в терапии депрессии и расстройств сна [12]. Высокая распространенность депрессии среди пациентов, перенесших инфаркт миокарда (от 16 до 60%) [11] требует дополнительных исследований механизма её развития, однако вовлечение нарушенного метаболизма триптофана [6,8,12,13] в её генез весьма вероятно.

Обращает на себя внимание наличие корреляции между нарушениями липидного обмена при атеросклерозе и ИБС, с одной стороны, и транспортом аминокислот и серотониновой трансмиссией. Так, низкие уровни общего холестерина указывают на серотонинергическую гипофункцию, поскольку холестерин улучшает стабильность мембран, влияя на серотониновую трансмиссию, рецепторные системы и транспорт аминокислот [16].

Наличие связи между показателями липидного обмена и уровнем серотониновой трансмиссии, в том числе транспорта аминокислот-предшественников (триптофана) может обосновывать использование препаратов, непосредственно влияющих на обмен липидов и холестерина, в качестве дополнительного средства метаболической коррекции при ИБС с ХСН. С другой стороны, имеются наблюдения о липидснижающем эффекте одного из метаболитов пирролазного пути превращений триптофана – 3-оксиантраниловой кислоты (описаны позитивные эффекты влияния на

липидный спектр, подавления воспаления в сосудистой стенке у животных, атеропротективный ее эффект) [16].

### **Обмен серосодержащих аминокислот и ИБС**

Метаболизм серосодержащих аминокислот тесно связан с синтезом эндогенных антиоксидантов и соединений, регулирующих редокс-состояние клетки (все соединения, содержащие SH-группы и способные образовывать дисульфиды, а также сульфиновые и сульфоновые кислоты). Кроме окислительного стресса, необходимо упомянуть о таком важном факторе риска кардиоваскулярных заболеваний как уровень общего гомоцистеина (tHcy). Установлен целый ряд неблагоприятных биологических эффектов гипергомоцистеинемии: повреждение эндотелия и эндотелиальная дисфункция [20], увеличение пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, стресс эндоплазматического ретикулума, приводящий к нарушению биосинтеза холестерина и вызывающий апоптоз эндотелиальных клеток [20], протромботическое действие. Повышение уровня гомоцистеина в плазме крови ведет к активации тромбогенных факторов тромбоцитов, стимуляции прооксидантных факторов [2].

Известно, что гомоцистеин потенцирует серотонин-индуцируемый артериоспазм дозозависимым образом, причём, мелатонин значительно и тоже дозозависимо подавляет эффект гомоцистеина. При синтезе мелатонина донором метильной группы выступает S-аденозилметионин, что определяет значимость состояния цикла трансметилирования [2], в частности, для синтеза мелатонина и рациональность одновременного учета уровня гомоцистеина и показателей, характеризующих гидроксизлазный путь обмена триптофана.

Секреция мелатонина во многом зависит от обеспеченности организма фолатом. Гипергомоцистеинемия, которая сопровождает это состояние, сама по себе является прогностическим фактором прогрессирования ИБС.

Следует отметить, что остается слабо изученным вопрос о механизмах формирования тканевого пула гомоцистеина. Представление о печени как основном источнике гомоцистеина крови не подтверждается более низким его уровнем в ткани печени, чем в плазме крови и отсутствием корреляции этих показателей в эксперименте [3], причём уровни гомоцистеина и в других исследованных тканях также были существенно ниже, чем в плазме крови.

В последние годы интенсивно рассматриваются подходы к первичной и вторичной профилактики ИБС на основании коррекции гипергомоцистеинемии как фактора риска ИБС и других способов метаболической терапии.

Неблагоприятные эффекты гипергомоцистеинемии связывают с его потенциальной эндотелиотоксичностью, снижением биодоступности оксида азота, протромбогенностью, активацией оксидантного стресса и провоспалительных факторов, окислением липопротеидов низкой плотности, повышением пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, и, как следствие, развитием атеросклеротического процесса [2].

Высокий уровень таурина в сердечной мышце, наличие у него мембранстабилизирующих и антиоксидантных свойств, а также известные

эффекты «тотального антагониста кальция» делают актуальной комплексную оценку пула свободных серосодержащих аминокислот с учетом уровня этого соединения [29]. Однако, следует учитывать, что мощными антирадикальными эффектами обладает и его непосредственный предшественник гипотаурин, который известен как эффективный скэвенджер синглетного кислорода, в отличие от таурина, протективное действие которого в большей степени опосредовано ферментативным звеном антиоксидантной защиты [10]. Обнаружено также повышение уровня гипотаурина при экспериментальной гипергомоцистеинемии [15].

Наиболее разработанная в настоящее время теория патогенеза ИБС и ХСН недостаточно учитывает то, что обмен серосодержащих аминокислот, в частности, S-аденозилметионинзависимые реакции метилирования, также сопряжен с превращениями пуринов и пуринергическими механизмами регуляции [7]. В этих механизмах ведущая роль принадлежит аденозину [7], являющемуся продуктом трансметилирования широкого круга субстратов, включая ДНК, мембранные липиды, нейромедиаторы и способному индуцировать апоптоз эндотелиальных клеток. В то же время синтез аденозина эндотелиальными клетками может отражать уровень трансметилирования, в том числе метилирования ДНК, а уровень его предшественника – S-аденозилгомоцистеина – отражать метилирование аргининовых остатков в составе белков [7]. Это делает актуальным также оценку уровней пуринов (аденозина и инозина) для комплексной оценки состояния пула серосодержащих соединений.

### **Заключение**

Таким образом, заболевания сердца и сосудов, в первую очередь – ИБС, сопровождающаяся развитием недостаточности кровообращения, сопровождаются рядом сдвигов в показателях пула свободных аминокислот и родственных им соединений, среди которых ведущая роль принадлежит серосодержащим и метаболически связанным с ними аминокислотам, участвующим в механизмах ответа на окислительный стресс: гомоцистеин, цистатионин, таурин и его предшественники, в том числе гипотаурин, а также глутатион. Через реакции трансметилирования многочисленных субстратов обмен серосодержащих аминокислот связан также с превращениями сигнальных молекул, в том числе пуринов, а также производных триптофана. Оба основных пути превращений триптофана – гидроксилазный и пирролазный – вовлечены в механизмы повреждения при ишемии миокарда и недостаточности кровообращения. При этом наиболее вероятны центральные механизмы эффектов метаболитов триптофана в регуляции кровообращения, которые связаны со снижением серотонинергических функций и накоплением кинуренина.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. 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.

2. Наумов, А. В. Гомоцистеин. Медико-биологические проблемы / А.В. Наумов. – Минск: Профессиональные издания, 2013. – 312 с.

3. Новогородская, Я. И. Эффекты гипергомоцистеинемии на показатели пула низкомолекулярных серосодержащих соединений в печени крыс / Я. И. Новогородская, Е. М. Дорошенко, М. Н. Курбат // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2020. – Т. 19, № 2. – С. 11–16.

4. Смирнов, В.Ю. Пулы свободных аминокислот крови, периферических тканей и головного мозга при хронической интоксикации у крыс / В.Ю. Смирнов, Ю.Е. Разводовский, Е.М. Дорошенко // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2014. – № 4 (48). – С. 70–74.

5. Шейбак, В.М. Биологическая роль таурина в организме млекопитающих. / В.М. Шейбак, Л.Н. Шейбак // Медицинские новости. – 2005. – №10. – С. 15–18.

6. Bozkurt, B. Use of biomarkers in the management of heart failure / B. Bozkurt, D. Mann // Circulation. - 2003. - Vol. 107. - P.1231-1233

7. Deussen, A. Features of adenosine metabolism of mouse heart / A. Deussen, J. Weichsel, A. Pexa // Purinergic Signalling. – 2006. – V. 2. – P. 663–668.

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. Huether, G. The contribution of extrapineal sites of melatonin synthesis to circulating melatonin levels in higher vertebrates. / G. Huether // Experientia. – V. 1993. – V. 49, N. 8. – P. 665–670.

10. Hypotaurine protection on cell damage by singlet oxygen / G Pitari, [et al] // Adv. Exp. Med. Biol. – 2000. – V. 483. – P. 157-62. – doi: 10.1007/0-306-46838-7\_16

11. Prevalence of depression in survivors of acute myocardial infarction. Review of the Evidence / Brett D. Thombs [et al.] // J. Gen. Intern. Med. – 2006. – Vol. 21, №1.– P.30–38.

12. Role of serotonin 5-HT<sub>2A</sub> 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.

13. Rudzit, V.K. Participation of kynurenine and its derivatives in disorders of the cardiac rhythm / V.K. Rudzit, G.O. Silenietse, I.B. Irgenson // Biull. Eksp. Biol. Med. – 1986. – Vol. 102, № 12. – P. 719-721.

14. Singh, S. Monoamine- and histamine-synthesizing enzymes and neurotransmitters within neurons of adult human cardiac ganglia / S. Singh [et al.] // Circulation. – 1999. – Vol. 99, № 3. – P. 411-419.

15. Stipanuk, M. H. Metabolism of sulfur-containing amino acids: how the body copes with excess methionine, cysteine, and sulfide / M. H. Stipanuk // The Journal of Nutrition. – 2020. – Vol. 150. – P. 2494S–2505S.

16. The tryptophan metabolite 3-hydroxyanthranilic acid lowers plasma lipids and decreases atherosclerosis in hypercholesterolaemic mice / L. Zhang [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2012. – Vol. 33, № 3. – P. 2025-2034.
17. Tiong, A.Y. Inflammation and coronary artery disease. / A.Y. Tiong, D. Brieger // *Am Heart J.* –2005. – V. 150. – P.11–18.
18. 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. – Vol. 60, № 5. – P. 507-514.
19. Zavodnik, I.B. Melatonin directly scavenges free radicals generated in red blood cells and a cell-free system: chemiluminescence measurements and theoretical calculations / I.B. Zavodnik, A.V. Domanski, E.A. Lapshina, [et al.] // *Life Sci.* – 2006.– V. 79, N. 4. – P. 391-400.
20. Zhang, C. Homocysteine induces programmed cell death in human vascular endothelial cell throw activation of the unfolded protein response / C. Zhang [et al.] // *J. Biol. Chem.* –2001. – Vol.276. – P. 35867–35874.

**НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ  
И МОРФОЛОГИИ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИТОХОНДРИЙ  
КАРДИОМИОЦИТОВ КРЫС В ПРИСУТСТВИИ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ.  
ПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ФЛАВОНОИДА НАРИНГИНА**

**Заводник И.Б.<sup>1</sup>, Коваленя Т.А.<sup>1</sup>, Ильич Т.В.<sup>1</sup>,  
Кравчук Р.И.<sup>2</sup>, Островская О.Б.<sup>2</sup>, Климович И.И.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> УО «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы»

<sup>2</sup> УО «Гродненский государственный медицинский университет»,

*г. Гродно, Республика Беларусь*

**Актуальность.** Ионы  $\text{Ca}^{2+}$  представляют важнейший класс вторичных мессенджеров и участвуют в регуляции основных клеточных процессов. Нарушения гомеостаза ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в кардиомиоцитах приводят к изменениям митохондриального и клеточного метаболизма, передачи сигналов и частоты сокращений в сердечной мышце. Митохондрии кардиомиоцитов обеспечивают производство энергии в сердце и регулируют потоки ионов  $\text{Ca}^{2+}$ . Нарушения способности клеток сердца генерировать энергию или использовать энергетические субстраты и кислород приводят к дисфункциям миокарда и сердечно-сосудистым заболеваниям [16].

Недавно было показано, что митохондрии функционируют как интегрированная сеть, перемещаются вдоль микротрубочек внутри клеток и изменяют свою морфологию путем слияния и деления. Эти процессы контролируются  $[\text{Ca}^{2+}]_m$  и митохондриальной ГТФазой, которая выступает как  $\text{Ca}^{2+}$ -сенсор [5]. Следует отметить, что в возбудимых клетках митохондрии локализуются вблизи потенциал-управляемых  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов плазматической мембраны и регулируют осцилляции концентраций поступающего  $\text{Ca}^{2+}$  [15]. Скорость поглощения ионов  $\text{Ca}^{2+}$  митохондриями из цитоплазмы зависит от активности высокоселективного  $\text{Ca}^{2+}$  канала, ингибируемого рутением красным

(RuR) и известного как митохондриальный  $\text{Ca}^{2+}$  унипортер (MCU). MCU обеспечивает быстрый и массивный ввод ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондрии [9].

Митохондрии занимают примерно 33% клеточного объема в каждом миоците желудочков сердца [2]. Это самая большая объемная доля митохондрий, обнаруженная в клетках млекопитающих. Постоянный уровень митохондриального  $\text{Ca}^{2+}$  ( $[\text{Ca}^{2+}]_m$ ) является ключевым регулятором энергетического метаболизма миокарда.  $\text{Ca}^{2+}$  играет важную роль в передаче сигналов между клетками, определяет продукцию NADH и  $\text{FADH}_2$ , потребление  $\text{O}_2$ , генерацию протон-движущей силы и продукцию АТФ за счет активации нескольких переносчиков митохондриальных субстратов и дегидрогеназ в миоцитах [16]. Нарушение регуляции гомеостаза  $\text{Ca}^{2+}$ , нарушение цикла  $[\text{Ca}^{2+}]_m$  и дисбаланс митохондриальной сети приводят к нарушению клеточного метаболизма и передачи сигналов и являются причиной многочисленных заболеваний: инсульта, сердечной недостаточности, нейродегенерации, диабета и рака [3].

Поглощение ионов кальция митохондриями из цитоплазмы кардиомиоцитов контролирует возбуждение-сокращение сердца (сердечное сокращение активируется временным повышением  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ). Индукция митохондриальной поры высокой проницаемости (MPTP) при нагрузке ионами  $\text{Ca}^{2+}$  может спровоцировать потерю потенциала митохондриальной мембраной и последующую потерю митохондриального  $\text{Ca}^{2+}$ . Это временное открытие MPTP вызывает высвобождение  $\text{Ca}^{2+}$  из саркоплазматического ретикулума, локальное вызывает изменение концентрации  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  и активацию генерации активных форм кислорода в кардиомиоцитах [6].

Недавно было высказано предположение, что взаимосвязь между митохондриальным/цитозольным циклом  $\text{Ca}^{2+}$ , образованием активных форм кислорода (АФК) и формированием MPTP имеет большое значение для реперфузионно-индуцированного повреждения кардиомиоцитов и гиперконтрактуры сердечной мышцы. При этом показано, что образование митохондриальных АФК является результатом, а не причиной открытия MPTP [1]. Повышение концентрации внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  зависит либо от притока ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из внеклеточного пространства через плазматическую мембрану, либо от высвобождения  $\text{Ca}^{2+}$  из внутриклеточных запасов, таких как эндоплазматический/саркоплазматический ретикулум (ER/SR) и митохондрии. В клетке существуют зоны тесного контакта между ER и митохондриями, называемые МАМ (Mitochondria Associated Membranes), которые имеют решающее значение для обеспечения взаимосвязи между двумя органеллами и передачи физиологических и патологических сигналов  $\text{Ca}^{2+}$  от ER к митохондриям [12].

Митохондриальная дисфункция приводит к структурным и функциональным повреждениям кардиомиоцитов и прогрессированию сердечной патологии. Избирательную деградацию и удаление поврежденных митохондрий обеспечивает механизм аутофагии. Эффективная фармакологическая терапия сердечной недостаточности, включая применение бета-блокаторов, ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента и

антагонистов минералокортикоидных рецепторов, по-видимому, приводит к предотвращению митохондриальной дисфункции, регуляции кальциевого гомеостаза кардиомиоцитов и препятствует избыточному образованию митохондриальных АФК [10].

Биологически активные природные полифенолы, в том числе флавоноиды, обладают высоким антиоксидантным, противовоспалительным и кардиопротекторным потенциалом. Механизмы их биохимической и фармакологической активности представляют большой интерес. Ранее Rajadurai и Prince продемонстрировали, что флавоноид гликозид нарингин предотвращает развитие митохондриальной дисфункции в кардиомиоцитах и изменения активности митохондриальных ферментов при индуцированном изопротеренолом инфаркте миокарда у крыс линии Wistar [13]. В наших предыдущих экспериментах мы показали, что в митохондриях печени крыс флавоноиды нарингенин, катехин и нарингин стимулируют индуцированный кальцием процесс образования МРТР и предположили, что действие флавоноидов опосредовано стимуляцией  $\text{Ca}^{2+}$  унипортера [19].

**Цель** настоящей работы состояла в том, чтобы выяснить механизм(ы) регуляции ультраструктуры и функционального состояния митохондрий сердца крыс ионами кальция и возможность коррекции  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированных изменений митохондрий сердца полифенолом нарингином (флаванон-7-О-гликозидом), входящим в рацион человека и представленным в цитрусовых.

### **Материалы и методы исследования**

#### *Реактивы*

Хлорид кальция дегидрат, сукцинат натрия, сахароза, ЭГТА, FCCP, бычий сывороточный альбумин (BSA), ЭДТА, NEMES, эпоксидная смола Araldite 506, АДФ, циклоспорин А (CsA), цитрат свинца, уранилацетат, рутениевый красный (RuR), нарингин (нарингенин-7-рамнозидоглюкозид), этанол и другие химические вещества были получены от Merck/Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA, или Steinheim am Albuch, Германия), четырехокись осмия, пригодная для электронной микроскопии, была получена от Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Германия. Все растворы готовили на воде, очищенной в системе Milli-Q Direct (Merck KGaA, Darmstadt, Германия).

*Концентрация свободного кальция.* Чтобы определить эффекты ионов кальция на состояние митохондрий в присутствии ЭГТА, определяли концентрацию свободного  $\text{Ca}^{2+}$  для заданной общей концентрации внесенного  $[\text{Ca}^{2+}]$  с использованием онлайн-калькулятора Ca-EGTA [4].

*Выделение митохондрий сердца крысы.* В эксперименте использовали самцов крыс линии Wistar (200-230 г). Уход, применение и все проводимые процедуры одобрены Этическим комитетом Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (протокол № 29/20 от 23.05.2020) и соответствуют Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, и Руководству по уходу и использованию лабораторных животных. Митохондрии кардиомиоцитов выделяли методом дифференциального центрифугирования [8]. Использовали среду выделения, содержащую 0,25 М сахарозу, 0,025 М

Трис-НСl, 0,00005 М ЭДТА и 0,1% БСА, рН 7,4. Изолированное сердце быстро переносили в охлажденный 0,9% раствор КСl (+4 °С) и тщательно отмывали от крови. Мышечную ткань взвешивали, измельчали ножницами на льду и гомогенизировали с помощью стеклянного гомогенизатора с тефлоновым пестиком в среде выделения при +4°С. Ядерную фракцию удаляли центрифугированием при 650 g (10 мин, 4 °С) (центрифуга Hermle Z 32 НК, Hermle Labortechnik GmbH, Германия). Митохондрии осаждали центрифугированием при 11 000 g (10 мин, +4 °С) и дважды промывали в среде выделения. Осадок митохондрий ресуспендировали до концентрации белка 25-30 мг/мл в среде выделения. Концентрацию белка в митохондриях миокарда определяли по методу Lowry et al.

*Электронная микроскопия изолированных митохондрий сердца крысы.* На митохондрии сердца крыс (5 мг/мл) воздействовали ионами  $\text{Ca}^{2+}$  (концентрация свободного  $\text{Ca}^{2+}$  = 550 мкМ), флавоноидом нарингином (200 мкМ), и ионами  $\text{Ca}^{2+}$  (550 мкМ) + флавоноидом нарингином (200 мкМ) в среде, содержащей 0,25 М сахарозы, 0,025 М Трис-НСl и 0,00005 М ЭДТА, рН 7,4, в течение 30 мин (25°С) *in vitro*. После воздействия кальция и флавоноида суспензии митохондрий центрифугировали при 10 000 g, +4°С, в течение 20 мин. Осадок митохондрий фиксировали в двух порциях 1% раствора четырехоксида осмия в 0,1 М буфере Миллонига, рН 7,4, при +4 °С в течение 2 часов [11].

После дегидратации в спиртах восходящей концентрации и ацетоне образцы заключали в смесь Аралдит-эпоксид. Ультратонкие срезы (35 нм) изготавливали на ультрамикротоме Leica EM VC7 (Германия), контрастировали солями тяжелых металлов [14] и анализировали на электронном микроскопе JEM-1011 (Japanese Electron Optics Laboratory Ltd., Япония) при увеличениях 5 000-40 000 и ускоряющем напряжении 80 киловольт.

Изображения получали с помощью цифровой камеры Olympus Mega View III (Olympus Corporation, Германия) и анализировали с помощью пакета программ обработки изображений iTEM (версия 5.0, сборка 1224, Olympus Corporation, Германия), имеющего ряд стандартных встроенных алгоритмов морфометрии. По цифровым изображениям определяли ультраструктурные параметры, характеризующие размер и форму органелл. Морфометрические параметры оценивали при 25 000-кратном увеличении микроскопа на 10 репрезентативных протестированных участках (полях зрения). При таком увеличении исследовали от 250 до 500 митохондриальных профилей. В каждой группе использовали по 5 животных.

Для оценки ультраструктурных изменений митохондрий использовали такие морфометрические параметры, как фактор элонгации, фактор формы и соотношение сторон.

*Определение набухания митохондрий.*  $\text{Ca}^{2+}$  (или нарингин)-индуцированное набухание митохондрий сердца измеряли, как описано нами ранее [7]. Степень образования поры высокой проницаемости митохондрий (МРТР) определяли по изменению оптической плотности суспензии митохондрий при 540 нм и 30 °С в среде, содержащей 0,12 М КСl, 0,02 М Трис-

НС1, 0,002 М КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub> и 0,0005 (или 0,00005) М ЭГТА, рН 7,4. Изолированные митохондрии сердца (0,5 мг белка/мл) вносили в среду, содержащую субстрат (5 мМ сукцинат). Через 5 мин инкубации добавляли ионы Са<sup>2+</sup> или флавоноид нарингин и измеряли скорость ( $\Delta D^{540}/\text{мин}$ ) терминальной фазы набухания. По окончании измерений в митохондрии вносили разобщитель FCCP (0,5 мкМ) для контроля завершения процесса образования МРТР.

*Статистика.* Данные измерений, полученные в 5-7 повторениях, анализировали используя статистический пакет Statistica 10.0 и представляли в виде медианы (Me) и межквартильного интервала [Q1; Q3]. Нормальность распределения оценивали по критерию Шапиро-Уилка. Достоверность различий между параметрами анализировали с помощью U-критерия Манна-Уитни и H-критерия Краскела-Уоллиса. Уровень значимости считался  $p < 0,05$ .

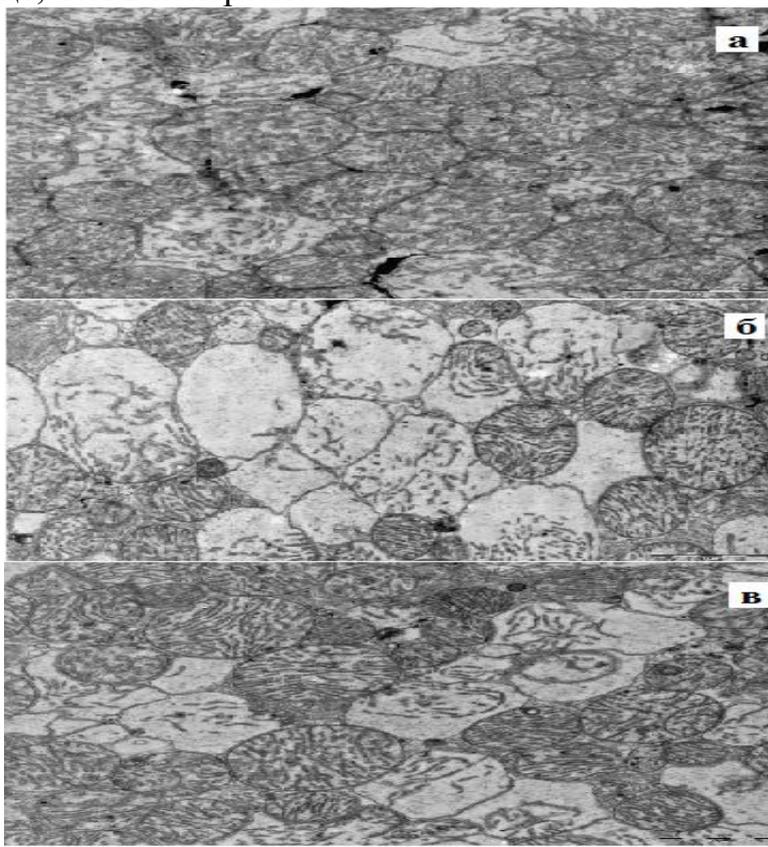
### **Результаты и обсуждение**

Электронно-микроскопическое исследование эффектов ионов экзогенного Са<sup>2+</sup> на ультраструктуру митохондрий сердца. Ультраструктура митохондрий, выделенных из кардиомиоцитов 3-месячных крыс линии Wistar, представлена на рис. 1. Чистота митохондриальной фракции исследованных образцов составила 90-95%. В большинстве случаев примеси были в виде мелких фрагментов миофибрилл, отдельных лизосом и гранул липофусцина. Большинство контрольных митохондрий имели округлую форму и отличались различными размерами (рис. 1а). Множественные, плотно упакованные кристы занимали всю площадь среза митохондрии, а матрикс имел умеренную электронную плотность. Часть митохондрий имела определенные ультраструктурные изменения. Эти органеллы в целом отличались неправильной формой, светлым матриксом и большими размерами по сравнению с остальными митохондриями. Следует отметить, что в контрольных образцах присутствовали только отдельные митохондрии с выраженными повреждениями.

а) контрольные митохондрии сердца, б) Са<sup>2+</sup>-индуцированные морфологические преобразования митохондрий сердца *in vitro* (Са<sup>2+</sup> 550 мкМ), в) митохондрии сердца, подвергшиеся воздействию ионов Са<sup>2+</sup> (550 мкМ) в присутствии нарингина (200 мкМ). х 40 000. Шкалы равны 1,0 мкм.

После воздействия ионов Са<sup>2+</sup> в концентрации 550 мкМ мы наблюдали появление митохондрий, неоднородных по размерам и электронной плотности. Было выявлено значительное число набухших органелл с электронно-светлым матриксом, увеличенного размера, неправильной формы и нарушенной нативной структурой внутренней мембраны митохондрий (рис. 1б). На фоне набухшего матрикса в митохондриях формировались участки, полностью лишенные крист, увеличивались межкристные промежутки, кристы теряли контакты с мембраной, располагались неравномерно и часто агрегировали по периферии (рис. 1б). В этой ситуации митохондрии, площадь крист которых составляла более половины общей площади поверхности среза, относили к органеллам с умеренно нарушенным строением, а митохондрии, площадь крист которых составляла менее половины общей площади секции, классифицировали как органеллы с существенно нарушенным строением.

Митохондрии с умеренно и существенно нарушенной структурой встречались значительно чаще, чем в контроле.



**Рисунок 1- Электронные микрофотографии изолированных митохондрий сердца крысы**

Воздействие на митохондрии сердца флавоноида нарингина (200 мкМ) вызывало видимые изменения в ультраструктуре органелл (данные не представлены). При воздействии на митохондрии ионов  $Ca^{2+}$  (550 мкМ свободного  $Ca^{2+}$ ) в присутствии нарингина (200 мкМ) мы наблюдали эффективную защиту митохондрий при ультраструктурных нарушениях (рис. 1в). В образцах митохондрий этой группы выявлено большее количество органелл с сохраненной структурой по сравнению с группой, подвергшейся воздействию  $Ca^{2+}$  без коррекции нарингином. Большинство органелл характеризовалось округлой формой, как и в случае контрольных митохондрий, имели матрикс умеренной электронной плотности и отчетливые кристы.

Эффект нарингина на респираторную активность митохондрий сердца крыс *in vitro* в присутствии ионов  $Ca^{2+}$ . На следующем этапе нашего эксперимента *in vitro* мы оценили эффекты ионов  $Ca^{2+}$  и флавоноида нарингина на параметры митохондриального дыхания. Мы изучили модулирующие эффекты флавоноида нарингина, широко распространенного в рационе человека, на параметры дыхания изолированных митохондрий сердца крысы в отсутствие или в присутствии ионов кальция (свободный  $Ca^{2+}$  240 нМ) *in vitro*. В отсутствие или в присутствии ионов  $Ca^{2+}$  нарингин (10-75 мкМ) дозозависимо снижал скорость АДФ-стимулированного потребления кислорода

V3 в митохондриях, а также уменьшал коэффициент RCR ( $V4/V3$ ), но не влиял на коэффициент ADP/O.

Индукционное ионами  $Ca^{2+}$  и нарингином *in vitro* формирование пор высокой проницаемости митохондрий сердца и деполяризация мембраны. Далее мы оценили эффекты ионов  $Ca^{2+}$  и полифенола нарингина на процесс формирования МРТР и мембранный потенциал митохондрий кардиомиоцитов, энергизованных сукцинатом.

Полифенольный эффектор нарингин (50-75 мкМ) также индуцировал набухание митохондрий в отсутствие ионов кальция (данные не представлены), но ингибировал индуцированное кальцием образование МРТР при более высоких концентрациях (75 мкМ).  $Ca^{2+}$  (свободный  $Ca^{2+}$  100-550 мкМ) индуцировал эффективную диссипацию потенциала митохондриальной мембраны в средах, содержащих ЭГТА. В то же время воздействие нарингина (75 мкМ) на митохондрии сердца приводило к диссипации мембранного потенциала в отсутствие  $Ca^{2+}$  (данные не представлены).

**Выводы.** Наши результаты указывают, что высокие концентрации ионов экзогенного  $Ca^{2+}$  (концентрация свободного  $Ca^{2+}$  составляла 550 мкМ) вызывали значительное возрастание гетерогенности митохондрий сердца крысы по размерам и электронной плотности за счет появления набухших органелл с электронно-светлым матриксом, большего размера, неправильной формы, с увеличенными межкристинными промежутками и нарушенной нативной структурой внутренней мембраны. Индуцированные ионами кальция ультраструктурные нарушения митохондрий сердца крыс связаны с  $Ca^{2+}$ -зависимым открытием митохондриальных пор высокой проницаемости и деполяризацией мембраны, что наблюдали при концентрациях свободного  $Ca^{2+}$  от 150 до 750 мкМ. По сравнению с митохондриями печени чувствительность митохондрий сердца крыс к действию ионов  $Ca^{2+}$  значительно ниже в случае открытия митохондриальных пор высокой проницаемости и значительно выше в случае ингибирования респираторной активности.

Гликозид нарингин (200 мкМ) также изменял морфометрические параметры митохондрий сердца крыс, но предотвращал индуцированные ионами  $Ca^{2+}$  нарушения ультраструктуры митохондрий. Флавоноид нарингин дозозависимо (10-75 мкМ) ингибировал респираторную активность митохондрий сердца крыс, уменьшая скорость АДФ-зависимого потребления кислорода V3 и коэффициент дыхательного контроля без изменения коэффициенты фосфорилирования в отсутствие и в присутствии ионов  $Ca^{2+}$ , увеличивал среднюю площадь сечения и периметр митохондрий сердца (200 мкМ), стимулировал набухание митохондрий и потерю мембранного потенциала (25-75 мкМ) в отсутствие  $Ca^{2+}$ , но ингибировал стимулированное ионами  $Ca^{2+}$  открытие митохондриальных пор высокой проницаемости (75 мкМ). Эти разнонаправленные эффекты можно объяснить прямым взаимодействием нарингина с изолированными митохондриями, его протонофорными / ионофорными свойствами и образованием стабильных металлокомплексов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Interplay between  $\text{Ca}^{2+}$  cycling and mitochondrial permeability transition pores promotes reperfusion-induced injury of cardiac myocytes / Y. Abdallah [et al.] // *J. Cell. Mol. Med.* – 2011. – Vol. 15, iss. 11. – P. 2478–2485.
2. Bers, D. M. Excitation-contraction coupling and cardiac contractile force / D. M. Bers. – Springer: Dordrecht, 2001. – XXIV, 427 p.
3. Carafoli, E. Calcium signaling: a tale for all seasons / E. Carafoli // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2002. – Vol. 99, iss. 3. – P. 1115–1122.
4. EGTA [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://pcwww.liv.ac.uk/~petesmif/petesmif/software/\\_webware06/EGTA/EGTA.htm](https://pcwww.liv.ac.uk/~petesmif/petesmif/software/_webware06/EGTA/EGTA.htm). – Дата доступа: 25.03.2023.
5. Miro1 functions as an inhibitory regulator of MFN at elevated mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$  levels / F. F. Fatiga [et al.] // *J. Cell. Biochem.* – 2021. – Vol. 122, iss. 12. – P. 1848–1862.
6. Calcium Signaling in Cardiomyocyte Function / G. Gilbert [et al.] // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* – 2020. – Vol. 12. – P. a035428.
7. Calcium-induced mitochondrial permeability transitions: parameters of  $\text{Ca}^{2+}$  ion interactions with mitochondria and effects of oxidative agents / N. G. Golovach [et al.] // *J. Membr. Biol.* – 2017. – Vol. 250. – P. 225–236.
8. Gostimskaya, I. Preparation of highly coupled rat heart mitochondria / I. Gostimskaya, A. Galkin // *J. Vis. Exp.* – 2010. – Iss. 23. – P. 2202.
9. The mitochondrial calcium uniporter is a highly selective ion channel / Y. Kirichok [et al.] // *Nature.* – 2004. – Vol. 427, iss. 6972. – P. 360–364.
10. Heart failure and mitochondrial dysfunction: the role of mitochondrial fission/fusion abnormalities and new therapeutic strategies / A. A. Knowlton [et al.] // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2014. – Vol. 63, iss. 3. – P. 196–206.
11. Millonig, G. A. Advantages of a phosphate buffer for osmium tetroxide solutions in fixation / G. A. Millonig // *J. Appl. Physics.* – 1961. – Vol. 32. – P. 1637–1643.
12. Calcium signaling around mitochondria associated membranes (MAMs) / S. Patergnani [et al.] *Cell Commun. Signal.* – 2011. – Vol. 9. – P. 19.
13. Rajadurai, M. Preventive effect of naringin on cardiac mitochondrial enzymes during isoproterenol-induced myocardial infarction in rats: a transmission electron microscopic study / M. Rajadurai, P. S. M. Prince // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* – 2007. – Vol. 21, iss. 6. – P. 354–631.
14. Reynolds, E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy / E. S. Reynolds // *J. Cell. Biol.* – 1963. – Vol. 17, iss. 1. – P. 208–212.
15. Santo-Domingo, J. Calcium uptake mechanisms of mitochondria / J. Santo-Domingo, N. Demarex // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2010. – Vol. 1797, iss. 6–7. – P. 907–912.
16. Mitochondrial calcium and the regulation of metabolism in the heart / G. S. B. Williams [et al.] // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 2015. – Vol. 78. – P. 35–45.

17. Structural and functional changes in rat liver mitochondria under calcium ion loading in the absence and presence of flavonoids / I. B. Zavodnik [et al.] // Biomed. Khim. – 2022. – Vol. 68, iss. 4. – P. 237–249.

## МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГИПОДИНАМИИ

Мамедова А. Е., Лелевич В. В.

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

**Введение.** Мышечная работа является универсальной формой деятельности, без которой невозможна жизнь человека. Длительное ограничение двигательной активности – гиподинамия – является фактором, существенно осложняющим течение основного патологического процесса, сопровождается стрессовой реакцией и соответствующими сдвигами метаболизма [6]. Зачастую это приводит к поломке компенсаторно-приспособительных механизмов с развитием комплекса патологических проявлений. Глобализация, урбанизация, автоматизация и механизация труда, информатизация общества и увеличение роли средств коммуникации – эти и многие другие процессы не только облегчают жизнь и существование человека, но и не требуют от него практически никакой подвижности, что является огромным минусом для человеческого организма [1]. Кроме того, с гиподинамией приходится сталкиваться при постельном режиме (на фоне различных заболеваний), что сопровождается уменьшением действия на организм силы земного тяготения, поэтому в данном случае энергозатраты человека в постели будут на 20-35% ниже, чем при вертикальном положении [11].

При снижении двигательной активности происходит уменьшение нагрузки на мышечный аппарат, что приводит к изменениям функциональных и морфологических свойств тканей вплоть до патологических состояний в зависимости от продолжительности и степени гиподинамии [7]. Таким образом, она является прямой либо косвенной причиной целого ряда патологических состояний. Например, согласно Британской кардиологической организации, гиподинамия на 40% увеличивает риск развития артериальной гипертензии, а также в три раза повышает смертность от сердечно-сосудистых заболеваний и инфаркта; под действием гиподинамии в составе микрофлоры кишечника начинают доминировать формы, повышающие септические процессы, которые поэтапно приводят к аутоинтоксикации организма, что, в свою очередь играет важную роль в формировании атеросклероза [8].

Исследования гипокинезии как стресс-фактора начались в 60-70-е годы XX века в связи с активным развитием космической биологии, а экспериментальные работы 80-90-ых годов прошлого века характеризовались изучением адаптационных изменений на различных уровнях организации биологических систем [12]. На сегодняшний день в литературных источниках имеется терминологическая путаница касательно использования терминов

«гипокинезия» и «гиподинамия». Гипокинезия – это длительное уменьшение объема движений с преимущественным снижением движений в крупных суставах [11; 14]. При этом имеет место резкое уменьшение локомоторных актов и длительное снижение двигательной активности. Термин «гиподинамия» используется для характеристики снижения силы мышечных сокращений, снижения их напряжения, тонуса и уменьшения всего комплекса длительного напряжения мышечной системы как во время работы, так и при стационарных актах, например, при снятии тонуса позной мускулатуры при нахождении в постели или при невесомости [15]. Как правило, гипокинезия почти всегда сочетается с гиподинамией, поэтому эти термины часто используются как взаимозаменяемые [8; 11]. Для удобства авторы в данном обзоре будут использовать термин «гиподинамия».

Уменьшение двигательной активности в первую очередь воздействует на мышцы скелета, что приводит к понижению силы мышц, сокращению объема движений в суставах, ослаблению двигательных навыков и регрессии координации движений [8]. В эксперименте на крысах и при обследовании добровольцев показано, что опорная разгрузка является одной из причин атрофии волокон скелетных мышц: на 7-е сутки эксперимента снижение площади поперечного сечения мышечных волокон достигало 17,3% для «медленного» и 15,2% для «быстрого» типов волокон [5]. Вместе с тем отмечается, что длительная гиподинамия (до 1 года) приводит к снижению массы мышц на 60% и средней площади поперечного сечения мышечных волокон на 75%; на 37% уменьшается отношение числа капилляров к числу мышечных волокон; наблюдается потеря саркомеров, изменение длины мышечных волокон и апоневроза.

В связи со значительным уменьшением нагрузки на мышцы, с первых дней иммобилизации (уже на 3-е сутки) наблюдаются изменения в белковом обмене за счет активации распада мышечных белков и снижения их синтеза: происходит уменьшение включения меченных аминокислот в мышечные белки на 48-58% [11]. Усиленный катаболизм мышечных белков ведет к повышению уровня свободных аминокислот в плазме крови [15]. К 35-м суткам в плазме крови наблюдается повышение концентраций лизина, гистидина, аспартата, валина и тирозина [11]. В период с 45-х по 60-е сутки иммобилизации общая сумма свободных аминокислот в мышцах снижается на 16% и особенно снижены концентрации фенилаланина и глутамата [11; 15]. В целом, через 60 суток гиподинамией выраженность дисбаланса между процессами синтеза и распада белка несколько снижается и обмен устанавливается на новом, пониженном уровне [11]. При гиподинамией не только в скелетных мышцах, но и в почках, печени, селезенке и сердце процессы деструкции белков тканей доминируют над синтезом [8]. Повышение уровня свободных аминокислот в плазме крови сопровождается усиленным их выведением с мочой: потери азота организмом испытуемых при максимальных значениях азотистого баланса составляют около 2-3 г/сутки, что соответствует распаду за 10 дней до 1 кг мышечной ткани [15].

Изучение статуса факторов, участвующих в регуляции мышечной массы, показало, что при гипогравитации происходят реципрокные изменения экспрессии миостатина (негативный регулятор) и IGF-II (инсулиноподобного фактора роста-II) (позитивный регулятор), причем возрастает содержание мРНК для миостатина и снижается – для IGF-II [13].

Длительная гиподинамия вызывает существенные изменения в функционировании миокарда: снижается сила сердечных сокращений, наблюдается изменение сократительной функции миокарда, уменьшается масса сердца, обнаруживаются дегенеративные изменения: отдельные участки мышечной ткани перерождаются в соединительную ткань [7]. Анализ тканей желудочков сердца показал, что 3-х суточная гиподинамия вызывает увеличение содержания универсального регулятора физиологических систем и экспрессии генов оксида азота (NO) на 59%, 7-суточная – на 95%, 10-суточная – на 112%, 30-суточная на 148,8%, 60-суточная – на 56,3%, а 90-суточная – на 77,6% [7; 9]. Увеличенная продукция NO ограничивает стресс-реакцию, а также повышает резистентность организма при гиподинамии.

Под влиянием обездвиживания на фоне повышенного диуреза увеличивается выведение с мочой мочевины, мочевой кислоты, креатинина и креатина [6; 10]. Это происходит при неизменном или уменьшенном поступлении азотистых компонентов пищи, что вызывает развитие стойкого отрицательного азотистого баланса. Главной причиной увеличения диуреза считается накопление продуктов белкового обмена [15]. Чтобы освободить организм от избытка мочевины, креатинина, креатина, мочевой кислоты и аминокислот, необходимо определенное количество воды для их растворения, что и ведет к повышению мочеотделения.

В то же время отмечены нарушения скорости обмена нуклеиновых кислот, изменение их нуклеотидного состава и соотношения белков и нуклеиновых кислот в составе нуклеопротеинов [10]. В условиях микрогравитации происходит снижение активности генов, контролируемых специфическим онкогенным фактором 2С (MEF2С), в том числе генов альдолазы и анкирина [13]. Данный фактор, по мнению авторов исследования, можно рассматривать как один из ключевых транскрипционных факторов, вовлеченных в регуляцию как атрофии, так и регенерации мышц при микрогравитации.

Для синтеза белков необходимы гормоны роста, инсулин, тироксин, половые стероидные гормоны. Длительная гиподинамия сопровождается снижением функции ряда эндокринных желез [15]. К примеру, изменение азотистого и минерального обменов при гиподинамии напоминает картину, похожую на состояние, вызванное недостатком соматотропного гормона гипофиза [11]. Кроме того, исследователи отмечают сильное отставание экспериментальных животных в росте.

В периферической крови на 1-е, 3-е и 7-е сутки иммобилизации увеличивается количество кортикостерона на 55%, 80% и 73% соответственно [12]. Другие авторы отмечают увеличение количества кортикостерона в коре надпочечников, крови и миокарде крыс на сроках 1, 3, 15 и 30 суток [10].

Продукция АКТГ у крыс отмечается ярко выраженной периодичностью: повышением секреции в начальный период обездвиживания, возвращение к исходным значениям и снижением в более поздние сроки [10]. Острое возрастание объема внутрисосудистой жидкости, а также перемещение жидких сред в краниальном направлении, воспринимаются объемными рецепторами сердца, что рефлекторно приводит к снижению продукции вазоконстрикторных гормонов, а также альдостерона и, как следствие этого, к увеличению экскреции почками жидкости, натрия и хлора, что, в свою очередь, приводит к уменьшению объема плазмы [18].

Сокращаясь, скелетные мышцы выделяют ряд аутокинов (сигнальных органических молекул). Среди них цитокины (и другие пептиды), названные миокинами, противодействующие провоспалительным аутокинам жировой ткани адипокинам [2]. Следовательно, снижение их выработки может быть связано с повышением риска развития воспалительных реакций, что подтверждается повышением уровня провоспалительных маркеров в плазме крови [19]. Имеется гипотеза, что миокины, выделяемые при сокращении мышц, играют главную роль в регуляции взаимодействия между скелетной мышцей, печенью, клетками поджелудочной железы и жировой тканью [2; 20]. К четко выявленным миокинам относятся миостатин, LIF (Leukemia Inhibitory Factor или фактор подавления лейкемии), IL-6, IL-7, BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor или нейротрофический фактор мозга), IGF-1 (Insulin-like Growth Factor или инсулиноподобный фактор роста I, соматомедин C), FGF-1 (Fibroblast Growth Factor или фактор роста фибробластов), FSTL-1 (лиганд фоллистатиноподобного белка), а также иризин [2].

При воздействии иммобилизации динамика содержания провоспалительных (ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-12, ИНФ- $\gamma$ ) и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинов в крови и костном мозге крыс носит однонаправленный характер (в сторону увеличения): максимальные значения показателей провоспалительных цитокинов отмечены на 5-7-е сутки; высокий уровень противовоспалительных цитокинов отмечен на 1, 3, 5, 7, 10, 15 и 30-е сутки иммобилизации [12].

На фоне гиподинамии также происходит изменение ферментативной активности. Наблюдается угнетение активности транскетолазы в печени, 12-перстной кишке, молодых эритроцитах; пируватдегидрогеназы в миокарде и печени, а также 2-оксолутаратдегидрогеназы в миокарде, что скорее всего связано со снижением в них уровня тиаминдифосфата (витамин В1) [10]. Гиподинамия сопровождается повышением выведения тиамина из организма с мочой (на 77% по сравнению с контролем), перераспределением его в тканях (уменьшается его содержание в икроножной мышце и почках, повышается в печени и миокарде), а также ускорением рециклинга витамина в организме [10].

Отмечается фазность в динамике активности моноаминоксидазы (МАО) в костном мозге, тимусе и селезенке: сначала происходит достоверное снижение на 3-е сутки гиподинамии, затем повышение с 5-х по 10-е сутки (с максимумом на 7-е сутки), с последующим снижением с 15-х по 30-е сутки во всех исследуемых органах [12]. Активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в крови

повышено на 35-е сутки эксперимента на 22,8%, на 45-е сутки – на 31,7% [14]. При антиортостатической гиподинамии ( $-4^0$ ) активность АЛТ у испытуемых до конца третьей недели опыта была ниже, а далее в течение 4-х недель – выше контрольных значений [15]. Активность АСТ сыворотки крови у этих испытуемых почти на всем протяжении опыта, особенно ко времени его окончания, была выше исходных значений. Увеличение энзиматической активности АСТ и АЛТ в плазме крови при гиподинамии связаны с двумя факторами:

1. Усилением катаболических процессов и, как следствие, интенсивности белкового обмена.

2. Деструкцией мембран мышечных клеток вследствие усиления процесса перекисного окисления липидов с последующей ферментацией [6].

Важнейшим ферментом в костной ткани является щелочная фосфатаза, которая принимает непосредственное участие в образовании волокнистых фибриллярных белков, в частности коллагена, а также в переносе иона фосфорной кислоты от эфира к органическому основанию костной ткани. При моделировании 90-суточной гиподинамии на крысах в эпифизах бедренной кости было установлено снижение активности щелочной фосфатазы в течение 15-30 суток опыта, а к концу эксперимента она не сколько повышалась [11].

Увеличение активности кислой фосфатазы в плазме крови при ограничении двигательной активности связано с усилением процессов перекисного окисления липидов [6]. Как известно, продукты перекисного окисления липидов, особенно малоновый диальдегид, являются лабильными мембран лизосом, что приводит к выходу содержащихся в них ферментов, способствует процессу атрофии мышечной ткани и усилению катаболических процессов.

В первые дни обездвиживания выявлена значительная, но кратковременная гипергликемия, которая на 15-е сутки сменяется нормогликемией или гипогликемией [10]. Гиподинамия влияет на биохимический состав крови крыс, вызывая сдвиги, которые могут рассматриваться как отражение стрессовой реакции организма. Под воздействием стресса происходит перестройка гипоталамо-симпатоадреналовой системы, что приводит к интенсивному распаду гликогена в печени и мышцах и повышению уровня глюкозы в крови, потребность в которой в стрессовых ситуациях резко возрастает [14]. В связи с этим содержание гликогена в тканях печени и мышц значительно снижается. В некоторых исследованиях гипергликемия наблюдалась на 5-е, 15-е и 25-е сутки, которая на 35-сутки сменялась гипогликемией [14].

Одной из причин развития гипогликемии при иммобилизации является более интенсивное окисление глюкозы, о чем свидетельствуют нарастание содержания в крови и тканях продуктов ее распада и увеличение активности ферментов гликолиза, которые в дальнейшем угнетаются [10]. Под действием гиподинамии отмечается снижение чувствительности мышц к инсулину, что сопровождается более низким содержанием и активностью ключевых белков, участвующих в транспорте, фосфорилировании и хранении глюкозы [19].

Гликолиз является одним из механизмов энергообеспечения клетки, а пировиноградная кислота (ПВК) – промежуточным продуктом расщепления углеводов. Данные по содержанию этого метаболита в крови служат показателем общего состояния углеводного обмена в организме животных [3]. При гиподинамии было отмечено повышение уровня ПВК в сыворотке крови крыс на 35-й день на 8,6 %, а к 45-му дню увеличение данного показателя составило 15,2 % [14].

Изменения уровня ЛДГ в сыворотке крови подопытных животных свидетельствуют о нарушении как начальных, так и конечных звеньев углеводного обмена. Следовательно, если увеличение содержания глюкозы в крови подопытных животных на начальных стадиях обездвиживания является результатом мобилизации адаптационных способностей, то повышение активности ЛДГ и изменение содержания ПВК на более поздних сроках гиподинамии являются результатом усиленного распада углеводов в организме. Трансформации, происходящие в углеводном обмене у животных в условиях иммобилизации, являются следствием нарушения нейрогуморальной регуляции [3].

Липидный обмен у животных при гиподинамии характеризуется уменьшением массы жировых депо. Активируется липолиз и в крови нарастает содержание свободных жирных кислот и кетоновых тел [15]. Энергообеспечение переключается с «углеводного» на «жировой» тип. Снижение содержания холестерина в скелетной мышце в условиях гиподинамии приводит к компенсаторной реакции, которая связана с перераспределением фонда холестерина в организме и атерогенных изменениях в плазме крови, эритроцитах, внутренних органах [6]. Учитывая то, что он является стабилизатором мембран лизосом, снижение его содержания в условиях гиподинамии в скелетной мышце способствует выходу лизосомальных ферментов, процессам атрофии и катаболизма. Кроме того, при иммобилизации наблюдается повышение уровня липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) и липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), что является проатерогенным фактором [19].

Длительная гиподинамия сопровождается развитием характерной стрессовой реакции со значительным усилением интенсивности свободнорадикальных реакций и накоплением продуктов липопероксидации, что во многом обуславливает метаболические сдвиги со стороны всех видов обмена веществ, включая белковый, углеводный, липидный и пуриновый обмены [6]. Уровень малонового диальдегида (МДА) в ткани костного мозга, тимуса и селезенки повышается с первых суток гиподинамии, достигая максимума к 10-ым суткам [12]. В том же исследовании установлено, что активность антиоксидантных ферментов в ткани костного мозга, тимуса и селезенки (СОД, каталаза, церулоплазмин, глутатионредуктаза) в течение первых трех суток иммобилизации достоверно увеличивалась, а с 5-х по 30-е сутки наблюдалось снижение их активности; в частности, минимальные значения активности каталазы отмечались на 7-ые - 15-ые сутки, а СОД с 15-ых по 30-ые сутки.

Белки теплового шока HSP70 обладают цитопротекторными, антиоксидантными, антигипоксическими свойствами, защищают органы от стрессорного повреждения. Действие их при иммобилизации носит органоспецифический характер: в ткани мозга они накапливаются к 10-м суткам воздействия и достигают максимума к 30-м суткам; в сердце при действии гипокинезии максимум накопления белков теплового шока проявляется на 3-е и 10-е сутки; в печени HSP70 достигали максимальной концентрации к 30-м суткам [9].

Изменения обмена основных электролитов у человека при адаптации к гиподинамии напрямую зависит от увеличения выведения жидкости почками на фоне снижения ее потребления в этот период [5]. У здорового человека уже на 7-е сутки иммобилизации наблюдается повышение почечной экскреции калия, а к концу 2-й недели – к отрицательному его балансу [17]. Источником потери калия является мышечная ткань, подвергающаяся гипотрофии. Именно мышечная гипотрофия ответственна также за отрицательный баланс азота при гиподинамии, развивающийся как следствие повышенного выведения фосфатов и азотистых продуктов почками [5]. Вместе с этим растет потеря организмом серы [8].

Ограничение двигательной активности ведет к увеличению выведения кальция с мочой из организма, повышению риска образования почечных камней и костных переломов, вызывает снижение функциональной активности С-клеток щитовидной железы и повышение активности паратиреоцитов, что приводит к дисбалансу гормонов, регулирующих обмен кальция, и, как следствие этого, уменьшение объема минерализованной костной ткани, торможение новообразования кости [4; 5]. Даже при кратковременной гиподинамии в течение 15 дней в постели при сниженном поступлении кальция с пищей приводила к увеличению его выведения с мочой в 2,7 раза по сравнению с контролем, а при 62-суточной гиподинамии экскреция кальция на 22% превышала его выведение до опыта [11].

**Заключение.** Гиподинамия является патологическим состоянием, которое приводит к активации компенсаторно-приспособительных механизмов и перестройке всех видов обмена в организме человека. Основными патобиохимическими компонентами иммобилизации являются следующие: уменьшение афферентной импульсации, что вызывает снижение тонуса центральной нервной системы, преобладание в клетках мозга торможения, изменение структуры и функции синапсов, трофики мышц; понижение функции мышечных волокон, что сопровождается снижением метаболизма и активности ферментов, синтетической роли системы ДНК - РНК - белок, преобладанием процессов катаболизма; значительное снижение энергозатрат, приводящее к уменьшению скорости синтеза макроэргов, разобщению окисления и фосфорилирования, изменению тканевого дыхания, уменьшению общего газообмена; перераспределение массы циркулирующей крови, снятие гидростатического давления при пребывании человека в горизонтальном положении, что приводит к резкому уменьшению нагрузки на сердечно-сосудистую систему; существенное уменьшение нагрузки на костный аппарат,

что сопровождается изменением структуры кости и выходом из нее кальция [16].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Боровская, А. С. Здоровый образ жизни как альтернатива гиподинамии / А. С. Боровская // Историческая и социально-образовательная мысль. – 2022. – Т. 14. – № 6. – С. 56-65.

2. Васина, А. Ю. Мышечная ткань как эндокринный регулятор и проблема гиподинамии / А. Ю. Васина, М. Д. Дидур, А. А. Иыги, В. И. Утехин, Л. П. Чурилов // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2014. - № 2 . – С. 5-15.

3. Григорян, А. Г. Нарушения углеводного обмена у животных при гипокинезии / А. Г. Григорян // Доклады Национальной академии наук Республики Армения. – 2012. – № 112. – С. 291–296.

4. Дмитриев, Н. П. Нарушение метаболизма в хрящевой и костной ткани при гипокинезии и дегенеративно-дистрофических заболеваниях опорно-двигательного аппарата / Н. П. Дмитриев // Журнал ГрГМУ – 2010. – № 3. – С. 20-23.

5. Долганова, Т. И. Функциональное состояние и обмен основных электролитов у человека при гипокинезии (обзор литературы) / Т. И. Долганова, С. Н. Лунева, В. В. Колчерина, Е. А. Ткачук, С. А. Романенко, А. Г. Гасанова // Современные наукоемкие технологии. – 2008. – № 11. – С. 6-10.

6. Еликов, А. В. Метаболическая адаптация к двигательной активности различной интенсивности и гиподинамии : автореф. дис. ...д-ра мед. наук : 03.01.04 / А. В. Еликов ; Южно-Уральский государственный медицинский университет. – Челябинск, 2015. - 43 с.

7. Зарипова, Р. И. Изменение содержания оксида азота в тканях крыс при гипокинезии различной длительности : дисс. ... канд. биол.наук : 03.03.01 / Р. И. Зарипова; Казан. (Приволж.) федер. ун-т. – Казань, 2012. – 131 с.

8. Илюшин, О. В. Гипокинезия и гиподинамия, их неблагоприятное влияние на организм / О. В. Илюшин, А. Р. Босятов // Наука и образование: новое время. – 2018. - № 6. – С. 764-767.

9. Камскова, Ю. Г. Влияние долговременной гипокинезии на физиологические механизмы стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем: автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 03.03.01 ; 03.00.04 / Ю. Г. Камскова ; Тюмен. гос. ун-т. – Тюмень, 2004. – 43 с.

10. Климович, В. В. Особенности метаболизма тиамин и активность ТДФ-зависимых ферментов у крыс с различной обеспеченностью витамином В1 при гипокинезии : дисс. ... канд. мед. наук : 03.00.04 / В. В. Климович. — Гродно, 1990. – 130 с.

11. Коваленко, Е. А. Гипокинезия / Е. А. Коваленко, Н. Н Гусовский. – М.: Медицина, 1990. – 319 с.

12. Латышин, Я. В. Закономерности молекулярно-клеточных адаптационных процессов в системе крови при остром и хроническом

гипокинетическом стрессе : дисс. ... д.-ра биол. наук : 03.03.01 / Я. В. Латышин; Челяб. гос. пед. ун-т. – Челябинск, 2010.- 300 с.

13. Морозов, В. И. Морфологические и биохимические аспекты повреждения и регенерации скелетных мышц при физических нагрузках и гиподинамии / И. В. Морозов, Г. А. Сакута, М. И. Калинин // Морфология. – 2006. – Т. 129. – № 3. – С. 88-96.

14. Паршин, П. А. Метаболический статус белых крыс при гипокинезии и его фармакокоррекция аминокислотами / П. А. Паршин, Г. А. Востроилова, Н. А. Хохлова, Ю. А. Чаплыгина // Ветеринарная патология. – 2019. – № 4. – С. 49-54.

15. Федоров, И. В. Проблемы космической биологии. Обмен веществ при гиподинамии. – М.: Наука, 1982. – Т. 44. – 254 с.

16. Хлущевская, О. А. Механизмы адаптации организма при гипокинезии / О. А. Хлущевская, Г. З. Химич // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2014. – № 6-1. – С. 110-113.

17. Fuller, J. H. Renal function, water and electrolyte exchange during bed rest with daily exercise / J. H. Fuller, E. M. Bemauer, W. C. Adams // Aerospace Medicine. – 1970. – Vol 41. – № 1. – P. 60-72.

18. Hinghofer-Szalkay, H. G. Bed rest immobilization with various oral sodium supply: plasma hormones and body fluids / H. G. Hinghofer-Szalkay, Z. László, D. Jezova, A. Rössler, B. Haditsch, K. Pilz, H. Passath, H. Sharfetter, // Endocr. Regul. – 2002. – Vol. 36. – № 4. – P. 151-159.

19. Le Roux, E. Physiology of physical inactivity, sedentary behaviours and non-exercise activity: insights from the space bedrest model / E. Le Roux, N. P. De Jong, S. Blanc, C. Simon, D. H. Bessesen, A. Bergouignan / The Journal of physiology. – 2022. – Vol. 600. – № 5. – P. 1037–1051.

20. Pedersen, B. K. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6 / B. K. Pedersen, M. A. Febbraio // Physiol. Rev. – 2008. – Vol. 88. – P. 1309–1406.

## **ПУТИ МЕТАБОЛИЗМА НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ**

**Новгородская Я.И.**

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

Исследование обмена серосодержащих аминокислот – актуальное направление современной биохимии, что определяется исключительно важным значением этих соединений в поддержании прооксидантно-антиоксидантного статуса, синтезе фосфолипидов, креатина, ряда нейромедиаторов. В доступной литературе содержится достаточно большое количество информации об отдельных серосодержащих аминокислотах. Целью данного обзора явилась

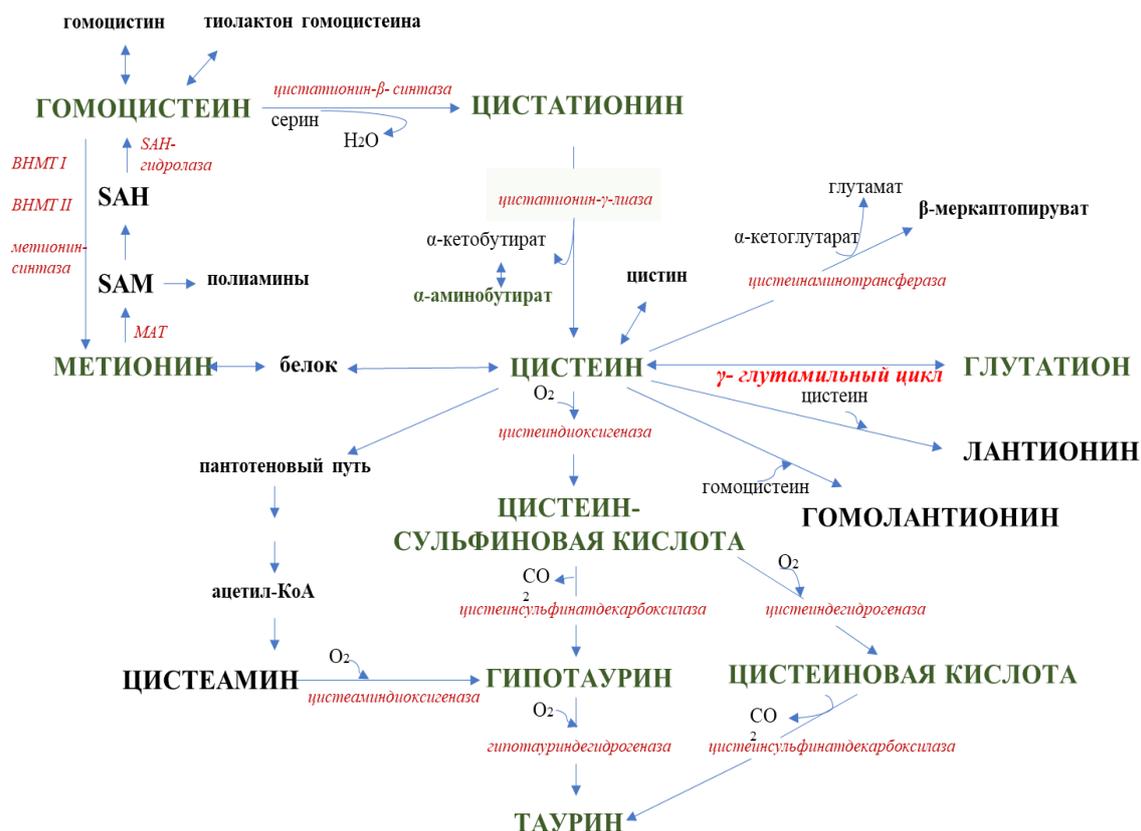
систематизация имеющихся данных о метаболических превращениях низкомолекулярных серосодержащих соединений.

Метионин – незаменимая протеиногенная аминокислота, метаболический предшественник гомоцистеина, цистеина, креатина и ряда других веществ [1]. Открыт J. H. Mueller в 1922 году. На образование его активной формы (S-аденозилметионина) расходуется более 25% метионина. S-аденозилметионин является основным донором метильных групп, ингибитором реметилирования гомоцистеина, активатором транссульфурирования, а его избыток приводит к гипергомоцистеинемии [1]. Около 60% метионина идет на синтез белка [2]. Реакцию превращения метионина в S-аденозилметионин катализирует метионинаденозилтрансфераза (МАТ), которая имеет несколько изоформ: МАТ I/III и МАТ II. Ген МАТ1А кодирует изоферменты МАТ I и МАТ III, а ген МАТ2А – МАТ II. МАТ1А (МАТ I/III) экспрессируется только в гепатоцитах у взрослых, а МАТ2А (МАТ II) – в остальных тканях, а также в печени плода. S-аденозилметионин присутствует в каждой клетке, однако печени принадлежит центральная роль в его метаболизме в связи с участием в реакциях трансметилирования и обмене метионина [3]. У человека идентифицировано более 200 метилтрансфераз. Отдавая метильную группу, S-аденозилметионин превращается в S-аденозилгомоцистеин, а S-аденозилгомоцистеингидролаза катализирует обратимый гидролиз последнего на гомоцистеин и аденозин [4]. S-аденозилгомоцистеингидролаза – тетрамер, который в качестве кофактора содержит НАД<sup>+</sup>/НАДН+Н<sup>+</sup> в каждой субъединице. Клетки поддерживают низкие концентрации S-аденозилгомоцистеина, так как он является ингибитором SAM-зависимых реакций метилирования [1, 5].

Гомоцистеин – низкомолекулярный, биологически активный аминотиол. В плазме крови он находится в ряде молекулярных форм:

- свободной окисленной (гомоцистин);
- связанной окисленной (дисульфиды, содержащие один или два остатка гомоцистеина; гомоцистеин, связанный с белками).

Связанный и свободный гомоцистеин составляют общий. Токсическое воздействие гомоцистеина связано именно с повышением общего количества остатков соединения, так как окисленный гомоцистеин или его смешанные дисульфиды, вступая во взаимодействие с эндогенными тиолами, восстанавливаются и могут быстро отдавать электрон кислороду, превращая последний в супероксиданион [5]. На рисунке 1 представлена схема метаболизма низкомолекулярных серосодержащих соединений.



**Рисунок 1 – Схема метаболизма низкомолекулярных серосодержащих соединений [5]**

Гомоцистеин быстро выходит из клеток, но обратный транспорт в клетку затруднен. Считают, что он поступает во внеклеточную среду при помощи: натрий-зависимого переносчика ASC (alanine, serine and cysteine); переносчика, ответственного за транспорт больших нейтральных аминокислот; переносчика глутамата и аспартата [5-7].

Реметилирование и транссульфурирование – основные способы утилизации гомоцистеина у млекопитающих. При реметилировании гомоцистеина он превращается обратно в метионин. Гомоцистеин подвергается реметилированию при участии:

1) кобаламин-зависимой метионинсинтазы, которая превращает гомоцистеин в метионин, а в качестве донора метильной группы выступает 5-метилТГФК [1, 5].

2) Zn-зависимого фермента – бетаингомоцистеинметилтрансферазы I. Фермент обеспечивает перенос метильной группы бетаина на молекулу гомоцистеина. Бетаингомоцистеинметилтрансфераза I в наибольшем количестве содержится в цитозоле клеток печени и почек, а в наименьшем – головного мозга [1, 5, 8].

3) Zn-зависимого фермента – бетаингомоцистеинметилтрансферазы II, который использует в качестве донора метильных групп S-метилметионин. Ген бетаингомоцистеинметилтрансферазы II экспрессируется главным образом в печени и почках, а в меньшей степени – в сердце, скелетных мышцах и головном мозге [5, 9].

Кроме того, что гомоцистеин может подвергаться реметилированию, небольшая его часть может превращаться в высокореакционную форму – тиолактон гомоцистеина. Метионил-тРНК-синтетаза катализирует данную реакцию в два этапа:

1) гомоцистеин взаимодействует с АТФ с образованием гомоцистеиниладенилата;

2) гомоцистеиниладенилат превращается в тиолактон гомоцистеина и высвобождается АМФ и ФФн [1].

При этом параоксоназа-1 (внеклеточно) и блеомицингидролаза (внутриклеточно) катализируют гидролиз тиолактона гомоцистеина до гомоцистеина [1, 10]. Токсичны для клеток гомоцистин, гомоцистеин и тиолактон гомоцистеина. Последний может взаимодействовать с лизином белков, вызывая их модификацию и инактивацию [11].

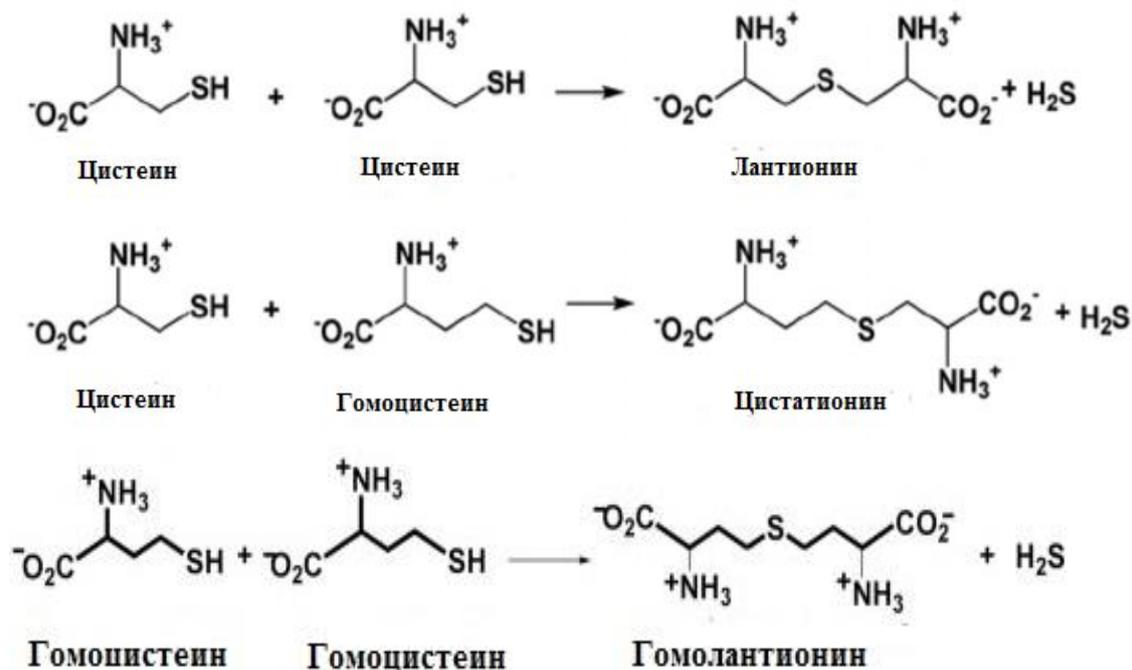
Вторым способом утилизации гомоцистеина является транссульфурирование до цистеина. Этот процесс осуществляется с помощью двух ферментов. Первым ферментом транссульфурирования является цитозольная цистатионин-бета-синтаза (также называемая серингидролизой). Этот фермент катализирует реакцию конденсации гомоцистеина с серином, приводя к образованию цистатионина. Активность транссульфурирования в головном мозге ограничена, в силу чего уровень цистатионина в этой ткани высок по сравнению с его уровнем в тканях печени и почек [1, 5, 12]. Зрелый мозг нуждается в цистатионине, так как он необходим для синтеза сульфатированных полисахаридов и сульфатидов, но в головном мозге плода его содержание снижено, как и активность цистатионин-бета-синтазы. При этом активность последней повышается после рождения, а цистатионин-гамма-лиаза – остается очень низкой. В ткани печени уровень цистатионина резко снижается после рождения, а в ткани почек его содержание относительно постоянно и не зависит от стадии развития [5, 12]. Источниками серина для первой реакции транссульфурирования могут стать экзогенные и эндогенные белки, 3-фосфоглицерат и глицин. Около 70% его синтезируется *de novo* из 3-фосфоглицерата (особенно в тканях головного мозга и почек) [5, 13, 14]. Основными путями превращений серина являются транссульфурирование и превращение в глицин в сериноксиметилтрансферазной реакции. Транспортируется серин через плазматические мембраны при участии ASC-транспортной системы, натрий-независимого аминокислотного обменника, натрий-зависимого переносчика малых нейтральных аминокислот [5, 14]. Серин необходим для синтеза белков, липидов (церамидов, входящих в состав фосфинголипидов и гликофинголипидов; фосфатидилсерина), глицина, ряда серосодержащих аминокислот и их производных, поддержания доступности одноуглеродных групп для ряда метаболических путей через включение в фолатный и метиониновый циклы, инициации транссульфурирования (защиты организма от гомоцистеина) и нейротрансмиссии (тормозной нейромедиатор, снижающий возбудимость нейронов) [5, 14].

Цистатионин-бета-синтаза – тетрамерный белок (состоит из четырех идентичных субъединиц), цитозольный (реже митохондриальный) фермент транссульфурирования. Имеет два кофактора: пиридоксаль-5-фосфат и гем. Реакции транссульфурирования протекают в печени, почках, сердце, поджелудочной железе, головном мозге, селезенке, легких и тонком кишечнике крыс [5]. Эксперессия цистатионин-бета-синтазы низка в сердце, легких, семенниках, селезенке, абдоминальном белом жире, скелетных мышцах и надпочечниках, но более высока в нейронах гиппокампа, мозжечка, коры головного мозга крыс и мышцей [1, 5]. Иммуногистохимический метод подтвердил наличие цистатионин-бета-синтазопозитивных нейронов в двигательных ядрах, но в чувствительных и вегетативных ядрах моста человека таких нейронов в 3–4 раза меньше [15]. Этим же методом подтвердили наличие таких же нейронов в ядрах продолговатого, среднего и спинного мозга [14], а вырабатываемый сероводород может активировать кальциевые каналы, вызывая выброс нейромедиаторов [16].

Цитозольный пиридоксаль-зависимый фермент – цистатионин-гамма-лиаза (гамма-цистатионаза) катализирует вторую реакцию транссульфурирования. При этом фермент расщепляет цистатионин до цистеина и альфа-кетобутирата. Цистеин в дальнейшем используется для синтеза глутатиона, таурина или белков, а альфа-кетобутират в реакции трансаминирования превращается в альфа-аминомасляную кислоту. Транссульфурирование в мозге – незавершенный процесс именно на уровне второй реакции, так как активность цистатионин-гамма-лиазы низкая, а уровень цистатионина высокий [1, 5, 12]. Цистатионин-бета-синтаза и цистатионин-гамма-лиаза могут катализировать множество других реакций (рисунок 2):

- конденсации двух молекул цистеина с образованием лантионина и сероводорода;
- конденсации двух молекул гомоцистеина с образованием гомолантионина и сероводорода;
- конденсации цистеина и гомоцистеина с образованием цистатионина и сероводорода [5].

Как описано выше, в реакциях, катализируемых ферментами транссульфурирования, нарабатывается эндогенный сероводород, который является сигнальной молекулой и цитопротектором с широким спектром физиологических функций (например, защищает клетки от окислительного стресса, вызывает расслабление гладких мышц и др.).



**Рисунок 2 – Биосинтез лантионина, гомолантионина и цистатионина**

Цистеин – тиолсодержащая, протеиногенная аминокислота, имеющая решающее значение в синтезе ряда серосодержащих молекул (глутатиона, кофермента А и таурина). Эти соединения участвуют в анаболических реакциях, детоксикации и антиоксидантных процессах [1, 5]. Несмотря на это, высокие концентрации цистеина токсичны для организма. Около 50% цистеина используется для наработки основного антиоксиданта в клетках млекопитающих – глутатиона (особенно в печени). В гепатоцитах доступность цистеина определяется активностью транссульфурирования и транспортом цистеина через систему ASC (как и серина, и гомоцистеина); цистина через X<sub>c</sub>-систему (цистин/глутаматный антипортер, который обменивает внеклеточный цистин на внутриклеточный глутамат при окислительном стрессе); метионина через L-систему [17].

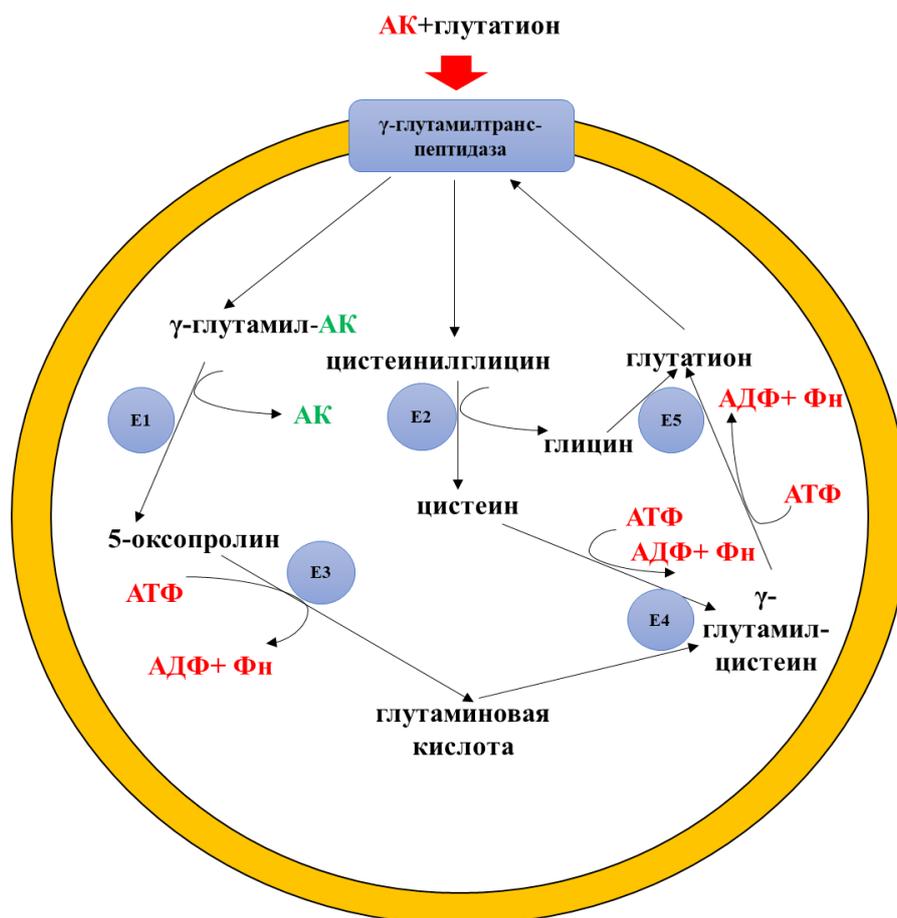
Митохондриальная цистеиндиоксигеназа окисляет сульфгидрильную группу цистеина с образованием цистеинсульфината [18]. Из литературных данных известно, что высокая активность этого фермента обнаружена в печени и почках, умеренная – в мозге и легких, но в сердце, селезенке, скелетных мышцах, тонком кишечнике и некоторых других органах крыс мРНК этого фермента практически отсутствует [5]. В обратной серинсульфгидразной реакции цистеин превращается в серин, а еще одним продуктом данной реакции является сероводород [1].

Цистеинсульфинат и цистеат – субстраты для синтеза гипотаурина и таурина. Цистеинсульфинатдекарбоксилаза катализирует превращение цистеата в таурин, а гипотауриндегидрогеназа – гипотаурина в таурин [18]. Несмотря на открытие последней реакции еще в 1954 году, идентификация фермента, катализирующего эту реакцию, так и не была осуществлена. Более

55 лет считалось, что эту реакцию осуществляет именно НАД-зависимая гипотауриндегидрогеназа. В 2020 году появились первые сообщения о том, что гипотауриндегидрогеназа идентична флавиносодержащей монооксигеназе 1, а в качестве кофактора фермент может использовать НАДФ<sup>+</sup> либо НАД<sup>+</sup>. Цистеинсульфинатдекарбоксилаза экспрессируется, в основном, в печени, почках, белой и бурой жировой ткани, реже в мозге, легких, мышцах, сердце и органах желудочно-кишечного тракта. Большая часть цистеинсульфиновой кислоты декарбоксилируется до гипотаурина, а оставшая часть окисляется до цистеата [18].

Конечным продуктом обмена серосодержащих аминокислот является непротеиногенная аминокислота таурин, которая была выделена из желчи быка в 1827 году, а чуть позже обнаружена во многих органах и тканях [18]. Таурин является осморегулятором, антиоксидантом, нейромодулятором, гепато- и кардиопротектором, стабилизатором мембран, мощным регулятором воспаления, в печени участвует в конъюгации желчных кислот, обладает антиаритмическими и нормотензивными свойствами, не обладает способностью к кумуляции, оказывает антикоагулянтное действие и является «фактором роста мозга» [5, 18]. Гипотаурин является органическим осмолитом, цитопротектором и антиоксидантом для удаления высокореактивных гидроксильных радикалов. Синтез таурина и гипотаурина происходит главным образом в тканях печени, почек и головного мозга (в нейронах и астроцитах). У млекопитающих таурин активно транспортируется через гематоэнцефалический барьер в головной мозг с помощью Na<sup>+</sup>- и Cl<sup>-</sup>-зависимой транспортной системы, которая отвечает за перенос таурина из ткани печени ко всем периферическим тканям; протонно-связанного/pH-зависимого переносчика и пассивной диффузии [5, 19, 20]. Синтез таурина зависит от активности ряда витаминзависимых реакций.

Цистеин участвует и в синтезе глутатиона с помощью двух АТФ-зависимых ферментативных реакций, входящих в гамма-глутамильный (глутатионовый) цикл (рисунок 3). В первой реакции образуется пептидная связь между цистеином и  $\gamma$ -карбоксильной группой глутамата при участии  $\gamma$ -глутамилцистеинсинтетазы (E4), а во второй – между глицином и  $\gamma$ -глутамилцистеином при участии глутатионсинтетазы (E5) [5]. Последняя реакция приводит к образованию глутатиона.



**Рисунок 3 – Гамма-глутамильный (глутатионовый) цикл [5]**

Гамма-глутамилтранспептидаза играет важную роль в гомеостазе глутатиона. Фермент осуществляет расщепление глутатиона из его внеклеточного пула, перенос гамма-глутамильной части глутатиона на аминокислоты и другие акцепторы с образованием их гамма-глутамильных производных. Кроме этого, в результате действия гамма-глутамилтранспептидазы образуется цистеинилглицин, который расщепляется дипептидазой (E2) с образованием цистеина и глицина, которые становятся субстратами для вышеупомянутых ферментов (гамма-глутамилцистеинсинтетазы и глутатионсинтетазы). Гамма-глутамилциклотрансфераза (E1) обеспечивает отщепление гамма-глутамильного остатка с образованием 5-оксопролина. Под действием 5-оксопролиназы (E2) образуется глутамат, который также становится субстратом для гамма-глутамилцистеинсинтетазы [5]. Основным местом синтеза глутатиона в мозге, вероятно, являются астроциты, которые содержат его больше, чем нейроны. Однако гомеостаз глутатиона в клетке регулируется не только его синтезом de novo, но и другими факторами, такими как утилизация, рециркуляция и клеточный экспорт. Рециркуляция глутатиона осуществляется под действием глутатионредуктазы, а утилизация перекиси водорода – глутатионпероксидазы. Более того, глутатион, взаимодействуя

с SH-группами белков, участвует в образовании смешанных дисульфидов (глутатионилировании) [5, 17].

Синтез глутатиона увеличивается при повышении внутриклеточного уровня цистеина, но его избыток конкурентно ингибирует субъединицу гамма-глутамилцистеинсинтетазы [5, 17]. Внутриклеточный уровень глутатиона регулируется микроРНК – некодирующими РНК длиной 21-25 нуклеотидов. Лимитирующим ферментом в его синтезе является гамма-глутамилцистеинсинтетаза [5, 17].

Таким образом, низкомолекулярные серосодержащие аминокислоты и родственные им соединения обладают высокой биологической активностью. Метионин в основном расходуется на синтез белка или превращается в S-аденозилметионин; цитотоксичный гомоцистеин утилизируется через реметилирование и транссульфурирование, которые активны практически во всех тканях (в основном в печени и почках). Продукт транссульфурирования – цистеин, как и метионин, включается в состав белков или превращается в низкомолекулярные антиоксиданты – глутатион, гипотаурин или таурин. В зависимости от степени поражения ткани может возрастать значимость цистеиндиоксигеназного пути превращения цистеина по сравнению с синтезом глутатиона.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Наумов, А. В. Гомоцистеин. Медико-биологические проблемы / А. В. Наумов. – Минск: Профессиональные издания, 2013. – 312 с.
2. Stipanuk, M. H. Metabolism of sulfur-containing amino acids: how the body copes with excess methionine, cysteine, and sulfide / M. H. Stipanuk // *The Journal of Nutrition*. – 2020. – Vol. 150. – P. 2494S–2505S.
3. S-adenosylmethionine: a control switch that regulates liver function / J. M. Mato [et al.] // *FASEB J.* – 2002. – Vol. 16, № 1. – P. 15–26.
4. Structure and function of S-adenosylhomocysteine hydrolase / M. A. Turner [et al.] // *Cell Biochem. Biophys.* – 2000. – Vol. 33, № 2. – P. 101–125.
5. Новгородская, Я. И. Низкомолекулярные серосодержащие соединения в тканях крыс при моделировании нарушений их метаболизма : дис. ... канд. биол. наук : 03.01.04 / Я. И. Новгородская. – Гродно, 2022. – 180 л.
6. Homocysteine transport by human aortic endothelial cells: Identification and properties of import systems / B. Büdy [et al.] // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 2006. – Vol. 446, № 2. – P. 119–130.
7. Differential regulation of homocysteine transport in vascular endothelial and smooth muscle cells / X. Jiang [et al.] // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2007. – Vol. 27, № 9. – P. 1976–1983.
8. Betaine: homocysteinemethyltransferase: organ distribution in man, pig and rat and subcellular distribution in the rat / M. P. McKeever [et al.] // *Clin. Sci.* – 1991. – Vol. 81. – P. 551–556.
9. Betaine-homocysteine S-methyltransferase-2 is an S-methylmethionine-homocysteine methyltransferase / S. S. Szegedi [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2008. – Vol. 283, № 14. – P. 8939–8945.

10. Jakubowski, H. Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone hydrolase / H. Jakubowski // *Journal of Biological Chemistry*. – 2000. – Vol. 275, № 6. – P. 3957–3962.
11. Влияние гомоцистеина и его производных на спонтанную сетевую активность в гиппокампе новорожденных крысят / Е. Д. Курмашова [и др.] // *Российский физиологический журнал*. – 2019. – № 10. – С. 1236–1246.
12. Sturman, J. A. Cystathionine synthesis and degradation in brain, liver and kidney of the developing monkey / J. A. Sturman, G. E. Gaull, W. H. Niemann // *Journal of Neurochemistry*. – 1976. – Vol. 26, № 3. – P. 457–463.
13. Kalhan, S.C. Resurgence of serine: an often neglected but indispensable amino acid / S. C. Kalhan, R. W. Hanson // *Journal of Biological Chemistry*. – 2012. – Vol. 287, № 24. – P. 19786–19791.
14. Holeček, M. Serine metabolism in health and disease and as a conditionally essential amino acid / M. Holeček // *Nutrients*. – 2022. – Vol. 14, № 9. – P. 1–15.
15. Коцюба, А. Е. Иммунолокализация цистатионин β-синтазы в ядрах моста головного мозга человека / А. Е. Коцюба, В. М. Черток // *Морфология и патоморфология*. – 2013. – Т. 155, № 2. – С. 247–250.
16. Hydrogen sulfide raises cytosolic calcium in neurons through activation of L-type Ca<sup>2+</sup> channels / M. A. Garcia-Bereguian [et al.] // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2008. – Vol. 10. – P. 31–42.
17. MicroRNA-mediated regulation of glutathione and methionine metabolism and its relevance for liver disease / S. C. Lu [et al.] // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2016. – Vol. 100. – P. 66–72.
18. Нефёдов, Л. И. Таурин (биохимия, фармакология и медицинское применение). – Мн.: 1999. – 145 с.
19. Rafiee, Z. Taurine supplementation as a neuroprotective strategy upon brain dysfunction in metabolic syndrome and diabetes / Z. Rafiee, A. M. Garcia-Serrano, J. M.N. Duarte // *Nutrients*. – 2022. – Vol. 14, № 6. – P. 1–20.
20. Significance of taurine transporter (TauT) in homeostasis and layers of regulation / S. Baliou [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2020. – Vol. 22, № 3. – P. 2163–2173.

## **АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВАЯ И САЛИЦИЛОВАЯ КИСЛОТЫ КАК РЕГУЛЯТОРЫ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ**

**Савко А. И.**

*УО «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы»,  
г.Гродно, Республика Беларусь*

Ацетилсалициловая кислота (АСК) и салициловая кислота (СК) — это два соединения, которые известны своими лечебными свойствами на протяжении веков. АСК широко используется в качестве анальгезирующего, жаропонижающего и противовоспалительного средства. СК встречается во многих растениях и известна своими противовоспалительными свойствами [8].

Однако недавние исследования показали, что АСК и СК имеют большие перспективы использования, выходящие за рамки описанных выше.

В этой обзорной статье мы стремимся представить всесторонний обзор роли АСК и СК и рассмотреть перспективы использования. Мы рассмотрим молекулярные механизмы, лежащие в основе различных фармакологических эффектов этих соединений, а также их потенциальное терапевтическое применение при различных патологиях. Мы также обсудим потенциальные неблагоприятные эффекты длительного использования этих соединений.

Использование салицилатов в лечебных целях восходит к древним египтянам, которые использовали кору ивы для лечения боли и лихорадки. Кора ивы, содержащая салицин, использовалась Гиппократом, отцом современной медицины, в качестве болеутоляющего и жаропонижающего средства. В 19 веке химикам удалось выделить из коры ивы активный ингредиент, который был идентифицирован как салициловая кислота. Однако было обнаружено, что чистая форма салициловой кислоты негативно сказывается на желудочно-кишечном тракте, и ее использование было ограничено [8].

Только в 1897 году немецкий химик Феликс Хоффманн открыл способ ацетилирования салициловой кислоты с получением ацетилсалициловой кислоты. Хоффманн работал в немецкой фармацевтической компании Bayer и искал способ разработать болеутоляющее средство, которое бы в меньшей степени влияло на желудочно-кишечный тракт, чем салициловая кислота. Хоффманн синтезировал АСК путем ацетилирования салициловой кислоты и обнаружил, что она гораздо более эффективна и безопасна, чем ее предшественник. Компания Bayer запатентовала АСК и начала продавать его под названием «Аспирин», которое вскоре стало нарицательным.

Открытие АСК произвело революцию в лечении болевого синдрома и лихорадки, а аспирин быстро стал одним из наиболее широко используемых лекарственных средств в мире. Аспирин принимают для облегчения головных и менструальных болей, артрита и сердечно-сосудистых заболеваний. Во времена Первой мировой войны аспирин использовался для лечения солдат на поле боя, и его популярность продолжала расти и в послевоенные годы.

Салициловую кислоту активно применяют при лечении кожных заболеваний. В 20 веке были разработаны и использовались производные салициловой кислоты (метилсалицилат и салицилат натрия) в качестве анальгетиков и жаропонижающих средств. Эти соединения также использовались при разработке других лекарственных форм (фенилбутазон) для лечения артрита.

Открытие механизмов действия АСК и СК во второй половине 20 века привело к лучшему пониманию их фармакологических свойств и проложило путь к разработке новых лекарственных препаратов. Было обнаружено, что АСК и СК действуют путем ингибирования фермента циклооксигеназы (ЦОГ), который участвует в производстве простагландинов – медиаторов воспаления. Это привело к разработке новых препаратов, ингибирующих определенные изоформы фермента, например ЦОГ-2, которые используются при лечении артрита и других заболеваний [11].

Сегодня АСК и СК продолжают широко использоваться в различных формах. Аспирин по-прежнему является одним из наиболее часто назначаемых лекарственных средств в мире. Использование АСК и СК в различных формах, от таблеток до кремов и мазей, подчеркивает их универсальность и важность в современной медицине, кроме того, было показано, что терапия низкими дозами аспирина эффективна для снижения риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Несмотря на долгую историю использования, АСК и СА не лишены рисков и побочных эффектов. Наиболее распространены побочные эффекты, связанные с развитием желудочно-кишечных кровотечений и язв. Для решения этой проблемы были разработаны препараты АСК с энтеросолюбильным покрытием, которое растворяется в тонком кишечнике, а не в желудке, снижая риск развития побочных эффектов. Салицилаты не рекомендуется принимать детям в возрасте до 16 лет вследствие риска развития синдрома Рея. Салициловая кислота может вызывать раздражение кожи, поэтому ее не рекомендуется использовать на поврежденной или воспаленной коже.

Хотя их использование не лишено проблем, АСК и СК остаются важными компонентами современной медицины, при этом продолжают исследования, направленные на изучение новых терапевтических применений этих древних средств.

**Механизм действия.** Ацетилсалициловая и салициловая кислоты оказывают свое терапевтическое действие за счет ингибирования активности ферментов циклооксигеназы, ответственных за синтез простагландинов (ПГ), тромбосанов и других эйкозаноидов [11]. Существуют две основные изоформы ЦОГ: ЦОГ-1 – экспрессируется во многих тканях и отвечает за выработку ПГ, поддерживающих гомеостаз в желудке, почках и тромбоцитах; и ЦОГ-2, которая индуцируется воспалительными стимулами и продуцирует ПГ, которые опосредуют воспаление [3].

АСК необратимо ингибирует ЦОГ-1 и ЦОГ-2 путем ацетилирования остатка серина в положении 530 в активном центре фермента. Это препятствует доступу арахидоновой кислоты к активному центру, тем самым препятствуя образованию ПГ и тромбосанов. Необратимый характер ингибирования ЦОГ-1 АСК объясняет его большую продолжительность действия (4–6 часов). Ингибируя ЦОГ-1, АСК также снижает выработку ПГ, защищающих слизистую оболочку желудка от действия соляной кислоты и пепсина, что может привести к диспепсии, гастриту и язве желудка.

СК, с другой стороны, является обратимым ингибитором ЦОГ-1 и ЦОГ-2, но менее эффективна, чем АСК. Механизм действия СК включает связывание с гидрофобным каналом фермента ЦОГ, что предотвращает доступ арахидоновой кислоты к активному центру фермента.

Помимо ингибирования ЦОГ, СК также активирует аденозинмонофосфат-активируемую протеинкиназу (АМРК), которая участвует в различных метаболических и противовоспалительных реакциях [4]. СК также ингибирует активацию ядерного фактора транскрипции (NF-κB), который регулирует экспрессию провоспалительных генов [1].

**Токсичность.** Несмотря на своё широкое применение, ацетилсалициловая и салициловая кислоты обладают выраженными побочными эффектами, особенно в случае передозировки. Понимание механизмов токсичности и факторов риска, связанных с этими препаратами, необходимо для предотвращения и устранения возможных побочных эффектов [3]. Факторами риска токсичности АСК и СК являются высокие дозы, длительное применение и одновременное применение других препаратов, которые могут увеличить риск побочных эффектов. Кроме того, некоторые группы пациентов могут быть более восприимчивы к токсичности, в том числе пожилые пациенты, пациенты с ранее существовавшими заболеваниями желудочно-кишечного тракта, почек или печени, а также пациенты с нарушениями свертываемости крови или аллергическими реакциями на АСК или СК в анамнезе.

Желудочно-кишечная токсичность является частым побочным эффектом АСК и СК. Эти препараты могут вызывать повреждение слизистой оболочки желудка за счет снижения выработки защитных простагландинов, что приводит к образованию язв и кровотечений. Риск желудочно-кишечного кровотечения увеличивается с увеличением дозы АСК. Другие факторы риска желудочно-кишечной токсичности включают язвенную болезнь в анамнезе, сопутствующее применение нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) или антикоагулянтов и пожилой возраст.

Почечная токсичность – еще один потенциальный побочный эффект АСК и СК. Эти препараты могут вызывать острую почечную недостаточность, особенно у пациентов с ранее существовавшим заболеванием почек, гиповолемией или сопутствующим приемом нефротоксичных препаратов. Механизм почечной токсичности связан с ингибированием синтеза простагландинов, что может нарушать почечный кровоток и снижать скорость клубочковой фильтрации.

Печеночная токсичность встречается редко, но может возникать при приеме высоких доз АСК и СК, особенно у пациентов с ранее существовавшим заболеванием печени. Механизм гепатотоксичности не совсем понятен, но считается, что он связан с метаболизмом салицилатов в печени, что может вызвать окислительный стресс и митохондриальную дисфункцию.

Токсичность центральной нервной системы является потенциальным побочным эффектом АСК и СК, особенно в случаях передозировки. Эти препараты могут вызывать широкий спектр неврологических симптомов, включая спутанность сознания, делирий, судороги и кому. Механизм токсичности центральной нервной системы связан с ингибированием синтеза простагландинов, что может привести к накоплению салициловой кислоты в головном мозге и вызвать метаболический ацидоз.

**Митохондриотропные эффекты.** Митохондрии являются электростанциями клеток, вырабатывающими АТФ посредством окислительного фосфорилирования. ЭТЦ создает протонный градиент на внутренней митохондриальной мембране, который является источником энергии для синтеза АТФ с помощью комплекса АТФ-синтазы. Нарушение функции митохондрий

может иметь серьезные последствия для клеточного энергетического метаболизма и способствовать развитию широкого спектра заболеваний.

Кальций является вездесущим вторичным мессенджером, который играет решающую роль во многих клеточных процессах, включая клеточное деление, дифференцировку, секрецию и гибель клеток. Гомеостаз ионов кальция жестко регулируется организмом, что имеет решающее значение для нормального физиологического функционирования клеток и тканей. Митохондрии, являясь одним из депо кальция в клетке, вовлечены в его гомеостаз и связанные с ними сигнальные пути. Нарушение функции митохондрий и метаболизма кальция являются сопутствующим элементом многих заболеваний. Понимание точек регуляции этих процессов открывает новые горизонты в лечении заболеваний, связанных с митохондриальной дисфункцией [14].

Один из механизмов, с помощью которых СК и АСК влияют на функцию митохондрий, заключается в том, что они действуют как протонофоры. Протонофоры представляют собой соединения, которые нарушают митохондриальный протонный градиент, необходимый для синтеза АТФ, путем транспорта протонов через митохондриальную мембрану. Протонный градиент создается электрон-транспортной цепью, которая перекачивает протоны из митохондриального матрикса в межмембранное пространство, создавая электрохимический градиент, который используется АТФ-синтазой для производства АТФ. Протонофоры могут элиминировать протонный градиент, что приводит к разобщению окислительного фосфорилирования.

Показано, что протонофорная активность СК и АСК зависят от их значений  $pK_a$ , которые определяют их способность действовать как кислоты и акцептировать протоны. Салициловая кислота имеет  $pK_a$  2,97, тогда как АСК имеет  $pK_a$  3,5. При оценке значений pH эти препараты в основном имеют анионные формы, которые могут протонироваться внутри митохондриального матрикса и действовать как протонофоры [6].

Исследования показали, что СК и АСК обладают протонофорной активностью в изолированных митохондриях. Например, Аль-Замиль и соавторы [7] исследовали влияние СК на дыхательную активность митохондрий печени крыс. Авторы обнаружили, что СК увеличивает скорость потребления кислорода митохондриями, предполагая, что она разъединяет окислительное фосфорилирование. Дальнейшие эксперименты показали, что СК нарушает потенциал митохондриальной мембраны и снижает синтез АТФ. Авторы предположили, что за эти эффекты ответственна протонофорная активность СК.

Точно так же было показано, что АСК обладает протонофорной активностью в митохондриях. Мартинс и соавторы [8] исследовали влияние АСК на митохондриальную биоэнергетику тромбоцитов человека. Авторы обнаружили, что АСК снижает потенциал митохондриальной мембраны и увеличивает скорость потребления кислорода, указывая на разобщение окислительного фосфорилирования. Авторы предположили, что за эти эффекты ответственна протонофорная активность АСК.

Нами было показано, что АСК и СК (0,5–2мМ) влияют на окислительное фосфорилирование изолированных митохондрий печени крыс. Обнаружено,

что АСК снижает скорость АДФ-стимулируемого дыхания и повышает скорость субстрат-зависимого потребления кислорода. Салициловая кислота обладает схожим эффектом в более выраженном виде, что свидетельствует о разобщении процессов окисления и фосфорилирования [15].

Йошида и соавторы обнаружили, что СК увеличивает скорость набухания митохондрий зависимым от концентрации образом. Они также заметили, что СК вызывает снижение коэффициента фосфорилирования и увеличение частоты дыхания в состоянии  $V_4$ , что указывает на нарушение связи между окислительным фосфорилированием и транспортом электронов. Кроме того, авторы продемонстрировали, что ингибирующее действие СК на дыхание было обратным при добавлении  $Ca^{2+}$  к митохондриальной суспензии, предполагая, что вызванное СК ингибирование митохондриального дыхания частично связано с нарушением гомеостаза  $Ca^{2+}$ . Авторы пришли к выводу, что СК влияет на функции митохондрий и что  $Ca^{2+}$  играет решающую роль в индуцированных СК изменениях митохондриального дыхания [13].

Фудзикава и соавторы стремились исследовать влияние АСК на ремоделирование митохондриального  $Ca^{2+}$  в опухолевых клетках. Исследование показало, что лечение аспирином увеличивает образование активных форм кислорода (АФК), что приводит к деполяризации потенциала митохондриальной мембраны и последующей активации потенциалзависимых кальциевых каналов. Это приводило к повышению уровня митохондриального  $Ca^{2+}$ , что, в свою очередь, индуцировало митохондриальную дисфункцию и апоптоз в опухолевых клетках. Авторы пришли к выводу, что индуцированное АСК ремоделирование митохондриального  $Ca^{2+}$ , опосредованное АФК и потенциалзависимыми входными каналами  $Ca^{2+}$ , может быть потенциальной терапевтической мишенью для лечения онкологических заболеваний. Они предположили, что аспирин может быть эффективной адьювантной терапией в сочетании с другими противоопухолевыми средствами. Исследование дает новое представление о молекулярных механизмах, лежащих в основе противоопухолевого действия АСК, и может способствовать разработке новых терапевтических стратегий лечения рака [2].

**Перепрофилирование НПВП.** Салициловая кислота и ее производное, ацетилсалициловая кислота, веками использовались в качестве анальгетиков, жаропонижающих и противовоспалительных средств. Однако недавние исследования выявили новые свойства этих соединений, которые могут расширить их потенциальное медицинское применение.

Одним из наиболее многообещающих новых свойств салициловой кислоты и АСК является их способность действовать как противоопухолевые средства. Исследования показали, что СК и АСК могут вызывать апоптоз (запрограммированную гибель клеток) в опухолевых клетках и могут ингибировать рост и распространение опухолей в моделях на животных [7]. Считается, что этот эффект частично обусловлен способностью СК и АСК модулировать различные сигнальные пути, участвующие в развитии и прогрессировании опухолей.

Еще одним потенциальным применением салициловой кислоты и АСК является лечение нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера. Исследования показали, что СК и АСК могут уменьшить накопление бета-амилоидного белка, ключевого компонента бляшек, образующихся в головном мозге пациентов с болезнью Альцгеймера. Кроме того, было показано, что эти соединения улучшают когнитивные функции и память в моделях на животных [12].

**Заключение.** История АСК и СК является свидетельством непреходящей важности натуральных средств в современной медицине. С древних времен и до наших дней эти соединения использовались для облегчения болевого синдрома, в качестве жаропонижающего средства и др. Открытие АСК и СК произвело революцию в лечении воспаления и проложило путь к разработке новых лекарственных средств. Современный этап развития ознаменовался поиском новых терапевтических эффектов уже знакомых препаратов. АСК и СК демонстрируют свой потенциал в терапии опухолей и нейродегенеративных заболеваний. Также открываются и новые механизмы воздействия АСК и СК на организм человека: они участвуют в регуляции кальциевого гомеостаза и функционировании электрон-транспортной цепи митохондрий. Этот факт открывает новый простор для дальнейшего изучения АСК и СК. Выявление новых механизмов действия АСК и СК расширяет спектр их терапевтического применения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Activation of NF-kappa B by extracellular matrix and inflammation mediators in chondrocytes / E. Schreiber [et. al] // *Osteoarthr. Cartil.* – 2002. – Vol. 10, № 1. – P.156–162.
2. Aspirin Induces Mitochondrial Ca<sup>2+</sup> Remodeling in Tumor Cells via ROS-Depolarization-Voltage-Gated Ca<sup>2+</sup> Entry / I. Fujikawa [et. Al.] // *Int. J. Mol. Sci.* 2020 – 21, № 13. – P. 1–15.
3. Bindu, S. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective / S. Bindu, S. Mazumder, U. Bandyopadhyay // *Biochem. Pharmacol.* – 2020. – Vol. 180. – P. 114–147.
4. Complexes between the LKB1 tumor suppressor, STRADalpha/beta and MO25alpha/beta are upstream kinases in the AMP-activated protein kinase cascade / S .A. Hawley [et. al] // *J. Biol.* – 2003. – Vol. 2, № 28. – P.28.
5. Elwood, P. C. Aspirin: past, present and future / P. C. Elwood // *Clin. Med. (Lond).* – 2001. – Vol. 1, № 2. – P. 132–137.
6. Geisler, J. G. Proton conduction through aspirin and salicylic acid in phospholipid bilayer membranes / J. G. Geisler, A. Marosi, J. Halpern // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes.* – 1985. – Vol. 814, № 3. – P. 453–459.
7. Gupta, R. A. Colorectal Cancer Prevention and Treatment by Inhibition of Cyclooxygenase-2 / R. A. Gupta, R. N. Dubois // *Nature Reviews Cancer.* – 2001. – Vol. 1, № 1. – P.11–21.
8. Montinari M. R. The first 3500 years of aspirin history from its roots – A concise summary / M. R. Montinari, S. Minelli, R. De Caterina // *Vascul Pharmacol.* – 2019. – Vol. 113. – P. 1–8.

9. Salicylic acid induced mitochondrial biogenesis and modulation of oxidative stress in plant mitochondria / H. Al-Zamil [et. al] // *Mitochondrion*. – 2015. – Vol. 25. – P.28–37.
10. The mitochondrial bioenergetics of aspirin-induced platelet apoptosis / L. A. Martins [et. al] // *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*. – 2015. – Vol. 47, № 3. – P.207–215
11. Vane, J. R. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs / J. R. Vane, R.M. Botting // *Am. J. Med.* – 1998. – Vol. 104. – P. 2S–8S.
12. Yanagisawa, K. Role of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the prevention of Alzheimer's disease / K. Yanagisawa // *Drugs in R&D*. – 2018. – Vol. 18, № 2. – P. 93–103.
13. Yoshida, Y. Effect of salicylic acid and calcium on mitochondrial functions / Y. Yoshida, I. Singh, C.P. Darby // *Acta. Neurol. Scand.* – 1992. – Vol. 85, № 3. – P. 191–196.
14. Zavodnik, I. B. Mitokhondrii, kal'tsievyi homeostaz i kal'tsievaia signalizatsiia [Mitochondria, calcium homeostasis and calcium signaling] / I. B. Zavodnik // *Biomed. Khim.* – 2016. – Vol. 62, № 3. – P. 311–317.
15. Савко А. И. Ацетилсалициловая и салициловая кислоты как экологические факторы, регуляция ими функциональной активности митохондрий печени / А. И. Савко // Сб. мат. Респ. науч.-практ. конф. Радиационная и экологическая медицина: современные проблемы, взгляд в будущее. – 2022. – С. 229–233.

**ВЛИЯНИЕ ТАУРИНА И L-ТРИПТОФАНА НА ФОНД СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ МОЗЖЕЧКА И КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ КРЫС ПРИ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА**  
**Смирнов В.Ю.<sup>1</sup>, Разводовский Ю.Е.<sup>2</sup>, Троян Э.И.<sup>1</sup>, Максимович Н.Е.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Гродненский государственный медицинский университет,*

<sup>2</sup>*Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси,  
г. Гродно, Республика Беларусь*

Аминокислоты (АК) и их производные играют важную роль в функционировании головного мозга, участвуя в биосинтезе мембранных белков, сигнальных молекул и регуляторных пептидов. Поэтому нарушение соотношений их концентраций в головном мозге может стать причиной возникновения различных нервно-психических расстройств [6, 11]. Актуальным является поиск нейропротекторных средств, улучшающих восстановление нервных клеток, поврежденных ишемией-реперфузией, среди биологически активных соединений и естественных метаболитов, к которым и относятся аминокислоты.

Незаменимая аминокислота L-триптофан является предшественником нейромедиатора серотонина, участвующего в регуляции различных процессов, происходящих в центральной нервной системе [13, 14]. Уровень серотонина в головном мозге находится в прямой зависимости от содержания триптофана в

плазме крови [15]. В предыдущих исследованиях была показана прогностическая значимость изменения уровня триптофана в плазме крови у больных с острым ишемическим инсультом [13]. Было установлено, что уровень триптофана в плазме пациентов с ишемическим инсультом ниже, по сравнению с контролем [13]. Низкий уровень триптофана в плазме снижает его биодоступность в головном мозге, что может стать причиной снижения синтеза серотонина, нарушение обмена которого имеет отношение к патогенезу ишемического поражения головного мозга [11].

Таурин (Tau) — конечный продукт превращений серосодержащих аминокислот – является высокоактивным природным соединением, обладающим антиоксидантными, мембраностабилизирующими, адаптогенными свойствами и относительно незаменим для человека [2]. Результаты экспериментальных и клинических исследований позволяют рассматривать его как эффективное средство метаболической коррекции целого ряда патологических состояний [2, 5]. Таурин ингибирует передачу нервных импульсов и является, таким образом, тормозным нейромодулятором. Он является одной из количественно преобладающих в ЦНС аминокислот, играет интегральную роль в процессах осморегуляции, нейропротекции и нейромодуляции [3]. Уровень таурина снижается в мозге животных в некоторых патологических ситуациях, в том числе при ишемии-аноксии [12]. Таурин оказывает защитный эффект в культурах клеток нейронов в отношении глутамат-индуцированной эксайтотоксичности [7, 17, 10]. Механизм нейропротекции таурина основан на поддержании внутриклеточного гомеостаза ионов кальция через ингибирование реверсного режима  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  насоса [7], ингибирование L-, P/Q-, N- потенциал-зависимых кальциевых каналов [17], предотвращение поступления  $\text{Ca}^{2+}$  через кальциевые каналы NMDA рецепторов [18], ингибирование высвобождения ионов кальция из эндоплазматического ретикула [8] и поддержании внутримитохондриального гомеостаза кальция [9]. Таурин также защищает от эксайтотоксичности глутамата путем активации  $\text{GABA}_A$  и стрихнин-чувствительных глициновых рецепторов.

**Целью исследования** была сравнительная характеристика изменений пула свободных аминокислот и их производных в мозжечке и коре больших полушарий мозга крыс при введении L-триптофана и таурина на фоне субтотальной ишемии головного мозга (СИГМ).

**Материалы и методы исследования.** Эксперименты выполнены на 18 белых беспородных крысах-самках (по 6 животных в каждой группе), массой 180-220 г. СИГМ моделировали путём перевязки обеих сонных артерий в течении 1 часа. L-триптофан и таурин (в дозе 100 мг/кг массы тела) вводили внутривенно непосредственно перед перевязкой общих сонных артерий. Контрольную группу составили ложнооперированные животные, получавшие эквивалентное количество изотонического раствора NaCl. Все оперативные манипуляции проводились в условиях внутривенного тиопенталового наркоза (60 мг/кг). После извлечения головного мозга осуществляли изъятие мозжечка и фрагментов лобной и теменной долей коры (кора с подлежащим белым веществом) левого и правого больших полушарий с их 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 и 4°C с последующим отбором супернатанта.

Спектр определяемых соединений включал протеиногенные аминокислоты, орнитин, цитруллин, ряд родственных соединений (таурин,  $\alpha$ -аминобутират и др.), фосфоэтанолламин (PEA) и этаноламин (EA). Анализ проводился на хроматографе Agilent 1100 методом обращенно-фазной хроматографии с предколоночной дериватизацией о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой в Na-боратном буфере. Детектирование фотометрическое на длине волны 338 нм. Использовалась колонка Zorbax Eclipse Plus C18, 3,5 мкм, 2,1 x 150 мм, Идентификацию и количественный анализ производили в программе Agilent ChemStation B.04.01, калибровка метода осуществлялась с применением концентрата стандартной смеси аминокислот фирмы "Sigma-Aldridge". Используемые подвижные фазы: 0,1М Na-ацетатный буфер (pH 6,25 и 5,75); водные растворы ацетонитрила и метанола (60% об/об). Разделение проводили с градиентным элюированием за 78 мин; температура колонки 34 °C. В работе использовались реактивы квалификации не ниже хч. Тридистиллированную воду для подвижных фаз пропускали через патрон «Norganic» (Millipore, США), подвижные фазы фильтровали через мембранный фильтр 0,22 мкм.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы R. Для оценки влияния факторов применялся параметрический дисперсионный анализ (ДА) с апостериорным сравнением по Тьюки. В случае нарушения однородности дисперсий выполнялся дисперсионный анализ в модификации Уэлча с апостериорным сравнением по Геймс-Хоувелл. При отсутствии нормальности распределения показателей использовался непараметрический ДА Краскела-Уоллиса с поправкой Бенъямини-Хохберга на множественность сравнений. 95% доверительные интервалы и оценка достоверности коэффициентов корреляций получены методом непараметрического бутстрепа (R=500).

### **Результаты и их обсуждение.**

Субтотальная ишемия ГМ вызывает снижение в коре ГМ крыс уровней глутамата, аспарагина, 1-метилгистидина, тирозина, триптофана, орнитина и лизина (табл. 1). Как следствие, отмечается понижение суммарного содержания аминокислот коры ГМ, в основном за счёт его заменимых компонентов (табл. 2). Наблюдается также обеднение пулов нейротрансмиттерных и возбуждающих аминокислот коры ГМ. Снижение уровней ароматических аминокислот (ААК) при неизменном уровне аминокислот с разветвлённой углеводородной цепью (АРУЦ) обуславливает повышение соотношения АРУЦ/ААК.

Снижение уровня триптофана в коре больших полушарий на фоне СИГМ хорошо согласуется с данными о его снижении в плазме крови [13]. Уменьшение биодоступности триптофана в мозге в острой фазе ишемического инсульта может являться одной из причин снижения синтеза серотонина. Понижение уровня глутамата согласуется с [1], где показано снижение уровней возбуждающих и тормозных АК на фоне субтотальной ишемии головного мозга.

В мозжечке при субтотальной ишемии ГМ концентрации всех определяемых аминокислот сохраняются на уровне контрольных значений (табл. 1). Также не отмечается нарушения структуры аминокислотного фонда: соотношений АРУЦ и ААК, заменимых и незаменимых, суммарного содержания аминокислот (в том числе и только протеиногенных) (табл. 2).

Предварительное введение таурина при СИГМ не меняет его уровень в коре больших полушарий ГМ. Тем не менее, оно оказывает влияние на ряд других соединений (табл. 1). Так, отмечается повышение уровней треонина, серина, глутамина и валина, фосфоэтанолamina,  $\alpha$ -аминомасляной кислоты, а также снижение — цитруллина, аргинина, аланина, метионина, фенилаланина, гистидина, ГАМК, цистатионина и этаноламина. Введение таурина предотвращает снижение концентраций глутамата и лизина при СИГМ. В то же время, таурин не оказывает влияния на уровни тирозина, триптофана и 1-метилгистидина — аминокислот, содержание которых снижалось при СИГМ. Также он усиливает снижение орнитина, вызванное ишемией.

Таблица 1. Концентрация свободных аминокислот и родственных соединений в коре больших полушарий крыс, нмоль/г

	Контроль	СИГМ	СИГМ + Трп	СИГМ + Тау
Аспаргат	5048 ± 284	4932 ± 166	5342 ± 193	5326 ± 160
Глутамат	13333 ± 340	11392 ± 275*	13604 ± 297†	13800 ± 369†
Аспарагин	206 ± 9,41	182 ± 4,59	245 ± 4,67*†	198 ± 7,39‡
Серин	1222 ± 26,7	1249 ± 17,7	1511 ± 29,9*†	1485 ± 24*†
$\alpha$ -аминоадипинат	46,6 ± 1,65	41,8 ± 1,39	52,9 ± 1,65†	36,9 ± 3,43*‡
Глутамин	6606 ± 221	6281 ± 248	6106 ± 277	7773 ± 228*†‡
Гистидин	156 ± 8,47	152 ± 4,6	134 ± 2,3*	116 ± 3,71*†
Глицин	1436 ± 55,4	1337 ± 49,3	1404 ± 62,1	1377 ± 52,5
Фосфоэтаноламин	2080 ± 94,6	2158 ± 103	2543 ± 126*	2566 ± 121*
Треонин	763 ± 21,1	747 ± 15,5	1065 ± 31,7*†	953 ± 37,1*†‡
1-метилгистидин	20,9 ± 1,86	16,2 ± 0,945*	13,8 ± 0,574*	12,9 ± 0,719*
Цитруллин	35,1 ± 1,97	32,5 ± 1,76	27,6 ± 0,804*	26,3 ± 1,38*†
Аргинин	180 ± 6,33	165 ± 4,48	121 ± 4,26*†	123 ± 3,15*†
Аланин	1937 ± 113	1818 ± 81,9	1605 ± 56,2*	1287 ± 71,1*†‡
Таурин	8823 ± 264	8680 ± 224	9145 ± 219	9333 ± 249
ГАМК	4017 ± 195	3491 ± 180	2783 ± 104*†	2340 ± 139*†
Тирозин	117 ± 9,52	76 ± 2,49*	58,1 ± 2,82*	63,9 ± 2,31*
$\alpha$ -аминобутират	10,6 ± 1	10,4 ± 0,802	22,5 ± 1,78*†	17,1 ± 1,24*†‡
Этаноламин	1550 ± 79,6	1775 ± 96,7	1341 ± 23,1†	1052 ± 65,6*†‡
Валин	154 ± 4,58	154 ± 5,59	186 ± 6,89*†	179 ± 6,53*†
Метионин	98,4 ± 5,55	97,9 ± 3,35	90,7 ± 5,57	75,3 ± 3,01*†
Цистатионин	70,3 ± 4,82	80,1 ± 5,25	84,8 ± 5,59	101 ± 7,26*
Триптофан	75,1 ± 2,87	62,3 ± 1,77*	67,1 ± 3,21	63,2 ± 2,28*
Фенилаланин	134 ± 4,96	126 ± 3,11	131 ± 3,98	116 ± 3,48*‡
Изолейцин	91,4 ± 4,41	88,2 ± 4,2	98,9 ± 5,43	92,7 ± 3,92
Лейцин	164 ± 10,1	168 ± 8,43	188 ± 4,67	173 ± 5,08
Орнитин	33,4 ± 3,3	22,8 ± 1,4*	15,5 ± 1,2*†	14,9 ± 0,888*†
Лизин	443 ± 10,5	393 ± 12*	389 ± 8,45*	453 ± 8,69†‡

Примечание: (здесь и в табл.2) приведены результаты анализа вариационного ряда, полученного в результате объединения всех 4 зон коры;  $p < 0,05$  при сравнении с группами: \* — контроль; † — СИГМ; ‡ — СИГМ + Трп

Снижение уровня аланина может быть обусловлено активацией гликолиза. Рост уровней серина и фосфоэтаноламина, а также нормализация — глутамата, могут быть связаны с эффектами введения таурина, т.к. между их уровнями (как в контроле, так и в опытных группах) имеется сильная положительная корреляция (табл.4). Нормализация уровня лизина при предварительном введении таурина может быть обусловлена торможением катаболизма лизина, о чём свидетельствует снижение уровня его метаболита,  $\alpha$ -аминоадипиновой кислоты, а также ослабление корреляции последней с глутаматом (табл.4). Как известно, катаболизм лизина играет важную роль в функционировании мозга: глутамат, треть которого в мозге синтезируется из лизина, регулирует нервную передачу [16]. Повышение уровня глутамата до контрольных значений с одновременным снижением его продукции из лизина может объясняться только другими путями его пополнения при ишемии (например, за счёт активации цистеинсульфинаттрансаминазы, как следствие торможения декарбоксилирования цистеинсульфината до таурина).

Анализ интегральных показателей АК пула показывает нормализацию введением таурина суммарного содержания нейротрансмиттерных и возбуждающих аминокислот, а также суммарного пула АК. В целом, предварительное введение таурина при СИГМ, несмотря на то, что он является тормозным нейромодулятором, сдвигает баланс возбуждающих и тормозных аминокислот-трансммиттеров в сторону первых.

Таблица 2. Интегральные показатели аминокислотного фонда коры больших полушарий крыс (нмоль/г) и их соотношения.

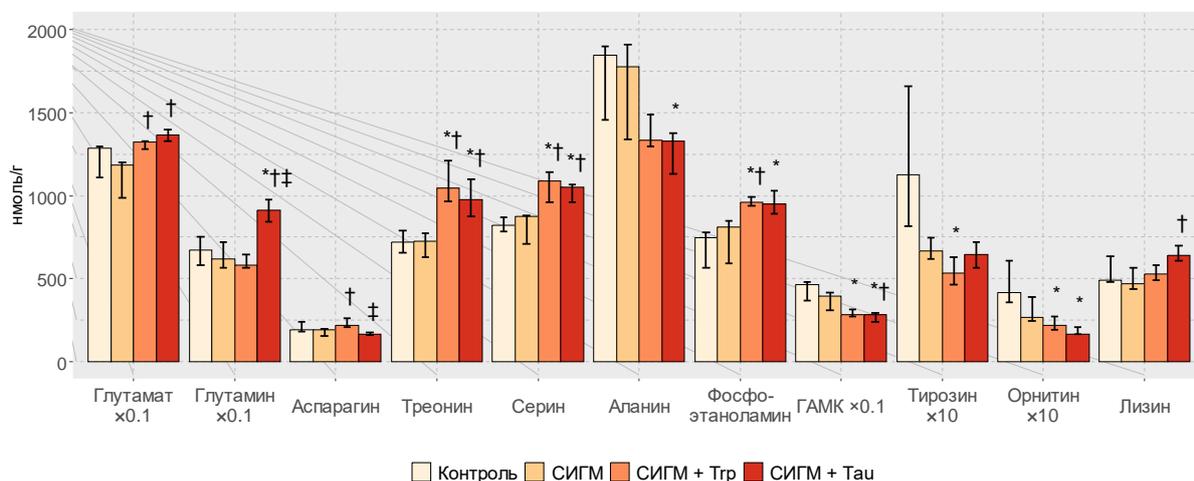
	Контроль	СИГМ	СИГМ + Trp	СИГМ + Tau
ААК	326 ± 16,6	265 ± 6,01*	257 ± 7,48*	243 ± 7,55*
АРУЦ	409 ± 17,7	410 ± 16,7	472 ± 15,5*†	444 ± 14,3
Заменяемые	29905 ± 592	27269 ± 535*	29874 ± 435†	31309 ± 581†
Незаменяемые	2078 ± 55,4	1989 ± 40,6	2350 ± 38,3*†	2221 ± 54,6†
Нейротрансмиттерные	32656 ± 644	29832 ± 538*	32277 ± 529†	32175 ± 696†
Возбуждающие	18380 ± 367	16325 ± 338*	18945 ± 363†	19125 ± 413†
Тормозные	14276 ± 421	13508 ± 356	13332 ± 292	13049 ± 345
АРУЦ/ААК	1,29 ± 0,062	1,55 ± 0,053*	1,86 ± 0,064*†	1,86 ± 0,073*†
Заменяемые / Незаменяемые	14,5 ± 0,307	13,7 ± 0,219	12,8 ± 0,223*	14,2 ± 0,326‡
Возбуждающие / Тормозные	1,3 ± 0,04	1,22 ± 0,034	1,43 ± 0,037†	1,48 ± 0,031*†
Суммарный пул АК	45142 ± 931	41729 ± 740*	44402 ± 620	45468 ± 850†
Суммарный пул протеиногенных АК	32163 ± 629	29423 ± 564*	32346 ± 454†	33653 ± 610†

Предварительное введение триптофана предотвращает снижение уровней глутамата и триптофана в коре больших полушарий ГМ при СИГМ. Также введение триптофана повышает уровни аспарагина, треонина, серина, лейцина, валина, глутатиона, фосфоэтаноламина,  $\alpha$ -аминоадипиновой и  $\alpha$ -аминомасляной кислот и снижает концентрации цитруллина, аргинина, аланина, гистидина, 1-метилгистидина, ГАМК и этаноламина (табл. 1). В то же время, триптофан не предотвращает снижения при СИГМ уровней тирозина, орнитина и лизина.

Сниженный при СИГМ уровень лизина, а также рост уровня его метаболита,  $\alpha$ -аминоадипиновой кислоты, может свидетельствовать об активации катаболизма лизина в коре ГМ при введении триптофана. Это, в свою очередь, объясняет повышение уровня глутамата до контрольных значений. Таким образом, несмотря на различные механизмы действия таурина и триптофана в коре ГМ, их общим эффектом является рост уровня глутамата.

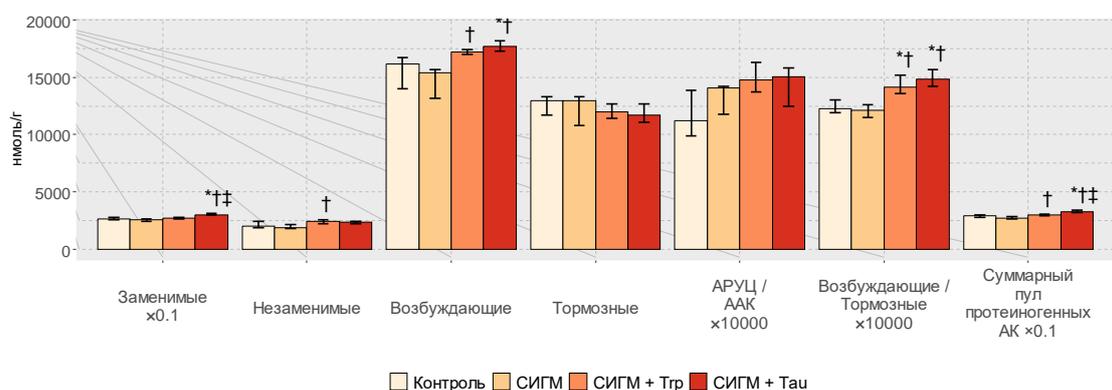
Введение триптофана нормализует пул незаменимых, нейротрансмиттерных и возбуждающих аминокислот, а также суммарный пул АК, вызывает повышение суммарного содержания АРУЦ, обусловленное, в первую очередь, ростом концентрации валина. Нормализация пула незаменимых и рост содержания заменимых АК обуславливает снижение соотношения заменимых и незаменимых компонентов АК пула. В целом введение триптофана сдвигает баланс возбуждающих и тормозных аминокислот-трансммиттеров в сторону первых, что обусловлено вышеупомянутым ростом глутамата.

Схожие изменения аминокислотного пула при предварительном введении таурина и триптофана наблюдаются и в мозжечке. При введении таурина отмечается рост концентраций глутамата, глутамин, треонина, серина, фосфоэтанолamina, лизина и снижение — аланина, ГАМК и орнитина (рис.1). Также повышается суммарное содержание заменимых и протеиногенных АК (рис.2). Введение триптофана имело схожее действие, за исключением отсутствия повышения уровней глутамин и лизина. Также триптофан способствовал снижению концентрации тирозина в мозжечке (рис. 1).



**Рисунок 1. Концентрация свободных аминокислот и родственных соединений в мозжечке крыс, нмоль/г**

Как при введении таурина, так и триптофана повышаются уровни возбуждающих АК в мозжечке, а также их соотношение к тормозными (рис. 2).



**Рисунок 2. Интегральные показатели аминокислотного фонда мозжечка крыс (нмоль/г) и их соотношения**

Примечание: на рис.1 и 2 приведены медианы и 95% доверительные интервалы

Корреляционный анализ уровней АК в мозжечке и зонах коры больших полушарий выявил ряд особенностей взаимоотношения тирозина и триптофана между этими отделами ГМ. Так, в контроле существует сильная корреляционная связь между уровнем тирозина в лобной зоне коры ГМ и его уровнем в мозжечке. Эта корреляция нарушается при СИГМ и только при введении триптофана восстанавливается. Одновременно, при введении триптофана возникает сильная корреляция между его уровнями в мозжечке и лобной зоне коры ГМ (табл.5). Всё это может быть признаком нарушения обменных процессов в ГМ при ишемии и нормализации их при введении триптофана.

Как в контрольной, так и в опытных группах не наблюдается существенной асимметрии в содержании свободных аминокислот в различных зонах коры больших полушарий ГМ (рис.3). Это отличается от результатов, полученных при моделировании СИГМ в течение 2 ч, где эта асимметрия была ярко выражена [4].

Таблица 4. Коэффициенты корреляций между уровнями аминокислот в коре больших полушарий

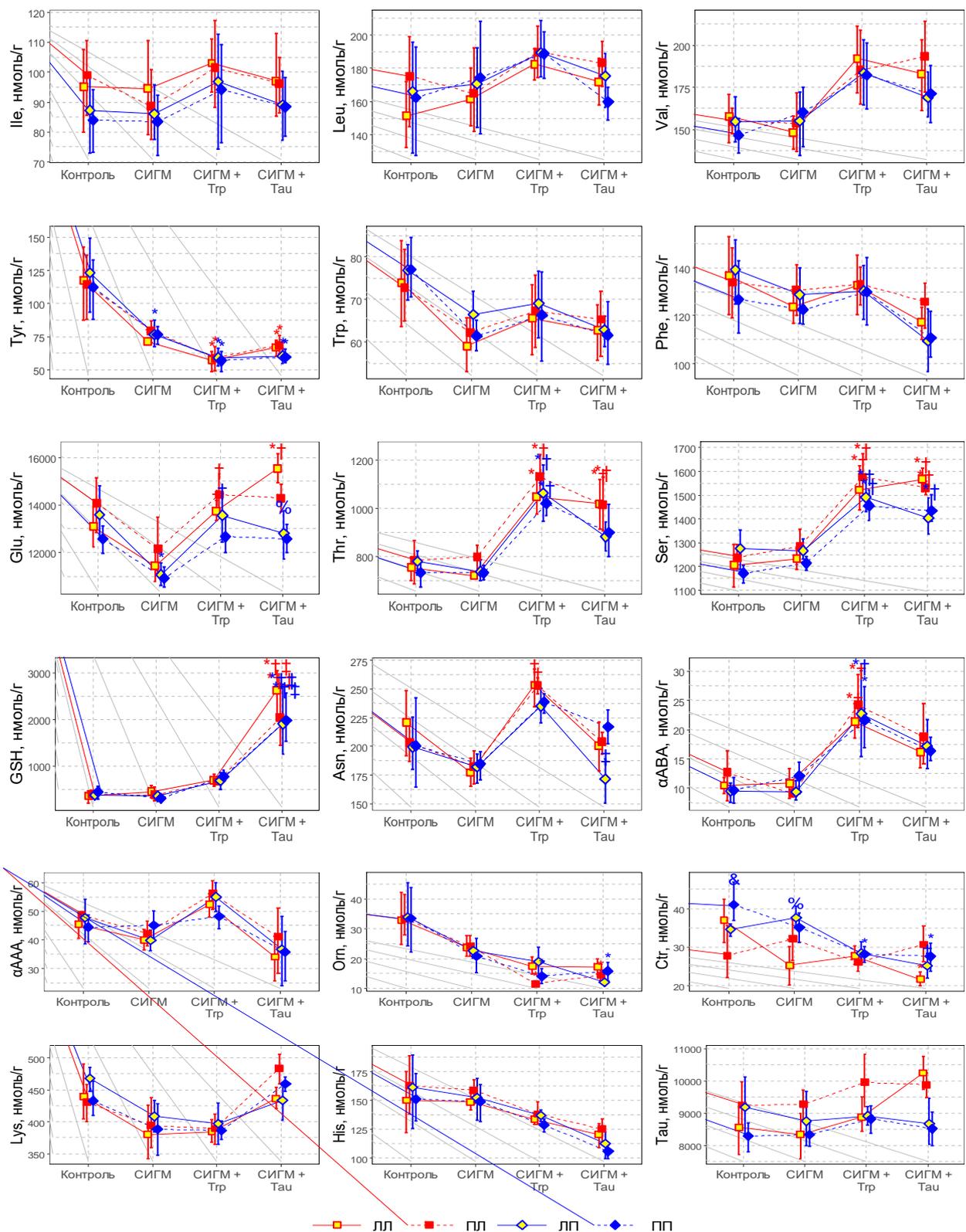
	Контроль	СИГМ	СИГМ + Trp	СИГМ + Tau
α-аминоадипинат - глутамат	0,68*	0,663*	0,777*	0,416
серин - глутамат	0,724*	0,761*	0,674*	0,859*
фосфоэтаноламин - глутамат	0,867*	0,768*	0,672*	0,781*
фосфоэтаноламин - серин	0,68*	0,707*	0,283	0,728*
таурин - серин	0,837*	0,624*	-0,0278	0,827*
таурин - фосфоэтаноламин	0,818*	0,773*	0,743*	0,883*

\* — P < 0,05

Таблица 5. Коэффициенты корреляций уровней тирозина и триптофана между мозжечком и корой больших полушарий

	Контроль	СИГМ	СИГМ + Trp	СИГМ + Tau	Контроль	СИГМ	СИГМ + Trp	СИГМ + Tau
	Trp				Trp			
М - ЛЛ	0,934*	-0,44	0,849 <sup>+</sup>	-0,389	0,473	-0,107	0,965*	0,16
М - ПЛ	0,794*	0,0741	0,946*	0,529	0,741	0,0734	0,937*	0,843 <sup>+</sup>

Здесь: М – мозжечок, ЛЛ, ПЛ – лобная зона правой/левой доли коры ГМ, \* — P < 0,05, + — P < 0,1



**Рисунок 3. Концентрация свободных аминокислот и родственных соединений в различных зонах коры больших полушарий крыс**

Примечание: значения представлены в виде среднего и 95% доверительного интервала.  
 ЛЛ / ПЛ – Лобная левая/правая зона, ЛП / ПП – Parietalная левая/правая зона

## **Выводы.**

1. Субтотальная ишемия ГМ вызывает обеднение пула свободных аминокислот коры ГМ, в том числе, снижение уровней глутамата, орнитина, лизина и ароматических аминокислот.

2. Введение как таурина, так и триптофана при СИГМ повышает в коре ГМ уровни треонина, серина, валина, снижает концентрации цитруллина, аргинина, аланина, гистидина, ГАМК и этаноламина, предотвращает снижение уровней глутамата.

3. Введение таурина снижает концентрацию фенилаланина и метионина, предотвращает снижение уровней глутамата и лизина при СИГМ.

4. Существенной асимметрии структуры пула свободных аминокислот в различных зонах коры ГМ через 1 час развития СИГМ, а также при введении таурина или L-триптофана на её фоне не наблюдается.

5. Введение как триптофана, так и таурина при СИГМ не меняет их уровни в мозжечке, вызывает рост уровней глутамата, глутамин, треонина, серина, фосфотаноламина, снижение — ГАМК и орнитина, а также повышение соотношения возбуждающих и тормозных нейротрансмиттеров.

## **ЛИТЕРАТУРА**

1. Башун, Н.З. Влияние дипептида глицил-пролин на метаболизм нейроактивных аминокислот и показатели энергетического метаболизма в больших полушариях мозга крыс при экспериментальной ишемии мозга / Н.З. Башун, Е.М. Дорошенко, Е.Ф. Радута, Ж.И. Балаш, Н.П. Канунникова, В.П. Голубович, А.Г. Мойсеенок // Нейрохимия. – 2013. – Т.30, № 1. – С.46-51.

2. Нефедов, Л.И. Биологическая роль таурина / Л.И.Нефедов // Вести АН Беларуси. – 1992. – № 3-4. – С. 99-106.

3. Раевский, К.С. Медиаторные аминокислоты. / К.С. Раевский, В.П. Георгиев — Москва: Медицина, 1986. – С. 240.

4. Разводовский, Ю.Е. Межполушарная асимметрия аминокислотного дисбаланса при ишемии головного мозга / Ю.Е. Разводовский, Э.И. Троян, В.Ю. Смирнов, М.Н. Курбат, Н.Е. Максимович // Актуальные проблемы медицины: материалы ежегодной итоговой научно-практической конференции (25-26 января 2018 г.). – Гродно, 2018. – С.653-656.

5. Разводовский Ю.Е. Применение таурина в комплексном лечении алкоголизма / Ю.Е. Разводовский, Е.М. Дорошенко, В.Ю. Смирнов, Л.И. Нефедов // Актуальные вопросы современной медицины. – Гродно, 2002. – С.327-330.

6. Brouns R. The role of tryptophan catabolism along the kynurenine pathway in acute ischemic stroke / R.Brouns // Neurochemistry Research. – 2010. – V.35, Iss.9. – P. 1315-1322.

7. Chen, W.Q. Role of taurine in regulation of intracellular calcium level and neuroprotective function in cultured neurons / W.Q.Chen et al. // J. Neurosci. Res. – 2001. – V.66. – P.612–619.

8. Chen, W. Mode of Action of Taurine. Ph.D Thesis, University of Kansas, Lawrence, KS, USA, 2000.

9. El Idrissi, A. Taurine increases mitochondrial buffering of calcium: Role in neuroprotection / A. El Idrissi // *Amino Acids*. – 2008. – V.34. – P.321–328.
10. French, E.D. Anti-excitotoxic actions of taurine in the rat hippocampus studied in vivo and in vitro / E.D.French, A.Vezzani, W.O.Whetsell, R.Schwarcz // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1986. – V.203. – P.349–362.
11. Hajsl M. Tryptophan Metabolism, Inflammation, and Oxidative Stress in Patients with Neurovascular Disease / M.Hajsl et al. // *Metabolites*. – 2020. – V.10, 208. – P.1-19.
12. Kang Y.S. Taurine transport mechanism through the blood-brain barrier in spontaneously hypertensive rats / Y.S.Kang // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2000. – V.483. – P.321–324.
13. Mangge H. Disturbed Tryptophan Metabolism in Cardiovascular Disease / H.Mangge et al. // *Medicine Chemistry*. – 2014. – V.21, Iss.17. – P. 1931-1937.
14. Ormstad H. Inflammation-Induced Catabolism of Tryptophan and Tyrosine in Acute Ischemic Stroke / H.Ormstad et al. // *Journal of Molecular Neuroscience*. – 2013. – V.51, Iss.3. – P. 893-902.
15. Roth W. Tryptophan Metabolism and Gut-Brain Homeostasis / W.Roth et al. // *International Journal of Molecular Science*. – 2021. – V.22(6), 2973. – P.1-23.
16. Papes F. The essential amino acid lysine acts as precursor of glutamate in the mammalian central nervous system / F. Papes et al. // *FEBS Lett.* – 2001. – V.488, Iss.1-2. – P.34-38.
17. Wu, H. Mode of action of taurine as a neuroprotector / H.Wu, Y.Jin, J.Wei, H.Jin, D.Sha, J.-Y.Wu // *Brain Res.* – 2005. – V.1038, Iss.2. – P.123–131.
18. Wu, J.-Y. Mechanism of neuroprotective function of taurine / J.-Y.Wu et al. // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2009. – V.643. – P.169–179.

## **НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОБЕСПЕЧЕНИЯ АМИНОКИСЛОТАМИ В ПЕРИОДЕ НОВОРОЖДЕННОСТИ**

**Шейбак Л.Н., Юркевич Е.А.<sup>1</sup>**

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,*

<sup>1</sup> *УЗ ГК БСМП, отделение новорожденных,  
г. Гродно, Республика Беларусь*

Интенсивный рост ребенка и синтез белков требуют положительного баланса аминокислот. На стадии созревания организма и при некоторых заболеваниях понятие незаменимости аминокислот может различаться. Пищевые белки и аминокислоты выполняют важнейшие регуляторные функции в организме, помимо своей традиционно известной функции – синтез белка. Потребность организма в аминокислотах может влиять на перевод некоторых из них в разряд незаменимых. Наибольшая потребность в аминокислотах отмечается в неонатальный период. Имеет место промежуточный пик интенсивности белкового обмена первые 2 недели жизни, который постепенно снижается по мере взросления [1,2,3,5].

Дефицит аминокислот, помимо отрицательных последствий для роста и накопления белка, может приводить к таким неблагоприятным последствиям, как снижение в плазме инсулиноподобного фактора роста, нарушениям деятельности клеточных транспортеров глюкозы и, следовательно, гипергликемии, гиперкалиемии, энергетическому дефициту клетки.

Для периода новорожденности характерно: повышенная потребность в цистеине и метионине, повышенная значимость таурина для развития сетчатки и всасывания жирных кислот, высокая потребность в аминокислотах с разветвленной цепью (лейцин, изолейцин, валин), способствующих созреванию ЦНС и развитию нормальной стрессовой реакции [1,2].

Принято считать, что млекопитающие могут синтезировать достаточное количество всех заменимых аминокислот, и не нуждаются в их дополнительном поступлении с пищей. Однако новорожденные дети не всегда могут синтезировать достаточное количество ряда заменимых аминокислот для поддержания жизнеспособности, оптимального роста в неонатальный период, а также сохранения функциональной способности сердечно-сосудистой системы и кишечника.

У новорожденных детей понижена активность фермента фенилаланин-гидроксилазы, обеспечивающего превращение в печени фенилаланина в тирозин. По этой причине использование у детей лекарственных препаратов без учета особенностей аминокислотного обмена приводит к избытку фенилаланина и дефициту тирозина в организме. Избыток фенилаланина может оказывать нейротоксическое действие, особенно у недоношенных детей [3, 5].

Показано, что глутамин и аргинин повышают жизнеспособность, рост и развитие новорожденного, а также восстановление клеток кишечника и их функцию. Добавки таких аминокислот, как глутамин, аргинин, N-ацетилцистеин, улучшают антиоксидантную защиту и иммунную функцию у человека. Доказано, что считающиеся традиционно заменимыми аминокислотами, глутамин и аргинин, играют важную роль в регуляции экспрессии генов, как на уровне транскрипции, так и на пост-трансляционном, уровне [4, 5].

Маркером активности биосинтеза белка может служить гипофосфатемия и гипокалиемия у новорожденных с экстремально и очень низкой массой тела при рождении. У этой группы детей определяется повышенный поток фосфатов и калия во внутриклеточные компартменты для продукции энергии, а также для синтеза гликогена, липидов и белка. Повышенная потребность в аминокислотах у недоношенных детей ассоциируется с высокой эндогенной продукцией инсулина.

В организме новорожденного ребенка таурин может синтезироваться в небольших количествах из цистеина, и для данного возраста таурин считается незаменимой аминокислотой. Данная аминокислота участвует в очень важных физиологических процессах у детей, в частности, в регуляции входящего кальциевого потока, возбудимости нейронов, стабилизации мембран. Дальнейшая потребность ребенка в таурине возмещается, как за счет поступления с пищей, так и путем его биосинтеза из метионина и цистеина.

Женское молоко представляет собой единственный белковый раствор, в котором соотношение метионин/цистеин близко к 1. Таурин способствует развитию сетчатки глаза и всасыванию жирных кислот длинной цепи без участия желчных кислот. Присутствие таурина в грудном молоке и преимущественное содержание тауриновых конъюгатов в кишечнике после рождения указывает, что статус конъюгированных желчных кислот может быть контрольным фактором. Показано, что у новорожденных детей на грудном вскармливании более высокая концентрация внутрикишечных желчных кислот [1, 3, 4].

У новорожденных детей желчные кислоты в основном конъюгируются с таурином, но, в дальнейшем, быстро развивается способность к конъюгации с глицином. Эта особенность наиболее быстро развивается при искусственном вскармливании. Доказано влияние таурина на развитие организма, однако истинная потребность в нем для новорожденного остается пока нерешенной проблемой. Нами показано, что использование таурина у матерей в период беременности повышало содержание данной аминокислоты в 3-4 раза в сыворотке пуповинной крови [1, 2].

По данным литературы, транспорт таурина плацентой от матери к плоду является активным процессом, благодаря которому концентрация его у плода всегда выше, чем у матери. Наблюдалось улучшение общесоматического статуса в ранний неонатальный период у новорожденных детей при использовании у них таурина в виде глазных капель в течение первой недели жизни [1, 3, 4, 5].

Мы проследили динамику содержания свободных аминокислот и их производных в сыворотке венозной крови у 24 доношенных новорожденных детей на 5-6 и 10-12 сутки жизни. Выявили достоверное снижение к 5-6 суткам жизни основных гликогенных аминокислот (глутамат, аспартат, глицин) одновременно с уменьшением содержания незаменимых аминокислот (треонин, валин, метионин, лейцин, фенилаланин). В результате чего значительно повышалось соотношение заменимые/незаменимые аминокислоты [1, 2]. Вероятно, у доношенных новорожденных детей имеет место интенсификация процессов глюконеогенеза и общая катаболическая направленность обмена веществ в ранний неонатальный период.

Незрелость ферментативных систем, поражение печени, почек, хронические воспалительные заболевания кишечника являются основными причинами недостаточного эндогенного синтеза функционально значимых заменимых аминокислот. Очевидно, что добавки отдельных аминокислот или аминокислотных композиций, обладающих выраженными регуляторными свойствами, поможет достигнуть максимально адекватного роста и развития, особенно в раннем возрасте. Адекватная обеспеченность функциональными аминокислотами способствует предупреждению развития ряда патологических состояний (ожирения, сахарного диабета, некротического энтероколита, задержки внутриутробного развития) как у животных, так и у человека.

Следует отметить, что у новорожденных млекопитающих, включая человека, имеется сниженная способность к реабсорбции в почках

профильтовавшихся аминокислот, что может проявляться в аминокацидурии. Это несколько противоречит потребности развивающегося организма и высокой способности почечной ткани новорожденных к задерживанию аминокислот внутри клеток. При этом аминокацидурия не была связана с повышенной концентрацией аминокислот в плазме крови. В частности, у новорожденных животных тауринурия имеет место на фоне гипотауринемии. К концу 1-го месяца жизни выделение таурина с мочой нормализуется. Одновременно с этим, у новорожденных детей и животных в значительных количествах теряются с мочой пролин, оксипролин, глицин, двухосновные аминокислоты [3,4,5].

При проведении парентерального питания у новорожденных детей рекомендуется использовать специализированные растворы аминокислот, наиболее адаптированные по составу для раннего возраста. В противном случае при использовании аминокислот, предназначенных для взрослых, ребенок не получает в достаточном количестве такие аминокислоты, как глутамин, валин, серин, тирозин, цистеин, таурин, что негативно сказывается на физическом и нервно-психическом развитии детского организма. Использование аминокислот при проведении парентерального питания в первые дни после рождения, адаптированных для недоношенных новорожденных детей, позволяет прогрессивно увеличить потребление азота без индукции опасных уровней некоторых аминокислот в плазме [2].

Традиционно считается, что грудное молоко обеспечивает поступление адекватного количества аминокислот для новорожденного. Аминокислоты грудного молока представлены в белках и пептидах, а также, в небольшом количестве, в виде свободных аминокислот и глюкозаминов. Очень много содержится в грудном молоке аминокислот с разветвленной углеродной цепью, но их уровень значительно зависит от диеты матери.

Метаболизм аминокислот в клетках кишечника оказывает выраженное воздействие на питание и состояние здоровья новорожденных. Катаболизм глутамин, глутамата и аспартата обеспечивает значительное количество АТФ для поддержания функции клеток кишечника. Поскольку повышенное содержание таких аминокислот, как глутамин, глутамат и аспартат, в плазме крови оказывает нейротоксический эффект, их интенсивный катаболизм тонким кишечником необходим для сохранения гомеостаза в организме, при изменении состава рациона [3,5].

К функционально-важным для новорожденных аминокислотам относятся серин и глицин. При этом 81% серина грудного молока используется для биосинтеза белка. Значительная часть, до 90%, глицина синтезируется из различных предшественников, что обеспечивает высокую скорость его утилизации и поддерживает биосинтез белка, креатинина, метилентетрагидрофолата, нуклеотидов и других азотсодержащих продуктов. Нами выявлена корреляционная зависимость между уровнем гликемии в сыворотке пуповинной крови и содержанием глицина ( $r=0,36$ ), что является вполне логичным, поскольку глицин у плода является одной из основных гликогенных аминокислот. Наличие достоверных корреляционных связей

между уровнем гликемии и содержанием ряда незаменимых аминокислот в сыворотке пуповинной крови, лейцина ( $\gamma=0,39$ ) и фенилаланина ( $\gamma=0,36$ ), указывает на существование метаболических взаимосвязей и активацию процессов глюконеогенеза при рождении ребенка [1,2].

Таким образом, учитывая значимость обеспечения аминокислотами в период максимального напряжения метаболизма, каким является перинатальный период, следует максимально эффективно проводить коррекцию их баланса. При использовании различных вариантов питания у новорожденных полагается учитывать возрастные особенности потребности в аминокислотах и наиболее эффективные пути их поступления в организм. Многие из заменимых аминокислот являются функционально значимыми у новорожденных, и потребность в них не может быть полностью обеспечена только путем эндогенного синтеза.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Шейбак Л.Н., Каткова Е.В., Афанасьева Т.И. Содержание свободных аминокислот в сыворотке пуповинной крови у недоношенных новорожденных детей // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2012. – Т.23, №5. – С.585-588.
2. Шейбак Л.Н. Особенности обеспечения и потребность в аминокислотах в периоде новорожденности. // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2015. – Т.14, №2. – С.23-30.
3. Lambert I.H., Kristensen D.M., Holm J.B., Mortensen O.H. Physiological role of taurine--from organism to organelle // Acta Physiol. – 2015. – V.213. – P.191–212.
4. Tochitani S. Taurine: a maternally derived nutrient linking mother and offspring // Metabolites. – 2022. – M.12, №3. – P.228.
5. Tochitani S. Functions of maternally-derived taurine in fetal and neonatal brain development // Adv. Exp. Med. Biol. – 2017. – V.975. – P.17–25.

### КИШЕЧНЫЙ БАРЬЕР И ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЕГО ПРОНИЦАЕМОСТЬ

**Шейбак В.М., Павлюковец А.Ю.**

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,*

*<sup>1</sup>УЗ ГК БСМП, отделение новорожденных,*

*г. Гродно, Республика Беларусь*

Кишечный барьер представляет собой функциональное образование, отделяющее просвет кишечника от внутренней среды организма. Проницаемость является функциональной характеристикой, измеряемой путем анализа скорости потока через стенку кишечника в целом или через компоненты барьера. Существует два основных пути транспорта веществ через кишечный барьер: трансцеллюлярный путь, включающий трансмембранный

перенос, опосредованный переносчиками, эндоцитоз, а также парацеллюлярный путь. Последний регулируется соединительными комплексами, группой белков плотных контактов, адгезивных контактов, десмосом и щелевых контактов [1]. Белки плотных контактов играют ключевую роль в проницаемости кишечного барьера. Они состоят из трех групп трансмембранных белков (семейства клаудинов, белков, содержащих домен MARVEL, и суперсемейства иммуноглобулинов), которые взаимодействуют с актомиозиновым кольцом цитоскелета [2].

У взрослого человека кишечный эпителий образует монослой клеток, покрывающий площадь около 250–300 м<sup>2</sup>. Тонкая кишка организована в виде единиц крипта-ворсинка. В основании каждой ворсинки инвагинации образуют крипты, в которой находятся кишечные стволовые клетки. Эпителий тонкой и толстой кишки обновляется каждые 5–6 дней за счет митотического деления стволовых клеток и ранних транзитно-амплифицирующихся клеток-предшественников. Под эпителием находится сосудистая и лимфатическая сеть, необходимая для транспорта питательных веществ и насыщения тканей кислородом. Кроме того, оксигенация кишечной ткани регулируется люминальными источниками кислорода, локальным метаболизмом и васкуляризацией кишечника [3].

Кишечный барьер млекопитающих состоит из нескольких слоев. Внешний - слизь, которую можно разделить на просветную и пристеночную, микробиота кишечника, обитающая, главным образом, в пристеночном слое и защитные белки, такие как антимикробные пептиды и секреторный IgA. Клетки кишечника составляют средний слой, а внутренняя часть барьера в основном представлена клетками иммунной системы [4].

Поверхность слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта покрыта муцином, который продуцируется бокаловидными клетками. В тонком кишечнике компоненты микробиоты контактируют с эпителиальными клетками верхушек ворсинок. Слой слизи тонкий и более проницаем для бактерий и токсинов в тонком кишечнике. В толстом кишечнике микробиота колонизирует наружный пристеночный слой слизи, минимально вступая в контакт с эпителиальными клетками. Многие клетки кишечника секретируют защитные антимикробные пептиды [5].

**Энтероциты** представляют собой гиперполяризованные эпителиальные клетки, соединенные друг с другом белками плотных контактов и составляют примерно 80% клеток эпителиального слоя кишечника. Основной функцией энтероцитов является абсорбция и метаболизм нутриентов, секреция антимикробных соединений, а также формирование физического барьера.

**Бокаловидные клетки** синтезируют муцины и разбросаны по всей поверхности ворсинки, вплоть до средней части крипты. Основной аминокислотой необходимой для синтеза муцинов является треонин. Количество бокаловидных клеток увеличивается по ходу кишечника и составляет примерно 4-12% всех эпителиальных клеток.

**Клетки Панета** продуцируют широкий спектр антимикробных соединений, регулируя численность и качественный состав микробных

популяций в кишечнике. Основной функцией является синтез антимикробных пептидов, которые накапливаются и при появлении патогенов высвобождаются в просвет крипт. В их число входят лизоцим,  $\alpha$ -дефензины и катепсин G. Антимикробные соединения не позволяют патогенам размножаться в криптах и предотвращают воспаление. Клетки Панета располагаются в нижней трети крипт и составляют 3,3-6,6% клеток.

**Пучковые клетки** - сигнальные хемосенсорные клетки, которые контролируют просвет кишечника на наличие вредных или инфекционных агентов. Их основной функцией является продукция ИЛ-25, который активирует лимфоидные клетки врожденного иммунитета 2 типа, секретирующие ИЛ-13, что индуцирует накопление в ткани эозинофилов и переключение В-лимфоцитов на синтез IgE, что, в свою очередь, способствует гиперплазии бокаловидных клеток и повышению продукции муцина, особенно при паразитарных заболеваниях. Пучковые клетки составляют ~ 0,5% клеток в тонком и толстом кишечнике.

**Энтероэндокринные клетки**, обособленные интраэпителиальные клетки, встречаются на всём протяжении кишечника. Энтероэндокринные клетки продуцируют кишечные гормоны: глюкагоноподобный пептид 1, холецистокинин и глюкозозависимый инсулинотропный полипептид, которые быстро секретируются после приема пищи в кровоток. Глюкагоноподобный пептид индуцирует синтез белков плотных контактов, такие как *zonula occludens-1* (ZO-1), который ослабляет вызванные ФНО- $\alpha$  изменения проницаемости в толстом кишечнике, а также усиливает пролиферацию эпителиальных клеток. В тонком кишечнике их больше в криптах, чем в ворсинках и в целом они составляют ~ 0,5% всех клеток кишечника.

**Микроскладчатые клетки** (М-клетки) является составной частью фолликуло-ассоциированного эпителия, который покрывает просветные поверхности пейеровых бляшек]. Эпителий в области пейеровой бляшки содержит 5–10% М-клеток. М-клетки в отличие от соседних энтероцитов имеют меньший объем цитоплазмы. Они участвуют в воспалительных реакциях путем захвата антигенов из просвета и транспортируют их в пейеровы бляшки посредством трансцитоза, что необходимо для модуляции секреции IgA.

**Пейеровы бляшки** являются локусами индукции IgA-положительных плазматических клеток и регулируют передачу сигналов иммунным клеткам.

Основная функция кишечного эпителиального барьера заключается в защите хозяина от просветных антигенов, патогенов и токсинов. В частности, трансклеточная проницаемость, участвующая в транспорте растворенных веществ через эпителиальные клетки, обеспечивается селективными транспортерами аминокислот, электролитов, короткоцепочечных жирных кислот и сахаров. Парацеллюлярная проницаемость осуществляется через комплексы межклеточных соединений, включающие слипчивые соединения (AJ), плотные соединения (TJ) и десмосомы. Эти трансмембранные белки, локализованные как на границе апикально-латеральной мембраны, так и вдоль латеральной мембраны, осуществляют контакт между соседними клетками, тем самым герметизируя межклеточные пространства. AJ (например, катенины,

кадгеринны) и десмосомы (например, десмоглеин, десмоколлинны) осуществляют механическую связь соседних клеток, в то время как TJ (например, ZO-1, клаудин-2, окклюдины) образуют апикальное соединение, действующий комплекс, который запечатывает межклеточное пространство и модулирует селективную парацеллюлярную проницаемость [1].

Кишечный барьер разделяет микробиом кишечника и внутреннюю среду макроорганизма. Что касается человека и животных, в настоящее время формируется понимание того, что существует тонкое взаимодействие между кишечником и печенью, кишечником и ЦНС, кишечником и нейроиммуногормональным статусом макроорганизма. Огромный генетический потенциал микробиоты кишечника позволяет ей продуцировать сотни метаболитов и белков, которые модулируют развитие иммунной системы, переваривание питательных веществ, поддержание энергетического гомеостаза и влияют на функциональное состояние ЦНС. Некоторые бактериальные метаболиты играют важную роль в регуляции функций клеток кишечника и поддержании эпителиального барьера кишечника [6].

Метаболизм аминокислот кишечной микробиотой высвобождает многочисленные метаболиты в просвет кишечника. Эти биологически активные соединения являются ключевыми молекулярными промежуточными звеньями между микробиотой и ее хозяином. Подобно углеводам, аминокислоты могут служить предшественниками для производства основных короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), включая ацетат и бутират, которые являются хорошо известными регуляторами состояния кишечника. Более того, некоторые КЦЖК производятся исключительно из аминокислот (изобутират, изовалерат, 2-метилбутират), но их влияние на здоровье кишечника подробно не изучалось. Недавние исследования выявили благотворное влияние на состояние кишечника бактериальных метаболитов, полученных из триптофана (индольных соединений).

Катаболизм аминокислот микробиотой кишечника также приводит к образованию аминов и полиаминов, таких как путресцин, кадаверин и 5-аминовалерат. Влияние этих метаболитов на кишечник оказывает как положительные, так и отрицательные эффекты. Так, распад аминокислот микробиотой может высвобождать токсичные соединения, такие как аммиак, полученный в результате дезаминирования, сероводород, полученный из цистеина, и п-крезол, полученный из тирозина [7].

КЦЖК обеспечивают регуляцию экспрессии клеток кишечника и кишечный гомеостаз. Пропионат может способствовать миграции, обновлению и восстановлению эпителия за счет повышения скорости регенерации и повышения жизнеспособности клеток. Бутират может усиливать экспрессию генов, связанных с арилуглеводородным рецептором (AhR), за счет изменения активности гистондеацетилаз (бутират является лигандом AhR в эпителиальных клетках кишечника). Бутират, образуемый микробиотой, подавляет экспрессию гексокиназы 2 и снижает митохондриальное дыхание, что подавляет процессы воспаления в ЖКТ. Повышенная доступность КЦЖК

снижает проницаемость кишечного барьера, в том числе путем активации ряда сигнальных путей, таких как mTOR, STAT3 и AhR [8].

Доказано, что метаболиты триптофана, продуцируемые микробиотой, улучшают барьерную функцию кишечника. Микробиота кишечника может использовать триптофан в качестве предшественника для большого количества микробных метаболитов, и примерно 4–6% триптофана метаболизируется в индол, индикан, триптамин, скатол и производные индоловой кислоты [9]. Триптофан может быть преобразован в индол с помощью триптофаназы, которая экспрессируется в *Escherichia coli* и *Lactobacilli*, или в триптамин с помощью триптофандекарбоксилазы, обнаруженной в *Clostridium sporogenes*. Он также может быть преобразован в индолуксусную кислоту или в индолпропионовую кислоту с участием фениллактатдегидратазы, обнаруженной в *C. sporogenes*, *Peptostreptococcus anaerobius* CC14N и трех штаммах *Clostridium cadaveris*.

Многие производные индола являются лигандами для AhR. Передача сигналов AhR имеет решающее значение для гомеостаза кишечника, поскольку она влияет на обновление эпителия, целостность барьера и активность иммунных клеток. AhR опосредует активацию врожденных лимфоидных клеток 3 типа для продукции IL-22, который играет важную роль в поддержании слизистого барьера и регуляции метаболических функций хозяина. Индолпропионовая кислота индуцирует рецептор IL-10, активируя AhR, тем самым оказывая противовоспалительное действие на слизистую оболочку кишечника и тормозит эффекты ЛПС. Метаболизм триптофана микробиотой кишечника снижается при потреблении жирной пищи и у пациентов с метаболическим синдромом, а добавление штамма *Lactobacillus*, продуцирующего лиганды AhR, приводит к улучшению метаболического статуса [10].

Индолацетат укрепляет кишечный барьер за счет увеличения количества продуктов секреции бокаловидных клеток и муцинов (MUC2 и MUC4). Кроме того, индол-3-этанол, индол-3-пируват и индол-3-альдегид, могут защищать кишечный барьер, поддерживая соединительный комплекс и связанные с ним регуляторные белки и эти эффекты опосредованы AhR. Производные индола защищают и восстанавливают кишечный барьер от повреждения, препятствуя трансэпителиальной бактериальной транслокации посредством передачи сигналов интерферона I типа (IFN1) при реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Индол может также усиливать экспрессию молекул, связанных с клеточными соединениями (клаудины, окклюдины), путем активации X-рецептора прегнана (PXR).

Индолпропионовая кислоты действует как лиганд для PXR. In vivo сигналы PXR регулируют целостность слизистой оболочки через толл-подобный рецептор 4. Индол и индолальдегид также могут активировать энтероэндокринные клетки. Триптамин, продуцируемый кишечной микробиотой, активирует кишечный рецептор серотонина GPCR-4 (5-HT4R), повышая уровень цАМФ и стимулируя секрецию жидкости в толстой кишке. В

совокупности метаболиты Trp, продуцируемые микробиотой, могут повышать барьерные функции кишечника [9].

Микробные метаболиты тирозина, фенилаланина и триптофана имеют общий путь декарбоксилирования с образованием аминов, включая фенилэтиламин, тирамин и триптамин, соответственно. Тирамин и триптамин являются лигандами с высоким сродством к рецептору, который экспрессируется в желудке, нейроэндокринных клетках кишечника и  $\beta$ -клетках поджелудочной железы и регулирует энергетический обмен и модулирует иммунный гомеостаз. Дезаминотирозин (4-гидроксифенилпропионовая кислота) представляет собой продукт микробного метаболизма тирозина и флавоноидов. Он защищает хозяина от заражения вирусом гриппа, усиливая сигналы IFN I типа [11].

В желудочно-кишечном тракте человека существует уникальный кислородный градиент. Эпителиальные клетки, выстилающие слизистую оболочку кишечника, существуют в среде с относительно низким  $pO_2$ . Оно резко падает вдоль радиальной оси от подслизистой оболочки кишечника к просвету, где обитают триллионы анаэробных микробов. Отличительной особенностью просвета толстого кишечника является низкая концентрация кислорода, при которой облигатная анаэробная микробиота метаболизирует неперевариваемые углеводы в КЦЖК, которые могут быть использованы колоноцитами в качестве источника энергии. Синтезируемый микроорганизмами бутират активирует митохондриальное  $\beta$ -окисление, которое вносит вклад в создание анаэробных условий в толстом кишечнике. Низкое содержание  $O_2$  не только способствует выработке КЦЖК, но и предъявляют необычные метаболические требования к эпителию толстой кишки. При ряде патологических состояний равновесие между процессами  $\beta$ -окисления и гликолиза нарушается, что ведет к увеличению диффузии кислорода в просвет кишки. При повышении концентрации кислорода усиливается рост факультативной анаэробной микрофлоры, что является одним из признаков дисбиоза [12]. Эпителий толстой кишки уникально адаптирован к этой среде и клеточное программирование «физиологической гипоксией» регулирует функцию кишечного барьера. Бутират стабилизирует и активирует гипоксия-индуцибельный фактор, что снижает проницаемость эпителиального барьера в толстом кишечнике.

Параметрами, характеризующими состояние кишечника, являются высота ворсинок (VN), глубина крипт (CD) и соотношение VN/CD (VCR). Увеличение VN может привести к большей абсорбционной способности, тогда как снижение CD указывает на снижение метаболических затрат на обновление эпителия. Таким образом, более высокое значение CD предполагает более быстрое обновление эпителия ворсинок по мере необходимости в ответ на воспаление. Увеличение глубины крипт указывает на повышенную пролиферацию энтероцитов, увеличение площади поверхности ворсинок, повышенную секрецию муцина (поскольку бокаловидные клетки в основном присутствуют в криптах). Снижение VN и увеличение CD или снижение VCR в тонкой кишке связано с атрофией ворсин, что, в свою очередь, приведет к

снижению специфической активности ферментов щеточной каемки. Состояние кишечника характеризуется четырьмя взаимосвязанными характеристиками: эпителиальной барьерной функцией и абсорбцией иммунной устойчивостью, стабильностью при окислительном стрессе и балансом микробиоты.

Таким образом, хорошими маркерами для мониторинга эпителиального барьера и пищеварения являются: высота ворсинок, экспрессия генов и/или уровень белка в плотных соединениях, количество бокаловидных клеток или муцинов, активность пищеварительных ферментов, переносчики питательных веществ, пролиферация клеток, возникновение диареи, кишечная проницаемость, клеточный апоптоз.

Аминокислоты являются мощными регуляторами морфологии кишечника. Добавки глутамин могут снижают апоптоз энтероцитов, увеличивают VH, снижают CD и, как следствие, повышается VCR). Добавление в рацион питания глутамата (2%) повышало массу слизистой тощей кишки и барьерную функцию. Биосинтез аргинина в кишечнике может тормозить недостаточное потребление других аминокислот (например, глн, глу и про). Добавление 0,6% аргинина к рациону увеличивало VH в тонком кишечнике поросят.

Серосодержащие аминокислоты, такие как метионин (мет) и цистеин (цис), также улучшают морфологию кишечника [13]. Наблюдали более высокую VH в тощей кишке и более глубокие CD в двенадцатиперстной кишке, а также увеличение VCR во всех отделах тонкой кишки у поросят, получавших Met. Добавки мет снижали окислительный стресс и улучшали продукцию GSH в клетках слизистой оболочки. Известно, что кишечник поросят использует 25% поступающего с пищей цис на синтез GSH.

Треонин (тре) с высокой скоростью утилизируется в кишечнике, поскольку является основным компонентом муцинов (40% гликопротеинов слизи) [13]. Добавки тре улучшают морфологию кишечника, что отражается в VH, CD и VCR. При добавлении в пищу тре плотность бокаловидных клеток в ворсинках и криптах тощей кишки также увеличивалась. Дефицит или избыток тре в рационе оказывает неблагоприятное воздействие на синтез белков слизистой оболочки кишечника. Пищевые добавки триптофана снижали потребление корма и рост поросят, но улучшали VCR в тонком кишечнике. Пищевые добавки аспартата (0,5-1,0%) положительно влияли на проницаемость кишечного барьера после введения ЛПС. Пероральное введение пролина (25 мг/кг массы тела) повышало массу слизистой оболочки, морфологию кишечника, а также экспрессию белков плотных соединений и функцию калиевых каналов.

Аминокислоты являются модуляторами микробиоты. Исследования *in vitro*, основанные на отдельных штаммах и смешанном микробном сообществе, показали, что аминокислоты могут регулировать состав и активность кишечной микробиоты. Так, добавление 0,4% триптофана в течение 4 недель увеличивало количество лактобацилл и клостридий в тощей кишке. Показатели альфа-разнообразия также были повышены в ответ на добавление триптофана поросятам. Добавка триптофана увеличила популяцию полезных бактерий

(энтерококков, бифидобактерий и лактобацилл) и уменьшила популяцию патогенных бактерий (клостридий, энтеробактерий и кампилобактеров) в пищеварительной системе слепой кишки, что свидетельствует о положительном эффекте этой АК на микробный баланс. Добавка 1,0% аргинина в течение 60 дней свиньям увеличила количество *Canobacteria*, а в сочетании с 1,0% лейцином увеличила количество *Bacteriodes* и уменьшила *Clostridium*, *Terrisporobacter* и *Escherichia-Shigella* в толстой кишке. У свиноматок добавление аргинина увеличивало как семейство *Bacteroidaceae*, так и род *Bacteroides* в фекалиях. Добавление аргинина может уменьшить повреждение кишечника и нормализовать микробиоту подвздошной кишки при заражении *S. Perfringens* [14].

Нарушения метаболизма, как правило, сопровождаются окислительным стрессом. Показана корреляция между окислительным стрессом и снижением видового разнообразия микробиоты кишечника. АФК активируют перекисное окисление липидов, что приводит к разрушению клеточных мембран и выходу лизосомальных ферментов из клеток в межклеточное пространство и повреждению тканей. АФК не только инактивирует белки, необходимые для клеточных функций, но также вызывает ряд внутриэпителиальных реакций, которые приводят к нарушению целостности кишечного барьера.

Таким образом, клетки кишечника представлены широким набором функционально различающихся клеток. Эти клетки задействованы в контакте с нутриентами (энтероциты и М-клетки), выполняют защитную роль (клетки Панета и пучковые клетки), являются представителями иммунной и нервной системы. Благодаря разнообразию метаболитов, которые образуются в результате пищеварительных процессов, синтезируются кишечной микробиотой или являются чужеродными для организма, они способны взаимодействовать со своими специальными рецепторами. Благодаря этому кишечник выполняет интегративную роль, которая обеспечивает взаимодействие организма с окружающей средой. Очевидно, что изменение проницаемости кишечного барьера будет выполнять негативную роль, нарушая гомеостатическое равновесие между факторами внешней среды и организмом.

Изменения в формировании/распределении межклеточных соединительных комплексов в ответ на пищевые факторы и бактериальные инфекции, могут приводить к нарушению кишечного эпителиального барьера и перемещению содержимого просвета в *lamina propria*, что приводит к неконтролируемым иммунным/воспалительным реакциям и к патологическим состояниям [15].

Ряд пищевых факторов могут способствовать повышению проницаемости кишечника и вызывать/усиливать патологические состояния. Например, глютен, который, в дополнение к его негативному влиянию на целостность барьера и функцию TJ при глютеновой болезни, может активно способствовать нарушению регуляции барьерной функции кишечника. У мышей, получавших богатую глютеном диету, наблюдались изменения в адгезивных соединениях и десмосомах, что приводило к повышенной проницаемости кишечника и восприимчивости к экспериментальному колиту. Избыток фруктозы (15% в

воде в течение 3 недель) индуцировал транскрипционную экспрессию фруктокиназы, изменения TJ, дефицит энергии, окислительный стресс и хроническое воспаление. Потребление повышенного количества углеводов нарушает экспрессию клаудина-1 с последующим увеличением уровня эндотоксина в сыворотке и развитию дисбиоза кишечника. Потребление даже умеренных количеств этанола приводило к нарушению парацеллюлярной проницаемости из-за изменений в ZO-1 и локализации окклюдина [16].

Эпителий толстой кишки играет ключевую роль в модуляции состава кишечной микробиоты, а изменения в метаболизме колоноцитов могут быть частым фактором дисбактериоза толстой кишки. увеличение концентрации люминального бутирата приводило к более высокой скорости пролиферации крипт тонкой кишки, тогда как лишение бутирата было связано с повышенной экспрессией проапоптотических белков в эпителиальных клетках. Бутират обеспечивает связь между микробиомом и кишечником хозяина. Трансэпителиальный транспорт бутирата и активация мембраносвязанных рецепторов в толстом кишечнике связаны процессами ауторегуляции в ответ на изменения микробиома.

Толстая кишка существенно более гипоксична, чем тонкая кишка, и в значительной степени зависит от комменсально полученных источников топлива в виде КЦЖК. Бутират может достигать концентрации 30 мМ в толстой кишке и служит идеальным метаболическим субстратом для эпителиальных клеток толстой кишки, поскольку ацетил-КоА, полученный из бутирата, легко становится доступным для окислительного фосфорилирования.

На проницаемость кишечного барьера может влиять инвазия патогенов и секреция токсинов. *Salmonella typhimurium* активирует экспрессию в толстой кишке клаудина-2, тем самым способствуя бактериальной инвазии. *Vibrio cholerae*, продуцируя токсин zonula occludens (ZO), влияет на парацеллюлярную проницаемость в тонком кишечнике, открывая TJ через протеинкиназа С-зависимую реорганизацию актина.

Лечение антибиотиками негативно влияет на проницаемость кишечника, нарушая микробную экологию хозяина. Дисбактериоз характеризуется снижением продукции бутирата комменсалами. Более того, лечение антибиотиками нарушало функцию TJ кишечника и увеличивало проницаемость кишечника за счет снижения экспрессии ZO-1, окклюзии и клаудина-1. У стерильных мышей, получавших антибиотики, изменяется морфология микроворсинок и снижена скорость оборота кишечных эпителиальных клеток [17, 18].

Клетки Панета способны продуцировать и секретировать гранулы, содержащие антимикробные пептиды (например,  $\alpha$ -дефензин, лектины, лизоцим и секреторную фосфолипазу A2), которые формируют состав комменсалов и защищают хозяина от колонизации патогенами. Дисфункция клеток Панета, вызванная как внутренними, так внешними факторами, приводит к дисбактериозу кишечника и обычно ассоциируются с хроническими воспалительными патологическими процессами, такими как болезнь Крона и повышают восприимчивость к инфекциям. Эффективное

взаимодействие/взаимодействие между хозяином и комменсалами на уровне кишечного барьера возможно вследствие возможности различать эндогенные и экзогенные антигены просвета и соответствующим образом модулировать иммунный ответ. Эти механизмы включают специфические «рецепторы распознавания образов», которые инициируют врожденные воспалительные иммунные реакции, сохраняя при этом иммунную толерантность к резидентной кишечной микробиоте [19].

Повышенная проницаемость кишечного барьера вызывает сдвиг в микробном сообществе, в результате чего комменсальные бактерии в эпителиальных клетках могут стать патогенными путем приобретения факторов вирулентности. Они могут нарушить структуру эпителия и дестабилизировать плотные соединения, вызывая проникновение в подслизистый слой бактериальных штаммов. Как бактериальная инвазия, так и повреждение барьера способствуют бактериальной транслокации и гиперактивации иммунной системы в слизистой оболочке толстой кишки. Это состояние может вызвать дальнейшее изменение состава микробиоты, что может привести к хроническому воспалению и возникновению колоректального рака [20].

Таким образом, становится все более очевидным необходимость комплексного изучения состояния метаболизма в кишечнике и вклад продуцируемых микробиотой соединений в поддержание гомеостатических параметров макроорганизма. Состояние кишечного барьера является определяющим в функционировании оси кишечник-печень, кишечник-ЦНС и кишечник-нейроэндокринная система организма животных и человека. Важный вклад в понимание происходящих процессов может внести определение биохимических параметров к микробно-тканевым комплексам тонкого и толстого кишечника.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Buckley, A. Cell Biology of Tight Junction Barrier Regulation and Mucosal Disease. / A. Buckley, J.R. Turner // Cold Spring Harb Perspect Biol. – 2018. – Vol. 10, N1. – P. 9-14.
2. Tight junction pore and leak pathways: a dynamic duo. / L. Shen [et al] // Annu Rev Physiol. – 2011. – Vol.73. – P. 283-309.
3. Singhal, R. Oxygen battle in the gut: Hypoxia and hypoxia-inducible factors in metabolic and inflammatory responses in the intestine. / R. Singhal, Y.M. Shah // J Biol Chem. – 2020. – Vol.295, N 30. – P. 10493-10505.
4. Vancamelbeke, M. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. / M. Vancamelbeke, S. Vermeire // Expert Rev Gastroenterol Hepatol. – 2017. – Vol.11, N 9. – P. 821-834.
5. Muniz, L.R. Intestinal antimicrobial peptides during homeostasis, infection, and disease. / L.R. Muniz, C. Knosp, G. Yeretssian // Front Immunol. – 2012. – Vol.3. – P. 3-10.
6. Fung, T.C. Interactions between the microbiota, immune and nervous systems in health and disease. / T.C. Fung, C.A. Olson, E.Y. Hsiao // Nat Neurosci. – 2017. – Vol.20, N2. – P. 145-155.

7. Beaumont, M. Amino Acids in Intestinal Physiology and Health./ M. Beaumont, F. Blachier // *Adv Exp Med Biol.* – 2020. – Vol.1265. – P. 1-20.
8. The protective role of short-chain fatty acids acting as signal molecules in chemotherapy- or radiation-induced intestinal inflammation. / T. Tian [et al] // *Am J Cancer Res.* – 2020. – Vol.10, N 11. – P. 3508-3531.
9. Impact of the Gut Microbiota on Intestinal Immunity Mediated by Tryptophan Metabolism. / J. Gao [et al] // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2018. – Vol.6. – P. 8-13.
10. Wang, B. Gut Microbiota Regulation of AHR Signaling in Liver Disease. / B. Wang, Z. Zhou, L. Li // *Biomolecules.* – 2022. – Vol.12, N9. – P. 12-44.
11. Zhang, M. The relationship between intestinal goblet cells and the immune response. / M. Zhang, C. Wu // *Biosci Rep.* – 2020. – Vol.40, N10. – P. 14-71.
12. Correlation between intraluminal oxygen gradient and radial partitioning of intestinal microbiota. / L. Albenberg [et al]. // *Gastroenterology.* – 2014. – Vol.147, N5. – P. 1055-1063.
13. The effects of dietary sulfur amino acids on growth performance, intestinal morphology, enzyme activity, and nutrient transporters in weaning piglets. / E. Zong [et al] // *J. Anim. Sci.* – 2018. – Vol.96. – P. 1130–1139.
14. Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. / I. Rowland [et al] // *Eur J Nutr.* – 2018. – Vol.57, N 1. – P. 1-24.
15. Implication of Intestinal Barrier Dysfunction in Gut Dysbiosis and Diseases. / C. Stolfi [et al] // *Biomedicines.* – 2022. – Vol.10, N 2. – P. 2-9.
16. 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, N 9. – P. 7-21.
17. Promotion of Intestinal Epithelial Cell Turnover by Commensal Bacteria: Role of Short-Chain Fatty Acids. / J.H. Park [et al] // *PLoS One.* – 2016 – Vol.11, N 5. – P. 15-34.
18. The composition of the gut microbiota shapes the colon mucus barrier. / H.E. Jakobsson [et al] // *EMBO Rep.* – 2015 – Vol.16, N 2. – P. 164-177.
19. Suresh R. Pattern recognition receptors in innate immunity, host defense, and immunopathology. / R. Suresh, D.M. Mosser // *Adv Physiol Educ.* – 2013 – Vol.37, N 4. – P. 284-291.
20. Bacterial translocation and barrier dysfunction enhance colonic tumorigenesis. / Y. Zhang [et al] // *Neoplasia.* – 2023. – Vol.35.– P. 10-47.

## **ДЕМИНЕРАЛИЗАЦИЯ КАК НАЧАЛЬНЫЙ ЭТАП РАЗРУШЕНИЯ ЭМАЛИ ЗУБОВ**

**Амелина Э.Д., Полежаева А.С., Юзефович О.Н.**

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Республика Беларусь*

К сожалению, большинство людей, которые обращаются за помощью к стоматологу по поводу самого распространённого заболевания зубов кариеса,

не отдают себе отчёт, что причиной этой проблемы чаще всего является деминерализация эмали зубов, которая широко распространена во всём мире среди различных слоёв населения. Процесс утраты эмалью минеральных веществ сопровождается и рядом других проблем, начиная от появления малозаметных пятен на поверхности зуба, заканчивая полным разрушением его структуры.

Был проведен анализ данных стоматологического статуса детей раннего и дошкольного возраста Брестской области. В частности, согласно результатам эпидемиологического обследования 2020 года в Брестской области у обследованных детей всего было выявлено 41,5% кариозных поражений зубов, а по возрастным группам была представлена следующая статистика: 1-2 года - 61,2%, 2-3 года - 73,4%, 3-4 года - 51,4%, 4-5 лет - 31,3% 5-6 лет - 21,3%. Также, исходя из предоставленных нам данных, мы сделали вывод, что значительная часть поражений приходилась на начальную стадию кариеса и протекала на фоне процесса деминерализации эмали зубов. Поэтому, изучая причины возникновения, механизм процесса и последствия деминерализации, мы сможем предотвратить развитие различных заболеваний полости рта.

### **Причины деминерализации**

Зубная эмаль — твердое внешнее покрытие зубов, которое защищает их от кариеса, — состоит из нескольких различных минералов. В процессе жизнедеятельности различные минералы в структуре зубной эмали могут быть утрачены в результате деминерализации [1-4].

Причинами выступают: частое употребление кислых напитков (например, фосфорная кислота (пищевая добавка E338) является распространенным ингредиентом газированных напитков «Coca-Cola», «Pepsi», встречается в колбасных изделиях, плавленых сырах, смесях для выпечки), частое воздействие на зубы цитрусовых, содержащих лимонную кислоту (особенно лимонов), кислоты в желудке (например, при расстройствах пищевого поведения, булимии), воздействия бактерий (в основном *Streptococcus mutans*) и сахара на поверхность зубной эмали. Бактерии расщепляют ферментируемые углеводы (непосредственно глюкозу, сахарозу и фруктозу) и создают кислую среду (рН ниже 4,5), которая приводит к деминерализации и, как следствие, кариозным поражениям зубов. Также причиной может являться некачественная гигиена полости рта во время ортодонтического лечения. Помимо основных причин, выделяют ряд предрасполагающих факторов: воспаление дёсен, возрастные гормональные нарушения, запоздалое лечение стоматологических болезней, нарушение микрофлоры полости рта, а также недостаток фтора, фосфора, магния в пище и наличие вредных привычек.

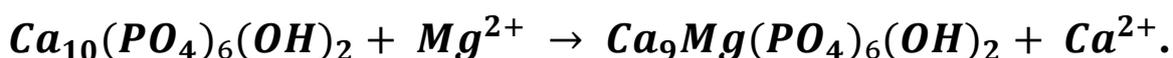
### **Химический состав эмали зуба**

Принципиально важным для понятия сущности процесса деминерализации является представление о химическом составе эмали. Эмалью, что покрывает непосредственно коронку зуба, является самой твердой тканью в организме. В процессе эмбриогенеза эмаль развивается как ткань,

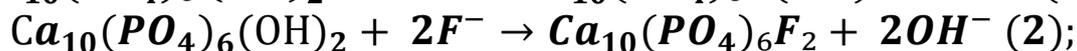
богатая белками, но к моменту прорезывания зуба в полости рта остаётся лишь небольшое их количество. Несмотря на то, что органическая матрица эмали составляет менее 2% по весу, она играет важную роль в улучшении как прочности, так и устойчивости её к химическим воздействиям.

Эмаль состоит из приблизительно 92-96% неорганических веществ, 1-2% органических веществ, 3-4% приходится на  $H_2O$  и микроэлементы. Меньшая по объёму органическая часть представляет собой белки (в частности амелогенины и аминокликаны), а также углеводы. Углеводами эмали в основном являются глюкоза, манноза и галактоза. Неорганические компоненты (96-97%), обеспечивающие высокую прочность данной ткани, представляют собой апатиты и неапатитные формы ( $CaCO_3$ ,  $MgCO_3$  и др., около 1,5%). К основным апатитам эмали относятся гидроксиапатит ( $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ , 75%), карбонатапатит ( $Ca_{10}(PO_4)_6CO_3$ , 19%), хлорапатит ( $Ca_{10}(PO_4)_3Cl$ ; 4,4%) и фторапатит ( $Ca_5(PO_4)_3F$ ; 0,66%). Апатит эмали имеет гексагональную элементарную ячейку, состоящую из призматических кристаллов, и содержит больше неорганического материала, чем дентин, кость и цемент. В состав ячейки гидроксиапатита входят 2 формульные единицы, выражающиеся формулой  $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$ . Твердость поверхностного слоя в первую очередь является результатом высокой концентрации ионов  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $PO_4^{3-}$ .

В структуре гидроксиапатита соотношение кальция и фосфора составляет  $10/6=1,67$ . Значение кальций - фосфорного коэффициента может колебаться в границах от 1,33 до 2,0 по нескольким причинам: 1) в теории соотношение содержания кальция к фосфору соответствует монокристаллу громадных размеров, а реальные кристаллы значительно меньше; 2) видоизменения апатита, что приводит к уменьшению коэффициента, например, при частичной замене  $Ca^{2+}$  на  $Mg^{2+}$ :



Таким образом, образовавшийся вследствие этой реакции апатит заключает в своей структуре 9 атомов кальция и 6 атомов фосфора. Замещение гидроксильной группы ионами фтора не изменяет исходного соотношения и приводит к возникновению кислотоустойчивых производных, а именно гидроксифторапатита (1) и фторапатита (2):



По данным различных исследований процентные соотношения компонентов эмали могут отличаться ещё и по причине смещения протекающего в системе эмаль-слюна гетерогенного равновесия под действием различных внешних факторов (изменение рН, колебание концентрации других

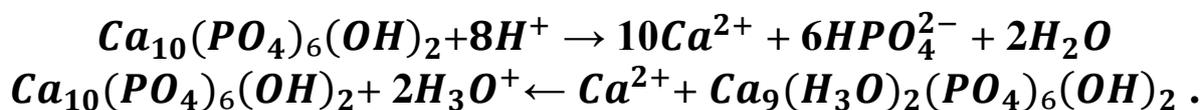
ионов, участвующих в этом равновесии; в зависимости от химического состава употребляемых продуктов питания и напитков):



### Влияние деминерализации на структуру зуба

Деминерализация – это процесс, который приводит к потере минеральных компонентов твёрдых тканей зуба. Предпосылкой к доминированию процессов деминерализации и реминерализации являются растворение апатита под действием изменения рН среды или его кристаллизация.

Наиболее стабильная форма гидроксиапатита существует в ротовой полости в среде с рН 7,4. Установлено, что при понижении рН до 5,5 и ниже скорость деминерализации значительно увеличивается, а скорость реминерализации уменьшается. Основным источником кислот в полости рта являются микроорганизмы зубного налета. Благодаря ионообменным процессам ионы водорода (ионы гидроксония) до определенного предела могут впитываться эмалью без разрушения ее структуры. Деминерализация эмали в кислых средах *in vitro* идет с преимущественным выходом ионов  $\text{Ca}^{2+}$  по сравнению с ионами  $\text{PO}_4^{3-}$ , т.е. процесс растворения сопровождается избирательной декальцинацией эмали, поэтому предполагается параллельное протекание двух реакций:



Таким образом, эмаль выступает своего рода буферной системой по отношению к кислотам, которые действуют на ее поверхность. Вытесняя ионы  $\text{Ca}^{2+}$ , ионы  $\text{H}^+(\text{H}_3\text{O}^+)$  связываются гидроксиапатитом. При этом структура гидроксиапатита сохраняется, однако снижается его способность противодействовать кислоте из-за сокращения количества  $\text{Ca}^{2+}$ . Падение Са/Р баланса ниже 1,30 указывает на разрушение кристаллической решетки гидроксиапатита, истощение запаса кальция и критическому снижению способности эмали противостоять растворению. Это позволяет сделать вывод, что величина Са/Р-коэффициента является показателем резистентности эмали к действию кислоты.

Вследствие кислотного метаболизма кариесогенных микроорганизмов в биопленке зубного налета происходит деминерализация эмали. При растворении минералов гидроксиапатита межкристалльное пространство расширяется, а поверхность эмали становится более мягкой и пористой, что приводит к образованию кариеса.

Наибольшая степень деминерализации при кариесе эмали происходит на подповерхностном уровне, который кажется относительно незатронутым. Это подповерхностное поражение обычно называют «поражением белых пятен»,

которое относится к непрозрачной белой области, которую можно отличить от здоровой эмали. Эта стадия кариозного поражения видна как белое пятно во время обычного стоматологического клинического осмотра и известна как начальный кариес.

В дальнейшем, деминерализация может привести к образованию среднего и глубокого кариеса. Средний кариес затрагивает эмаль и поверхностный слой дентина. При глубоком кариесе поражение твёрдых тканей зуба обширнее - патология затрагивает глубокие слои дентина.

Если запустить лечение, то последовательно образуется сначала пульпит (воспаление сосудисто-нервного пучка зуба), а затем и периодонтит (воспаление ткани между костной стенкой лунки и корнем зуба), что может привести к потере зуба.

### **Симптомы и методы диагностики деминерализации**

Ключевыми симптомами деминерализации являются белые меловидные пятна различного размера, шероховатость, отсутствие естественного блеска, повышенная пористость эмали. Это приводит к тому, что зубная поверхность быстро желтеет и темнеет. Процесс сопровождается увеличением чувствительности в ответ на термические и химические раздражители [4-7].

Диагностируют деминерализацию следующими методами:

- Осмотр. Для того чтобы осуществить данный метод, врач обезвоживает поверхность зуба при помощи струи воздуха. Появление матовых пятен молочного цвета с неровной поверхностью свидетельствует о протекании процесса деминерализации.

- Зондирование. Здоровая эмаль должна быть гладкой и плотной. Поверхность поражённой эмали будет шероховатой. При деминерализации зондирование безболезненно, боль появляется лишь при среднем и глубоком кариесе и прочих некариозных патологиях (эрозии, травмы).

- Термометрия. Этим методом определяется реакция зуба на изменения температуры. Данная процедура может проводиться с помощью воды (холодной или тёплой) либо воздуха. При деминерализации поражение не распространяется на дентин, потому обычно температурные раздражители не вызывают сильной боли, однако при повышенной восприимчивости боль может быть резкой.

Существуют и дополнительные методы диагностики:

- Люминесцентный метод. Под действием ультрафиолетовых лучей здоровая эмаль даёт голубое свечение, а очаг деминерализации остаётся тёмным.

- Лазерная диагностика. Данный метод базируется на том, что здоровая и поражённая эмаль по-разному отражают световые лучи. При деминерализации устройство издаёт звуковой сигнал и на экране появляются значения, отличные от нормы. Высокие показания прибора свидетельствуют о существенной глубине поражения.

- Витальное окрашивание. На эмаль зуба наносится кариес-детектор — особый краситель, который соединяется с денатурированным коллагеном,

содержащимся в кариозном дентине и окрашивает участки деминерализации. При других патологиях тон эмали не меняется. Чем сильнее окрашивается пятно, тем интенсивнее ход деминерализации.

### **Методы восстановления эмали зубов**

В силу того, что деминерализация эмали является патологическим процессом, лечение должно происходить незамедлительно, так как восстановление эмали без применения бормашины возможно только на ранних стадиях. При лечении пациент должен быть проинформирован о следующих факторах, влияющих на кариес: ограничение количества быстрых углеводов, содержащих сахар; соблюдение гигиены полости рта; сбалансированное питание; тщательный уход за ортодонтическими конструкциями (при их наличии). Только при сочетании соблюдения пациентом данных условий и качественной работы врача-стоматолога, становится возможным вылечить данное заболевание [8-11].

Чаще всего практикуются: реминерализация, глубокое фторирование, лечение по технологии Icon.

Реминерализация – это метод, при котором эмаль зуба насыщают минеральными компонентами. Реминерализирующий эффект гелей достигается повышенным содержанием в них фосфора и кальция, которые повышают твердость эмали. Перед самой процедурой необходимо провести профессиональную гигиену полости рта. Далее эмаль высушивают теплым воздухом, и на зубы наносится специальный гель, например, зубной гель «GC Tooth Mousse» (производитель – GC, Япония/США); активные вещества: 10% аморфный кальций фосфат, связанный с фосфопептидами казеина (CPP-ACP), а также ксилит (абразивность – RDA 0), без фтора, лаурилсульфата и парабенов). Гель наносится на 15–20 минут. Обычно курс составляет около 10–20 процедур. После каждой такой процедуры в течение двух часов запрещается принимать пищу, а также чистить зубы. Преимуществами реминерализирующей терапии является профилактика кариеса и устранение гиперчувствительности.

Глубокое фторирование – еще один метод лечения, при котором используется специальный раствор (например, препарат «Clinpro White Varnish», содержащий комбинацию защищенного трикальцийфосфата и 5% фторида натрия), который проникает глубоко в эмаль и повышает концентрацию ионов фтора. Таким образом, заполняются участки деминерализации и микротрещины, а эмаль становится плотнее. Особенностью данной процедуры является то, что происходит создание защитного барьера между бактериями полости рта и эмалью, который в дальнейшем предохраняет зуб от разрушений и сокращает риск формирования кариеса.

Широкое применение и популярность в Республике Беларусь в настоящее время приобретает технология Icon. Её преимущества: сам процесс безболезненный, лечение происходит без анестезии, останавливается развитие кариеса на продолжительное время, сохраняются здоровые ткани зуба, продлевается срок жизни зуба. Суть метода заключается в том, что поражённые участки заполняются специальным составом Icon-Infiltrant (полимерная

матрица на основе метакрилата ( $CH_2=C(CH_3)COO-$ ), инициаторы: EFOX 10 S 30 — трет-бутилперокси-2 этилгексаноата 30% раствор), который благодаря капиллярному эффекту проникает в пораженную эмаль, делая её плотнее, а также уничтожает кариозные образования и препятствует размножению патогенных бактерий.

### Заключение

Таким образом, были изучены химические основы процесса деминерализации, рассмотрены химический состав эмали и ее изменения при кариесе, а также причины, ключевые симптомы и методы лечения стоматологических заболеваний. Информация о причинах возникновения, своевременная диагностика и лечение деминерализации являются неотъемлемой частью предотвращения развития более серьёзных стоматологических заболеваний, таких как кариес, пульпит, периодонтит.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Стоматология вчера, сегодня, завтра : сб. тр. юбилейной науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 60-летию стоматологического факультета / под общ. ред. Т. Н. Тереховой. – Минск, 2020. – 695 с.

2. Бутвиловский А. В., Барковский Е. В., Кармалькова И. С. Химические основы деминерализации и реминерализации эмали зубов // Вестник ВГМУ. - 2011. – №1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/himicheskie-osnovy-demineralizatsii-i-reminalizatsii-emali-zubov>.

3. Биохимия твердых тканей полости рта в норме и при патологии. Учебное пособие предназначено для самостоятельной работы студентов по специальности «Стоматология» // ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России. – М.: Издательство – 2019. – 71 С.: илл.8 рис.

4. Горлачева, Т.В. Деминерализация эмали зубов у пациентов, находящихся на ортодонтическом лечении с использованием несъёмной техники / Т.В. Горлачева, Т.Н. Терехова // Ортодонтия. Гнатология. – 2020. – №3. – С. 45 – 50

5. Деминерализация эмали зубов: причины, симптомы и лечение в статье стоматолога Панькина С. Ю. [Электронный ресурс ]. – Режим доступа: <https://probolezny.ru/demineralizaciya-emali-zubov/>. – Дата обращения: 19.03.2023.

6. Деминерализация эмали. Причины и симптомы деминерализации эмали зубов профилактика [Электронный ресурс ]. – Режим доступа: <https://stomatology.fedorovmedcenter.ru/stati/terapiya/demineralizatsiya-emali/?ysclid=lea2vy3359830198673#osnovnye-simptomy>. – Дата обращения: 21.03.2023.

7. Tooth Enamel Demineralization – ToothIQ [Электронный ресурс ]. – Режим доступа: <https://www.toothiq.com/dental-diagnosis/tooth-enamel-demineralization/>. – Дата обращения: 20.03.2023.

8. Demineralization–remineralization dynamics in teeth and bone [Электронный ресурс]. – Режим доступа:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5034904/>. – Дата обращения: 20.03.2023.

9. Demineralization & Remineralization of Teeth - Drubi Orthodontics [Электронный ресурс ]. – Режим доступа: <https://www.drubiorthodontics.com/how-to-stop-demineralization-of-teeth/>. – Дата обращения: 17.03.2023.

10. Dental Caries – The Selection of Restoration Methods and Restorative Materials [Электронный ресурс ]. – Режим доступа: [Dental Caries - The Selection of Restoration Methods and Restorative Materials | IntechOpen](https://www.intechopen.com/abstract/index.php/l/abstract/121144). – Дата обращения: 23.03.2023.

11. [Keratins as components of the enamel organic matrix](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36812312/) [Электронный ресурс ]. – Режим доступа: [Keratins as components of the enamel organic matrix - PMC \(nih.gov\)](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36812312/). – Дата обращения: 23.03.2023.

## **ХИМИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ В ПОЛОСТИ РТА. ЗУБНОЙ НАЛЕТ.**

**Балобан С.И., Майсюк И.С., Юзефович О.Н.**

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Республика Беларусь*

Большинство нежелательных образований в полости рта связывают с негативным влиянием зубного налета. Он состоит из продуктов жизнедеятельности бактерий, отмерших клеток слизистой оболочки рта, остатков пищи, лейкоцитов и белковых молекул из слюны. Минерализация зубного налета приводит к образованию зубного камня, а размножающиеся бактерии вызывают воспаление тканей и развитие кариеса. В дальнейшем эти процессы могут привести к заболеваниям других внутренних органов.

Результаты исследования глобального рейтинга болезней, опубликованные журналом Lancet в 2017 году, показали, что среди 330 заболеваний первое место занимает постоянный кариес. Это самая распространённая болезнь в мире, ей страдают 35% взрослого населения планеты (2,5 млрд человек). Современные статистические данные показывают, что молодое поколение, как правило, обращается за стоматологической помощью к специалисту только в случае возникновения острой зубной боли. Но нужно понимать, что зубной налет не исчезнет сам по себе. Вакцины, защищающей от него, не существует. Никакие новые технологии не заменят ежедневную гигиену зубов. Поэтому на данном этапе важной задачей является информирование населения. Наличие поверхностных образований во рту может вызывать психологический и социальный дискомфорт, так как, общепризнано, что неприятный запах изо рта возникает в результате бактериального метаболизма белковых субстратов, присутствующих в полости рта, что приводит к образованию пахучих соединений, таких как сероводород, метилмеркаптан и диметилсульфиды. Знания о химическом составе

поверхностных образований во рту необходимы всем, ведь практически каждый сталкивался с ними. Исследуя химический состав и механизм возникновения нежелательных образований во рту, мы сможем эффективнее с ними бороться и предотвращать их появление.

### **Поверхностные образования на зубах**

На поверхности зуба различают следующие образования: кутикула, пелликула, зубной налет, зубной камень.

Первичная кутикула исчезает на поверхности зуба сразу после прорезывания, в силу чего играет незначительную роль в жизни зуба в ротовой полости. Структуры, приобретенные после прорезывания зуба, представляют собой два слоя кутикулы, окрашенную пелликулу и зубной налет. Поверхностная кутикула имеет толщину 0,2 мкм, пелликула — от 1 до 10 мкм и зубной налет — от 5 до 200 мкм. Пелликула содержит глицин, гликопротеиды, отдельные аминокислоты (аланин, глутаминовую кислоту), аминоксахара, которые образуются вследствие жизнедеятельности бактерий. Далее мы опишем более подробно структуру и химический состав зубного налета и зубного камня.

**Зубной налет** — это биопленка или покрытие, состоящее из колоний *Streptococcus mutans*, *Str.salivarius*, *Str.sanguis*, *Str.mitis* и других микроорганизмов, которое регулярно покрывает наши зубы. Большая часть зубного налета связана с застойными областями поверхности зуба, такими как фиссуры, апроксимальные области между зубами и десневые щели. В 1 мг вещества ЗН находится  $5 \cdot 10^8$  микробных клеток. *Str.mitis* — 37% от всей сухой массы. Со временем налет на зубах может превратиться в зубной камень, удалить который гораздо труднее. Накопление зубного налета и зубного камня может привести к более высокому риску развития кариеса, воспаления десен, гингивита и других проблем в полости рта.

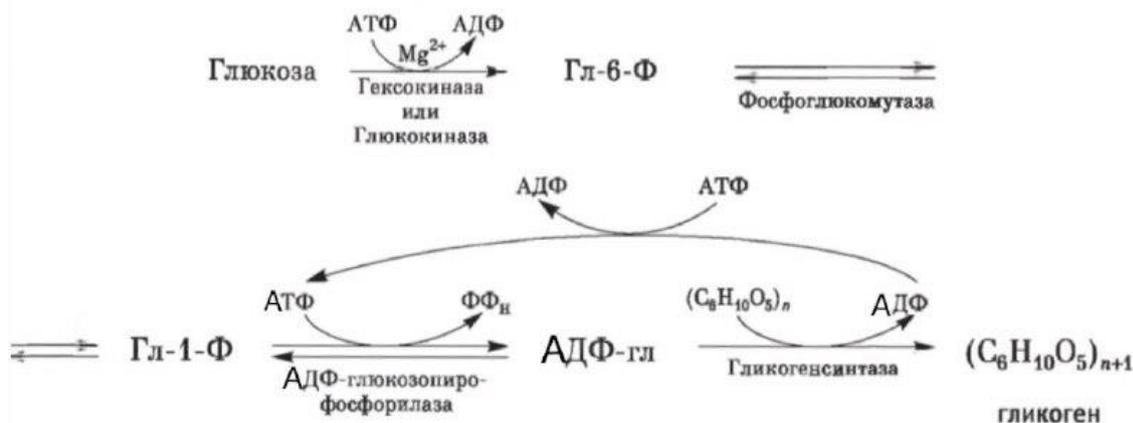
С начала XX века предпринимались неоднократные попытки разработать упрощенные методы исследования образования зубного налета. Для этой цели использовали разнообразные окрашивающие растворы, начиная от йода с глицерином и, заканчивая, флюоресцеином. На данный момент активно используется обработка зубов растворами фуксина, эритрозина, генцианового фиолетового, кристаллического фиолетового и ряда других красителей, благодаря которым можно визуально определить площадь окрашивания зубов, которая коррелирует с интенсивностью образования зубного налета.

### **Причины образования зубного налета**

Процесс образования зубного налета начинается с употребления нами богатых углеводами продуктов и напитков, таких как соки, безалкогольные напитки, хлеб, чипсы, конфеты и др. Как только частицы пищи вступают в контакт с бактериями, на поверхности эмали образуется зубной налет, а также вырабатываются кислоты. Если не почистить зубы после приёма пищи или питья, кислоты начнут растворять зубную эмаль.

В слюне обнаружены производные белков, которые принимают участие в возникновении ЗН. К ним можно отнести лизоцим, альбумин, амилазу, а также иммуноглобулины А, G, М.

Химический состав зубного налета в значительной степени варьирует в различных участках полости рта и у разных людей. На 1 мг сухой массы зубного налета приходится 3,37 мкг кальция, 8,37 мкг фосфора, 4,20 мкг калия и 1,30 мкг натрия. С помощью центрифугирования зубной налет можно разделить на клеточную и бесклеточную фракции. При центрифугировании (3000 об/мин в течение 5 мин) с последующей фильтрацией надосадочной жидкости через миллиметровые фильтры получают бесклеточную фракцию, которая при электронной микроскопии имеет тонкую зернистую ультраструктуру. Клеточная фракция представлена главным образом бактериями, которые в процессе своей жизнедеятельности создают запас питательных веществ в виде гликогена. Синтез гликогена бактериями ротовой полости отличается тем, что вместо макроэрга УТФ используется АТФ и получается АТФ-глюкоза.



*Streptococcus mutans* был признан основным кариесогенным микроорганизмом у людей. Диетическое ограничение углеводов также приводит к снижению *S. mutans* и йодофильных микроорганизмов, накапливающих полисахариды в зубном налете. Известно, что детям с врожденным повышенным содержанием сахарозы рекомендуется ограничивать количество сахара в рационе, поэтому они реже болеют кариесом, чем здоровые дети аналогичного возраста. Таким образом, *S. mutans* не удалось обнаружить в зубном налете у 40% этих детей.

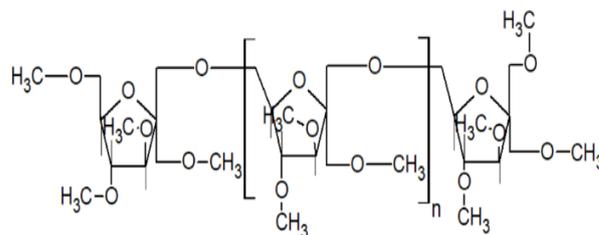
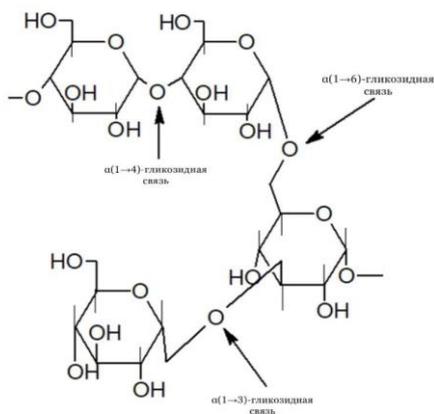
### Механизм образования зубного налета

В процессе прикрепления бактерий к поверхности зуба участвуют различные физико-химические взаимодействия. Микроорганизм изначально притягивается к поверхности силами Ван-дер-Ваальса и за счет электростатического притяжения ионов противоположного знака. Эти силы обладают низкой специфичностью и допускают лишь слабое прикрепление микроорганизмов к поверхности ткани.

Считается, что молекулы клеточной поверхности бактерий, известные как **адгезины**, взаимодействуют со специфическими рецепторами на субстрате. Р.

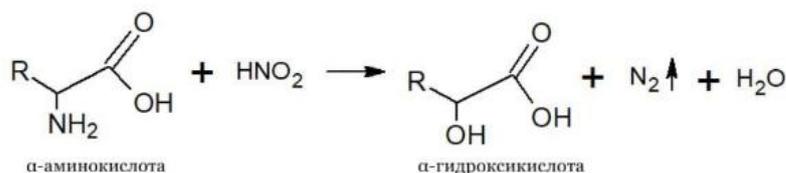
Гиббонс (1984) предположил, что прочная связь возникнет, когда достаточное количество таких взаимодействий преодолевает силы отталкивания. Некоторые бактерии полости рта, возможно, прикрепляются к поверхностям с помощью нитевидных отростков, известных как фимбрии, и гораздо более коротких и слипшихся фибрилл.

Классические исследования выявили две стадии микробной адгезии: **обратимая сорбция**, которая представляет собой мгновенное притяжение микроорганизмов к поверхности, за которой следует **необратимая сорбция**, которая включает биологически специфические реакции, обеспечивающие прочную адгезию микроорганизмов к поверхности. Обратимая сорбция может происходить в результате броуновского движения, осаждения микроорганизмов из потока жидкости, в то время как на необратимую сорбцию влияют рН и ионная сила суспендирующей среды. Одновременно с этим растет активность гидролитических ферментов, в частности гликозидаз (они расщепляют углеводы) и протеиназ (гидролизуют пептидные связи в белках). Следствием полного гидролиза белков является образование свободных аминокислот. Моносахариды, которые получены под действием ферментов гликозидаз, используются микроорганизмами для создания липких внеклеточных полисахаридов —гликанов (декстрана и левана).



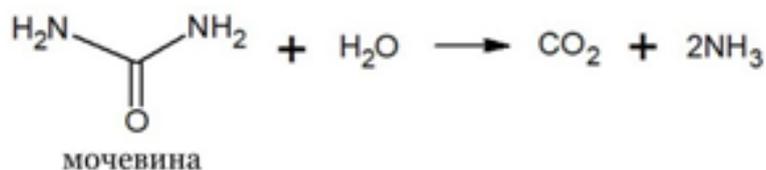
- Структурная формула декстрана, разветвленного полисахарида, образованного из остатков глюкозы.
- Полисахарид леван состоит из остатков фруктозы и остатка сахарозы, быстро гидролизуется левоназой

Катаболизм аминокислот приводит к выщелачиванию зубного налета за счет процессов, сопровождающихся образованием аммиака, таких как:



- дезаминирование аминокислот:

гидролиз мочевины с участием фермента уреазы:



восстановление нитрат- и нитрит-ионов до аммиака под действием редуктаз бактерий:



Согласно химико-паразитарной теории Миллера (1884 г.), важную роль в образовании зубного налета играют органические кислоты, в том числе и продукты жизнедеятельности микроорганизмов. Сахароза, поступившая с пищей, разрушается до фруктозы и глюкозы, которая в свою очередь расщепляется в процессе гликолиза до пировиноградной кислоты. Пируват под действием фермента пируватформатлиазы разрушается до уксусной и муравьиной кислот. В результате в ротовой полости оказывается три кислоты: молочная, уксусная и муравьиная-все они понижают pH. Из-за повышения кислотности и понижения pH <6,2 происходит деминерализация зубов, кальций вымывается вместе со слюной. Если pH >7,4, то происходит минерализация и образование зубного камня.

### Развитие зубного камня

**Зубной камень** — это минерализованный зубной налет, который образуется как выше (наддесневой), так и ниже (поддесневой) линии десен. После высокой минерализации зубной камень становится похожим на цемент как по физической твердости (твердость по Виккерсу в среднем составляет 30-40 единиц, максимальная наблюдаемая ~ 190), так и по адгезионной прочности. Зубной камень состоит как из неорганических (минеральных), так и из органических (клеточный и внеклеточный матрикс) компонентов. Минеральная доля зубного камня колеблется примерно от 40 до 60%, в зависимости от его расположения в зубном ряду, и состоит в основном из кристаллов фосфата кальция, организованных в четыре основные минеральные фазы, перечисленные здесь в порядке убывания отношения фосфата к кальцию:

- витлокит,  $\text{Ca}_9(\text{Mg,Fe})(\text{PO}_4)_6(\text{PO}_3\text{OH})$
- гидроксиапатит,  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$
- октакальций фосфат,  $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- брушит,  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Органический компонент зубного камня примерно на 85% состоит из клеток и на 15% из внеклеточного матрикса. Клетки в зубном камне в основном бактериальные, но также включают по крайней мере один вид архей (*Methanobrevibacter oralis*) и несколько видов дрожжей (например, *Candida albicans*). Органический внеклеточный матрикс в зубном камне состоит в

основном из белков и липидов (жирных кислот, триглицеридов, гликолипидов и фосфолипидов), а также из внеклеточной ДНК.

Следует отметить, что процессы образования зубного камня из зубного налета в настоящее время изучены недостаточно. Наддесневые образования наиболее обильны на щечных поверхностях моляров верхней челюсти и на язычных поверхностях резцов нижней челюсти. В этих областях наблюдается обильное слюноотделение из-за их близости к околоушным и подъязычным слюнным железам. Поддесневой зубной камень формируется ниже линии десны и обычно имеет темный цвет из-за присутствия черных пигментированных бактерий, клетки которых покрыты слоем железа, полученного из гема во время кровоточивости десен. Зубной камень обычно формируется в виде дополнительных слоев, которые хорошо видны как с помощью электронной микроскопии, так и с помощью световой микроскопии. Эти слои формируются во время периодической кальцификации зубного налета. Образование зубного камня широко варьируется у разных людей и в разных местах во рту. Было выявлено множество факторов, влияющих на образование зубного камня, включая возраст, пол, этническую принадлежность, диету, расположение в полости рта, гигиену полости рта, состав бактериального налета, генетику зуба хозяина, доступ к профессиональной стоматологической помощи, физические недостатки, системные заболевания, употребление табака, наркотиков и лекарств.

### **Роль фтора в ротовой полости**

Ионы фтора широко используются при лечении стоматологических заболеваний, в частности, кариеса благодаря его антикариесогенным и противомикробным свойствам. Антибактериальное действие фтора происходит из-за подкисления бактериальной цитоплазмы через образование ионов  $H^+$  и  $F^-$  из фтористого водорода и нарушения бактериального метаболизма путем ингибирования жизненно важных бактериальных веществ (например, сульфаниламидов), а также высвобождения аденозинтрифосфатазы и енолазы. Более активная роль  $F^-$  заключается в образовании  $CaF_2$ , снижении гиперчувствительности, пролиферации остеобластов и более прочной фиксации кости. К основным антимикробным и реминерализующим свойствам  $F^-$  в полости рта относятся:

- снижение деминерализации за счет ингибирования роста микробов;
- содействие реминерализации и образованию минерала фторапатита  $Ca_{10}(PO_4)_6(F)$ , который по сравнению с гидроксиапатитом  $Ca_5(PO_4)_3OH$ , более устойчив к деминерализации и растворению в кислоте после выделения кислот бактериями;
- ингибирование ферментов, а именно снижение синтеза протеазы IgA;
- снижение продукции внеклеточных полисахаридов, что помогает уменьшить адгезию бактерий к твердым тканям зуба.

Существует полифосфатная теория кариеса зубов, согласно которой микроорганизмы, живущие на поверхности зубов, накапливают внутри клеток полифосфаты. Энергия для образования полифосфатов образуется за счет

распада углеводов. После омертвения бактериальной клетки и ее распада, полифосфаты освобождаются и благодаря своим хелатионным свойствам связывают кальций гидроксиапатита  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ , приводя к деминерализации эмали.

В норме масса фтора в организме человека составляет около 7 мг; наибольший процент его содержания — в костной ткани, зубах и ногтях. Средняя концентрация фтора в зубном налете составляет 6 мг/кг, но может достигать 180 мг/кг. Фтор включается в апатит либо в период формирования первичного кристалла, либо путем замещения  $\text{OH}^-$  в преобразованном кристалле. В реакции замещения образуется смешанная форма апатита, брушит ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), также известный как мочевого кристалл. Он представляет собой наиболее стабильную форму фосфата кальция. Его содержание в кости и зубной эмали составляет обычно 0,05 моль/кг и свидетельствует об отношении  $\text{OH}^-/\text{F}^-$  в молекуле апатита, как 40:1. Фтор придает кристаллам фторапатита большую упорядоченность, снижая тем самым их растворимость при физиологическом значении pH.

### **Слюна и её влияние на зубную эмаль**

Слюна, или ротовая жидкость, является важным фактором в процессе поддержания нормальной флоры во рту. Она смывает микроорганизмы, не давая им прикрепляться к зубам, и содержит антибактериальные ферменты, например, лизоцим (класс гидролаз). Однако, путем ферментации углеводистой пищи она также поставляет для ЗН субстрат в виде моносахаридов, готовых превратиться в молочную кислоту.

При кариесе буферная емкость (способность раствора сохранять постоянную концентрацию определённых ионов) по кислоте колеблется в пределах от 4,7 до 13,5 моль-экв/дм<sup>3</sup>. С возрастом вязкость слюны у людей повышается. У 15-17 летних лиц вязкость меньше, чем в 25-30 лет ( $\eta < 0,05$ ; где  $\eta$  - показатель вязкости, единицы измерения  $\eta$  в СИ — Па • с). У мужчин она на порядок выше.

Важный аспект «фактора слюны» для ЗН — это ее количество. При гипосаливации ( $\leq 0,16$  мл/мин) снижаются буферные свойства слюны за счет уменьшения концентрации  $\text{HCO}_3^-$ ; уменьшается концентрация кальция и фосфатов, что ведет к снижению pH; создаются условия для увеличения количества лактобацилл, скорость деминерализации поверхности зуба выше, чем при нормальной секреции слюны или гиперсаливации.

Одно из ключевых свойств слюны — это ее буферные свойства, т. е. способность нейтрализовать кислоту, образованную микроорганизмами. Классическая работа Stephen (1940) и приведенная в ней «кривая Стефана» (рис. 1) ясно показывает влияние еды и питья во рту в графической форме и имеет решающее значение для понимания кариеса. Автор использует по ординате шкалу pH; критический уровень pH во рту составляет 5,5, так как когда pH падает ниже этой точки, ваши зубы начинают деминерализоваться (или «растворяться» под действием кислот). Практически каждый раз во время приема пищи pH падает ниже критической отметки 5,5 и вашей слюне

требуется 30-40 минут, чтобы вернуть этот показатель в безопасную зону. Чем чаще мы перекусываем, тем дольше подвергаемся риску, и тем дольше восстанавливается баланс рН в ротовой полости, соответствующий норме.



Рисунок 1 - Кривая Стефана

В комплексе профилактических мероприятий важное место занимают, по мнению многих авторов, средства гигиены полости рта, одним из механизмов действия которых является воздействие на зубной налет.

**Механическая чистка зубов.** Гигиенические средства предупреждают образование зубного налета, а также действие различных патогенных факторов. При этом первостепенное значение имеет механическое снятие ранних отложений гигиенической зубной щеткой. На основании многочисленных данных рекомендуется пользоваться зубными щетками с рабочей головкой длиной 25—30 мм при ширине 10—12 мм. В такой щетке щетинки должны иметь высоту не более 10—12 мм и располагаться в 2—3 ряда на расстоянии 2,5—3 мм. Общеизвестно, что чистку зубов необходимо производить после каждого приема пищи.

Также существуют **химические методы борьбы (агенты):**

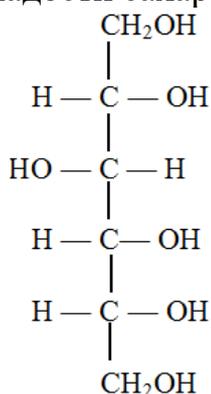
**Агенты против зубного налета первого поколения** способны уменьшить зубной налет до 20-50%. Они плохо удерживаются во рту. К ним относятся: антибиотики, фенолы, четвертичные аммониевые соединения и сангуанарин.

**Агенты против зубного налета второго поколения** обеспечивают общее уменьшение зубного налета примерно на 70-90%, и они сохраняют зубы менее поврежденными, чем агенты первого поколения. Они лучше удерживаются тканями полости рта и обладают свойствами медленного высвобождения. Пример: бисбигуаниды (хлоргексидин).

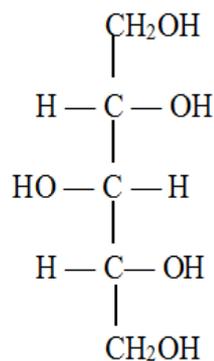
**Агенты против зубного налета третьего поколения** блокируют связывание микроорганизмов с зубом или друг с другом. Но у них плохая удерживающая способность по сравнению с хлоргексидином второго поколения. Пример: дельмопинол.

Современным методом является **лазерное удаление зубного камня**. С помощью специального прибора (например, Waterlase iPlus с технологиями Biolase) зубной камень дробят на мелкие частицы, которые затем вымываются с помощью специального спрея. Технология метода основывается на воздействии лазерного луча на молекулы воды, которые локализируются в зубных отложениях.

Также для профилактики возможна замена сахарозы на сахарозаменители, такие как ксилит (100% от сладости сахарозы) или сорбит (60% от сладости сахарозы).



Сорбитол (шестиатомный спирт)



Ксилитол (пятиатомный спирт)

### Заключение.

Таким образом, процесс возникновения поверхностных образований в ротовой полости сопровождается сложными химическими изменениями, опосредуемыми активностью нежелательной микрофлоры. На формирование зубного налета, зубного камня и кариеса влияют питание, динамика состава слюны, наличие некоторых микро- и макроэлементов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Таганович, А.Д. Биологическая химия в стоматологии: учеб. пособие / А.Д. Таганович, Е.А. Девина. – Минск : Новое знание, 2022. – 540 с.
2. Тюкавкина, Н.А. Биоорганическая химия [Электронный ресурс]: учебник / Н.А. Тюкавкина, Ю.И. Бауков, С.Э. Зурабян. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2020.
3. Левицкий, А. П. Зубной налет / А.П. Левицкий, И. К. Мизина. — К.: Здоров'я, 1987.— 80 с.
4. Клинге, Б. Ваше здоровье - у вас во рту: 101 вопрос о зубах, ротовой полости и их влиянии на весь организм” / Б. Клинге, П. Андерссон. – М. : Попурри, 2020.- 221 с.
5. Леус, П. А. Отложения на зубах. Роль зубного налета в физиологии и патологии полости рта : учеб.-метод. пособие / Леус, Петр Андреевич ; Белорус. гос. мед. ун-т, 1-я каф. терапевт. стоматологии. - Минск : БГМУ, 2007. - 32 с.
6. Dental diseases, etiology of dental caries [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/tooth-plaque>. –Дата обращения: 20.03.2023.

7. Dental plaque [Электронный ресурс]. –Режим доступа: <https://pocketdentistry.com/5-dental-plaque/>. –Дата обращения: 15.03.2023.
8. Ecology of the oral cavity [Электронный ресурс]. –Режим доступа: <https://pocketdentistry.com/4-the-ecology-of-the-oral-cavity/>. – Дата доступа: 15.03.2023.
9. Factors affecting plaque formation by bacteriophages [Электронный ресурс]. –Режим доступа: <https://www.dairyscience.info/index.php/enumeration-of-lactococcal-bacteriophages/factors-affecting-plaque-formation.html>. – Дата обращения: 20.03.2023.
10. Vinogradova, T. G. Manual of therapeutic stomatology : (for stutents 2 courses of faculty of training of foreign students of dental faculty in English). Pt. 2 : / Т. G. Vinogradova ; Ministry of Health Care of Belarus, Vitebsk State order of Peoples' Friendship Medical University, Dep. of General Dentistry with Prosthetic Dentistry course. - Vitebsk : [VSMU], 2016. - 130 p.
11. Stephan curve [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://jamiethedentist.com/dental-caries-decay/stephan-curve/>. – Дата доступа: 17.03.2023.
12. The relationship of plaque and COVID-19 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://encyclopedia.pub/entry/14487>. – Дата обращения : 20.03.2023.

# Секция 1.

## ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ

### УЧАСТИЕ МОНООКСИДА АЗОТА В АДАПТАЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ К ГИПОКСИИ/РЕОКСИГЕНАЦИИ

Акулич Н.В.<sup>1</sup>, Зинчук В.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ГУ «Республиканский научно-практический центр спорта», г. Минск;

<sup>2</sup> УО «Гродненский государственный медицинский университет»,  
г. Гродно, Республика Беларусь

**Актуальность.** Для функционирования клеток необходимо поддержание кислородного гомеостаза. В условиях физиологического покоя до 90 % доступного кислорода потребляется митохондриями для получения АТФ посредством окислительного фосфорилирования. Ограничение, или отсутствие кислорода сопровождается изменениями в метаболизме и функции клеток и приводит к гипоксии, при этом, в адаптации к ней принимает участие гемоглобин (Hb), обеспечивая взаимосвязь между содержанием кислорода и кровотоком [1]. В результате взаимодействия NO и гемоглобина происходит образование его различных форм, которые играют роль аллостерического регулятора функциональной активности гемопротейна [2].

**Цель работы** является оценка роли монооксида азота в адаптации эритроцитов к гипоксии/реоксигенации.

**Материалы и методы.** Исследования проводилось на суспензии эритроцитов. Забор венозной крови проводили в вакуумированные пробирки, антикоагулянт – ЭДТА К<sub>2</sub>. После центрифугирования ( $g=400$ ) и выделения эритроцитов, к ним добавляли буферный раствор для получения суспензии с гематокритом 5%, которую впоследствии подвергали воздействию гипоксии (30 мин) (1-я группа) гипоксии (30 мин)/реоксигенации в течение 60 минут (2-я группа).

Для оценки механизмов влияния гипоксии/реоксигенации использовали эксперименты *in vitro* в условиях 5% CO<sub>2</sub> и 4 % O<sub>2</sub> (гипоксия) и 5% CO<sub>2</sub> и 14 % O<sub>2</sub> (реоксигенации), 37° С, которые были созданы в перчаточном боксе. Концентрацию монооксида азота в клетках определяли с использованием 4-амино-5-метиламино-2',7'-дифторфлуоресцеина (DAF-FM DA). DAF-FM DA использовался для определения внутриклеточной концентрации NO. Оценка спектров суспензии эритроцитов и расчет фракций гемоглобина суспензии эритроцитов и раствора гемоглобина производили согласно формулам, приведенным ранее в нашей работе [3]. Сродство гемоглобина к кислороду определяли по показателю  $p_{50}$  определяли по формуле J.W. Severinghaus [4].

Интенсивность флуоресценции DAF-FM DA и одновременная регистрация спектров поглощения эритроцитарной суспензии реализована на планшетном спектрофлуориметре Biotek Synergy H1. Дополнительно проводилась оценка внутриклеточного NO на цитофлуориметре FACS ARIA (BD Bioscience, США).

Определяли внутриэритроцитарную интенсивность флуоресценции DAF-FM DA в нормоцитах (субпопуляция эритроцитов, несущих на поверхности гликофорин А и имеющие линейные размеры, соответствующие эритроцитам) каждой клетке. Для логического гейтирования нормоцитов использовали моноклональные антитела к CD 235а. Анализировали в каждой пробе не менее 40000 клеток.

Гематологические параметры (средний объем эритроцита и показатель ширины распределения эритроцитов по объему) определяли на гематологическом анализаторе Sysmex 2000i (Япония).

Оценку нитритов проводили с использованием Measure-iT™ High-Sensitivity Nitrite Assay Kit (Molecular Probes). Количественный анализ осуществляли после калибровки при титровании 11 мМ нитрита натрия. Оценку флуоресценции набора проводили при возбуждении с длиной волны 365 нм, эмиссия регистрировалась на длине волны 450 нм.

Полученные данные были обработаны методами вариационной статистики с использованием программы для персонального компьютера «Statistica 10.0».

**Результаты и обсуждение.** Результаты спектрофотометрических исследований суспензии эритроцитов здоровых добровольцев при гипоксии/реоксигенации показывают, что в условиях гипоксии происходит снижение фракции оксигемоглобина ( $\text{HbO}_2$ ) на 9,3 % до 40,3%,  $p < 0,05$ . Доля дезоксигемоглобина (Hb) при 4 % концентрации  $\text{O}_2$  в атмосфере бокса возрастает,  $p < 0,05$ . Фракция метгемоглобина (MetHb) снижается на 1,0-1,5%,  $p < 0,05$ .

Процесс реоксигенации сопровождается ростом фракции оксигемоглобина на 26,5 %, достигая 51,6 % (46,2; 58,4),  $p < 0,05$ . Также отмечается снижение фракции дезоксигемоглобина на 9,0 % ( $p < 0,05$ ) и рост MetHb на 4,7 %  $p < 0,05$ . Регистрируется смещение влево максимума поглощения полосы Core при моделировании гипоксии/реоксигенации во всех основных группах наблюдения.

В условиях 30-ти минутной гипоксии (5%  $\text{CO}_2$  и 4 %  $\text{O}_2$ ) установлено снижение показателя  $p50$  до 40,5 мм рт. ст. Реоксигенация в течение 30-ти минут сопровождается снижением сродства гемоглобина к кислороду: параметр  $p50$  возрастает до 42,3 мм рт. ст. Эти же величины  $p50$  сохраняются и при 60-ти минутой реоксигенации.

Концентрация монооксида азота эритроцитов, измеренная по интенсивности флуоресценции DAF-FM DA, при моделировании гипоксии вырастает на 15,7 %, ( $p < 0,05$ ), динамика роста при реоксигенации сохраняется, и на 60-й минуте прирост концентрации NO в красных кровяных тельцах составляет 106,4% ( $p < 0,05$ ).

Анализ концентрации нитритов в пробах показывает, что моделирование гипоксии/реоксигенации приводит к снижению их концентрации. В частности, при гипоксии концентрация нитритов в плазме снижается на 15,3% ( $p < 0,05$ ), а при реоксигенации – на 22,5% ( $p < 0,05$ ).

Проведение корреляционного анализа показывает, что между концентрацией монооксида азота в эритроцитах и – нитритов плазмы существует отрицательная корреляционная связь ( $r=-0,71$ ), ( $p<0,05$ ).

Согласно нашим данным, концентрация монооксида азота в субпопуляции эритроцитов (нормоцитах) при моделировании гипоксии/реоксигенации повышается.

**Выводы.** Гипоксия/реоксигенации сопровождается конформационными перестройками гемоглобина, изменением сродства гемоглобина к кислороду, что имеет значение для формирования кислородтранспортной функции крови.

Рост внутриклеточной концентрации монооксида азота в условиях гипоксии/реоксигенации обеспечивается за счет нитритов плазмы, что подтверждается отрицательными корреляционными связями между этими параметрами.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Nitric oxide in red blood cell adaptation to hypoxia / Y. Zhao [et al.] // Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai). – 2018. – Vol. 50, № 7. – P. 621-634.
2. Зинчук, В.В. Роль кислородсвязующих свойств крови в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма / В.В. Зинчук, М.В. Борисюк // Успехи физиологических наук. – 1999. – Т. 30, № 3. – С. 38-48.
3. Akulich, N.V. Role of the L-Arginine/NO System in Red Blood Cells at Different Values of Oxygen Partial Pressure / N.V. Akulich, V.V. Zinchuk // J Evol Biochem Phys. – 2022. – Vol. 58, № 2. – P. 548-557.
4. Severinghaus, J.W. Blood gas calculator. / J.W. Severinghaus // Journal of Applied Physiology. – 1966. – Vol. 21, № 3. – P. 1108-1116.

### ВЛИЯНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* К ЦЕФТАЗИДИМУ И ИМИПЕНЕМУ

<sup>1,2</sup>Артюх Т.В., <sup>1</sup>Сидорович Е.А., <sup>2</sup>Тапальский Д.В.

<sup>1</sup>УО «Гродненский государственный медицинский университет», г.Гродно;

<sup>2</sup>УО «Гомельский государственный медицинский университет»,

г. Гомель, Республика Беларусь

**Актуальность.** В настоящее время наиболее рациональным подходом для сдерживания распространения антибиотикорезистентности грамотрицательных возбудителей с множественной лекарственной устойчивостью является поиск или разработка адъювантов антибиотиков. С 1950-го года научное сообщество начало вкладывать средства в реабилитацию существующих антибиотиков посредством «комбинированной терапии» с соединениями способными усиливать или восстанавливать активность существующих антибиотиков в отношении устойчивых штаммов бактерий. Механизмы действия соединений, потенцирующих активность антибиотиков, разнонаправленны и до конца не изучены [4].

*Klebsiella pneumoniae* – грамотрицательная палочковидная бактерия, которая способна быстро приобретать устойчивость к различным антибактериальным препаратам. Появление *K. pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью представляет собой потенциальный риск для общественного здравоохранения и ставит под угрозу эффективность антибактериальной терапии.

Аскорбиновая кислота участвует во многих окислительно-восстановительных реакциях, выполняет биологические функции кофермента некоторых метаболических процессов, является антиоксидантом. Помимо этого, была выявлена ее способность повышать чувствительность к антибиотикам *in vitro* и *in vivo* некоторых грамотрицательных патогенов [3]. Однако результаты, полученные с использованием различных методик, не всегда коррелируют между собой.

**Цель.** Изучить влияние аскорбиновой кислоты на чувствительность *Klebsiella pneumoniae* с различными механизмами резистентности к цефтазидиму и имипенему.

**Материалы и методы исследования.** Используемые в исследовании бактериальные штаммы (*K. pneumoniae* БК-045; *K. pneumoniae* БК-128) – клинические изоляты с наличием генов β-лактамаз. *K. pneumoniae* БК-045 обладала карбапенемазой серинового типа – ОХА-48, *K. pneumoniae* БК-128 обладала металло-β-лактамазой – NDM. Чувствительность бактерий к цефтазидиму и имипенему определялась диско-диффузионным методом. Использовались диски с цефтазидимом и имипенемом (BD Sensi-Disc), агар Мюллера-Хинтон (Oxoid, Великобритания). Контроль качества исследования проводился в соответствии с целевыми значениями для контрольного штамма *E. coli* ATCC 25922. Влияние аскорбиновой кислоты («Экзон», Беларусь) на рост бактерий и чувствительность к антибиотикам изучалось с использованием комбинации диско-диффузионного метода и метода разведений в агаре. В агар Мюллера-Хинтон (МХА), охлажденный до 45 °С, добавляли аскорбиновую кислоту до получения концентраций 20 мг/л и 200 мг/л. На чашки Петри с МХА, содержащим аскорбиновую кислоту, газом засеивалась однодневная бактериальная культура стандартизованная по МакФарланду до  $1,5 \times 10^8$  колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл и наносились диски с антибиотиками. После суточной инкубации при  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  производился замер диаметра зоны подавления роста *K. pneumoniae* и сравнение результатов трех групп (МХА; МХА с 20 мг/л аскорбиновой кислоты; МХА с 200 мг/л аскорбиновой кислоты). Эксперимент выполнен в 3 повторях. Оценка результатов антибиотикочувствительности производилась в соответствии со стандартами Европейского комитета по определению чувствительности к антибиотикам (EUCAST).

**Результаты и обсуждение.** Штамм *K. pneumoniae* БК-045, продуцирующий ОХА-48, был устойчив к цефтазидиму и имипенему, диаметры зон подавления роста составили 7 мм и 21 мм соответственно. Штамм *K. pneumoniae* БК-128, продуцирующий NDM, также был устойчив к цефтазидиму

и имипенему, диаметры зон подавления роста составили 9 мм и 15 мм соответственно (Таблица).

Таблица – Интерпретация результатов определения чувствительности. Значения диаметров зон подавления роста (мм) *K. pneumoniae*.

Антибиотик	<i>K. pneumoniae</i> БК-045	<i>K. pneumoniae</i> БК-128	Пограничные значения (EUCAST)	
			Ч ≥	Р <
CAZ30 (контроль)	7	9	22	19
IMP10 (контроль)	21	15	22	19

Примечание: «Ч» – чувствительный; «Р» – резистентный; «CAZ» – цефтазидим; «IMP» – имипенем.

Аскорбиновая кислота в исследуемых концентрациях (20 мг/л, 200 мг/л) не оказывала ингибирующего действия на рост *K. pneumoniae*, продуцирующих β-лактамазы (ОХА-48, NDM).

Присутствие аскорбиновой кислоты в концентрации 20 мг/л не влияло на чувствительность исследуемых бактерий к цефтазидиму и имипенему, зона подавления роста не изменилась. Однако при добавлении в питательную среду 200 мг/л аскорбиновой кислоты наблюдалось увеличение чувствительности (увеличение диаметра зоны подавления роста *K. pneumoniae*). Для цефтазидима по отношению к *K. pneumoniae* БК-45 диаметр зоны подавления роста увеличился с 7 мм до 9 мм; по отношению к *K. pneumoniae* БК-128 – с 9 мм до 11 мм. Для имипенема по отношению к *K. pneumoniae* БК-45 диаметр зоны подавления роста увеличился с 20 мм до 22 мм, по отношению к *K. pneumoniae* БК-128 – с 15 мм до 16 мм. Таким образом, выявлено потенцирующее действие аскорбиновой кислоты в комбинации с цефтазидимом и имипенемом в отношении штаммов клебсиелл, имеющих гены β-лактамаз.

Синергический эффект аскорбиновой кислоты с антибиотиками может быть обусловлен ее влиянием на активность определенных метаболических путей, связанных с синтезом белка, что может приводить к повышению проницаемости бактериальной клеточной стенки; нарушению окислительно-восстановительных процессов у бактерий, подавлению генов антибиотикорезистентности. Также повышение активности антибиотиков может быть связано с антиоксидантными свойствами аскорбиновой кислоты или образующимся при её окислении пероксидом водорода [3,2]. Необходимо дальнейшее изучение действия более широкого спектра концентраций аскорбиновой кислоты с использованием метода «шахматной доски» для определения фракционных ингибирующих концентраций [1].

**Выводы.** Аскорбиновая кислота в концентрации 200 мг/л повышает чувствительность *K. pneumoniae* к цефтазидиму и имипенему. Данные о синергетических эффектах аскорбиновой кислоты в комбинации с цефтазидимом и имипенемом после проведения развернутых исследований можно будет использовать при лечении инфекций, вызванных *K. pneumoniae*, это позволит повысить чувствительность патогенов, избежать потенциального отрицательного воздействия терапии повышенных доз, а также снизит распространение резистентности к антибактериальным препаратам.

## ЛИТЕРАТУРА

1. 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.
2. Ascorbate reacts with singlet oxygen to produce hydrogen peroxide / G.G. Kramarenko [et al.] // Photochem. Photobiol. – 2006. – Vol. 82(6). – P. 1634-1637.
3. Assessment of antibacterial and anti-biofilm effects of vitamin C against *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates [Electronic resource] / W. M. Abdelraheem [et al.] // Front. Microbiol. – 2022. – Vol. 13. – Mode of access: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.847449/full>. – Date of access: 15.04.2023.
4. Tyers, M. 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.

## СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ IN VITRO

Байгот Е.С, Цинцевич А.В

УО «Гродненский государственный университет им. Янки Купалы»,  
г. Гродно, Республика Беларусь

**Актуальность.** Тема свободных радикалов и частиц, содержащих реактивные виды кислорода, продолжает привлекать внимание научного сообщества. Свободные радикалы – это химические соединения с одним или несколькими неспаренными электронами, образующиеся в результате потери или приобретения одного электрона. Неспаренный электрон – это электрон, который занимает только одну орбиталь молекулы или атома. В физиологических условиях реактивность радикалов высока, что приводит к ускорению окислительных процессов, которые разрушают молекулярную основу клеток и вызывают многие патологические состояния. Антиоксиданты - биологически активные вещества, способные связывать неспаренные электроны, играют важную роль в контроле превращения свободных радикалов в организме и оказывают значительное влияние на его состояние, именно

поэтому в последнее время широко изучаются антиоксидантные свойства антиоксидантов и соединений.

Основные участники генерации свободных радикалов в клетках живых организмов – митохондрии. В процессе преобразования энергии и синтеза АТФ электроны могут вступать в реакцию с кислородом с образованием токсичных для митохондрий и клеток активных форм кислорода (АФК).

**Цель данной работы** – оценить антиоксидантную активность флавоноида нарингенина при моделировании окислительного стресса *in vitro* трет-бутилгидропероксидом (tBHP) в митохондриях печени крыс.

**Материалы и методы исследований.** Митохондрии выделяли, используя метод дифференциального центрифугирования [1]. При определении содержания восстановленного глутатиона (GSH) к 0,1 мл суспензии митохондрий добавили 0,1 мл 25 % раствора ТХУ. Далее пробы центрифугировали при 5000 об/мин в течение 5 мин, затем к 0,15 мл полученного супернатанта добавляли 1,2 мл 0,5 М фосфатного буфера (рН 7,8) и 50 мкл раствора реактива Элмана (5 мМ) [2]. Пробы инкубировали 10 мин, затем определяли оптическую плотность при длине волны 412 нм. Содержание белка в пробах определяли по методу Лоури [3]. Концентрацию стабильных продуктов перекисного окисления мембранных липидов в митохондриях, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (TBARS), определяли спектрофотометрическим методом, используя молярный коэффициент экстинкции  $\epsilon_{532}=1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  [4]. Нормальность распределения данных определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Статистически достоверными признавали результаты с  $p < 0,05$ . Результаты представляли в виде среднего значения  $\pm$  стандартная ошибка среднего. Достоверность межгрупповых различий оценивали, используя однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с применением теста Тьюки.

**Результаты исследований.** В настоящем исследовании оценивалась антиоксидантная способность флавоноида нарингенина в митохондриях печени крысы. Окислительный стресс в митохондриях был вызван добавлением 1 мМ гидроперекиси трет-бутила (tBHP). Обработка митохондрий tBHP (1 мМ) привела к значительному окислительному стрессу, включая 8-кратное снижение уровня восстановленного глутатиона (GSH) и 3-кратное увеличение уровня перекиси липидов (ПОЛ) по сравнению с контрольными митохондриями ( $p < 0,05$ ). Добавление флавоноида нарингенина в культуральную среду ингибировало развитие окислительного повреждения в митохондриях гепатоцитов дозозависимым образом под действием 1 мМ tBHP. Нарингенин (5 мкМ) ингибировал перекисное окисление липидов мембран митохондрий (уровень ПОЛ снизился на 25% по сравнению с митохондриями в присутствии 1 мМ tBHP) ( $p < 0,05$ ); окисление GSH (уровень GSH увеличился на 20% по сравнению с митохондриями, обработанными окислителями), ( $p < 0,05$ ). Нарингенин (50 мкМ) ингибировал перекисное окисление липидов мембран митохондрий в 2 раза по сравнению с митохондриями в присутствии 1 мМ tBHP, соответственно ( $p < 0,05$ ); уровень GSH увеличился в 2 раза по сравнению с митохондриями в присутствии окислителей ( $p < 0,05$ ); уровень GSH

увеличился в 2 раза по сравнению с митохондриями, обработанными окислителями ( $p < 0,05$ ).

**Выводы.** Таким образом, в ходе данного исследования мы выяснили, что нарингенин ингибирует окислительные процессы в митохондриях печени крыс *in vitro*, что объясняется радикал-скевенджерной активностью полифенола.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ellman, G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Archives of Biochemistry and Biophysics. – 1959. – Vol. 82, № 1. – P. 70–77.
2. Johnson, D. Isolation of liver or kidney mitochondria / D. Johnson, H. A. Lardy // Methods in Enzymology. – 1967 – Vol. 10 – P. 94–101
3. Lowry, O.H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193. – P. 265– 275.
4. Stocks, J. The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide / J. Stocks, T. L. Dormandy // British Journal of Haematology. – 1971. – Vol. 20, № 1. – P. 95–111.

#### АНТИГИПОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ N-ПРОИЗВОДНЫХ ЦИТИЗИНА ПРИ ТКАНЕВОЙ ГИПОКСИИ У МЫШЕЙ

Богдевич Е.В.<sup>1</sup>, Букша Е.В.<sup>1</sup>, Гурсунходжаева Ф.М.<sup>2</sup>, Шляхтун А.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси,  
г.Гродно, Беларусь;*

<sup>2</sup>*Институт химии растительных веществ АН Республики Узбекистан,  
г. Ташкент, Узбекистан*

**Актуальность.** Гипоксия является важнейшим, а нередко и основным, проявлением разнообразных патологических состояний. Выделяют несколько видов гипоксии эндогенного происхождения: гипоксемическую гипоксию, циркуляторную (ишемическую), гемическую гипоксию, гистотоксическую гипоксию (тканевую) и смешанные формы [2].

Тканевая гипоксия развивается вследствие нарушения способности клеток поглощать кислород при условии нормальной его доставке к клеткам или в связи с уменьшением эффективности биологического окисления, например, в результате разобщения окисления и фосфорилирования. Примеры включают отравление цианидами, которые ингибируют цитохром *c* оксидазу, или метанолом, который окисляется до формиата, ингибирующего ферменты ЦТК [1].

Поиск новых антигипоксантов является важной задачей фармакологии. Считается патогенетически обоснованным применение антигипоксантов в составе комплексной, в том числе профилактической, терапии различных заболеваний. Дефицит энергии, являющейся следствием всех видов гипоксии, сопровождается однотипными нарушениями метаболизма в различных тканях: возникновению ацидоза, активации процессов генерации свободных радикалов,

повреждению биологических мембран. Действие антигипоксантов в условиях гипоксии направлено на коррекцию доставки кислорода к тканям (при гемической гипоксии) или его утилизации клетками организма (при цитотоксической гипоксии), в результате чего происходит коррекция энергозависимых процессов в клетках и их функциональной активности.

Цитизин является природным алкалоидом хинолизидинового ряда, перспективным в плане разработки новых антигипоксантов. Для исследований антигипоксического действия были выбраны полусинтетические N-метилцитизин и N-бензилцитизин, синтезированные из цитизина, выделенного из травы рабитника русского (*Chamaecytisus ruthenicus*).

**Цель работы** заключалась в исследовании антигипоксической активности N-производных цитизина при моделировании цитотоксической гипоксии у мышей.

**Материалы и методы исследования.** Эксперименты проведены на мышцах-самцах линии C57BL/6 массой 20-22 г, содержащихся в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище. Все процедуры с животными проведены в соответствии с требованиями, принятыми в международной практике биомедицинских исследований с соблюдением рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или иных научных целях.

Субстанции N-метил- и N-бензилцитизина синтезированы в Институте химии растительных веществ АН Республики Узбекистан. Чистота синтезированных соединений составила более 99 % (по результатам ВЭЖХ анализа). В качестве препарата сравнения был изучен мексибел (Белмедпрепараты, Беларусь), представляющий собой 5 % раствор 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината и обладающий выраженным антигипоксическим действием.

Тканевую гипоксию у мышей моделировали путем однократного в/бр введения нитропруссид натрия (20 мг/кг). Исследуемые препараты вводили в/бр за 30 мин до воздействия нитропруссид натрия. N-метил- и N-бензилцитизин вводили в дозах 1 и 5 мг/кг, препарат сравнения (мексибел) – в дозах 25 и 50 мг/кг. Двум дополнительным группам животных вводили смесь из мексибела (50 мг/кг) и N-метил- или N-бензилцитизина в дозах 5 мг/кг. Контрольные животные получали инъекции физиологического раствора в эквивалентных количествах. Критерием оценки антигипоксического действия исследуемых веществ служила продолжительность жизни экспериментальных животных после введения нитропруссид натрия [2, 4]. В каждой группе было по 6 животных.

Для выявления значимости различий между группами использовали дисперсионный анализ и *post-hoc* тест Тьюки. Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5 % ( $p < 0,05$ ). Данные в таблице представлены как «среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего».

**Результаты и обсуждение.** Полученные результаты показали, что N-метилцитизин приводил к достоверному повышению продолжительности

жизни мышей на 55% только после введения препарата в дозе 5 мг/кг, тогда как при действии 1 мг/кг N-метилцитизина наблюдалась лишь тенденция к удлинению сроков их жизни. N-бензилцитизин в дозе 1 мг/кг увеличивал продолжительность жизни на 67%, а в дозе 5 мг/кг мыши выживали на 83% дольше (таблица).

Препарат сравнения мексibel в дозе 25 мг/кг проявил лишь тенденцию к удлинению сроков жизни животных, но в дозе 50 мг/кг повысил продолжительность их жизни в 2 раза. Таким образом, антигипоксанта́ный эффект N-метилцитизина в обеих изученных дозах сравним с эффектами мексibела в дозе 25 мг/кг, а эффект N-бензилцитизина в обеих дозах достоверно превышает эффекты мексibела в этой дозе. Совместное введение N-метилцитизина 5 мг/кг и мексibела 50 мг/кг не влияет заметным образом на продолжительность жизни животных по сравнению с действием самого мексibела, тогда как при совместном введении N-бензилцитизина 5 мг/кг и мексibела 50 мг/кг наблюдается увеличение продолжительности жизни мышей на 7% по сравнению с продолжительностью их жизни на фоне действия одного мексibела.

Механизм антигипоксического действия мексibела связан с усилением активности гликолиза и окислительных процессов в цикле Кребса в условиях гипоксии, с активацией энергосинтезирующих функций митохондрий, сопряженной с увеличением содержания АТФ, креатинфосфата, а также стабилизацией клеточных мембран [3]. Отсутствие выраженного синергического эффекта при введении комбинации N-производных цитизина и мексibела может свидетельствовать об общности механизмов действия этих препаратов.

Таблица – Влияние N-производных цитизина на длительность жизни мышей при моделировании цитотоксической гипоксии (n=6)

Группы	t, сек
Нитропруссид натрия + физиологический раствор (контрольная группа)	628,8±33,4
Нитропруссид натрия + N-метилцитизин 1 мг/кг	854,7±74,9
Нитропруссид натрия + N-метилцитизин 5 мг/кг	974,5±64,0*
Нитропруссид натрия + N-бензилцитизин 1 мг/кг	1051,3±53,3*#
Нитропруссид натрия + N-бензилцитизин 5 мг/кг	1147,8±43,4*#
Нитропруссид натрия + мексibel 25 мг/кг	786,8±69,5
Нитропруссид натрия + мексibel 50 мг/кг	1355,7±70,6*
Нитропруссид натрия + мексibel 50 мг/кг + N-метилцитизин 5 мг/кг	1274,8±92,7*
Нитропруссид натрия + мексibel 50 мг/кг + N-бензилцитизин 5 мг/кг	1449,2±59,9*

Примечание: \* – p <0,05 по сравнению с контрольной группой; # – p <0,05 по сравнению с группой мексibel (25 мг/кг)

**Выводы.** Установлено, что N-метилцитизин обладает слабым антигипоксическим действием, сопоставимым с действием мексибела в дозе 25 мг/кг, тогда как N-бензилцитизин проявляет более выраженное дозозависимое антигипоксическое действие, которое превышает эффекты мексибела в дозе 25 мг/кг, сопоставимо с действием мексибела 50 мг/кг и несколько усиливается при совместном введении этих препаратов. Эти данные свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения действия N-бензилцитизина как антигипоксанта.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян, Н. А. Классификация гипоксии, гипо- и гиперкапнии / Н. А. Агаджанян, А. Я. Чижов // Физиологический журнал. – 2003. – Т. 49, № 3. – С. 11–16.
2. Гипоксия тканей, вызванная нитропруссидом натрия, и ее коррекция растительными препаратами / С. Г. Аксиненко [и др.] // Вестник экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – № 143. – С. 42–45.
3. Оковитый, С. В. Антигипоксанты в современной клинической практике / С. В. Оковитый [и др.] // Клиническая медицина. – 2012. – № 9. – С. 63–68.
4. Salyha, N. Hypoxia modeling techniques: a review / N. Salyha, I. Oliynyk // Heliyon. – 2023. – Vol. 9, Iss. 2 – Article. e13238. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e13238.

## ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕЙРОМЕДИАТОРНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭТАНОЛОМ И МОРФИНОМ

**Величко И.М.**

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

**Актуальность.** Функционирование серотонинергической системы головного мозга играет важную роль в формировании толерантности, зависимости и предрасположенности к употреблению этанола и опиатов [4, 3]. Имеются данные как о снижении, так и повышении уровня серотонина при длительном воздействии морфина, что обусловлено сроком воздействия наркотика и отделом ЦНС [6].

Авторами доказано, что хроническое воздействие алкоголя нарушает регуляцию передачи сигналов серотонина в головном мозге, играет ключевую роль в поведении, связанном с алкогольной зависимостью. Хроническое потребление алкоголя изменяет серотонинергическую модуляцию синаптической передачи и вызывает потенциальные нейроадаптации в ее рецепторной системе. Серотонинергические нейроны дорсального шва достигают вентральной тегментальной области среднего мозга и способствуют вознаграждению за счет высвобождения глутамата и активации дофаминовых нейронов [5].

Опиоидная наркомания, возникшая на фоне предшествующего алкоголизма (или наоборот), сопровождается ускоренной клинической динамикой и тенденцией к интенсивному течению. В литературе описаны типологические варианты (викарная алкоголизация, смена формы наркотизма) клинической динамики опиоидной зависимости, осложненной алкоголизмом у населения [1]. При сочетанном употреблении нескольких ПАВ характерна способность одного вещества подавлять симптомы отмены другого и тем самым поддерживать состояние зависимости. Кроме того, у лиц, имеющих зависимость от одного вида ПАВ, употребление другого для достижения желаемого эффекта требует более высокой его дозы.

В литературе широко представлены данные о нейромедиаторных изменениях в головном мозге при острой алкогольной и морфиновой интоксикации, однако их совместное воздействие на активность серотонинергической системы не ясны. Эти результаты могут быть полезны при выяснении причин передозировок и смертей при совместном использовании «пороговых» доз этанола и морфина, а также изменения толерантности и зависимости от опиата в присутствии алкоголя.

**Цель исследования:** изучить вовлеченность серотонинергической системы на длительное комплексное воздействие этанола и морфина в стриатуме, гипоталамусе и среднем мозге крыс.

**Методы исследования.** Комплексную морфин-алкогольную интоксикацию (ХМИ+ХАИ) моделировали на 69 крысах-самцах путем введения 1% раствора морфина гидрохлорида (10 мг/кг), а через 12 часов этанола (3,5 г/кг) на протяжении 7, 14 и 21 суток. Определение триптофана, 5-окситриптофана, серотонина, 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК) в ткани головного мозга крыс проводили с помощью ион-парной ВЭЖХ. Статистическая обработка проведена методом пошагового дискриминантного анализа.

#### **Результаты и их обсуждения.**

Выраженные отклонения показателей серотонинергической системы в стриатуме при 7-суточной комплексной интоксикации подтверждаются пошаговым дискриминантным анализом, демонстрирующим разграничения экспериментальных групп изученных показателей. Данная модель статистически значима ( $F(24,2)=8,5$ ,  $\lambda=0,09$ , при  $p<0,00001$ , что свидетельствует о сильной дискриминации в этом отделе мозга). Наиболее информативными показателями при этом являлись триптофан, серотонин и 5-ОИУК. В 61% случаев различия между экспериментальными группами относительно 1-й дискриминантной функции (кор. 1) обеспечивалась показателями 5-ОИУК, 5-окситриптофана и триптофана ( $r=0,84$ ). В 4,3% случаев разделительная способность 2-й дискриминантной функции (кор. 2) обеспечивалась 5-окситриптофаном, серотонином и 5-ОИУК ( $r=0,76$ ).

Наибольшая отдаленность относительно 1-й дискриминантной функции регистрировалась для изучаемых показателей между группами ХМИ+ХАИ-7 и ХАИ-7. Группа ХАИ-7 образует общий конгломерат с группой контроля, а при морфин-алкогольной интоксикации происходит смещение данных и частичное их перекрытие с данными серотонинергической системы группы контроля.

Для демонстрации разграничения экспериментальных групп исследованных показателей в гипоталамусе был использован пошаговый дискриминантный анализ. Данная модель высоко статистически значима ( $F(18,2)=14,1$ ,  $\lambda=0,09$  при  $p<0,00001$ ), что свидетельствует о сильной дискриминации в данном отделе мозга). Наиболее информативными показателями при этом были серотонин, триптофан и 5-окситриптофан. Именно они в 85% случаев обеспечивали разделительную способность 1-й дискриминантной функции (коэффициент канонической корреляции соответствует тесной связи дискриминантной функции с группами  $r=0,92$ ). В 4,9% случаев разделительная способность 2-й дискриминантной функции обеспечивалась 5-окситриптофаном и серотонином (коэффициент канонической корреляции  $r=0,67$ , отражает зависимость средней степени между экспериментальными группами и 2-й дискриминантной функцией). Наибольшая отдаленность по 1-й дискриминантной функции в сравнении с контрольной группой регистрировалась для изучаемых показателей при 7-суточном совместном введении этанола и морфина. Разрыв между группой ХМИ+ХАИ-7 и остальными определяется исключительно первым корнем. В отделенные сроки морфин-алкогольной интоксикации (14 и 21 сутки) происходит формирование общего конгломерата данных с группой контроля и ХАИ-14, ХАИ-21 и смещение групп ХМИ+ХАИ-14, ХМИ+ХАИ-21 и контроля относительно 1-й и 2-й дискриминантных функций.

Результаты пошагового дискриминантного анализа указывают на то, что в среднем мозге ( $F(24,2)=5,63$ ,  $\lambda=0,17$  при  $p<0,00001$ ) и мозжечке ( $\lambda=0,24$ ,  $F(24,21)=4,4$ ,  $p<0,00001$ ) данная модель является статистически значимой. На диаграммах рассеяния канонических значений в пространстве дискриминантных функций во многом происходит накладывание «облаков» данных, что не позволяет продемонстрировать разделение изучаемых групп относительно дискриминантных функций в данных отделах мозга.

Из вышесказанного следует, что комплексное введение этанола и морфина на протяжении 7, 14 и 21 суток, сопровождается изменением активности серотонинергической нейромедиаторной системы в различных отделах головного мозга крыс. Наиболее выраженные смещения параметров данной системы относительно 1-й и 2-й дискриминантных функций при этом наблюдалось в стриатуме и гипоталамусе спустя 7 суток (ХМИ+ХАИ-7), тогда как введение только этанола (ХАИ-7) схожи с контролем. В гипоталамусе, при комплексном введении этанола и морфина разграничение показателей серотонинергической системы сохраняется через 14 и 21 сутки (ХМИ+ХАИ-14, ХМИ+ХАИ-21), чего не наблюдается при введении только этанола (ХАИ-14, ХАИ-21). Результаты пошагового дискриминантного анализа согласуются с представленными ранее результатами попарного сравнения серотонина и продуктов его метаболизма биосинтеза, что выражалось повышением уровня серотонина в стриатуме, гипоталамусе и мозжечке, увеличением концентрации 5-ОИУК в стриатуме, гипоталамусе и среднем мозге, а также возрастанием содержания 5-окситриптофана в стриатуме [1, 2].

**Выводы:** Изменения содержания показателей серотонинергической нейромедиаторной системы при 7-суточной комплексной интоксикации

подтверждаются результатами пошагового дискриминантного анализа, которые указывает на высокую статистическую значимость модели в стриатуме ( $F(24,2)=8,5$ ,  $\lambda=0,09$ , при  $p<0,00001$ ) и гипоталамусе ( $F(18,2)=14,1$ ,  $\lambda=0,09$ ,  $p<0,00001$ ). На диаграммах рассеяния канонических значений в пространстве дискриминантных функций это проявляется в виде смещения «облаков» данных группы контроля и группы ХМИ+ХАИ-7 в гипоталамусе.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Величко, И. М. Состояние дофаминергической системы головного мозга крыс при морфин-алкогольном постинтоксикационном синдроме / И. М. Величко, С. В. Лелевич, В. В. Лелевич // Журнал «Гродненского государственного медицинского университета». – 2021. – Т. 19, № 3. – С. 311–317.
2. Величко, И. М. Состояние серотонинергической системы в головном мозге крыс при морфин-алкогольном постинтоксикационном синдроме / И. М. Величко // Вопросы наркологии. – 2021. – № 6 (201). – С. 77–90.
3. Мамедова, А. Е. Содержание серотонина, его предшественников и метаболитов в головном мозге крыс в условиях острой алкогольной интоксикации и гиподинамии / А. Е. Мамедова, В. В. Лелевич, Е. М. Дорошенко // Вопросы наркологии – 2022. – № 1 (208). – С. 69-82.
4. Центральные нейрхимические эффекты острого и хронического воздействия этанола. Механизмы толерантности и зависимости (обзор литературы) / В. Б. Долго-Сабуров [и др.] // Токсикология. – 2011. – Т. 12. – С. 1423–1436.
5. Profound decreases in dopamine release in striatum in detoxified alcoholics: possible orbitofrontal involvement / N. D. Volkow [et al.] // J Neurosci. – 2007. – Vol. 27 (46). – P. 12700–12706.
6. Voluntary Ethanol Intake Produces Subregion-Specific Neuroadaptations in Striatal and Cortical Areas of Wistar Rats / O. Lagström [et al.] // Alcohol Clin Exp Res. – 2019. – Vol. 43 (5). – P. 803–811.

## ЭФФЕКТЫ ПРЕРЫВИСТОЙ МОРФИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА СОДЕРЖАНИЕ ДОФАМИНА И ЕГО МЕТАБОЛИТОВ В КОРЕ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ КРЫС

Виницкая А.Г., Юзафзай Н.А., Болдак Е.А.

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

### Актуальность.

Дофаминергическая система ЦНС регулирует множество физиологических функций человека и животных, включая двигательную активность, эмоциональные и мотивационные компоненты поведения, в том числе при наркотической интоксикации [1]. В экспериментальной наркологии используются животные модели морфиновой интоксикации для оценки метаболических последствий потребления опиоидных наркотиков. Другое применение этих моделей – предклиническое тестирование соединений и

композиций, планируемых к внедрению в наркологическую практику [2]. К таким композициям аминокислот относится фармакопейный препарат Нейрамин, используемый в клинике при различных состояниях, ассоциированных с алкогольной интоксикацией. В состав Нейрамина входят L-триптофан, глицин, L-аргинина-L-аспартат.

**Цель.** Оценка состояния дофаминергической системы коры больших полушарий головного мозга крыс, после прерывистой морфиновой интоксикации (ПМИ) и назначения на ее фоне композиции Нейрамин.

**Методы исследования.** В эксперименте были использованы 30 белых беспородных крыс-самцов массой 180–250 грамм. Животных содержали по 10 особей в клетке при естественном цикле освещения и свободном доступе к воде и пище. Все манипуляции с экспериментальными животными проводились согласно действующим международным биоэтическим нормам.

ПМИ моделировали путем внутрибрюшного введения крысам 1% раствора морфина гидрохлорида в суточных дозах 15 мг/кг (1-й цикл) и 30 мг/кг массы тела (2-й и 3-й циклы), используя схему «4 суток морфин + 3 суток отмены» [4]. В группе «ПМИ + Нейрамин» внутривентрикулярно, в два приема, вводили препарат Нейрамин («Белмедпрепараты», Беларусь, в дозе 200 мг/кг/сут.) в периоды времени, свободные от морфина. Контрольная группа была сформирована из крыс, которым внутрибрюшинно и внутривентрикулярно вводили 0,9% раствор NaCl, используя схему введения, как в группе ПМИ. Забой животных контрольной и подопытных групп проводился на 22-е сутки от начала эксперимента.

После декапитации у крыс извлекали головной мозг, выделяли кору больших полушарий и замораживали в жидком азоте. Определение уровней дофамина, его предшественников (тирозин, диоксифенилаланин (ДОФА)) и метаболитов (диоксифенилуксусная кислота (ДОФУК), гомованилиновая кислота (ГВК)) проводили с помощью ион-парной ВЭЖХ с детекцией по флуоресценции [5]. Концентрации исследуемых показателей выражали в нмоль/грамм ткани. Достоверность различий между группами оценивали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA) и измерения t критерия Стьюдента с поправкой Бонферони.

### **Результаты и их обсуждение.**

Префронтальная зона коры является частью физиологической «системы награды» ЦНС, участвующей в формировании мотивации и зависимости от опийных наркотиков. В ней и других структурах коры больших полушарий обнаружены высокие концентрации опиоидных рецепторов, дофаминергических и глутаматергических нейронов [1].

Согласно полученным данным, прерывистое введение морфина в режиме трех циклов привело к активации распада дофамина в коре больших полушарий, о чем свидетельствовало повышение содержания ГВК. Однако содержание самого нейромедиатора и его предшественников достоверно не изменились (таблица). В предыдущем исследовании с использованием похожей модели ПМИ мы наблюдали снижение общего пула свободных аминокислот, пулов ароматических и нейротрансмиттерных аминокислот в коре больших

полушарий и среднем мозге. При этом уровни биогенных аминов и их метаболитов существенно не изменились [5].

Таблица – Содержание нейромедиаторов и их метаболитов (нмоль/г) в коре больших полушарий головного мозга крыс при прерывистой морфиновой интоксикации (ПМИ) и ее коррекции композицией Нейрамин ( $x \pm SEM$ , t test Стьюдента)

Группы Показатели	I. Контроль	II. ПМИ	III. ПМИ + Нейрамин
Тирозин	165.4 ± 6,02	175,9 ± 5,83	137,8 ± 9,85#
ДОФА	0,444± 0,041	0,504± 0,038	0,384 ± 0,031#
Дофамин	25,34± 2,37	30,84 ± 8,88	10,19 ± 0,89*
ДОФУК	2,25± 0,205	2,19 ± 0,21	1,89 ± 0,25
ГВК	0,872± 0,084	1,67 ± 0,24*	0,589 ± 0,036*# <sup>o</sup>

\* — статистически достоверные различия с контролем;

# — статистически достоверные различия с ПМИ-3;

Введение композиции Нейрамин на фоне ПМИ привело к снижению уровней тирозина и ДОФА относительно группы ПМИ. Уменьшение концентраций предшественников дофамина сопровождалось значительным падением уровня дофамина в исследуемом отделе ЦНС. Одновременно снизилось содержание метаболита ГВК относительно контроля и группы ПМИ (таблица). Все эти изменения могли указывать на ослабление активности дофаминергических нейронов в коре больших полушарий в ответ на компоненты препарата.

### Выводы

1. Прерывистая морфиновая интоксикация в режиме трех циклов сопровождается усилением катаболизма дофамина в коре больших полушарий крыс на фоне отсутствия сдвигов в концентрации самого нейромедиатора

2. Назначение Нейрамина на фоне ПМИ способствовало снижению интенсивности метаболизма дофамина, о чем свидетельствовало уменьшение концентраций как дофамина, так и его предшественников и метаболитов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Нейромедиаторные и гормональные механизмы прилежащего ядра в реализации подкрепляющих эффектов наркотенов у крыс/ П. Д. Шабанов, [и соавт.] // Наркология. – 2012. – Т. 11, № 8. – С. 49—57.

2. Müller C. P. Animal models of psychoactive drug use and addiction - Present problems and future needs for translational approaches / C. P. Müller // Behav Brain Res. – 2018. – Vol. 352. – P. 109—115. doi: 10.1016/j.bbr.2017.06.028.

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

4. Коррекция пула свободных аминокислот в тканях крыс при прерывистой морфиновой интоксикации монография / А. Г. Виницкая, [и соавт.] // Вопросы наркологии. – 2017, № 10. – С. 64-75.

5. Влияние прерывистой морфиновой интоксикации на состояние пула нейроактивных аминокислот и биогенных аминов в отделах головного мозга / В. В. Лелевич, [и соавт.] // Нейрохимия. – 2015. – Т. 32, № 3. – С. 252-258.

## **ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В УСЛОВИЯХ СОЧЕТАННОГО ВВЕДЕНИЯ L-АРГИНИНА И АМИНОГУАНИДИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПЕРИТОНИТЕ**

**Гусаковская Э.В., Максимович Н.Е., Ковалева В.А.,  
Тивунчик А.Ю.**

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

**Актуальность.** Высокая летальность при распространенном перитоните обуславливает необходимость детализации его патогенеза и улучшения терапии [1]. Известно, что в патогенезе воспаления важная роль принадлежит монооксиду азота (NO), обладающему множеством противоречивых эффектов – про- и антиоксидантных, про- и противовоспалительных, про- и антиадгезивных, что может быть обусловлено активацией определенной изоформы NO-синтазы: нейрональной, индуцируемой, эндотелиальной [2]. Важная роль при воспалении принадлежит макрофагальной (индуцируемой) изоформе NO-синтазы, активация которой приводит к образованию значительных количеств NO, который, наряду с реализацией бактерицидного эффекта, оказывает губительное воздействие на ткани организма [3]. Однако немаловажной представляется роль эндотелиальной изоформы NO-синтазы, принимающей участие в регуляции кровотока [4]. В свою очередь, недостаточность сведений о механизмах развития окислительного стресса при воспалительном процессе в брюшной полости в условиях модуляции активности NO-синтазы обуславливает актуальность проведения исследований в данном направлении.

**Цель** – изучить изменение активности окислительного стресса в условиях сочетанного введения L-аргинина и аминоксиданидина при экспериментальном перитоните.

**Материалы и методы.** Исследуемые животные разделены на 5 серий, которым внутрибрюшинно, 0,6 мл/100 г массы тела, вводили: 1-й серии (контроль) – 0,85 %-й раствор NaCl, 2-5-й серии – 15 % каловую взвесь (ЭП), после чего внутримышечно вводили: 1-2-й серии – 0,85 % раствор NaCl, 3-й серии (ЭП+L-Arg) – субстрат NO-синтазы – L-аргинин (L-Arg), 300 мг/кг («Sigma», США), 4-й серии (ЭП+AG) – ингибитор индуцируемой изоформы NO-синтазы – аминоксиданидин (AG), 15 мг/кг («Sigma», США), 5-й серии (ЭП+L-Arg+AG) – L-Arg («Sigma», США) и AG («Sigma», США) в аналогичной

дозе. В свою очередь, в каждой из пяти серий выделены 3 подгруппы крыс соответственно срокам проведения исследования – спустя полсуток (n=6), спустя 1 сутки (n=6) и спустя 3 суток (n=6). Выраженность окислительного стресса оценивали по концентрации вторичного продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (MDA) и показателя антиоксидантной защиты – восстановленного глутатиона (GSH) в плазме крови (ПК) [5]. Содержание MDA определяли путем измерения экстинкции раствора, содержащего триметилловый комплекс MDA с тиобарбитуровой кислотой, окрашенный в розовый цвет, при проведении спектрофотометрии. При этом к 0,2 мл образца добавляли 1 мл 15 %-й трихлоруксусной кислоты и 1 мл тиобарбитуровой кислоты, после чего пробы помещали в кипящую водяную баню на 10 минут, по истечении которых охлаждали и затем центрифугировали (3000 об/мин, 10 минут). Концентрацию образовавшегося продукта определяли на спектрофотометре «SOLAR PV 1251C» при  $\lambda = 532$  нм, по отношению к контрольной пробе. С целью определения концентрации GSH к 1 мл ПК добавляли 0,2 мл 25 %-й трихлоруксусной кислоты, центрифугировали (5000 об/мин, 5 минут) и отбирали 0,2 мл супернатанта, добавляли 1,2 мл 0,5 М натрий-фосфатного буфера (pH=7,8) и 0,05 мл реактива Элмана. Пробы инкубировали 10 минут при комнатной температуре, после чего содержание GSH определяли на спектрофотометре «SOLAR PV 1251C» при  $\lambda=412$  нм и  $\lambda=700$  нм. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США) с использованием непараметрического критерия Краскелла-Уоллиса и апостериорных сравнений; данные представлены в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана, LQ и UQ – значения нижнего и верхнего квартилей, соответственно; различия считали значимыми при  $p<0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Об изменениях в прооксидантно-антиоксидантном состоянии свидетельствовало наиболее выраженное уменьшение содержания вторичного продукта липопероксидации – малонового диальдегида (MDA) и повышение уровня показателя антиоксидантной защиты – восстановленного глутатиона (GSH) в ПК крыс с ЭП и сочетанным введением изучаемых модуляторов NOS, по сравнению со значениями показателей при ЭП без введения препаратов либо при их изолированном использовании.

В частности, отмечено уменьшение содержания MDA в ПК спустя полсуток – до 1,1 (0,8; 1,3) мкмоль/л, или в 3 раза ( $p<0,01$ ), спустя 1 сутки – 1,6 (1,4; 1,8) мкмоль/л, или в 2,7 раза ( $p<0,01$ ), спустя 3 суток – до 0,9 (0,7; 1,1) мкмоль/л, или в 3,4 раза ( $p<0,01$ ), по сравнению со значениями при ЭП без введения препаратов. При этом содержание MDA в ПК спустя 1 сутки было больше, чем спустя полсуток, в 1,5 раза ( $p>0,05$ ), а спустя 3 суток – меньше, чем спустя полсуток, в 1,2 раза ( $p<0,05$ ), причем спустя 3 суток [MDA] была меньше, чем спустя 1 сутки – в 1,8 раза ( $p<0,05$ ), что указывает на уменьшение выраженности процессов ПОЛ к 3 суткам перитонита. Продолжали сохраняться различия в содержании MDA в ПК крыс с сочетанным введением L-аргинина и аминоксидина, по сравнению с результатами в «контроле». В частности, спустя полсуток ЭП оно увеличилось

в 1,6 раза ( $p < 0,01$ ), спустя 1 сутки – в 2,3 раза ( $p < 0,01$ ), спустя 3 суток – в 1,3 раза ( $p > 0,05$ ). Уменьшение [MDA] в ПК крыс с ЭП и введением комбинации изучаемых модуляторов NOS, по сравнению со значениями при изолированном введении L-аргинина и амингуанидина составило: спустя полсутки – 57 (52; 65) %,  $p < 0,01$ , и 42 (35; 50) %,  $p < 0,01$ , спустя 1 сутки – 54 (51; 56) %,  $p < 0,01$ , и 34 (33; 35) %,  $p < 0,01$ , спустя 3 суток – 61 (56; 67) %,  $p < 0,01$ , и 43 (35; 47) %,  $p < 0,01$ , соответственно.

Наряду со снижением содержания MDA наблюдалось повышение уровня GSH в ПК крыс с ЭП и сочетанным введением L-аргинина и амингуанидина спустя полсутки – до 5,5 (5,2; 5,9) моль<sup>-1</sup>/мл, или в 1,9 раза ( $p < 0,01$ ), спустя 1 сутки – до 4,7 (4,5; 5,0) моль<sup>-1</sup>/мл, или в 2,6 раза ( $p < 0,01$ ), спустя 3 суток – до 5,7 (5,5; 6,0) моль<sup>-1</sup>/мл, или в 2,1 раза ( $p < 0,01$ ), по сравнению с результатами у животных с перитонитом без их введения. При этом концентрация GSH в ПК крыс спустя 1 сутки была меньше, чем спустя полсутки, в 1,2 раза ( $p > 0,05$ ), а спустя 3 суток не отличалось от значений показателя спустя полсутки ( $p < 0,05$ ), причем спустя 3 суток значение исследуемого показателя было больше, чем спустя 1 сутки – в 1,2 раза ( $p < 0,05$ ). По сравнению с уровнем GSH в ПК контрольной группы, у крыс с сочетанным введением изучаемых модуляторов NOS он был меньше спустя полсутки – в 1,2 раза ( $p > 0,05$ ), спустя 1 сутки – в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ) в ПК, спустя 3 суток – в 1,2 раза ( $p > 0,01$ ). Кроме того, изучение антиоксидантной защиты выявило увеличение [GSH] в ПК крыс с ЭП и введением комбинации L-аргинина и амингуанидина, по сравнению с результатами при их изолированном использовании: спустя полсутки – на 49 (46; 51) %,  $p < 0,01$ , и на 22 (21; 24) %,  $p < 0,01$ , спустя 1 сутки – на 77 (67; 88) %,  $p < 0,01$ , и на 21 (19; 27) %,  $p < 0,01$ , спустя 3 суток – на 60 (54; 61) %,  $p < 0,01$ , и на 22 (22; 22) %,  $p < 0,01$ , соответственно.

**Выводы.** Таким образом, уменьшение прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса, которое выражалось в снижении содержания продукта липопероксидации – малонового диальдегида и увеличении уровня показателя антиоксидантной защиты – восстановленного глутатиона в плазме крови крыс с экспериментальным перитонитом и сочетанным введением L-аргинина и амингуанидина, указывают на уменьшение активности окислительного стресса. Это может быть обусловлено ингибированием цитотоксического эффекта NO и образуемого при его участии пероксинитрита ( $\text{ONOO}^-$ ) в отношении клеточных мембран путем подавления активности индуцируемой изоформы NO-синтазы, а также свойствами аминокислоты L-аргинин как предшественницы в образовании трипептида глутатиона.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Husakouskaya, E. V. Peritonitis: relevance and choice of adequate experimental model / E. V. Husakouskaya, N. Ye. Maksimovich // Biomed J Sci and Tech Res. – 2022. – № 45 (2). – P. 36302–36306.
2. Максимович, Н. Е. Аминокислота L-аргинин и перспективы её использования в клинике / Н. Е. Максимович, Д. А. Маслаков // Здоровоохранение. – 2003. – № 5. – С. 35–37.

3. Савельев, В. С., Петухов, В. А. Перитонит и эндотоксиновая агрессия. – Москва, 2012. – 326 с.

4. Sylman, J. Development of vascular injury models to measure the interactions between platelets, endothelial cells and nitric oxide under physiological flow conditions. – Colorado School of Mines: ProQuest Dissert Publ, 2015. – 231 p.

5. Rice-Evans, C. A. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology: techniques in free radical research. – London, Elsevier, 1991. – 291 p.

## **РАСТИТЕЛЬНЫЙ ЭКСТРАКТ САМШИТ (*Buxus sempervirens*) В ЛЕЧЕНИИ РАН**

**Джаббар Мустафа Салех Джаббар**

*Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие  
"Институт биохимии биологических активных соединений НАН Беларуси",  
г. Гродно, Республика Беларусь*

### **Актуальность.**

Врачи древности отмечали, что вечнозеленый самшит имеет полезные свойства [1]. *Buxus sempervirens* применяли как лекарственное растение: средство против кашля, болезней желудочно-кишечного тракта, при лихорадках, малярии.

В настоящее время самшит широко не используется, за исключением народной медицины, хотя описаны гипотензивный, мочегонный, потогонный и антисептический его эффекты. Отмечено, что растительные экстракты самшит обладают антибактериальным, болеутоляющим, жаропонижающим и желчегонным действием. Возможные терапевтические и профилактические эффекты, а также химический состав растения изучены недостаточно [2, 3].

### **Цель.**

Оценить возможные терапевтические эффекты растительного экстракта *Buxus sempervirens* в лечении ран.

### **Методы исследования.**

Был приготовлен спиртовой экстракт Самшит (*Buxus sempervirens*). Стандартизация экстракта – 96% этанол, Самшит Самшит (*Buxus sempervirens*). Разработанный терапевтический состав для заживления ран: 40% - Самшит, 20% – 96% этанол, 40% - *vaselinum album* (углеводородная основа липофильных мазей). Динамика заживления (дни) кожных ран изучены у крыс линии Wistar). Животные разделены на группы (в зависимости от метода лечения, по 10): 1 группа (контроль) – на рану не наносился препарат; 2 группа – на рану наносился хлоргексидин (стандартный протокол лечения); 3 группа – на рану наносился экстракт *Buxus sempervirens*.

Методы исследования: иммунологический (фагоцитарный индекс, фагоцитарное число), гистологический, хроматографический (газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием – Agilent 7890A, идентификация – NIST11, библиотека масс-спектров), статистический (пакет программ SPSS Statistica 22.0).

### **Результаты и их обсуждение.**

В приготовленном экстракте самшит (96% этанола) оцененное методом газовой хроматографии с масс-детекцией количество биологически активных веществ и их производных колебалось в пробах от 36 до 102 (среднее количество составило  $69,00 \pm 16,14$ ). Удельный вес обнаруженных и проанализированных веществ колебался от пробы к пробе и составил  $17,3 \pm 7,4$  ( $p=0,01$ ). Количество подтвержденных биологически активных веществ в экстракте *Vixus sempervirens* варьировало от 39% до 100%. Анализ экстрактов (вещества  $>70,0\%$ ) показал, что основные вещества экстракта, обладающие активным описанным в литературе эффектом, содержали компоненты с вероятностью обнаружения 95% и чувствительностью идентификации  $>70,0\%$ : гуанидины, флавоноиды.

При микробиологической оценке экстракта Самшит показана его высокая антимикробная активность, ассоциированная нами с этанолом и соединением гуанидин. Флавоноиды, содержащиеся в экстракте, нашли применение в качестве кровоостанавливающих средств (действие связано с ингибированием в стенках сосудов гиалуронидазы и изменение проницаемости межклеточных пространств, антиагрегационное действие на тромбоциты).

Разработанная и изученная терапевтическая композиция для заживления ран обеспечивала регенерацию раны: нормальный рост эпителия, ускорение его грануляции, поддержание влажности раневой поверхности, ускорение заживления. Терапевтическая композиция с экстрактом Самшит, по сравнению с контрольной группой, ускоряла время заживления ран в эксперименте. Отторжение струпа в 3 группе наблюдалось к 6,7 суткам, в контроле и группе с хлоргексидином – 9 и 7,8 сутки соответственно ( $p=0,04$ ). Окончательное отторжение струпа в 3 группе наблюдалось 7,8 сутки: у животных достигнута полная эпителизация раневой поверхности на 9 день. В группе контроля полная эпителизация раневой поверхности установлена к 13 дню ( $p<0.05$ ).

Предложенная терапевтическая композиция с экстрактом *Vixus sempervirens*, по сравнению с контрольной группой, не только ускоряет сроки заживления ран, но и позволяет поддерживать высокий уровень фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа лейкоцитов: к 3-5 дню фагоцитарный индекс и фагоцитарное число составили в экспериментальной группе  $81,3 \pm 1,3\%$  и  $21,0 \pm 2,2\%$  против  $53,50 \pm 1,1\%$  и  $12,0 \pm 2,4\%$  в контроле соответственно ( $p=0,01$ ).

Механизмы действия экстракта *Vixus sempervirens* на процесс заживления ран, вероятно, обусловлены нормализацией нарушений микроциркуляции в тканях, антимикробным действием этанола и гуанидина, улучшением тканевого метаболизма, усилением фагоцитоза и активацией макрофагов, что влияло на пролиферацию и ангиогенез фибробластов.

### **Выводы.**

Впервые проведен анализ состава растительного экстракта Самшит *Vixus sempervirens* на основе метода газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. По результатам исследования установлены рациональные по составу и уровню биологически активные вещества (упорядоченные по качеству): 70% этанол (123 субстанции,  $\geq 70,0\%$ ).

Разработана новая терапевтическая композиция (форма – мазь) для лечения и заживления ран, содержащая в составе компоненты растительного экстракта *Buxus sempervirens*. Показано, что данная композиция ускоряет процессы заживления, обладает терапевтической активностью на каждой стадии заживления раны, интенсифицирует пролиферацию клеток.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Интродуцированные деревья и кустарники в Белорусской ССР: в 3 вып. / Под ред. Нестеровича Н.Д. – Минск: Издательство Академии наук Беларуси, 1959, 1960, 1961. – Вып. 3: Интродуцированные древесные растения флоры Сибири, Европы, Средиземноморья, Крыма, Кавказа и Средней Азии. – 335с.

2. Orhan E.I., Khan T.H., Erdem A.S., Kartal M., Sener B. Selective cholinesterase inhibitors from *Buxus sempervirens* L. and their molecular docking studies - Current computer-aided drug design, 2011. – 7(4). – p.276-286.

3. Tomulewicz, M. Melittis Melissophyllum – therapeutic opportunities / M.Tomulewicz, A.Kuzniatsou, A.Zakrzaska, P.Kitlas. - Сборник статей международной научно-практической конференции, посвященной 50-летию Института биохимии биологический активных соединений Национальной академии наук. 5-6.10.2021. – Гродно. – 2021. – С. 641-646.

## СОСТОЯНИЕ ПУЛА СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В МЫШЦАХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА

Дорошенко Е.М.

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

**Актуальность.** Проблема эффективности лечения и профилактики ИБС, включая метаболическую коррекцию, остается весьма актуальной [1]. Применение аминокислот в качестве средств метаболической коррекции должно учитывать наличие аминокислотного дисбаланса, вклад в который могут вносить не только сердечная мышца, но и скелетные мышцы, обладающие сходным типом метаболизма. В то же время метаболические нарушения в мышцах при ишемии миокарда остаются невыясненными, хотя такие нарушения могут быть обусловленными сердечной недостаточностью и явлениями застоя.

**Цель.** Оценить аминокислотный дисбаланс в мышцах крыс при экспериментальной острой ишемии миокарда (ОИМ).

**Методы исследования.** Острую ишемию миокарда (ОИМ) моделировали с помощью модели изадрин-питуитринового инфаркта миокарда [2] в собственной модификации.

Свободные аминокислоты и их дериваты определяли в безбелковых экстрактах тканей методом обращенно-фазной ВЭЖХ [3], пролин, оксипролин и саркозин – с дополнительной дериватизацией с

флуоренилметилхороформиатом. Пурины определяли методом обращенно-фазной ВЭЖХ. Гомоцистеин и другие аминотиолы определяли методом [4].

Для анализа различий контрольных и опытных групп использовали бутстреированный t-критерий Стьюдента с помощью бесплатного пакета статистических программ R.

### **Результаты и их обсуждение.**

В мышцах крыс через 1 сут после моделирования острой ишемии миокарда концентрации ряда свободных аминокислот и родственных соединений значимо изменялись. В мышцах наблюдался рост уровня метилгистидинов, менее выраженный, чем в сердце [5] (уровень 1-метилгистидина повышался в 2 раза, 3-метилгистидина – в 5 раз). Имел место рост уровней аланина, альфа-аминоадипиновой кислоты, альфа-аминомасляной кислоты, треонина, метионина, триптофана и АРУЦ, пролина и оксипролина, саркозина. Повышение уровня альфа-аминомасляной кислоты можно расценивать как активное протекание транссульфурирования, однако это не может быть подтверждено уровнем цистатионина, определение которого в мышцах технически затруднено. Двукратный рост уровня саркозина был менее выраженным, чем в сердце, степень повышения уровней оксипролина и пролина была сходной. Таким образом, характер сдвигов в содержании свободных аминокислот в скелетных мышцах принципиально схож с таковым в сердце, но для большинства исследованных показателей степень повышения уровня в мышцах была ниже.

Обращает на себя внимание, что уровень альфа-аминоадипиновой кислоты имел место на фоне неизменного уровня лизина, в то время как уровень лизина в плазме в этой ситуации повышался. Это может означать, что альфа-аминоадипиновая кислота в мышцах имела внешнее происхождение, как и уровни метилгистидинов, которые повышались на фоне неизменного уровня гистидина.

Количество и выраженность сдвигов в уровнях исследованных соединений было значительно меньше, чем в крови, печени и сердце в этом же сроке наблюдения. Уровни таурина и его предшественников не изменялись. Рост уровня цистеинилглицина может означать высокую активность транспорта аминокислот гамма-глутамильным (глутатионовым) циклом. Отсутствие повышения уровня гомоцистеина в мышцах, при том что в сроке 1 сут имела место гипергомоцистеинемия, свидетельствует о том, что мышечная ткань с низкой вероятностью вносит значимый вклад в уровень гомоцистеинемии.

Через 6 сут после моделирования ОИМ в мышцах содержание всех компонентов аминокислотного пула и уровни родственных соединений не отличались от контроля, кроме снижения уровня метионина и гистидина. Оба эффекта наблюдались и в сердце, но отсутствовали в плазме крови, более того, уровень гистидина в плазме повышался.

**Выводы.** При ОИМ в мышцах имеет место высокая активность транспорта аминокислот гамма-глутамильным циклом. Наиболее вероятно, изменения содержания свободных аминокислот и родственных соединений в

мышцах являются вторичными по отношению к таковым в сердце, и связаны с имеющейся при ОИМ гипераминоацидезией в острой фазе.

## 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; М-во здравоохранения Респ. Беларусь, УО «Гродн. гос. мед. ун-т», 1-я каф. внутренних болезней. – Гродно: ГрГМУ, 2014. – 215 с.

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

3. 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.

4. Дорошенко. Е.М. Лабораторно-диагностическая технология одновременного определения в пробе анализируемого материала (ткани, биологической жидкости) гомоцистеина и других физиологически активных аминокислот с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии / Е.М. Дорошенко, Я.И. Новогродская // Лабораторная диагностика. Восточная Европа, 2020. – Т. 9, № 1–2. – С. 135-143.

5. 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 [Электронный ресурс] / отв. ред. С. Б. Вольф. – Гродно : ГрГМУ, 2022. – Электрон. текст. дан. (объем 6,54 Мб). – 1 эл. опт. диск (CD-ROM). – С. 69-72.

## РЕГУЛЯЦИЯ ИОНАМИ КАЛЬЦИЯ РЕСПИРАТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИТОХОНДРИЙ КАРДИОМИОЦИТОВ КРЫС

Заводник И.Б.<sup>1</sup>, Коваленя Т.А.<sup>1</sup>, Ильич Т.В.<sup>1</sup>, Климович И.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Гродненский государственный университет имени Янки Купалы

<sup>2</sup>УО «Гродненский государственный медицинский университет»,

г. Гродно, Республика Беларусь

**Актуальность.** Сердце потребляет 10% поступающего в организм кислорода и производит 35 кг АТФ каждый день в ходе окислительного фосфорилирования в митохондриях [1-3]. Нарушения процесса производства энергии или потребления субстратов митохондриями приводят к дисфункциям миокарда и сердечно-сосудистым заболеваниям [4]. Сложное пространственно – временное распределение ионов кальция в цитоплазме кардиомиоцитов и матриксе митохондрий определяет функциональную

активность мышечных клеток сердца, энергопродукцию, частоту и интенсивность сокращений сердца [5].

**Цель** настоящей работы состояла в том, чтобы выяснить механизм(ы) регуляции функционального состояния митохондрий кардиомиоцитов крыс ионами кальция.

### **Материалы и методы исследования**

#### *Реактивы*

Хлорид кальция дегидрат, сукцинат натрия, сахароза, ЭГТА, FCCP, бычий сывороточный альбумин (BSA), ЭДТА, HEPES, эпоксидная смола Araldite 506, АДФ, циклоспорин А (CsA), рутениевый красный (RuR) и другие химические вещества были получены от Merck/Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA, или Steinheim am Albuch, Германия).

*Выделение митохондрий сердца крысы.* В эксперименте использовали самцов крыс линии Wistar (200-230 г). Уход, применение и все проводимые процедуры одобрены Этическим комитетом Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (протокол № 29/20 от 23.05.2020). Митохондрии кардиомиоцитов выделяли методом дифференциального центрифугирования [2]. Использовали среду выделения, содержащую 0,25 М сахарозу, 0,025 М Трис-НСl, 0,00005 М ЭДТА и 0,1% БСА, pH 7,4. Ядерную фракцию удаляли центрифугированием при 650 g (10 мин, 4 °С) (центрифуга Hermle Z 32 НК, Hermle Labortechnik GmbH, Германия). Митохондрии осаждали центрифугированием при 11 000 g (10 мин, +4 °С).

*Измерения респираторной активности и мембранного потенциала митохондрий сердца.* Дыхание митохондрий сердца измеряли с помощью кислородного электрода Кларка (Hansatech Instruments Limited, Великобритания) в среде, содержащей 0,3 М сахарозы, 0,005 М  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,001 М ЭГТА, 0,005 М HEPES, 0,01 М KCl, pH 7,4, 26 °С, при непрерывном перемешивании суспензии митохондрий (0,5 мг белка/мл).

*Определение формирования пор высокой проницаемости.*  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированное набухание митохондрий сердца измеряли, как описано нами ранее [1]. Степень образования поры высокой проницаемости митохондрий (МРТР) определяли по изменению оптической плотности суспензии митохондрий при 540 нм и 30 °С в среде, содержащей 0,12 М KCl, 0,02 М Трис-НСl, 0,002 М  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  и 0,0005 (или 0,00005) М ЭГТА, pH 7,4.

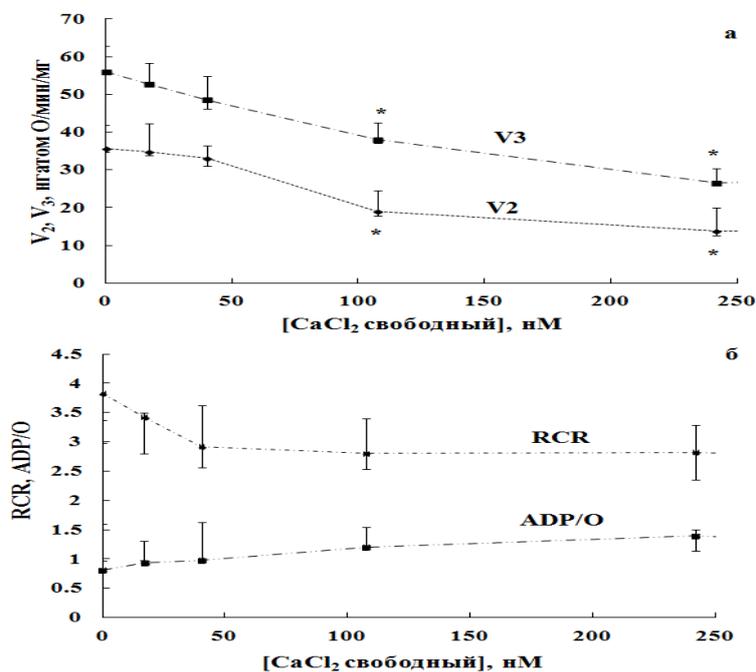
*Статистика.* Данные измерений, полученные в 5-7 повторениях, анализировали используя статистический пакет Statistica 10.0 и представляли в виде медианы (Me) и межквартильного интервала [Q1; Q3]. Нормальность распределения оценивали по критерию Шапиро-Уилка. Достоверность различий между параметрами анализировали с помощью U-критерия Манна-Уитни и H-критерия Краскела-Уоллиса. Уровень значимости считался  $p < 0,05$ .

### **Результаты и обсуждение**

*Респираторная активность митохондрий сердца крыс in vitro в присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$ .* На первом этапе нашего эксперимента *in vitro* мы оценили эффекты ионов  $\text{Ca}^{2+}$  на параметры митохондриального дыхания. Низкие концентрации экзогенных свободных ионов  $\text{Ca}^{2+}$  (мы использовали

среду, содержащую 0,001 М ЭГТА, расчетные концентрации свободного  $\text{Ca}^{2+}$  составляли от 15 до 250 нМ) дозозависимо ингибировали стимулированную субстратом скорость потребления кислорода  $V_2$  и АДФ-зависимую скорость потребления кислорода  $V_3$ . Коэффициент RCR и коэффициент фосфорилирования АДФ/О существенно не изменились (рисунок а, б).

Индукционное ионами  $\text{Ca}^{2+}$  in vitro формирование пор высокой проницаемости митохондрий сердца. Далее мы оценили эффект ионов  $\text{Ca}^{2+}$  на процесс формирования МРТР и мембранный потенциал митохондрий кардиомиоцитов, энергизованных сукцинатом. Используя репрезентативные кривые набухания митохондрий сердца крысы в результате открытия МРТР, которое регистрировали по изменению интенсивности светорассеяния митохондриальной суспензии ( $D^{540}$ ) в присутствии возрастающих концентраций ионов  $\text{Ca}^{2+}$  мы определили зависимость скорости формирования МРТР от концентрации ионов кальция. Кажущаяся константа скорости образования МРТР дозозависимо увеличивалась в присутствии ионов кальция. CsA, известный ингибитор открытия МРТР, полностью предотвращал набухание митохондрий сердца. В то же время высокие концентрации хелатора кальция ЭГТА (0,0005 М) также предотвращали  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированное открытие МРТР. Специфический ингибитор MCU RuR также полностью подавлял набухание митохондрий.



**Рисунок. – Ионы  $\text{Ca}^{2+}$  ингибируют респираторную активность митохондрий сердца: зависимости от концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  скорости потребления кислорода  $V_2$ , скорости АДФ-зависимого потребления кислорода  $V_3$  (а) и коэффициентов RCR и АДФ/О (б). \* - достоверная разница ( $p < 0,05$ ) по сравнению с отсутствием ионов кальция**

**Выводы.** Наши результаты указывают, что невысокие концентрации ионов экзогенного  $\text{Ca}^{2+}$  (расчетные концентрации свободного  $\text{Ca}^{2+}$  составляли

от 15 до 250 нМ) дозозависимо ингибировали стимулируемую субстратом скорость потребления кислорода V<sub>2</sub> и АДФ-зависимую скорость потребления кислорода V<sub>3</sub> без существенного изменения коэффициентов дыхательного контроля и ADP/O изолированных митохондрий сердца крыс. По сравнению с митохондриями печени чувствительность митохондрий сердца крыс к действию ионов Ca<sup>2+</sup> значительно ниже в случае открытия митохондриальных пор высокой проницаемости и значительно выше в случае ингибирования респираторной активности.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Calcium-induced mitochondrial permeability transitions: parameters of Ca<sup>2+</sup> ion interactions with mitochondria and effects of oxidative agents / N. G. Golovach [et al.] // J. Membr. Biol. – 2017. – Vol. 250. – P. 225-236.
2. Gostimskaya, I. Preparation of highly coupled rat heart mitochondria / I. Gostimskaya, A. Galkin // J. Vis. Exp. – 2010. – Iss. 23. – P. 2202.
3. Taegtmeyer, H. Energy metabolism of the heart: from basic concepts to clinical applications / H. Taegtmeyer // Curr. Probl. Cardiol. – 1994. – Vol. 19, iss. 2. – P. 59–113.
4. Mitochondrial calcium and the regulation of metabolism in the heart / G. S. B. Williams [et al.] // J. Mol. Cell Cardiol. – 2015. – Vol. 78. – P. 35–45.
5. Structural and functional changes in rat liver mitochondria under calcium ion loading in the absence and presence of flavonoids / I. B. Zavodnik [et al.] // Biomed. Khim. – 2022. – Vol. 68, iss. 4. – P. 237–249.

### ВЛИЯНИЕ АТОРВАСТАТИНА, ПАНТЕНОЛА И N-АЦЕТИЛЦИСТЕИНА НА ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ БАЛАНС В ПЛАЗМЕ КРОВИ И ПЕЧЕНИ СТАРЫХ КРЫС

Канунникова Н.П.<sup>1,2</sup>, Бородина Т.А.<sup>1</sup>, Гуринович В.А.<sup>1</sup>, Катковская И.Н.<sup>1</sup>, Лукиенко Е.П.<sup>1</sup>, Титко О.В.<sup>1</sup>, Мойсеёнок А.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси;

<sup>2</sup>УО «Гродненский государственный университет имени Я.Купалы», г. Гродно, Республика Беларусь

**Актуальность и цель исследования.** Важными факторами патофизиологических механизмов развития атеросклероза, сердечно-сосудистой патологии и метаболических нарушений, характерных для возрастной патологии, являются, наряду с воспалением, дислипидемией и гипергликемией, нарушения окислительно-восстановительного баланса [2]. В настоящее время среди гиполипидемических средств большое внимание привлекает аторвастатин (АТ), который не только выраженно тормозит синтез холестерина в печени за счет угнетения гидроксиметил-глутарат-КоА-редуктазы, но и оказывает противовоспалительное и иммунодепрессивное действие, стабилизирует атеросклеротические бляшки и уменьшает их размер,

подавляет тромбообразование, стимулирует фибринолиз и продукцию окиси азота в эндотелии [1]. Нами был проведен сравнительный анализ влияния на показатели окислительно-восстановительного равновесия в печени старых крыс при действии аторвастатина, а также пантенола и N-ацетилцистеина (АЦЦ), способствующих восстановлению редокс-потенциала в тканях.

**Материалы и методы исследования.** Эксперимент был выполнен на крысах-самцах с начальной массой 300-350 г линии Вистар, содержащихся на стандартном рационе вивария с учетом рекомендаций и требований «Всемирного общества защиты животных (WSPA)» и «Европейской конвенции по защите экспериментальных животных» (Страсбург, 1986). Первая группа животных получала аторвастатин (АТ, 10 мг/кг, в/ж, 14 дней), вторая группа — пантенол (400 мг/кг, в/ж, 14 дней) + АЦЦ (200 мг/кг, в/ж, 14 дней). В контрольной группе были интактные крысы такого же возраста.

В плазме крови определяли общую антиоксидантную активность [5]. В ткани печени измеряли содержание ТБК-реагирующих субстратов (ТБКРС) [4], содержание небелковых и белковых тиолов и дисульфидов и их соотношение [7], активность основных ферментов антиоксидантной защиты (ГПО, ГТ, ГР) [3], содержание S-глутатионилированных белков [6], а также содержание КоА, ацетил-КоА (Ац-КоА) и их соотношение [8].

**Результаты и обсуждение.** Проведенные эксперименты показали, что общая антиоксидантная активность в плазме крови старых животных, получавших АТ ( $1,43 \pm 0,17$  ммоль/л), не отличалась от таковой в интактной группе ( $1,49 \pm 0,18$ ), тогда как после введения ПЛ+АЦЦ она повысилась на 20 % ( $1,78 \pm 0,14$ ,  $p < 0,05$ ) (таблица).

Таблица – Показатели окислительно-восстановительного баланса в печени старых крыс при действии аторвастатина, пантенола и АЦЦ ( $M \pm SD$ ,  $n=7$ )

Показатели		Контроль	АТ	ПЛ+АЦЦ
Показатели окислительного стресса	СОД, Ед/мин/мг белка	13,05±0,77	13,94±0,43	12,95±0,31
	Каталаза, ммоль/мин/мг белка	1,45±0,28	1,41±0,18	1,16±0,21*
	ТБКРС, нмоль/мг белка	0,31±0,03	0,31±0,02	0,25±0,02*
Небелковые тиолы и дисульфиды	Тиолы, нмоль/г ткани	2,94±0,89	4,80±0,82*	4,21±1,26*
	Дисульфиды, нмоль/г ткани	1,55±0,38	1,84±0,07	1,74±0,34
	SH/SS	1,87±0,30	2,60±0,41*	2,52±0,29*
Белковые тиолы и дисульфиды	Тиолы, нмоль/г ткани	11,85±0,71	9,71±0,61*	10,23±1,32*
	Дисульфиды, нмоль/г ткани	2,35±0,42	1,77±0,29*	2,49±0,34
	SH/SS	5,14±0,88	5,67±0,70	4,33±0,60
Система глутатиона	Глутатионилированные белки, нмоль/г ткани	0,25±0,03	0,29±0,04*	0,24±0,03
	ГПО, нмоль GSH/мин/мг белка	63,1±8,2	50,7±6,3 *	47,8±2,5 *
	ГТ, нмоль ХДНБ/	554,9±109,1	475,3±69,4	459,6±42,1

	мин/мг белка			
	ГР, нмоль NADPH/ мин/мг белка	63,9±7,2	49,9±10,4*	48,9±3,5 *
Система КоА	КоА, нмоль/г	160,00±38,95	189,50±36,21	222,9±28,21*
	Ацетил-КоА, нмоль/г	65,69±27,36	42,91±12,82	44,66±11,83
	Ацетил-КоА/КоА	0,39±0,22	0,23±0,09	0,19±0,05

Примечание – \* –  $p < 0,05$  по отношению к группе контроля

В печени на фоне АТ активность ферментов антиоксидантной защиты и содержание ТБКРС соответствуют значениям в контрольной группе, а на фоне введения композиции ПЛ+АЦЦ наблюдается снижение уровня ТБКРС и активности каталазы, что можно расценить как снижение интенсивности перекисного окисления липидов при действии комплекса ПЛ+АЦЦ и отсутствии эффектов АТ на эти показатели (таблица). Содержание небелковых тиолов и соотношение небелковых тиолов к дисульфидам оказались выше контрольных значений и при действии АТ, и ПЛ+АЦЦ, а содержание белковых тиолов и дисульфидов было снижено только при действии АТ. Уровень S-глутатионилированных белков был повышен только на фоне действия АТ, тогда как активность ГПО и ГР были снижены и при действии АТ, и при действии ПЛ+АЦЦ.

Полученные результаты в совокупности с изменениями тиолов и дисульфидов, очевидно, свидетельствуют об отсутствии защитных эффектов на систему белковых тиолов и дисульфидов при действии АТ по сравнению с действием ПЛ+АЦЦ. Повышение содержания КоА, и тенденция к снижению соотношения ацетил-КоА/КоА, наблюдаемые нами в печени на фоне действия ПЛ+АЦЦ, очевидно, вносят вклад в восстановление редокс-баланса у старых животных при действии данного комплекса.

**Выводы.** Изменения окислительно-восстановительного баланса в тканях являются одним из характерных проявлений метаболических нарушений при старении. Введение аторвастатина способствует определенному росту восстановительного потенциала небелковых тиолов (глутатиона) и содержания S-глутатионилированных белков при уменьшении активности глутатион-метаболизирующих ферментов в печени старых крыс, что предполагает возможность его применения как лечебно-профилактического средства с редокс-модулирующей активностью. При действии же пантенола и N-ацетилцистеина наблюдаются более выраженные защитные эффекты комплекса по стабилизации редокс-баланса в ткани, что определяется не только стабилизирующим влиянием на редокс-потенциал системы глутатиона, но и его антипероксидным действием, отсутствием активирующего влияния на S-глутатионилирование белков, а также повышением уровня КоА.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аронов, Д. М. Плейотропные эффекты статинов на современном этапе их изучения (фокус на аторвастатин). Часть I / Д. М. Аронов, М. Г. Бубнова // Кардиосоматика. – 2012. – Т. 3, № 3. – С. 55–64.

2. Медведева, Е. Окислительный стресс и воспаление у больных атеросклерозом / Е. Медведева, Ю. Щукин, Е. Селезнев. – Saarbrücken, LAP LAMBERT Acad. Publishing, 2013. – 65 с.

3. Современные проблемы биохимии. Методы исследования / Е. В. Барковский [и др.]; под общ. ред. Е. В. Барковского – Мн., Выш. школа, 2013. – 491 с.

4. Comparison of spectrophotometric and HPLC methods for determination of lipid peroxidation products in rat brain tissues / M. Durfinova [et al.] // Chem. Pap. – 2007. – Vol. 61, № 4. – P. 321–325.

5. Erel, O. A novel automated direct measurement for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation / O. Erel // Clin. Biochem. – 2004. – Vol. 37, № 4. – P. 277–285.

6. Menon, D. A fluorometric method to quantify protein glutathionylation using glutathione derivatization with 2,3-naphthalenedicarboxaldehyde / D. Menon, P. G. Board // Anal. Biochem. – 2013. – Vol. 433. – P. 132–136.

7. Patsoukis, N. Determination of the thiol redox state of organisms: new oxidative stress indicators / N. Patsoukis, C. D. Georgiou // Anal. Bioanal. Chem. – 2004. – Vol. 378. – P. 1783–1792.

8. Tsuchiya, Y. Methods for measuring CoA and CoA derivatives in biological samples / Y. Tsuchiya, U. Pham, I. Gout // Biochem. Soc. Trans. – 2014. – Vol. 42. – P. 1107–1111.

## **ФУНКЦИОНАЛЬНО ЗНАЧИМЫЕ АМИНОКИСЛОТНЫЕ ОСТАТКИ АКТИВНОГО ЦЕНТРА ТИАМИНДИФОСФАТКИНАЗЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА, ОТВЕТСТВЕННЫЕ ЗА БИОСИНТЕЗ ТРИФОСФОРНОГО ЭФИРА ТИАМИНА**

**Костеневич Н.Н., Черникевич И.П., Барановская Е.А.**

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

**Актуальность.** Тиаминтрифосфату отводится важная роль в генерировании и распространении нервного импульса, активации  $\text{Na}^{+}$ -,  $\text{Ca}^{2+}$ - и макси -  $\text{Cl}^{-}$  каналов, координации и регуляции энергетического обмена клетки [1-3], обуславливая тем самым повышенный интерес к ферментной системе его биосинтеза.

**Цель.** Выяснение природы аминокислотных остатков, ответственных за связывание и катализ трифосфорного эфира.

**Материалы и методы исследования.** Тиаминдифосфаткиназу (EC 2.7.4.15, ThDP-киназа) из митохондрий головного мозга свиньи выделяли по описанной ранее методике [4]. Чистоту ферментного препарата контролировали методом диск-электрофореза в 7%-ном полиакриламидном геле при pH 8,9. Активность фермента определяли по количеству образовавшегося трифосфорного эфира тиамин (ThPP) с применением [ $^{14}\text{C}$ ]-тиаминдифосфата ([ $^{14}\text{C}$ ]-ThDP) в качестве одного из субстратов [4]. Радиоактивность измеряли на

сцинтилляционном счётчике «Mark-2» (США) в течение 1 мин. Концентрацию [ $^{14}\text{C}$ ]-ThPP находили исходя из удельной радиоактивности [ $^{14}\text{C}$ ]-ThDP. Содержание белка оценивали по методу Лоури и спектрофотометрически по Варбургу и Кристиану.

При исследовании рН-зависимостей использовали 25 мМ трис-малеатный рН 7.0, 50 мМ трис-НСl рН 7.5– 9.0 и 50 мМ глициновый рН 9.5 – 10.5 буферы. Влияние модифицирующих агентов (пиридоксаль 5' – фосфата и N-этилмалеимида на активность ThDP-киназы контролировали инкубируя фермент с указанными соединениями в 25 мМ трис-НСl буфере при 25°C в течение 30 мин [2], определяя после этого скорость процесса в стандартной реакционной смеси. Концентрация ThDP-киназы во всех случаях составляла 0,1 мкг · мл<sup>-1</sup>.

**Результаты и обсуждение.** Изучение системы трансфосфорилирования ThDP свободной ThDP-киназой головного мозга свидетельствует, что рK<sub>a</sub> аминокислотного остатка в связывающем участке активного центра фермента, найденное из рН-зависимости K<sub>m</sub> для ThDP, равно 9,0 и может соответствовать константе ионизации ε-аминогруппы лизина [1]. Находясь преимущественно в протонированной форме при рН < 9.0, данная группа способна легко взаимодействовать с отрицательным фосфатным радикалом ThDP посредством электростатического притяжения, что, вероятно, служит первой стадией образования фермент-субстратного комплекса. Сравнение K<sub>i</sub> для нуклеозидфосфатов, содержащих различное количество фосфатных остатков и ингибирующих ферментативный синтез, говорит о присутствии не менее двух аминокислотных остатков лизина в активном центре ThDP-киназы.

Использование аналогов тиамина и ThDP с замещениями пиримидинового и тиазолового циклов позволило выявить конкретные группы субстрата участвующие во взаимодействии с каталитическим участком активного центра фермента, ведущие к правильной ориентации ThDP и формированию функционально активного субстратного комплекса с энзимом. Согласно полученным данным важная роль в связывании с каталитическим участком принадлежит аминокислотной группе пиримидинового кольца молекулы ThDP и гидрофобным силам, в то время как взаимодействие четвертичного азота тиазола с соответствующей группой активного центра фермента приводит к непосредственному контакту терминального фосфата АТФ и ThDP.

рН аминокислотных остатков активного центра, состояние ионизации которых важно для синтеза ThTP, равны 7,6 и 9,8 и могут соответствовать α-аминогруппе и гидроксилу тирозина. Снижение активности ThDP-киназы, наблюдающееся при сдвиге рН от оптимума 9,0 в кислую сторону, в таком случае объясняется протонированием вышеназванной аминокислотной группы, в результате чего приобретённый ею положительный заряд в значительной мере препятствует образованию водородной связи между одной из близлежащих карбонильных групп пептидной связи и –NH<sub>2</sub> группой пиримидина молекулы ThDP. Протонирование α-аминогруппы ослабит и гидрофобные контакты, следствием чего является нарушение правильной фиксации субстрата. Можно также полагать, что снижение активности в сильно щелочной области –

результат ионизации –ОН группы тирозина. Находясь при рН ниже 9,8 преимущественно в –ОН форме [1], вышеназванная группа несёт частичный положительный заряд на атоме водорода. Силы отталкивания между этим зарядом и положительно заряженным азотом тиазола, вероятно, и приводят к окончательной деформации ThDP и нарушению взаимодействия с  $\gamma$ -атомами фосфора АТР. Действительно, восстановление четвертичного азота ThDP (потеря положительного заряда – тиохром – и тетрагидротиаминдифосфат) делает невозможным осуществление катализа. Меньше сказывается диссоциация протона гидроксила тирозина в активном центре ThDP-киназы (появление отрицательного заряда).

Поскольку для ферментативного синтеза ThDP абсолютно необходимо присутствие ионов  $Mg^{2+}$ , комплексированных с АТР, такой комплекс может рассматриваться как субстрат ответственный за катализ. Зависимость начальной скорости ThDP-киназной реакции от концентрации ThDP, при различных фиксированных концентрациях комплекса в координатах Лайнуивера-Берка, представляет собой серию прямых, пересекающихся на оси абсцисс. Аналогичная картина наблюдается и для зависимости скорости синтеза от  $Mg^{2+}$ . АТР в условиях фиксированных концентраций ThDP. Пересечение прямых в обоих случаях на оси абсцисс предполагает неупорядоченный механизм биосинтеза с образованием тройного комплекса и полностью независимым присоединением субстратов.

#### **Выводы:**

1. Важная роль в образовании активного комплекса с ThDP-киназой принадлежит гидрофобным силам, аминогруппе пиримидинового кольца, четвертичному азоту тиазола и аминокислотным остаткам лизина;
2. Процесс катализа осуществляется при непосредственном участии  $\alpha$ -аминогруппы и гидроксила тирозина;
3. Реакция, катализируемая ThDP-киназой, протекает с образованием тройного фермент-субстратного комплекса с неупорядоченным присоединением субстратов.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Диксон, М. Ферменты / М.Диксон, Э.Уэбб. – Москва: Мир. – 1982. – Т. 1. – С.234.
2. Исследование роли ионогенных аминокислотных остатков в каталитической активности тиаминтрифосфатазы из почек быка методом химической модификации / А.Ф.Макарчиков, Т.А.Лучко, Л.Беттендорфф, Б.Лакае, П.Винс // Новости медико-биологических наук. – 2002. – № 3. – С. 66-70.
3. Макарчиков, А.Ф. Тиаминтрифосфат: новый взгляд на некоферментную функцию витамина В<sub>1</sub>: монография / А.М.Макарчиков. – Минск: Белорусская наука, 2008. – 433 с.
4. Черникевич, И.П. Выделение и радиометрический метод определения активности АТР: тиаминдифосфатфосфотрансферазы из митохондрий

## НОВЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К РАЗРАБОТКЕ НЕЙРОТРОПНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Кравченко Е.В.<sup>1</sup>, Бизунок Н.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси;

<sup>2</sup>УО «Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Республика Беларусь

**Актуальность.** Приоритетной задачей современной медицины является создание лекарственных средств анксиолитического и ноотропного действия. Нами предложено несколько методических подходов, позволяющих усовершенствовать процесс разработки потенциального нейротропного средства.

*Мнестические нарушения, моделирующие локальную дисфункцию глутамат- и дофаминергической нейротрансмиттерных систем, в тесте габитуации.* Габитуация или привыкание – феномен снижения реакции после продолжительного ряда повторений стимула. Габитуация исследовательской активности предложена в качестве скринингового теста для изучения ноотропов [3]. Целесообразно расширение возможностей указанной методики, что может достигаться посредством использования амнезирующих агентов, в числе которых – канальный блокатор NMDA-рецепторов глутаматергической нейромедиаторной системы МК-801.

*Использование инбредных крыс SHR в качестве животной модели в тесте экстраполяционного избавления (ТЭИ).* В научно-методической литературе описана методика нарушений адаптивного поведения в ТЭИ [4] с применением L-ДОФА (леводопа) [2]. В ТЭИ оценивается способность крыс осуществлять реакцию подныривания, являющуюся единственно возможным способом избавления из «острой» стресс-ситуации (животное находится внутри цилиндра, частично погруженного в воду) [4]. Поведение избавления полностью нарушается, заменяясь стереотипной гиперактивностью в форме безуспешных попыток избегания (прыжки и карабкание на стенки цилиндра) у крыс, получивших L-ДОФА [2]. Поскольку инбредные крысы SHR характеризуются генетически обусловленными нарушениями поведения вследствие дисфункции дофаминергической (ДА) нейротрансмиссии [5], перспективно проведение ТЭИ с участием грызунов этой линии для поиска корректоров соответствующего патологического состояния. В качестве аггравирующих факторов могут рассматриваться *ювенильный возраст SHR и депривация парадоксальной фазы сна (ДПФС)*, вызывающая изменения центральных дофаминергических (ДА) процессов, направленных в сторону усиления ДА-регуляции [1].

*Использование стресс-индуцированных нарушений ультрадианных и циркадианных биологических ритмов активности для поиска анксиолитиков.*

Биоритмы высокочувствительны к воздействию стресса. Обратное развитие стресс-индуцированного десинхроноза может применяться для прогнозирования противотревожного действия образцов. Ключевым звеном модели является «дозированный» стресс, который обеспечивал бы однотипное воздействие равной интенсивности на всех экспериментальных животных. В качестве такого стрессирующего воздействия нами предложена парадигма Tail Suspension Test (TST) – однократное подвешивание мыши за хвост на 6 мин.

**Цель.** Разработка и применение в практической деятельности новых подходов при создании препаратов ноотропного и анксиолитического действия.

**Материалы и методы исследования.** *Серия 1.* Крысам Wistar группы I (контроль) трижды вводили интрагастрально (и/г) растворитель (дистиллированная вода, ДВ) – в 1, 2 и 5 сут.; во 2 сут. дополнительно – ДВ в/б; особям группы II («модельная патология») применяли в том же режиме и/г ДВ, а кроме того, во 2 сут. – МК-801 (0,5 мг/кг, в/б). Грызунов во 2 сут. опыта поодиночке помещали в актометр и проводили 3-минутную регистрацию горизонтальной двигательной активности (ГДА). Повторную актометрию осуществляли в тех же условиях спустя 3 сут., через 30 мин после введения ДВ.

*Серия 2.* ТЭИ проводили в условиях моделирования расстройств адаптивного поведения и способности к экстраполяции, вызванных ДПФС по Jouvett et al. (1964) у крыс-самцов линии SHR. Ноотропные средства ускоряют реакцию избавления от стресс-ситуации. На протяжении 120 с регистрировали значения показателей, характеризующих когнитивные функции: время подныривания под край цилиндра (Т) и число животных, решивших задачу избавления за 40 с ( $N_1$ ), за 120 с ( $N_2$ ). Формировали 3 группы – половозрелым особям группы I и неполовозрелым крысам группы III назначали ДВ и не проводили процедуру ДПФС, половозрелым крысам группы II осуществляли ДПФС на фоне введения ДВ.

*Серия 3.* Моделировали нарушения циркадных ритмов у половозрелых аутбредных мышей ICR, вызванные стрессом умеренной интенсивности (6-минутное подвешивание за хвост в TST). Автоматическую регистрацию показателей вертикальной двигательной активности (ВДА) проводили в темноте на протяжении 3 последовательных сут. с использованием пакета программ "Mouse Statistic". В первый день опыта за 90 мин до помещения в камеру актометра осуществляли процедуру подвешивания за хвост животных группы II, исключая особей группы I (контроль), которые, кроме того, не подвергались стрессирующей процедуре и/г введения. Мышам группы II вводили ДВ и/г не позднее чем за 120-130 мин до высадки в камеры актометра. Посредством компьютерной программы (косинор-анализ) определяли акрофазу  $\varphi$  ритмов ВДА. Обработку результатов осуществляли с помощью программ Statistica 6.0, Biostat, Cosinor 2.5 for Excel (Шереметьев С.П., 2003), CorelDRAW 12.

**Результаты и обсуждение.** *Серия 1.* В связи с тем, что МК-801 может оказывать влияние на исходную подвижность грызунов (во 2 сут. опыта), учитывали только результаты повторного тестирования (в 5 сут.). У крыс Wistar группы I («норма») отмечено снижение уровня ГДА во 2 и 3 мин наблюдения в сравнении с 1

мин – на 23,2% и 48,2% соответственно ( $P < 0,05$ ), что указывало на выраженную внутрисессионную габитуацию. Введение МК-801 грызунам группы II приводило к резким нарушениям внутри- и межсессионной габитуации, что проявлялось отсутствием значимых изменений ГДА относительно исходных значений на протяжении сеанса повторного тестирования ( $P > 0,05$ ) и существенным возрастанием уровня локомоторной активности у крыс группы II относительно контроля (группа I) ( $P < 0,05$ ).

*Серия 2.* Все крысы SHR группы I, не подвергшиеся ДПФС, сумели менее чем за 40 с поднырнуть под край цилиндра, значения  $T_1$  составили  $19,4 \pm 4,0$  с. Лишь 53,8% животных группы II (ДПФС, ДВ) были способны решить экспериментальную задачу за 40 с (различия с интактным контролем статистически достоверны,  $P = 0,016$ ); 7,7% крыс не сумели успешно осуществить подныривание за 120 с; значения  $T_1$  были равны  $41,2 \pm 8,0$  с. Ювенильные крысы SHR решали задачу дольше, чем половозрелые особи той же линии – время подныривания составило  $56,4 \pm 10,7$  с.

*Серия 3.* Акрофазы  $\varphi$  циркадного ритма ВДА нестрессированных мышей приходились на вечерние часы (группа I: в день 1 – 18:54, в день 3 – 18:36), что соответствует биоритмам активности грызунов в норме. Стресс в TST ведет к миграции акрофазы у особей группы II на более ранний период времени в день 1 ( $\varphi$  ВДА – 17:37) – различия с интактным контролем статистически достоверны ( $P < 0,05$ ). На то, что смещение акрофазы вызвано стрессом, указывала нормализация названного показателя в группе II через 3 дня ( $\varphi$  в день 3 в группах I и II были равны 18:36 и 18:32).

Описанные выше методы применялись при разработке фармацевтических композиций на основе синтетических субстанций и сырья природного происхождения по патентам ВУ 14988, ВУ 15604, ВУ 14451, ВУ 15029, а также – ЛС «Рациум», БАД «Ментум» и «Ноотрицин» и позволили подтвердить фармакологическую активность перечисленных образцов.

**Выводы.** Целесообразно использование новых методов «модельной патологии» в исследованиях ноотропных и анксиолитических средств: мнестических нарушений, вызванных МК-801 и др., в тесте габитуации; использование взрослых крыс SHR в ТЭИ на фоне ДПФС или ювенильных – без таковой; моделирование дизритмий посредством «дозированного» стресса в TST.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаренко, Н. А. Эффект депривации парадоксальной фазы сна на ротационное и стереотипное поведение, вызванное селективными агонистами дофаминовых рецепторов / Н. А. Бондаренко [и др.] // Бюл. эксп. биол. и мед. – 1990. – № 11. – С. 495-497.
2. Бондаренко, Н. А. Избирательное влияние нейролептиков на дофаминзависимое нарушение поведения крыс в тесте экстраполяционного избавления / Н. А. Бондаренко // Бюл. эксп. биол. и мед. – 1990. – № 11. – С. 506-509.
3. Воронина, Т. А. Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств с ноотропным типом действия / Т. А.

Воронина [и др.]. // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств /под ред. А. Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – Гл. 17. – С. 276–297.

4. Островская, Р. У. Методические рекомендации по изучению нейрореплетической активности лекарственных средств / Р. У. Островская [и др.]. // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств /под ред. А. Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – Гл. 16. – С. 251–263.

5. Spontaneously hypertensive rats (SHR) are resistant to a reserpine-induced progressive model of Parkinson's disease: differences in motor behavior, tyrosine hydroxylase and  $\alpha$ -synuclein expression / А. Н. F. F. Leão [et al.] // Front. Aging Neurosci. [Электронный ресурс]. – 2017. – Sec. Parkinson's Disease and Aging-related Movement Disorders. – V.9 – Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00078>. – Дата доступа: 04.04.2023.

## **АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ РЕСВЕРАТРОЛА В ОПЫТАХ *IN VITRO***

***Кузьмицкая И.А., Романчук А.В., Ерошенко Ю.В., Мороз В.Л.,  
Белоновская Е.Б., Кирко С.Н.***

*Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие  
«Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси»,  
г. Гродно, Республика Беларусь*

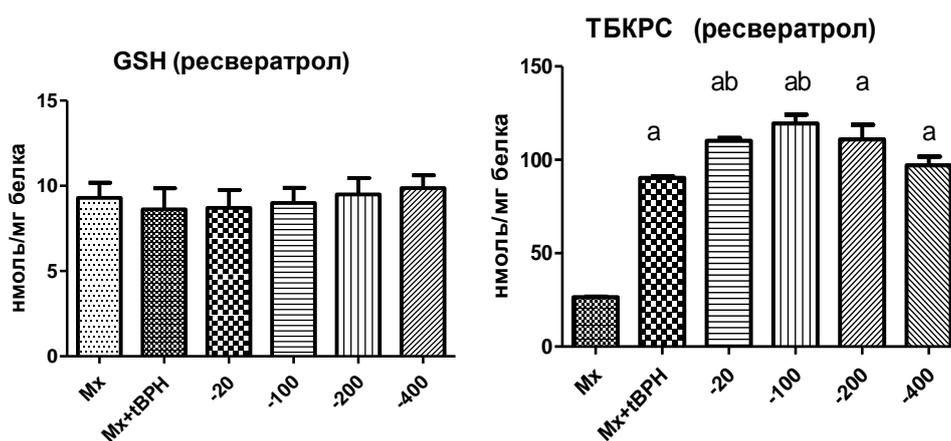
**Актуальность.** В течение последнего десятилетия внимание фармакологов привлекает использование соединений природного происхождения, обладающих широким спектром биологического действия – противовоспалительным, инсулинсенсбилизирующим, иммуномодуляторным, антиоксидантным и антиапоптотическим. К таковым относятся растительные полифенолы. Высокая фармакологическая активность данных субстанций при различных патологических состояниях подтверждена многочисленными клиническими испытаниями [1, 2]. Показано, что антиоксидантные эффекты флавоноидов связаны с их способностью с высокой скоростью инактивировать свободные радикалы [3]. Преимуществом фитопрепаратов является их низкая токсичность и возможность длительного применения без развития побочных эффектов и привыкания, а также более низкая, по сравнению с синтетическими аналогами, стоимость. Ряд исследований рекомендует их применение при лечении ожирения, различных форм диабета, гипертензии и метаболического синдрома. Среди антиоксидантов, применяемых для коррекции патологии сердечно-сосудистой системы наиболее известен ресвератрол, полифенол из косточек винограда, содержащийся в красном вине [4].

**Цель работы** - оценка *in vitro* антиокислительных свойств ресвератрола на уровне клеточных органелл при воздействии на них *трет*-бутилгидропероксида.

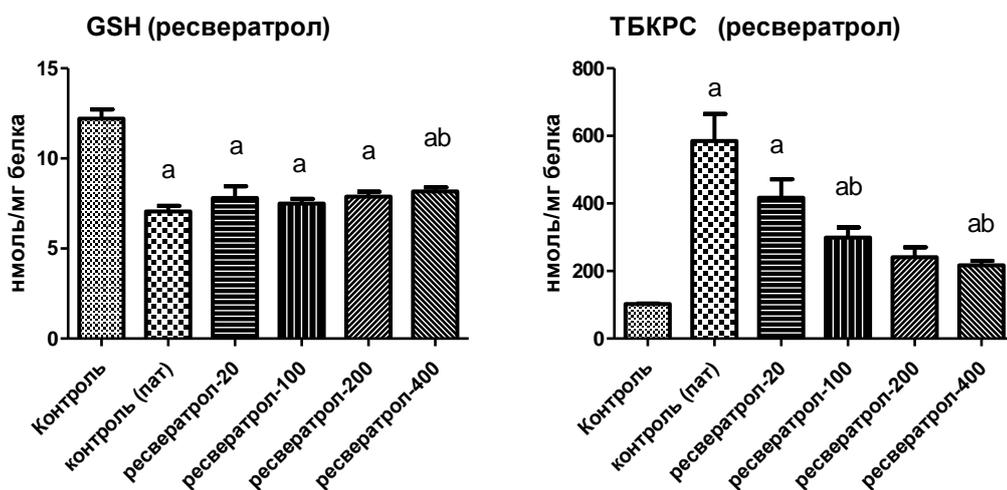
**Материалы и методы исследования.** Объектом исследования были митохондрии печени и сердца крыс, полученные общепринятым методом дифференциального центрифугирования [5]. Митохондрии дважды отмывали 1,1%-ным раствором KCl, а затем ресуспендировали, исходя из расчета: митохондрии, выделенные из 1 г печени и сердца в 1 мл среды выделения. В полученном субклеточном экстракте проводили определение содержания митохондриального белка. На следующем этапе готовили митохондриальную взвесь, содержащую 150 мкл полученных при выделении митохондрий. В течение 1 часа при температуре 37<sup>0</sup> С проводили предварительную инкубацию митохондриальной взвеси с ресвератролом. Конечную концентрацию полифенола варьировали в диапазоне от 20 мкМ до 400 мкМ, в пересчете на содержание полифенола. В качестве среды для инкубации использовали изотонический раствор KCl. После предварительной часовой инкубации митохондрий с ресвератролом индуцировали повреждения митохондриальных мембран с помощью раствора *трет*-бутилгидропероксида, который добавляли к митохондриальной взвеси, создавая конечную концентрацию окислителя 1 мМ. После добавления окислителя содержимое пробирок тщательно перемешивали и аликвотировали на две равные части. В первой после экспериментального воздействия определяли содержание восстановленного глутатиона, во второй части – содержание малонового диальдегида. В качестве контроля сравнения использовали митохондриальную взвесь без добавления исследуемых веществ или окислителя. Содержание определяемых компонентов выражали в пересчете на концентрацию митохондриального белка в исследуемых образцах.

### Результаты и обсуждение.

Результаты эксперимента проиллюстрированы рисунками 1 и 2



**Рисунок 1 – Содержание GSH и TBKPC в митохондриях сердца крыс (M±SD) при добавлении различных концентраций ресвератрола**



**Рисунок 2 – Содержание GSH и TBKPC в митохондриях печени крыс ( $M \pm SD$ ) при добавлении различных концентраций ресвератрола**

**Выводы.** На основании представленных выше данных можно сделать следующие выводы:

1. Ресвератрол не оказал значительного влияния на уровень восстановленного глутатиона при воздействии на митохондриальные мембраны сердца крыс *трет*-бутилгидропероксидом.

2. Ресвератрол препятствовал накоплению малонового диальдегида в митохондриях сердца крыс при воздействии на митохондриальные мембраны печени крыс *трет*-бутилгидропероксидом при концентрациях от 20 мкМ и до концентрации 400 мкМ.

3. Ресвератрол оказал значительное влияние на уровень восстановленного глутатиона при воздействии на митохондриальные мембраны печени крыс *трет*-бутилгидропероксидом, показав достоверное увеличение уровня восстановленного глутатиона при концентрациях от 20 мкМ и до концентрации 400 мкМ.

4. Ресвератрол существенно препятствовал накоплению малонового диальдегида в митохондриях печени при воздействии на митохондриальные мембраны *трет*-бутилгидропероксидом при концентрациях от 20 мкМ до 400 мкМ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Еремина, Е. Ю. Лекарственный гепатит / Е. Ю. Еремина // Практическая медицина. – 2014. – Т. 1, № 77. – С. 20–29.

2. Massey, V. L. Acute alcohol-induced liver injury / V. L. Massey // Front. Physio. – 2012. – Vol. 3. – P. 193.

3. Citrus flavonoids: molecular structure, biological activity and nutritional properties: a review / E. Tripoli [et al.] // Food Chemistry. – 2007. – Vol. 104. – P. 466–479.

4. Pharmacological basis and new insights of resveratrol action in the cardiovascular system / C. K. Cheng [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 2019. – Vol. 26. (Epub ahead of print).

5. Preparation and characterization of mitochondria and submitochondrial particles of rat liver and liver-derived tissues / P.L. Pedersen [et al.] // *Methods in Cell Biology*. – Vol. 20. – 1978. – P. 411–481.

## **АКТИВНОСТЬ АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ В ПЕЧЕНИ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ МОРФИН-АЛКОГОЛЬНОМ АБСТИНЕНТНОМ СИНДРОМЕ**

*Леднёва И.О., Величко И.М.*

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

**Актуальность.** Алкоголизм и последствия злоупотребления алкоголем находятся в сфере внимания исследователей многие годы. Алкогольная и морфиновая интоксикации вызывают целый комплекс метаболических нарушений в организме, в связи с чем актуально изучение токсического действия этанола и морфина на отдельные органы и ткани [1]. Наиболее выражены метаболические нарушения при приеме психоактивных веществ (ПАВ) в печени, и в значительной степени они определяются длительностью их воздействия [2]. Алкогольные энзимопатии проявляются как ранние признаки метаболических и структурных перестроек при алкоголизации и наиболее характерны в период адаптационных и компенсаторных изменений в органах и системах, содержащих эти ферменты. Для диагностики повреждений печени при алкогольной и морфиновой интоксикации используют определенный набор ферментов [3]. Одним из индикаторных ферментов печеночного профиля является аланинаминотрансфераза (АлАТ).

На сегодняшний день достаточно широко исследовано влияние алкогольной или морфиновой интоксикации на организм экспериментальных животных. В то же время недостаточно изучены эффекты сочетанного воздействия этанола и морфина. В клинической практике достаточно часто отмечаются случаи совместного или попеременного потребления алкоголя и наркотических веществ [4].

**Цель.** Изучение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) в печени и сыворотке крови экспериментальных крыс при морфин-алкогольном абстинентном синдроме (МААС).

**Методы исследования.** В исследовании использовали 43 белых беспородных крыс-самцов массой 180-220 г., находящихся на полноценном рационе вивария со свободным доступом к воде. Моделирование форсированной 5-суточной морфин-алкогольной интоксикации осуществляли путем в/б введения 1% раствора морфина гидрохлорида в дозе 10 мг/кг и через 12 часов – в/ж 25% раствора этанола в дозе 3,5 г/кг на протяжении 5 суток. Животных декапитировали через 3 часа (2-я группа), 1, 3 и 7 суток (3-я, 4-я и 5-я группы, соответственно) после последнего введения этанола. Крысы контрольной группы (1 гр.) получали эквивалентные количества изотонического раствора хлористого натрия в/б и через 12 часов в/ж на протяжении 5 суток.

Животные контрольной группы были разделены на равные подгруппы, которых декапитировали через 3 часа, 1, 3 и 7 суток после последнего введения физиологического раствора. После декапитации у крыс извлекали печень и замораживали в жидком азоте. Активность АлАТ определяли кинетическим методом с помощью стандартного набора реактивов ООО «Анализ Плюс» (Беларусь).

**Результаты и их обсуждение.** Повышение активности АлАТ в сыворотке крови традиционно рассматривается как один из признаков токсического поражения печени [2]. Согласно данным литературных источников у пациентов с опиоидной зависимостью наблюдается превышение физиологической нормы активности АлАТ в сыворотке крови более чем в половине случаев [5]. Достоверные изменения активности АлАТ в экспериментальной модели выявлены через 3 суток абстиненции (4-я группа) как в сыворотке крови, так и в печени. Введение морфина и этанола экспериментальным животным этой группы сопровождалось достоверным повышением активности фермента на 24% в сыворотке крови по сравнению с контролем (табл. 1).

Таблица 1 – Активность АлАТ в сыворотке крови крыс при морфин-алкогольном абстинентном синдроме (ммоль/ч/л,  $M \pm m$ )

Экспериментальная группа	Активность АлАТ (ммоль/ч/л)
1-я контроль	0,38 + 0,02
2-я МААС 3ч	0,35 + 0,015
3-я МААС 1 сутки	0,41 + 0,02
4-я МААС 3 суток	0,47 + 0,01*
5-я МААС 7 сутки	0,43 + 0,03

Согласно данным литературных источников, при синдроме отмены в печени крыс наблюдается увеличение содержания ТБК-реактивных продуктов, что приводит к повреждению плазматических мембран гепатоцитов, которому сопутствует повышенный выход органоспецифических ферментов, в том числе и АлАТ, в кровяное русло [6].

Печень является одним из центральных органов метаболизма морфина и этанола в организме, а признаки ее поражения наблюдаются в ранние сроки после их введения лабораторным животным. В экспериментальной модели морфин-алкогольного абстинентного синдрома выявлено фазовое изменение активности исследуемого показателя (табл. 2). Максимальное увеличение активности АлАТ в печени (на 35%) выявлено на 3-и сутки абстиненции.

Таблица 2 – Активность АлАТ в печени крыс при морфин-алкогольном абстинентном синдроме (мколь/ч/мг белка,  $M \pm m$ )

Экспериментальная группа	Активность АлАТ (мколь/ч/мг белка)
1-я контроль	1,69 + 0,06
2-я МААС 3ч	1,73 + 0,07
3-я МААС 1 сутки	1,88 + 0,04
4-я МААС 3 суток	2,28 + 0,05*
5-я МААС 7 суток	1,97 + 0,06

По мере увеличения сроков МААС выраженность нарушений в печени несколько снижалась и активность АлАТ по сравнению с контролем через 7 суток после отмены морфина и алкоголя составила 117% по сравнению с контролем, что согласуется с имеющимся в литературе данным о фазовом течении морфиновой абстиненции [6]. Такие изменения активности АлАТ коррелируют с динамикой изменения уровня глюкозы при алкогольном абстинентном синдроме (ААС), представленные в литературных источниках [7]. Так, начиная с 1-х суток абстиненции уровень глюкозы снижается, что, вероятно, приводит к активации фермента и глюкозо-аланинового шунта. Можно предположить, что эти процессы позволяют нормализовать уровень глюкозы на 3-и сутки ААС. Таким образом, МААС сопровождается стадийными изменениями активности АлАТ, что может являться следствием неспецифической адаптации клеток печени при МААС.

**Выводы.** Изменение активности АлАТ в печени экспериментальных животных при морфиновом и алкогольном абстинентном синдроме определяется сроками абстиненции и сопровождается стадийными изменениями активности АлАТ.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Федотов, И. А. Расстройства, связанные с приемом психоактивных веществ, и аддиктивное поведение: общие вопросы / И. А. Федотов, А. В. Сахаров // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2022. – Т. 24, № 1. – С. 4–14.
2. Сиволап, Б.П. Поражение печени у больных алкоголизмом / Б.П. Сиволап // Наркология. – 2012. – № 3. – С. 76–83.
3. Пронько, П.С. Биомаркеры в диагностике алкоголизма / П.С. Пронько // Весці Нацыянальнай Акадэміі Навук Беларусі. – 2009. – № 2. – С. 103–116.
4. Ялтонский, В. М. Сочетанное употребление наркотиков и других психоактивных веществ подростками как актуальная проблема наркологии / В. М. Ялтонский, Н. А. Сирота, А. В. Ялтонская // Вопросы наркологии. – 2017. – № 7. – С. 82–93.
5. Абушаева, А. Г. Активность аминотрансфераз при опиоидной наркомании / А. Г. Абушаева, М. В. Астафьева, В. Г. Крива // Инновационные технологии, экономика и менеджмент в промышленности : сборник научных статей VII международной научной конференции, Волгоград, 22–23 июля 2021

года. – Волгоград: Общество с ограниченной ответственностью "КОНВЕРТ", 2021. – С. 10-11.

6. Кротенко, Н. М. и др. Метаболические нарушения при алкогольном абстинентном синдроме и возможности их коррекции / Н. М. Кротенко [и др.] // *Фундаментальные исследования*. – 2014. – №. 10-6. – С. 1127-1131.

7. Рослый, И. М. Биохимия и алкоголизм (II): Биохимические показатели при тяжелом алкогольном абстинентном синдроме / И. М. Рослый [и др.] // *Вопросы наркологии*. – 2004. – №. 3. – С. 69-78.

## **ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕКОТОРЫХ ПРЕПАРАТОВ С ПРОТИВОАЛКОГОЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ У КРЫС**

**Лелевич В.В.**

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

**Актуальность.** В арсенале современной противоалкогольной терапии имеется немало препаратов, которые относятся к различным фармакологическим группам [1]. Достаточно часто в наркологической практике используются тетурам (антабус, дисульфирам), циамид (цианамид), метронидазол и фуразолидон [2]. Данные препараты обладают сенсibiliзирующим к алкоголю свойством. Все применяемые для лечения алкоголизма средства используются в различных дозах и по различным схемам, что обусловлено неодинаковой степенью выраженности их противоалкогольной активности, токсичностью, скоростью элиминации и другими фармакологическими особенностями. В литературе имеется немало указаний на клинические осложнения при фармакотерапии алкоголизма, при этом чаще других упоминается тетурам, что, очевидно, связано с большей частотой его применения [3]. В клинической практике имеют дело, как правило, с подострой или хронической токсичностью, учитывая схемы назначения препаратов. Определенный интерес поэтому представляет соотношение острой токсичности этих препаратов, которая может существенно отличаться от хронической. Такие данные позволят оптимизировать дозы изучаемых фармакологических средств с учетом широты их терапевтического действия, а также выработать определенные рекомендации при предпочтительном выборе того или иного препарата в связи с формой клинического течения заболевания, его стадий и соматическими осложнениями.

**Цель:** определить острую токсичность тетурама, цианамида, метронидазола и фуразолидона при однократном внутривенном введении.

**Материалы и методы исследования.** Опыты выполнены на беспородных крысах-самцах массой 160-200 г. Препараты вводили однократно, внутривенно, в виде суспензии в 1% слизи крахмала. Процентное содержание препарата в суспензии определялось назначаемой дозой и для тетурама равнялось 30%, метронидазола – 30%, фуразолидона – 20%,

цианамид – 15%. Регистрировали время латентного периода, начало периода интоксикации, его длительность, характерные признаки и симптомы интоксикации, их длительность и периодичность возникновения. Токсичность рассчитывали по методу Миллера Тейтнера с использованием графического пробит-анализа [4]. Вычислялись величины LD<sub>50</sub> и ее стандартная ошибка – LD<sub>16</sub> и LD<sub>84</sub>.

**Результаты и обсуждение.** Перед началом исследования для каждого препарата определялась начальная установочная доза с учетом имеющихся литературных данных о их токсичности. Опыты с тетурамом начинали с дозы 2,6 г/кг с дальнейшим последовательным ее увеличением. В дальнейшем дозу препарата последовательно увеличивали – 3,2; 4,0; 5,0; 7,0 г/кг. Все животные при этих дозировках оставались живы. Начиная с дозы 8,0 г/кг, отмечалась гибель животных (табл.1). В таблице 1 приводятся последовательно апробированные дозы.

Таблица 1 - Показатели острой токсичности тетурама при внутрижелудочном введении

Доза г/кг	Наблюдаемый эффект	Процент животных, у которых наблюдалась реакция	«Исправленный» процент эффекта
7	0/6	0	4,16
8	1/6	16,66	
9	2/6	33,3	
10	3/6	50	
11	4/6	66,66	
11	6/6	100	95,83

При обработке цифровых данных острой токсичности тетурама методом пробит-анализа LD<sub>50</sub> препарата составила 9,7 г/кг, что значительно выше в сравнении с некоторыми литературными данными. Продолжительность и периодичность стадий интоксикации описаны для доз, равных или близких к LD<sub>50</sub>. В первые часы после назначения тетурама животные по поведению не отличались от контрольных. Продолжительность латентного периода при назначении тетурама составляла в среднем 46 часов. В дальнейшем развивалась некоординированная походка, угнетение дыхания, парезы и параличи задних конечностей, гибель на 3-4 сутки.

Показатели острой токсичности для цианамиды представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Показатели острой токсичности (г/кг) противоалкогольных средств для крыс при внутрижелудочном введении

Препарат	LD <sub>16</sub>	LD <sub>50</sub>	LD <sub>84</sub>
тетурам	8,0	9,7±0,54	11,7
цианамид	0,99	1,6±0,27	2,6
метронидазол	5,35	6,8±0,53	9,0
фуразолидон	2,1	3,0±0,28	4,3

После его введения картина отравления развивалась быстрее, длительность латентного периода составляла в среднем 40 минут. В дальнейшем у крыс появляется агрессивность, которая сменяется резкой заторможенностью, тремором конечностей и боковым положением. Продолжительность жизни погибших животных составляет 23,6±1,2 часа.

Картину отравления при введении метронидазола можно разделить на два периода – латентный и депрессии. Длительность латентного периода колеблется от 0,35 до 1 часа и в среднем равняется 0,57 часа. В дальнейшем у животных появляется вялость, урежение и ослабление дыхания, атаксия и парез задних конечностей. Гибель животных наблюдается при нарастающем ослаблении дыхания, продолжительность жизни погибших крыс составляет 18,6±2,4 часа. При однократном внутрижелудочном назначении метронидазола LD<sub>50</sub> равняется 6,85 г/кг.

Симптомы отравления при назначении фуразолидона развиваются медленно. В начале крысы подвижны, преобладают симптомы повышенной раздражительности и болевой чувствительности. Длительность этого периода 2,6±1,3 часа. В дальнейшем развиваются симптомы угнетения нервной системы, анорексия, снижение реакции на внешние раздражители, гибель наступает на 2-3 сутки при первичной остановке дыхания. LD<sub>50</sub> для фуразолидона составила 3,0 г/кг (табл. 2.).

**Заключение.** Таким образом, острая токсичность по LD<sub>50</sub> в ряду изученных препаратов снижается в следующей последовательности: цианамид>фуразолидон>метронидазол>тетурам. Неожиданным, на что следует обратить внимание, – является наименьшая токсичность тетурама. Многочисленные клинические данные о высокой токсичности и побочных эффектах этого препарата [1,2,3] с учетом полученных нами результатов предположительно можно объяснить его замедленной биотрансформацией в организме и элиминацией. На это указывает длительный латентный период интоксикации тетурамом и наибольшая продолжительность жизни погибших крыс в сравнении с тремя другими препаратами. На основании определения параметров острой токсичности тетурама, цианамида, метронидазола и фуразолидона можно заключить о приоритете выбора тетурама и метронидазола для использования их в наркологической практике.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Сиволап Ю.П. Лечение алкогольной зависимости: рациональные и спорные подходы / Ю.П. Сиволап // Журн. невроп. и псих. им. С.С. Корсакова. – 2014. – Т. 114. – С. 53-56.
2. Иванец Н.Н. Наркология: национальное руководство / Н.Н. Иванец, И.П. Анохина, М.А. Винникова. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 720 с.
3. Альтшулер В.Б. Алкоголизм / В.Б. Альтшулер. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 264 с.
4. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.А. Беленький. – Ленинград, 1963. – 152 с.

### ЭФФЕКТЫ ПРЕПАРАТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АЛКОГОЛИЗМА, НА УРОВЕНЬ ЭТАНОЛА И АЦЕТАЛЬДЕГИДА В КРОВИ

Лелевич В.В.

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

**Актуальность.** Методы лечения алкоголизма в общих чертах были сформулированы в середине 19 века и в дальнейшем претерпели значительную эволюцию. К настоящему времени сформировалось мнение, что эффективность противоалкогольного лечения определяется логическим единством трех основных направлений – медикаментозного, психотерапевтического и реабилитационного [1]. В современной наркологической практике используется большое количество фармакологических средств, подавляющих патологическое влечение к алкоголю у пациентов [2]. Они относятся к различным лекарственным группам и обладают индивидуальными механизмами действия, что порождает непростую проблему их выбора в конкретном клиническом случае. Достаточно давно психиатры и наркологи используют препараты, которые формируют у больных алкоголизмом отрицательную условно-рефлекторную реакцию на вкус и запах алкоголя (аверсивная терапия). Средства, используемые в аверсивной терапии алкоголизма, изменяют параметры фармакокинетики этанола. Они блокируют биотрансформацию этанола на уровне альдегиддегидрогеназы (АлДГ), приводя к повышению уровня ацетальдегида, с чем в большей степени связывают их терапевтическую активность [3]. Это считается доказанным для тетурама, метронидазола, цианамида и, в определенной степени, для фуразолидона.

Сведения о влиянии психотропных препаратов, используемых в наркологической практике, на биотрансформацию этанола являются малочисленными и фрагментарными. Такие данные могут иметь практическое значение, поскольку использование препаратов в амбулаторных условиях не исключает эпизодический прием алкоголя больными. Хорошо известно, что функциональное состояние систем биотрансформации этанола зависит от потребления алкоголя. При хроническом поступлении этанола в организм

человека и животных отмечается активация этанол-окисляющих ферментативных систем. Повышенная скорость этанолметаболизирующих процессов играет определенную роль в развитии метаболической толерантности и физической зависимости от алкоголя.

**Цель:** определить уровни этанола и ацетальдегида в крови крыс при острой алкогольной интоксикации на фоне назначения некоторых фармакологических препаратов.

**Материалы и методы исследования.** Опыты проведены на беспородных крысах-самцах массой 180-220 г. При моделировании препарат-алкогольных реакций крысам, голодавшим 12 часов, внутрижелудочно вводили исследуемый фармакологический препарат в дозе 1/10 LD<sub>50</sub>. Через 1 час этим животным внутрибрюшинно назначали 25% раствор этанола в дозе 2,5 г на 1 кг массы тела. Контрольным особям в аналогичные сроки назначали эквивалентные количества слизи крахмала внутрижелудочно и физиологического раствора – внутрибрюшинно. Через 1 час после введения этанола и физиологического раствора забирали кровь из хвостовой вены и фиксировали в двухкратном объеме охлажденного раствора 12,8% сульфосалициловой кислоты и 0,38% тиомочевины в пробирках с герметическими пробками. Пробы центрифугировали на холоде (3000 об/мин x 20 мин) и супернатант использовали для дальнейшего анализа. Содержание этанола и ацетальдегида определяли методом газовой хроматографии на газовом хроматографе «Биохром-1» с пламенно-ионизационным детектором [4].

**Результаты и их обсуждение.** Определение уровней этанола и ацетальдегида при моделировании препарат-алкогольных реакций подтверждает аверсивный механизм действия для ряда исследованных средств. Так содержание ацетальдегида при тетурам-алкогольной реакции увеличилось на 95%, а при цианамид-алкогольной на 346% в сравнении с острой алкоголизацией (табл.). Полученные результаты согласуются с литературными данными о быстром и значительном ингибировании АДГ при действии цианамида, что может быть использовано при «импульсивной» алкогольной мотивации. Менее выраженный подъем ацетальдегида при тетурам-алкогольной реакции обусловлен, по всей вероятности, медленным развитием эффектов тетурама, проявляющихся в более поздние сроки. В работах по изучению молекулярных механизмов противоалкогольного действия тетурама отмечается, что в его основе лежит блокада ферментативной биотрансформации этанола с увеличением концентрации ацетальдегида [3]. Следует отметить, что при цианамид-алкогольной реакции происходит увеличение уровня этанола на 42%, тогда как на фоне действия других исследуемых препаратов таких изменений не наблюдается. Данный эффект указывает на то, что цианамид блокирует активность не только АДГ, но и алкогольдегидрогеназы.

Метронидазол в меньшей степени, в сравнении с тетурамом и цианамидом, тормозит биотрансформацию алкоголя – содержание ацетальдегида в крови при метронидазол-алкогольной реакции возрастает на 32% (табл.). Это подтверждает аверсивный механизм действия данного

препарата при использовании в наркологической практике. Применение апоморфина при лечении алкогольной зависимости в большей степени связано с его выраженным рвотным действием [2]. При моделировании апоморфин-алкогольной реакции отмечается умеренное увеличение ацетальдегида в крови – на 23% ( $P < 0,05$ ) (табл.), что дополняет представление о механизмах его действия. Нейролептический препарат хлорпротиксен не влияет на содержание этанола и ацетальдегида при острой алкогольной интоксикации.

Таблица - Концентрация этанола (мМоль/л) и ацетальдегида (мкМоль/л) в крови крыс после однократного введения этанола на фоне действия некоторых фармакологических препаратов.

Группа	Этанол	Ацетальдегид
Этанол	$50,6 \pm 1,4$	$54,1 \pm 2,4$
Тетурам	$46,2 \pm 2,4$	$105,7 \pm 9,2^*$
Цианамид	$72,6 \pm 6,2^*$	$241,3 \pm 19,3^*$
Метронидазол	$45,4 \pm 2,4$	$71,5 \pm 5,1^*$
Апоморфин	$54,8 \pm 2,6$	$66,8 \pm 4,9^*$
Хлорпротиксен	$46,6 \pm 1,8$	$61,0 \pm 4,4$

Примечание: \* показаны статистически значимые различия в сравнении с острой алкогольной интоксикацией

Таким образом, лекарственные средства, применяемые для купирования некоторых проявлений алкоголизма, неодинаково влияют на метаболизм этанола. Приведенные данные объясняют механизм аверсивного действия тетурама, цианамида, метронидазола и фуразолидона при их совместном назначении с алкоголем. Хлорпротиксен незначительно влияет на биотрансформацию этанола и уровень ацетальдегида, что объясняет хорошую переносимость алкоголя у лиц, принимающих данный препарат [1]. Однако следует учитывать потенцирование действия этанола и хлорпротиксена на нейрохимические процессы в головном мозге, что требует дополнительных углубленных исследований. Представленные результаты дополняют имеющуюся информацию о метаболических эффектах препаратов, используемых для лечения алкоголизма, их следует учитывать при разработке дифференцированных методов фармакотерапии алкогольной зависимости.

**Заключение.** Одним из механизмов противоалкогольной активности тетурама, цианамида, метронидазола и апоморфина является их ингибирующее действие на биотрансформацию этанола с повышением уровня ацетальдегида. Хлорпротиксен таким эффектом не обладает.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Альтшулер В.Б. Алкоголизм / В.Б. Альтшулер. – Москва ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 264 с.
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – М.: РИА «Новая волна», 2008. – 1206 с.

3. Кораблев М.В. Молекулярные основы механизма противоалкогольного действия тетурама / М.В. Кораблев, Н.М. Курбат, М.А. Евец // Журнал невропат. и псих. им. Корсакова. – 1981. – № 2. – С. 128-134.

4. Шишкин С.Н. Оптимизация техники определения уровня эндогенного этанола в крови и тканях человека и экспериментальных животных / С.Н. Шишкин, Ю.М. Островский, П.С. Пронько // Вопросы мед. химии. – 1988. – № 5. – С. 129-133.

## **ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПОЗИЦИЙ АМИНОКИСЛОТ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ПРЕРЫВИСТОЙ МОРФИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ**

**Лелевич В.В., Веницкая А.Г.**

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

Опийная зависимость – наркологическая патология, развивающаяся при злоупотреблении опиатами (опий-сырец) и полусинтетическими и синтетическими опиоидами (героин, метадон, трамадол, и др.) [1-3]. Группа опийных наркотиков объединяет как полностью запрещенные психоактивные вещества, так и легальные медицинские препараты, используемые в клинике и экспериментальной наркологии (морфин) [4, 5].

Систематический прием опийных наркотиков сопровождается множеством адаптивных сдвигов в биохимических процессах организма практически во всех органах и тканях [1-8]. Процесс формирования синдрома зависимости от ПАВ, происходит постадийно: от снижения интенсивности ответа организма на прием наркотика (толерантность), до развития особого метаболического статуса в органах и тканях, способствующего появлению абстинентного синдрома и рецидивов [6].

Считается, что ключевое значение в развитии наркологических заболеваний играют некоторые первичные патогенетические факторы, к которым относятся токсические повреждения мембран клеток в разных органах и образование в мозге алкалоидов с морфиноподобным действием [1, 2]. Взаимодействие морфина и других опиоидов с опиоидными рецепторами в структурах ЦНС вносит изменения в активность некоторых нейромедиаторных систем, вовлеченных в «систему награды» [2, 8]. Кроме того, опиаты изменяют редокс-баланс клетки, грубо вмешиваются в обменные процессы, вызывают смещение концентрационного равновесия ряда метаболитов, формируя, таким образом, состояние «метаболического хаоса», а по сути, метаболического стресса на клеточном и более высоких уровнях организации [1]. Продукты метаболизма морфина взаимодействуют с SH-группами белков, ферментов, что приводит к снижению содержания в клетках восстановленного глутатиона, являющегося одним из компонентов антиоксидантной системы организма [9].

В настоящее время разрешенными и широко применяемыми средствами для терапии опиоидной зависимости являются налоксон и налтрексон (антагонисты опиоидных рецепторов) [3, 10]. Также проходят клинические испытания протоколы, основанные на применении трамадола и габапентина [10]. Однако эти лекарственные средства не воздействуют на все патологические изменения, вызванные злоупотреблением наркотических веществ.

К методам лечения опиоидной зависимости относится заместительная терапия героиновой наркомании, при которой производится замена инъекционного наркотика на более слабый метадон, прием которого происходит в контролируемых условиях в лечебном центре [3]. В отличие от героина метадон не вызывает неприятных последствий для наркопотребителя, что делает вероятным постепенный отказ от употребления инъекционного наркотика. Альтернативой метадоноу является лево-альфа-ацетилметадол (LAAM), другой мощный агонист рецептора мю-опиоидных рецепторов [3].

Современная клиническая практика показывает, что существующий арсенал средств и протоколов лечения наркозависимости является недостаточно эффективным. Метаболические сдвиги, вызванные употреблением наркотика, и их коррекция требуют отдельного внимания с целью оптимизации и повышения эффективности терапии таких состояний.

Перспективным направлением является поиск лекарственных средств, которые бы оказывали нормализующее воздействие на патологический метаболический статус, развивающийся при употреблении наркотических веществ [11, 12]. Такими препаратами могут являться композиции, состоящие из естественных метаболитов человека (аминокислоты, их производные, пептиды), а также витаминов и минералов. Применение таких препаратов теоретически может позволить производить коррекцию метаболических нарушений на фоне хорошей переносимости и минимальных нежелательных эффектов [11].

Экспериментальные данные показывают эффективность применения различных аминокислот, их производных и композиций на их основе в терапии различного рода патологических состояний [12]. В частности, назначение препаратов на основе аминокислот с разветвленной боковой цепью способствует коррекции мальнутриции, в первую очередь, восстановлению баланса ароматических и разветвленных аминокислот, нарушение которого часто возникает при поражениях печени и считается одной из причин печеночной энцефалопатии. Лекарственные средства такого рода показали себя, как эффективные метаболические корректоры дезадапционных нарушений при различных патологических состояниях [11]. Аминокислоты с разветвленной углеводородной цепью (валин, лейцин, изолейцин) оказывают детоксифицирующее, антиоксидантное, нейромодулирующее и иммунокорректирующее действие на организм [12]. В то же время аминокислоты способны изменять обменные процессы в органах и тканях. В последнее время активно обсуждается применение композиций, содержащих таурин, для коррекции различных метаболических отклонений. Исследования в

этом направлении также показали, что данная аминокислота обладает нормализующим действием при патологических изменениях метаболизма на фоне различных заболеваний [12]. Таурин, являющийся продуктом превращения серосодержащих аминокислот, активирует дофаминовую и серотониновую нейромедиаторные системы, транспорт незаменимых аминокислот в ткани, оказывает антиоксидантный и мембраностабилизирующий эффект [12].

Была показана возможность использования N-ацетилцистеина при терапии различных болезней зависимости, в качестве агониста метаболитных рецепторов глутамата типа mGluR2/3 [13]. Назначение церебролизина пациентам, зависимым от герина, вызывало улучшение когнитивных функций, а также снижало проявления таких расстройств, как быстрая истощаемость, астения, апатико-абулический синдром, тревога. Церебролизин - ноотропный пептидергический препарат, содержит низкомолекулярные биологически активные нейропептиды [13].

В рамках выполнения задания ГПНИ «Медицина и фармация» (*«Установить патохимические механизмы прерывистой морфиновой интоксикации и разработать методы ее коррекции»*, задание № 1.2.76, 2014–2015 гг.) нами были исследованы эффективность препаратов Тавамин и Нейрамин, экспериментальных композиций Амюрам, Тритарг, Титацин, в коррекции метаболических нарушений при экспериментальной прерывистой морфиновой интоксикации (ПМИ).

В экспериментах были использованы белые беспородные крысы-самцы в возрасте 3–4 месяца массой 150–200 грамм, по 10 особей в каждой группе. Животных содержали по 10 особей в клетке при естественном цикле освещения и свободном доступе к воде и пище. Для моделирования ПМИ использовали режим внутрибрюшинного введения 1% раствора морфина гидрохлорида по схеме «4 суток морфин + 3 суток без морфина». Всего было проведено три цикловых введения морфина, причем доза препарата в первом цикле составляла 15 мг/кг/сут.; во втором и третьем циклах - 30 мг/кг/сут. В периоды отмены морфина никаких манипуляций с животными не производили. Забой производился на 4-е сутки после последней инъекции морфина, или на 22-е сутки от начала эксперимента [6, 17].

На основе режима ПМИ- 3 цикла были проведены два эксперимента, в ходе которых протестированы пять композиций, состоящих их аминокислот и других биологически активных соединений: Тавамин, Нейрамин, Тритарг, Амюрам и Титацин. Исследуемые препараты вводились внутривентрикулярно, в два приема, в суточных дозах: Тавамин – 500 мг/кг массы тела; Нейрамин – 200 мг/кг массы тела; Тритарг – 350 мг/кг массы тела; Амюрам – 400 мг/кг массы тела; Титацин – 500 мг/кг массы тела. Все препараты подавались растворенными в 2% растворе крахмала, в 3-х дневные периоды, свободные от морфина, на протяжении всего эксперимента. Забой животных производился через 1 сутки после последнего введения соответствующего препарата, или на 22-е сутки от начала эксперимента.

На данный момент в Беларуси зарегистрированы и применяются препараты на основе высокоочищенных аминокислот и их производных - Тавамин и Нейрамин.

В состав Тавамина входят следующие аминокислоты: L-валин, L-изолейцин, L-лейцин и таурин. Показаниями к применению этого препарата являются: токсическое поражение печени, печеночная энцефалопатия, алкогольная болезнь печени и другие состояния, связанные с метаболическими нарушениями работы печени. Имеются данные о терапевтической активности данного препарата при нарушении обмена веществ и как корректора аминокислотного дисбаланса, более того Тавамин используется в наркологии при лечении хронической алкогольной интоксикации [14]. Препарат Тавамин был приготовлен в соответствии с фармакопейной рецептурой из соответствующих аминокислот производства Sigma, США.

Согласно инструкции по медицинскому применению лекарственного средства Нейрамин (L-триптофан, глицин, L-аргинина-L-аспартат), показаниями к его применению являются депрессивные состояния легкой и средней тяжести; невротические реакции; энцефалопатии различного генеза (в том числе алкогольные); абстинентные состояния и постабстинентные расстройства, вызванные употреблением алкоголя, а также расстройства режима сна и бодрствования неорганической этиологии. Нами был использован препарат Нейрамин производства «Белмедпрепараты», Республика Беларусь. В предыдущих исследованиях было показано, что введение Тавамина и Нейрамина на фоне экспериментальной прерывистой алкогольной интоксикации оказывало нормализующий эффект на пул свободных аминокислот в печени и скелетной мускулатуре, а также на ряд биохимических показателей крови [15, 16].

Композиция Тритарг состояла из аминокислот таурин, триптофан, аргинин и цинка диаспартат в определенном соотношении. Ранее было показано, что введение Тритарга на фоне прерывистой алкогольной интоксикации сопровождалось выраженным корригирующим действием на активацию перекисного окисления липидов в крови и печени, возникшую на фоне прерывистой алкоголизации [16]. Помимо этого Тритарг нормализовывал ряд показателей, характеризующих функциональное состояние печени: мочевины, креатинина, глюкозы, креатинкиназа плазмы крови, щелочная фосфатаза печени. Назначение Тритарга на фоне прерывистой алкогольной интоксикации оказало хорошо выраженное гепатотропное действие на фонд свободных аминокислот и уровень глутатиона [17]. На основании полученных данных аминокислотная композиция Тритарг была рекомендована для доклинического испытания в качестве гепатопротекторного средства при алкогольной интоксикации [18].

Композиция под рабочим названием Амюрам состояла из аминокислот таурина, триптофана, аргинина, цинка диаспартата, витаминов – кальция пантотената и тиамин.

В составе Титамина, помимо аминокислот и витаминов (лейцин, изолейцин, валин, таурин, тиамин, пантотенат кальция), вошел цинка сульфат.

Композиция Титацин была апробирована ранее в моделях прерывистой алкогольной интоксикации в рамках предыдущего задания ГПНИ [19]. Было показано выраженные корригирующие действие этой композиции на метаболические нарушения в печени и скелетной мускулатуре, но не в ЦНС. Полученные результаты апробирования этой композиции позволили нам рекомендовать Титацин для доклинического испытания в качестве средства метаболической коррекции при длительной алкогольной интоксикации [19].

В обоих экспериментах в качестве контроля использовали смешанную группу крыс, состоящую из 2-х подгрупп. Животным из 1-й подгруппы внутрибрюшинно вводили эквивалентные количества физиологического раствора два раза в сутки в течение 4 суток. В последующие 3-е суток с крысами никаких манипуляций не производили. Такой цикл «введения-отмены» был повторен 3 раза, аналогично. Другим манипуляциям кроме внутрибрюшинного введения физиологического раствора животные из данной подгруппы не подвергались. Животные из 2-й подгруппы получали внутрибрюшинное введение эквивалентных количеств физиологического раствора дважды в сутки по схеме 1-й подгруппы. В периоды «отмены инъекций» им внутривентрикулярно вводили эквивалентные количества физиологического раствора. Забой животных контрольной группы проводился на 22-е сутки от начала эксперимента.

После умерщвления животных были выделены плазма крови, отделы головного мозга (кора больших полушарий, ствол, мозжечок, таламус, стриатум), печень, сердце и скелетная мускулатура. Ткани были заморожены в жидком азоте. В плазме крови, гомогенатах отделов мозга и периферических тканей были измерены показатели ПОЛ и антиоксидантной системы, оценены сдвиги в уровнях свободных аминокислот. Помимо этого в отделах головного мозга измеряли уровни дофамина, серотонина и метаболитов этих нейромедиаторов.

Прерывистое введение морфина в режиме 3-х циклов сопровождалось активацией процессов ПОЛ в крови и печени (повышение уровней малонового диальдегида и диеновых конъюгатов) при снижении активности каталазы и уровня  $\alpha$ -токоферола в печени [20]. В плазме крови регистрировалось статистически значимое повышение уровня кортизола в крови и снижение пула ароматических аминокислот.

В разных отделах мозга ПМИ привела к снижению уровней тирозина и триптофана – предшественников нейромедиаторов дофамина и серотонина. Это наблюдение частично подтверждается данными *Le Moal M., Koob G.F. (2007)*, предположившими, что уменьшение содержания триптофана в ЦНС коррелирует со сдвигами в уровнях серотонина и его метаболитов, поскольку триптофан является основным предшественником этого нейромедиатора [21]. Функциональное состояние дофаминергической системы при ПМИ изменилось незначительно, тогда как у серотонинергической системы отклонения более выражены. Они проявились в накоплении серотонина в таламической области и стриатуме, снижении его содержания в коре больших полушарий.

Введение Тавамина на фоне ПМИ оказало наиболее выраженное корригирующее действие на показатели оксидантного-прооксидантного статуса в печени: снижение уровней малонового диальдегида, диеновых конъюгатов, повышение уровня альфа-токоферола и активация каталазы. К другим положительным эффектам следует отнести снижение концентрации кортизола в крови; нормализации содержания ряда свободных аминокислот в тканях (печень – 5, плазма крови – 3, скелетная мускулатура – 4, миокард – 2), нарушенных при прерывистом введении морфина.

В ЦНС наиболее эффекты Тавамина на фоне ПМИ выражались в устранении большинства метаболических сдвигов во всех изученных отделах мозга, кроме мозжечка. Также Тавамин снижал интенсивность метаболизма серотонина в таламической области и стриатуме, по сравнению с группой ПМИ. Поскольку данные отделы ЦНС активно участвуют в формировании реакций организма на введение наркотиков [2, 3] наблюдаемые метаболические сдвиги могут иметь отношение к наблюдаемой повышенной прыжковой активности крыс, усиливающейся по мере введения последующих инъекций морфина. По литературным данным именно эту поведенческую реакцию на морфин связывают с активацией серотонинергических рецепторов типа 5-HT<sub>2A</sub> [20]. Введение Тавамина в периоды времени между приемами морфина способствовало уменьшению агрессивного поведения животных и этот эффект возможно был связан с уменьшением активности серотонинергической системы в этих отделах головного мозга [20].

Эффекты Нейрамина на нейромедиаторные процессы в отделах ЦНС проявились более выраженно в сравнении с Тавамином. В коре больших полушарий и среднем мозге Нейрамин снижал содержание дофамина и, в таламической области – уровни метаболитов диоксифенилаланина (ДОФА) и диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК). Под действием Нейрамина изменяется и ряд параметров серотонинергической системы. В коре больших полушарий увеличилось содержание 5-окситриптофана и 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК), в стриатуме нормализовались уровни триптофана и серотонина и возрастала концентрация 5-окситриптофан. Нейрамин повышает уровень тормозных аминокислот – ГАМК в стриатуме, глицина в мозжечке.

Тритарг также обладает выраженным воздействием на нейромедиаторные процессы. Изменения дофаминергической системы на фоне назначения Тритарга проявляются в снижении содержания дофамина в коре больших полушарий, таламусе, стриатуме и стволе мозга, а ДОФУК и ДОФА – в коре. Одновременно отмечается повышение уровня ДОФА в таламусе и стриатуме, ГВК в коре больших полушарий, норадреналина в таламусе. При назначении Тритарга на фоне ПМИ отмечается снижение содержания серотонина в коре больших полушарий, таламической области, стриатуме и мозжечке, 5-окситриптофана – в коре больших полушарий, 5-ОИУК в таламусе. При этом уровень 5-ОИУК повышается в мозжечке.

Аминокислотно-витаминно-минеральная композиция Амюрам так же показала корригирующим действием на фоне ПМИ, что подтверждалось соответствующими изменениями уровней диеновых конъюгатов, малонового

диальдегида, каталазы, альфа-токоферола и ретинола в печени и плазме крови, кортизола в крови, свободных аминокислот в тканях (печень – 7, плазма крови – 2, скелетная мускулатура – 4).

Титацин проявил корригирующий эффект в отношении оксидантно-прооксидантного статуса, что проявилось в нормализации уровней диеновых конъюгатов, церулоплазмينا, каталазы, альфа-токоферола и ретинола печени и плазмы крови. Одновременно регистрировалось снижение эффекта ПМИ на показатели пула свободных аминокислот в печени (7 аминокислот), плазме крови (3 аминокислоты), скелетной мускулатуре и миокарде (по 3 показателя). В то же время, Титацин потенцировал увеличение уровня кортизола в крови, по старению с группой ПМИ.

Следовательно, частичное корригирующее действие Нейрамина и Титацина при их введении на фоне ПМИ можно связать с ослаблением поведенческих признаков морфиновой интоксикации и частичной нормализацией этими препаратами показателей серотонинергической системы в таламусе и стриатуме. Так, Нейрамин способствует приближению уровней серотонина и его метаболитов к контрольным значениям в таламусе и стриатуме. Однако он приводит к активации метаболизма серотонина в мозжечке и оказывает значительное воздействие на метаболизм катехоламинов во всех изученных отделах ЦНС, за исключением стриатума. Назначение Титацина на фоне ПМИ оказывает частичное корригирующее действие на показатели серотонинергической системы в таламической области, и снижает ее активность в мозжечке. Кроме того, Титацин оказывает значительное влияние на метаболизм дофамина и норадреналина в зависимости от отдела головного мозга.

Таким образом, была установлена эффективность существующего лекарственного препарата Тавамин в качестве средства метаболической коррекции при прерывистой морфиновой интоксикации. Выявлена высокая эффективность композиции Амюрам как средства метаболической коррекции прерывистой морфиновой интоксикации. В этой связи рекомендуется назначение Тавамина по новым показаниям – в составе комплексной терапии синдрома зависимости от опиоидов (МКБ-10: F 11.2). Амюрам рекомендуется для доклинических испытаний в качестве средства комплексной терапии синдрома зависимости от опиоидов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. 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.
2. Нейромедиаторные и гормональные механизмы прилежащего ядра в реализации подкрепляющих эффектов наркотенов у крыс / П.Д. Шабанов, [и др.] // Наркология. – 2012. – № 8. – С. 49-57.
3. Heroine and other opiates / Leslie L. Iversen, [et al]. - Introduction to Neuropsychopharmacology. Publisher: Oxford University Press Print Publication

Date: Jan 2009 Print ISBN-13: 9780195380538 Published online: Sep 2013. DOI: 10.1093/med/9780195380538.003.0594

4. Лелевич, В.В. Современное состояние экспериментального изучения наркоманий / В.В. Лелевич // Весці НАН Беларусі. – 2007. – № 3. – С. 115-123.

5. Нейромедиаторные системы ЦНС при назначении аминокислот на фоне прерывистой морфиновой интоксикации / Виноцкая А.Г., [и др.]. - Современные проблемы биохимии = Current problems in biochemistry: сб.науч.ст. / НАН Беларуси. – Гродно: ЮрСаПринт, 2016. – Ч. 1. - С. 49-53.

6. Коррекция пула свободных аминокислот в тканях крыс при прерывистой морфиновой интоксикации / В.В. Лелевич, [и др.] // Вопросы наркологии. – 2017.- № 10. – С. 64-75.

7. Лелевич, В.В. Биохимические аспекты морфиновой абстиненции: экспериментальное исследование / В.В. Лелевич, А.Г. Виноцкая, С.В. Лелевич // Наркология. – 2020. – Т. 19, № 8. – С. 64-76.

8. Лелевич, С.В. Центральные и периферические механизмы алкогольной и морфиновой интоксикации / С.В. Лелевич. – Гродно: ГрГМУ, 2015. – 252 с.

9. Влияние синдрома отмены морфина на показатели свободнорадикального гомеостаза и систему оксида азота в печени и тимусе крыс / Л.Ф. Панченко, [и др.] // Биомедицинская химия. – 2004. – Т. 50, Вып. 5. – С. 460-470.

10. Trial of tramadol plus gabapentin for opioid detoxification / H. Ziaaddini, [et al.] // Iran Red Crescent Med J. – 2015 – Vol. 17, N 1. – P. 1-5.

11. Адаменко, Е.И. Нутритивная поддержка препаратами разветвленных аминокислот при циррозе печени / Е.И. Адаменко, Н.Н. Силивончик. – Актуальные вопросы медикаментозной терапии внутренних заболеваний. – 2012. – С. 3-5.

12. Шейбак, В.М. Аминокислоты и иммунная система / В.М. Шейбак, М.В. Горецкая. – М.: Издательство «Пальмир», 2010. – 356с.

13. Systematic review of N-acetylcysteine in the treatment of addictions / E. Asevedo, [et al.]. // Rev Bras psychiatr. – 2014 – Vol. 36, N 2. – P. 168-175.

14. Разумович, А.Ф. Тавамин / А.Ф. Разумович // Вестник фармации. – 2007. – Т. 35, № 1. – С. 102 – 104.

15. Лелевич, В.В. Пул свободных аминокислот в мышечной ткани при прерывистом введении морфина и на фоне назначения аминокислотной композиции / В.В. Лелевич, А.Г. Виноцкая. – Актуальные проблемы биохимии сборник материалов научно-практической конференции с международным участием [Электронный ресурс]. – Гродно ГрГМУ, 2021. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM). – С. 158-161.

16. Гуца, В.К. Коррекция нейромедиаторных нарушений в гипоталамусе и стриатуме крыс при прерывистой и хронической алкогольной интоксикации / В.К. Гуца // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. - 2019. - Т. 17, № 6.- С. 687-692.

17. Влияние прерывистой морфиновой интоксикации на состояние пула нейрoактивных аминокислот и биогенных аминов в отделах головного мозга / В.В. Лелевич, [и др.] // Нейрохимия. – 2015. – Т. 32, № 38. – С. 252-258.

18. Средство для коррекции нарушений функции печени при прерывистой алкогольной интоксикации : заявка 20130219 Респ. Беларусь : МПК А61К31/195 (2006.01) / С.В. Лелевич, В.В. Лелевич, В.М. Шейбак ; дата публ. : 30.10.2014.

19. Новые подходы в метаболической коррекции прерывистой алкогольной интоксикации / С.В. Лелевич, [и др.]. – Достижения медицинской науки Беларуси: рецензируемый науч.-практ. ежегодник. Вып. 19. – Минск : ГУ РНМБ, 2014. – С. 154-155.

20. Виноцкая, А.Г. Перекисное окисление липидов и антиоксидантные системы в крови и печени крыс при коррекции прерывистой морфиновой интоксикации / А.Г. Виноцкая, В.В. Лелевич. – Кислород и свободные радикалы : сборник материалов международной научно-практической конференции, 15-16 мая 2018 года [Электронный ресурс] / под ред. проф. В.В. Зинчука. – Электрон.текст.дан. (объем 3,5 Мб). – Гродно: ГрГМУ, 2018 – С. 105-107.

21. Le Moal, M. Drug addiction: pathways to the disease and pathophysiological perspectives / M. Le Moal, G.F. Koob // Eur Neuropsychopharmacol. – 2007. – Vol. 17, N 6-7. – P. 377-393.

## **КОНЦЕНТРАЦИЯ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СИНДРОМЕ ОТМЕНЫ ЭТАНОЛА И МОРФИНА ГИДРОХЛОРИДА**

**Лелевич С.В., Величко И.М., Клещенко П.В.**

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

**Актуальность.** Аминокислоты (АК) играют важную роль в формировании функционально-метаболических отклонений при отмене этанола. У пациентов с алкогольной зависимостью при абстинентном синдроме в головном мозге значительно повышается уровень глутамата и снижается содержание ГАМК [2]. Известно, что система ГАМК имеет значение при появлении депримирующих эффектов этанола, а ее функциональное ослабление в период отмены способствует формированию абстинентного состояния и возникновению психических и неврологических расстройств у пациентов с алкогольной зависимостью.

При изучении изменений пула свободных аминокислот в ткани головного мозга в динамике морфинового постинтоксикационного синдрома отмечено, что стволовая часть мозга при этом является наиболее реагирующим отделом на хроническое воздействие морфина [1]. В динамике развития морфинового синдрома отмены морфина наибольшие изменения наблюдаются в фонде нейротрансмиттерных аминокислот (в особенности, глицина) и

характеризуются накоплением тормозных АК. В литературе имеется ряд публикаций, посвященных аминокислотному дисбалансу в организме при алкогольной и наркотической зависимости, однако практически отсутствуют сведения об изменениях содержания нейротрансмиттерных аминокислот на фоне совместного введения этанола и морфина.

**Цель.** Исследовать уровень ряда нейромедиаторных аминокислот в регионах головного мозга крыс при синдроме отмены этанола и морфина после их комплексного введения.

**Материалы и методы исследования.** Моделирование форсированной 5-суточной морфин-алкогольной интоксикации осуществлялось путем внутрибрюшинного (в/б) введения 1% раствора морфина гидрохлорида в дозе 10 мг/кг и через 12 часов – внутрижелудочное (в/ж) введение 25% раствора этанола в дозе 3,5 г/кг на протяжении 5-ти суток. Животных декапитировали через 3 часа (2-я группа), одни, 3-е и 7 суток (3-я, 4-я и 5-я группа соответственно) после последнего введения этанола. Особи контрольной группы (1-я гр.) получали эквивалентные количества изотонического раствора хлористого натрия в/б и через 12 часов в/ж на протяжении 5-ти суток. Животные контрольной группы были разделены на равные подгруппы, которых декатировали через 3 часа, одни, 3-е и 7 суток после последнего введения физиологического раствора. Определение нейромедиаторных аминокислот проводилось с помощью ВЭЖХ. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Statistica 10.0, используя U-критерий Манна-Уитни.

**Результаты и их обсуждение.** В коре больших полушарий через три часа после отмены совместного введения этанола и морфина (2-я гр.) выявлено достоверно значимое снижение концентрации глицина по сравнению с контролем. Уровень данной аминокислоты спустя одни, 3-е и 7-ро суток (3-5 гр.) не отличался от контрольных значений, но был статистически значимо выше, чем во 2-й группе. Концентрация остальных изученных нейротрансмиттерных аминокислот при морфин-алкогольном постинтоксикационном синдроме здесь не изменялась. Следует отметить, что форсированная 5-суточная алкоголизация сопровождалась 55% ростом концентрации глутамата в коре больших полушарий.

Содержание исследованных нейротрансмиттерных аминокислот не отличалось от контрольных значений в стриатуме и гипоталамусе в разные сроки отмены комплексной интоксикации.

В среднем мозге после совместной интоксикации морфином и этанолом (2-я гр.) изменения были схожи с таковыми в коре больших полушарий – выявлено снижение уровня глицина по сравнению с контролем. Спустя сутки после отмены введения обоих ПАВ (3-я гр.) в данном отделе мозга изучаемые показатели не отличались от контрольных значений, тогда как через 3 дня отмечался рост концентрации возбуждающих аминокислот (глутамат, аспарат) на фоне 1-й и 3-й группы. В отдаленные сроки отмены (7 суток) здесь выявлен рост содержания всех изученных аминокислот в сравнении с 1-й, 2-й и 3-й группами и только тормозных АК (ГАМК, глицин) в сравнении с 4-й. Хорошо

известно, что ГАМК и глицин являются важнейшими тормозными аминокислотами, изменение их оборота в головном мозге имеет место в процессе развития опиатного абстинентного синдрома. Эти явления сопровождаются перестройками внутриклеточных биохимических процессов, сопряженных с аминокислотной нейротрансдукцией и изменениями активности нейронов.

В мозжечке в конце форсированной морфин-алкогольной интоксикации (2-я гр.) не было выявлено существенных аминокислотных изменений, тогда как спустя сутки (3-я гр.) здесь происходило падение уровня ГАМК и глицина в сравнении с 1-й и 2-й группой. После трехсуточной отмены обоих ПАВ уровень глицина нормализовался, а концентрация ГАМК сохранялась сниженной по сравнению с контролем. Спустя 7 дней отмены (5-я гр.) содержание всех изученных аминокислот не отличались от контроля, а уровень тормозных был статистически значимо выше, чем в 3-й группе.

**Выводы.** Таким образом, в коре больших полушарий, стриатуме и гипоталамусе содержание возбуждающих и тормозных аминокислот не изменялось при морфин-алкогольном постинтоксикационном синдроме. В среднем мозге через 3-е суток отмены обоих ПАВ повышался уровень глутамата и аспартата, а спустя 7 суток увеличивалось содержание всех определяемых нейротрансмиттерных аминокислот. В мозжечке при этом было выявлено преобладание возбуждающих процессов (снижение концентрации ГАМК и глицина) на начальных сроках отмены (1 сутки) и их нивелирование через неделю отмены комплексного введения морфина и этанола.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич, В. В. Обмен свободных аминокислот головного мозга при морфиновой наркомании : монография / В. В. Лелевич, М. Н. Курбат. – Гродно : ГрГМУ, 2007. – 152 с.
2. Normal glutamate but elevated myo-inositol in anterior cingulate cortex in recovered depressed patients / М. J. Taylor, [et al.] // J Affect Disord. – 2009. – Vol. 119 (1-3). – P. 186–189.

## СОДЕРЖАНИЕ СЕРОТОНИНА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПРИ КОМПЛЕКСНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ И МОРФИНОМ

Лелевич С.В., Величко И.М., Лелевич В.В.

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

**Актуальность.** Хроническая алкогольная интоксикация сопровождается выраженными отклонениями метаболизма в головном мозге и периферических органах, что во многом зависит от длительности приема и дозы. Важно отметить непосредственное действие алкоголя на гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и усиление окислительного стресса, транспорт веществ, повреждение клеточных мембран, выраженные отклонения углеводно-

энергетического обмена в нервной ткани, витаминная недостаточность, усиление сигнала между астроцитами и нейронами, изменение гистоструктуры головного мозга [1].

Наиболее важными нейроадаптивными изменениями при переходе от однократного употребления алкоголя к зависимости, возможно, являются изменение активности нейромедиаторных систем дофамина и ГАМК, активация системы глутамата и нарушение регуляции системы стресса (серотонин) головного мозга.

Длительное введение морфина в организм сопровождается многочисленными отклонениями в деятельности органов и систем. При этом необходимо отметить, что одно из центральных мест в патогенезе морфиновой интоксикации отводится нейромедиаторным нарушениям в головном мозге. Именно сдвиги в деятельности основных нейротрансмиттерных систем, включающих дофамин, серотонин и ГАМК, играют важнейшую роль в формировании нейрохимических признаков морфиновой интоксикации.

Вместе с тем, подавляющее большинство данных о нарушениях нейромедиации в головном мозге получены на изолированных экспериментальных моделях алкогольной и морфиновой интоксикации. Экспериментальных исследований, посвященных изучению комплексного воздействия алкоголя и наркотика на нейромедиаторные структуры ЦНС практически нет. В этой связи достаточно актуальным является вопрос установления особенностей функционирования одной из основных нейромедиаторных систем мозга – серотонинергической – при хронической комплексной интоксикации этанолом и морфином.

**Цель.** Исследовать уровень серотонина в отдельных регионах головного мозга крыс при длительном комплексном введении этанола и морфина.

**Материалы и методы исследования.** При моделировании хронической интоксикации алкоголем и морфином были использованы наиболее распространенные сроки введения ПАВ. Эксперименты выполнены на крысах-самцах, которые были разделены на 7 групп. При хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) животным в/ж вводили 25% раствор этанола в дозе 3,5 г/кг два раза в сутки в течение 7-ми, 14-ти и 21-х суток.

Комплексную морфин-алкогольную интоксикацию (ХМИ+ХАИ) моделировали следующим образом: в/б вводили 1% раствор морфина гидрохлорида в дозе 10 мг/кг, а через 12 часов в/ж – этанол в дозе 3,5 г/кг на протяжении 7-ми, 14-ти и 21-х суток. Особи контрольной группы получали эквивалентные количества изотонического раствора хлористого натрия (в/б – в/ж с интервалом в 12 часов) в течении 7-21 суток. Декапитацию проводили через 1 час после последнего введения этанола или физиологического раствора.

У крыс после декапитации выделяли кору больших полушарий, стриатум, гипоталамус, а также средний мозг, которые замораживали в жидком азоте. Уровень серотонина определяли с помощью ВЭЖХ. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Statistica 10.0, используя непараметрические методы (U-критерий Манна-Уитни).

**Результаты и их обсуждение.** Введение этанола на протяжении 7-ми суток (2-я группа) сопровождалось снижением уровня серотонина в коре больших полушарий по сравнению с контролем. При увеличении сроков алкоголизации до двух недель (4-я группа) была выявлена нормализация его уровня. При хронической 21-суточной интоксикации этанолом (6-я группа) не наблюдалось изменения содержания нейромедиатора по сравнению с контролем в данном отделе мозга.

Комплексное 7-ми и 14-дневное введение морфина и этанола (3-я и 5-я группа, соответственно) не сопровождалось изменениями уровня ключевого параметра серотонинергической системы в коре больших полушарий по сравнению с контролем. Следует отметить только достоверно значимый рост уровня серотонина в 3-й группе по сравнению со второй. Комплексная 21-дневная интоксикация (7-я группа) показала, что содержание самого нейромедиатора было схоже с контрольными значениями.

Введение этанола на протяжении 7-ми, 14-ти и 21 суток (2-я, 4-я и 6-я группа, соответственно) не приводило к изменению концентрации серотонина в стриатуме по сравнению с контролем. Признаки ускорения его оборота были выявлены здесь при 7-суточном введении морфина и этанола (3-я гр.), что подтверждается ростом уровня самого нейромедиатора по сравнению с контролем и 2-й группой. В более длительные сроки морфин-алкогольной интоксикации (14-ти и 21-дневное введение) происходила нормализация содержания серотонина в данном отделе мозга.

В гипоталамусе при 7-суточном введении этанола (2-я гр.) выявлено уменьшение уровня серотонина по сравнению с контрольными значениями. Данное изменение сохранялась до 14 дней интоксикации алкоголем (4-я группа) по сравнению с контролем и нормализовалась в отдаленный срок интоксикации (7-я гр.).

Комплексное введение морфина и этанола на протяжении недели (3-я группа) сопровождалось противоположными 7-дневной алкоголизации изменениями серотонинергической системы в гипоталамусе. Здесь были выявлены признаки ускорения оборота серотонина. В 3-й группе его уровень был достоверно значимо выше, чем при действии этанола в те же сроки (2-я гр.). Введение обоих ПАВ на протяжении двух недель (5-я гр.) сопровождалось нормализацией функционирования серотонинергической системы в гипоталамусе. При хронической 21-суточной морфин-алкогольной интоксикации (7-я гр.) уровень серотонина не отличались от таковых при 14-дневном их введении (5-я гр.) и контроля (1-я гр.).

Введение этанола на протяжении 7 суток (2-я группа) приводило к снижению концентрации серотонина в среднем мозге по сравнению с контролем, что также наблюдалось в коре больших полушарий и гипоталамусе.

При комплексном введении обоих ПАВ на протяжении недели (3-я гр.) в среднем мозге концентрация самого нейромедиатора была выше в 3-й группе чем при 7-дневной алкоголизации (2-я гр.). Совместное введение морфина и этанола на протяжении 14-ти и 21-х суток (5-я и 7-я гр. соответственно) сопровождалось снижением уровня серотонина по сравнению с контролем.

**Выводы.** Таким образом, комплексная морфин-алкогольная интоксикация сопровождается изменениями серотонинергической нейромедиации в головном мозге крыс. Наиболее выраженными из них являются: ускорение оборота серотонина в стриатуме и гипоталамусе на 7-е сутки интоксикации и снижение уровня нейромедиатора в среднем мозге в более отдаленные сроки (14-21 сутки).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Voluntary ethanol consumption during early social isolation and responding for ethanol in adulthood / Th. J. Wukitsch [et al.] // Alcohol. – 2019. – Vol. 77. – P. 1518–1529.

## АКТИВНОСТЬ АМИНОТРАНСФЕРАЗ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ НА ФОНЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО МОДЕЛИРОВАННОГО ИММУНОДЕФИЦИТА

Маглыш С.С.

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

**Актуальность.** В XXI веке количество ВИЧ-инфицированных людей в мире продолжает неуклонно увеличиваться, и проблема заболеваемости СПИДом по-прежнему остается актуальной. Для лечения СПИД разработан целый ряд лекарственных антиретровирусных (АРВ) препаратов, влияющих на разные стадии развития ВИЧ. Сейчас широко используют такие АРВ препараты как тенофовир (TDF), зидовудин (AZT), диданозин, абакавир, ламивудин, невирапин, ритонавир и др. Практически все они обладают высокой гепатотоксичностью, приводящей часто к летальному исходу. Одним из АРВ препаратов, наиболее часто применяемых в Беларуси, является TDF – ингибитор обратной транскриптазы ВИЧ. В связи с вышесказанным актуальным является исследование гепатотоксического действия этого препарата на уровне аминотрансфераз в печени у крыс с экспериментально моделированным иммунодефицитом, поскольку они являются общепризнанными критериями гепатотоксичности [1].

Моделирование иммунодефицита у животных в лабораторных условиях является наиболее актуальной задачей на этапе разработки и внедрения в клинику новых АРВ препаратов, необходимых для лечения СПИДа. Не менее важным является использование таких моделей для изучения побочных эффектов ныне применяемых в практике АРВ препаратов, чтобы найти способы их предотвращения у пациентов при проведении антиретровирусной терапии. Для экспериментального моделирования иммунодефицита можно использовать препарат микофенолата мофетил (ММФ), применяемый в трансплантологии, который, как известно, обладает иммунодепрессантным действием [2]. ММФ подавляет активность инозинмонофосфатдегидрогеназы, катализирующей важнейший этап биосинтеза гуаниловых нуклеотидов de novo.

Поскольку пролиферация Т- и В-лимфоцитов очень сильно зависит от синтеза пуриновых нуклеотидов *de novo*, то наиболее выраженное цитостатическое действие ММФ оказывает на лимфоциты, вызывая иммунодефицит. Обезвреживание ММФ, как и других лекарственных препаратов, происходит в печени, поэтому очень важно выяснить, не оказывает ли он токсического влияния на данный орган и какие дозы безопасны при экспериментальном моделировании иммунодефицита.

**Цель.** Целью нашего исследования являлось: во-первых, изучение активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ) в печени крыс при экспериментальном иммунодефиците (ИД), вызванном введением в организм иммуномоделирующего лекарственного препарата ММФ (иммунодепрессант антиметаболического типа) в дозе 40 мг/кг, для установления оптимальной продолжительности введения ММФ без проявления признаков гепатотоксичности, чтобы на его фоне впоследствии изучать гепатотоксические эффекты АРВ препаратов и проводить поиск способов их коррекции; во-вторых, изучение влияния антиретровирусного препарата TDF – ингибитора обратной транскриптазы, на активность вышеуказанных аминотрансфераз и возможности использования их для оценки гепатотоксических эффектов антиретровирусной терапии.

**Материалы и методы исследования.** Для достижения поставленной цели были проведены две экспериментальные модели: первая – моделирование иммунодефицита у крыс введением микофенолата мофетил; вторая – введение тенофовира интактным и иммунодефицитным животным.

В обеих моделях было использовано по 32 белых беспородных крыс-самцов с массой 200-250 г, которые содержались на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. В эксперименте по моделированию ИД крысы были разделены на 4 группы: I группа – контроль; II группа – ИД 7 суток; III группа – ИД 14 суток; IV группа – ИД 7 суток + 7 суток отмена. Опытным животным 1 раз в сутки внутрижелудочно вводили раствор ММФ (8 мг/мл) в дозе 40 мг/кг массы тела в течение 7 или 14 суток. Во второй модели с использованием TDF животные были разделены на 4 группы: I группа – контроль; II группа – TDF 7 суток; III группа – TDF 21 сутки; IV группа – ММФ 7 суток + TDF 21 сутки. Раствор TDF в дозе 50 мг/кг вводили один раз в сутки внутрижелудочно через зонд. Опытным животным IV группы в течение первых 7 суток вводили раствор ММФ в дозе 40 мг/кг аналогичным способом. Контрольным животным в обеих моделях вводили эквивалентное количество физраствора 1 раз в сутки в течение эксперимента. После декапитации у контрольных и опытных крыс извлекали печень и замораживали в жидком азоте.

В гомогенатах печени (разведение 1:100) контрольных и опытных животных, получавших внутрижелудочно в разных вариантах ММФ и TDF с разной продолжительностью, определяли активность АлАТ и АсАТ. Для анализа активности этих ферментов использовались наборы реактивов ООО «Анализ Плюс» (Беларусь). Полученный экспериментальный материал обработан с помощью программы STATISTICA 6.0.

**Результаты и обсуждение.** Результаты определения активности АлАТ и АсАТ в печени крыс при экспериментально моделированном иммунодефиците представлены в таблице 1.

Как видно из результатов исследования, иммунодепрессант ММФ в дозе 40 мг/кг массы после 7-дневного введения не изменяет активность изученных аминотрансфераз как во II-ой, так и в IV-ой группе. А через 14 дней его введения наблюдается достоверное повышение активности обоих ферментов.

В последующем эксперименте по изучению влияния АРВ препаратов на аминотрансферазы печени при экспериментально моделированном иммунодефиците введение ММФ проводили только в течение 7 суток, так как на протяжении данного периода он не оказывает влияния на данные показатели печени.

Таблица 1 – Активность АлАТ и АсАТ в печени крыс при экспериментально моделированном иммунодефиците (мкат/г ткани)

ПОКАЗАТЕЛИ	I группа	II группа	III группа	IV группа
АлАТ	16,3±7,2	23,3±9,5; p>0,05	30,0±11,7; p<0,05	22,2±9,7; p>0,05
АсАТ	35,3±1,8	42,1±2,4; p>0,05	45,2±3,1; p<0,05	37,2±1,0; p>0,05

Примечание – I группа – контроль; II группа – ММФ 7 суток; III группа – ММФ 14 суток; IV группа – ММФ 7 суток + 7 суток отмена

В таблице 2 представлены результаты определения активности АлАТ и АсАТ в печени контрольных и опытных крыс при введении TDF здоровым и иммунодефицитным животным.

Таблица 2 – Активность АлАТ и АсАТ в печени крыс при введении TDF здоровым и иммунодефицитным животным (мкат/г ткани)

ПОКАЗАТЕЛИ	I группа	II группа	III группа	IV группа
АлАТ	5,5 ± 0,8	7,3±1,2; p>0,05	9,9±0,97; p<0,01	11,0±0,7; p<0,001
АсАТ	17,6 ± 7,0	19,5 ± 7,7;p>0,05	17,2 ± 6,4; p>0,05	17,7 ± 5,5; p>0,05

Примечание – I группа – контроль; II группа – TDF 7 суток; III группа – TDF 21 сутки; IV группа – ММФ 7 суток + TDF 21 сутки

Как видно из таблицы 2, введение антиретровирусного препарата TDF, приводит к достоверному повышению активности АлАТ в печени как интактных, так и иммунодефицитных животных при введении препарата в течение 21 суток. Причем на фоне иммунодефицита этот эффект усиливается. В то же время активность АсАТ не изменяется во всех вариантах опыта. Это подтверждает, что в печени АлАТ является более чувствительной к повреждающим факторам по сравнению с АсАТ, поэтому может использоваться как диагностический показатель гепатотоксичности АРВ препаратов.

**Выводы.** Отсутствие реакции печеночных ферментов АлАТ и АсАТ на введение иммунодепрессанта ММФ в течение 7 дней подтверждает его низкую гепатотоксичность и позволяет рекомендовать данный препарат для экспериментального моделирования иммунодефицита у животных. Возможность экспериментального моделирования иммунодефицита у животных без гепатотоксических эффектов позволяет проводить изучение побочных эффектов АРВ препаратов с целью поиска способов их предотвращения у заболевших СПИДом при проведении антиретровирусной терапии. Высокая чувствительность АлАТ к действию АРВ препаратов позволяет рекомендовать определение ее активности для диагностики гепатотоксического действия данных препаратов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бабанина, Н.В. Опыт применения гепатопротектора «Гептор» (Адеметеонин) у онкологических пациентов, получающих противоопухолевое лечение / Н.В. Бабанина // Медиаль – 2013. – № 2. – С. 59–61.
2. Olejarz, W. Mycophenolate mofetil – a new atheropreventive drug? / W. Olejarz, D. Bryk, D. Zapolska-Downar // Acta Pol. Pharm. – 2014. – Vol. 71, № 3. – P. 353–361.

### ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ ПУЛА АМИНОКИСЛОТ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС С ЧАСТИЧНОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИЕЙ

Максимович Н.Е, Бонь Е.И, Дорошенко Е.М, Смирнов В.Ю,  
Разводовский Ю.Е, Голик С.В

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

**Актуальность.** Цереброваскулярные заболевания широко распространены как в Республике Беларусь, так и во всем мире, при этом в головном мозге в значительной мере изменяется пул свободных аминокислот [1-3].

**Цель:** изучить изменения пула аминокислот головного мозга крыс с частичной церебральной ишемией.

**Материалы и методы исследования.** Частичную ишемию головного мозга (ЧИГМ) моделировали путем перевязки одной общей сонной артерии справа. Взятие материала осуществляли через 1 час после операции. 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°C с последующим отбором супернатанта. Анализ аминокислотного пула проводился методом обращенно-фазной хроматографии с предколоночной

дериватизацией о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой в Na-боратном буфере на хроматографе Agilent 1100.

**Результаты и их обсуждение.** При изучении содержания аминокислот (АК) в гомогенатах головного мозга у крыс с однократной ЧИГМ выявлено увеличение медианных значений содержания АК с нейромедиаторными свойствами – глутамата на 20% в теменной доле (ТД),  $p < 0,05$  и на 19% – в гиппокампе (Гп),  $p < 0,05$ . Рост уровня глутамата при сохранении уровней глутамина и ГАМК может быть связано с увеличением глутаминовой активности и/или трансминирования/восстановительного аминирования в нейронах. При этом изменения уровней АК со свойствами возбуждающих нейромедиаторов (аспартата и глутамата) имели разнонаправленный характер: тенденция к увеличению уровня глутамата и к снижению – аспартата. Снижение аспартата, в отличие от глутамата, может быть объяснено его повышенной утилизацией как гликогенной АК в реакциях окисления с образованием энергии.

Что касается тормозных медиаторов (ГАМК, глицин, таурин), можно отметить тенденцию к росту их содержания: глицина – на 13% в ТД ( $p > 0,05$ ), таурина – на 13% в ТД ( $p > 0,05$ ) и на 29% – в Гп ( $p > 0,05$ ), ГАМК – на 14% в ТД ( $p > 0,05$ ) и на 41% – в Гп ( $p > 0,05$ ). При этом медианный уровень ГАМК отличался от его значения в контрольной группе примерно так же, как и глутамата, но различия их значений не были статистически значимыми ( $p > 0,05$ ). Изменения уровня гликогенных АК (аспартат, аспарагин, треонин, серин, глутамин, глутамат, глицин, аланин, валин, метионин, гистидин, аргинин) и кетогенных АК (лейцин, лизин) для головного мозга, с точки зрения биохимического исследования, в основном неспецифичны, так как в головном мозге не происходят процессы глюконеогенеза и кетогенеза. Однако следует отметить, что аспартат, глутамат и глицин играют роль нейромедиаторов; метионин является предшественником ряда соединений с антиоксидантными свойствами; аргинин является субстратом NO-синтазы, а лизин – предшественником эндогенного антагониста NMDA-рецепторов -  $\alpha$ -аминоадипината. При ЧИГМ отмечалось увеличение медианного значения L-аргинина на 38% в ТД ( $p < 0,05$ ) и на 46% – в Гп ( $p < 0,05$ ). Рост содержания L-аргинина и цитруллина в обеих изучаемых структурах головного мозга указывает на уменьшение утилизации субстрата для NO-синтазы, что может быть причиной имеющегося незначительного неврологического дефицита из-за недостатка NO – одного из медиаторов центральной нервной системы, опосредующего регуляцию многих процессов, включая высшую нервную деятельность.

Также в ТД отмечено снижение медианного значения содержания метионина на 24% ( $p < 0,05$ ), что может отражать его участие в образовании важнейшего компонента антиоксидантной защиты – глутатиона. При этом наблюдалась тенденция к увеличению медианных значений уровней других серосодержащих АК, в наибольшей степени таурина на 29% – в Гп ( $p > 0,05$ ), без его изменения в ТД, и цистеинсульфиновой кислоты на 52% – в ТД ( $p > 0,05$ ) и на 29% – в Гп ( $p > 0,05$ ), без изменения уровней цистеата и цистатионина, как

отражение низкой активности оксидативных процессов при данном виде церебральной ишемии [2,3].

У крыс с ЧИГМ отмечалось уменьшение медианных значений содержания аминокислот с разветвленной углеводородной цепью (АРУЦ), как АК, включенных в энергетические процессы: валина – на 30% в ТД ( $p < 0,05$ ) и на 37% – в Гп ( $p < 0,05$ ), изолейцина – на 33% в ТД ( $p < 0,05$ ) и на 36% – в Гп ( $p < 0,05$ ) и лейцина – на 30% в ТД ( $p < 0,05$ ) и на 32% – в Гп ( $p < 0,05$ ), что может быть связано с их утилизацией в реакциях трансаминирования.

Наряду с изменениями АРУЦ, в изучаемых отделах головного мозга отмечалась тенденция к снижению уровней ароматических АК (тирозин, триптофан, фенилаланин), что может отражать их утилизацию в реакциях синтеза катехоламинов и серотонина либо снижение транспорта в мозг.

При этом, в обоих изучаемых отделах имелась тенденция к снижению отношения АРУЦ к ароматическим АК с 1,43 до 1,06 ТД ( $p > 0,05$ ) и с 1,56 до 1,13 – в Гп ( $p > 0,05$ ). Наблюдалось уменьшение медианных значений всех незаменимых АК (метионина на 24% – в ТД ( $p < 0,05$ ), валина – на 30% в ТД ( $p < 0,05$ ) и на 37% – в Гп ( $p < 0,05$ ), изолейцина – на 33% в ТД ( $p < 0,05$ ) и на 36% – в Гп ( $p < 0,05$ ) и лейцина – на 30% в ТД ( $p < 0,05$ ) и на 32% – в Гп ( $p < 0,05$ ), а также отмечалась тенденция к снижению лизина на 55% – в ТД и Гп ( $p > 0,05$ ) и треонина – на 32% ( $p > 0,05$ ) в обоих изучаемых отделах головного мозга, что указывает на их возможное включение в метаболические процессы, прежде всего, в качестве альтернативных энергетических субстратов, как результат ингибирования процессов утилизации глюкозы [1]. При этом показатель отношения «Заменимые/Незаменимые» АК в группе ЧИГМ возрос с 10,0 до 17,6 в ТД ( $p > 0,05$ ) и с 8,4 до 16,4 – в Гп ( $p > 0,05$ ), что может являться следствием нарушения утилизации заменимых АК в реакциях синтеза белка наряду с повышенной утилизацией незаменимых АК.

**Вывод.** Итак, для одночасовой ЧИГМ характерны следующие изменения пула АК: рост глутамата и ГАМК без изменения соотношения возбуждающих и тормозных аминокислот-трансммиттеров, снижение уровня незаменимых АК с увеличением коэффициента «Заменимые/Незаменимые» АК, как отражение повышенной утилизации незаменимых АК. Изменения серосодержащих АК отсутствовали, за исключением снижения содержания метионина в теменной доле, что свидетельствует о незначительных нарушениях прооксидантно-оксидантного баланса при данной модели ИГМ. Отмечалось уменьшение содержания аминокислот с разветвленной углеводородной цепью и тенденция к снижению уровня ароматических АК (тирозин, триптофан, фенилаланин), с уменьшением их отношения как отражение более выраженной утилизацией АРУЦ, по сравнению с ароматическими АК. Изменения пула аминокислот в теменной доле и гиппокампе носили аналогичный характер, за исключением более значительного снижения уровня метионина в теменной доле, как отражение более высокой активности оксидативных процессов в данной области головного мозга.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Bon, E. I. Disorders of Energy Metabolism in Neurons of the Cerebral Cortex During Cerebral Ischemia / E. I. Bon, N.E Maksimovich, S.M Karnyushko, S. M Zimatkin, M.A Lychkovskaya // Biomedical Journal of Scientific & Technical Research. – 2021. – V. 40. – P.31932-3193.
2. Бонь, Е.И. Характеристика нарушений прооксидантно-оксидантного баланса у крыс с ишемией головного мозга / Е.И. Бонь, Н.Е. Максимович, И.К. Дремза, М.А. Носович, К.А. Храповицкая // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2022. – № 3.– 97-106.
3. Максимович, Н. Е. Головной мозг крысы и его реакция на ишемию : монография / Н. Е. Максимович, Е. И. Бонь, С. М. Зиматкин. – Гродно : ГрГМУ, 2020. – 240 с.

### **ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ АЛКОГОЛЬНОГО АБСТИНЕНТНОГО СИНДРОМА И ГИПОДИНАМИИ НА ОБМЕН ДОФАМИНА В НЕКОТОРЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС**

**Мамедова А. Е.**

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

**Актуальность.** Проблема злоупотребления алкоголем на сегодняшний день не теряет своей значимости, что вызвано не только формированием зависимости от данного психоактивного вещества, но и широким спектром последствий для организма человека, сопровождающихся необратимыми изменениями во всех внутренних органах [6]. Прекращение приема алкоголя приводит к формированию алкогольного абстинентный синдром (ААС), который проявляется комплексом патобиохимических, психопатологических, вегетативных, неврологических и соматических расстройств, сопровождающихся выраженным влечением к этанолу [5]. Другим патологическим фактором, эффекты которого также затрагивают все системы органов человека, является гиподинамия. Малоподвижный образ жизни – это пассивный образ жизни, при котором физическая активность присутствует в минимальном количестве либо отсутствует полностью [2].

Адаптационные механизмы, индуцируемые ААС и гиподинамией, затрагивают дофаминергическую нейромедиаторную систему, поскольку дофамин занимает особое место как в формировании алкогольной зависимости, так и в регуляции моторной активности [1, 8]. На сегодняшний день в литературных источниках имеется большое количество информации о функционировании дофаминергической системы при монофакторном воздействии ААС или иммобилизации. Однако, в современном мире часто происходит наложение указанных факторов друг на друга. Ввиду отсутствия научных исследований, описывающих состояние дофаминергической системы головного мозга при ААС на фоне гиподинамии, является актуальным изучение

обмена дофамина в гипоталамусе и стриатуме головного мозга крыс при совместном воздействии указанных факторов.

**Цель.** Установить содержание дофамина, его предшественников и метаболитов при ААС на фоне гиподинамии.

**Материалы и методы исследования.** Опыты проводились на беспородных белых крысах самцах массой 180-220 г. Моделирование гиподинамии проводилось путем помещения крыс в индивидуальные клеточки-пеналы, ограничивающие их подвижность, на 14 суток [4]. Контрольная группа животных находилась в общей клетке с обычным двигательным режимом. Для моделирования ААС животным внутрижелудочно вводился 25%-ный раствор этанола 2 раза в сутки в дозе 5 г/кг в течение 5 суток (вечер 9-х суток – утро 14-х суток) с последующей отменой. Животные, находящиеся в контрольной группе и иммобилизованные в течение 14 суток, получали эквивалентное количество физиологического раствора.

Формировались следующие экспериментальные группы: 1-я – контроль, 2-я – гиподинамия 14 суток (ГД 14), 3-я – алкогольный абстинентный синдром (ААС), 4-я – алкогольный абстинентный синдром на фоне гиподинамии 14 суток (ГД 14 + ААС). Декапитацию проводили на 15-е сутки от начала эксперимента. Все манипуляции выполнены в соответствии с Хельсинкской Декларацией о гуманном обращении с животными.

Определение содержания основных метаболитов дофаминергической системы (тирозина, 3,4-диоксифенилаланина (ДОФА), дофамина, 3-метокситирамина (в стриатуме), гомованилиновой кислоты (ГВК), диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК) и норадреналина) в гипоталамусе и стриатуме проводилось с использованием ион-парной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) хлорнокислых экстрактов ткани с детектированием по природной флуоресценции в своей модификации прибором Agilent 1200 [3].

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0 с применением t-критерия Стьюдента для независимых выборок после контроля нормальности распределения с помощью критерия Колмагорова-Смирнова. В случае отклонения распределения от нормального достоверность различий проверяли с помощью теста Краскела-Уоллиса и критерия Манна-Уитни. Для удобства все показатели выражали в виде медианы (Me) и квартилей (25, 75%). Достоверно значимыми различия между группами считали при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Двухнедельная иммобилизация (2-я группа) сопровождалась статистически значимым снижением концентрации триптофана в гипоталамусе и стриатуме головного мозга крыс по сравнению с контролем. Данные изменения могут быть связаны, с одной стороны, с увеличением участия тирозина в других метаболических путях, а с другой – со снижением поступления тирозина в мозг. При гиподинамии содержание свободных аминокислот в плазме крови повышается за счет распада мышечных белков [4]. На этапе прохождения аминокислот через гематоэнцефалический барьер возникает конкуренция за транспортер нейтральных аминокислот между

ароматическими аминокислотами и аминокислотами с разветвленной углеводородной цепью, что может приводить к снижению поступления тирозина в мозг [7].

ААС (3-я группа) сопровождается повышением уровня ГВК в стриатуме, что в определенной степени указывает на усиление выброса дофамина в синаптическую щель с последующей деградацией.

Комбинированное воздействие ААС и гиподинамии (4-я группа) приводит к снижению концентрации тирозина в гипоталамусе по сравнению с контролем, 2-й и 3-й группами. В стриатуме уровень тирозина также ниже контрольных значений и при этом меньше, чем в 3-й группе. Кроме того, в стриатуме содержание 3-метокситирамина снижено по сравнению с контролем, 2-й и 3-й группами. Содержание другого метаболита дофамина – ГВК – напротив, выше, чем в контрольной группе. Концентрация ДОФУК при этом ниже, чем в 3-й группе, а норадреналина статистически значимо выше, чем в контрольной и 3-й группах. Снижение уровня 3-метокситирамина на фоне повышения содержания ГВК может указывать на усиление метилирования внеклеточного ДОФУК.

**Выводы.** При гиподинамии в течение 14 суток наблюдается снижение концентрации тирозина в гипоталамусе и стриатуме головного мозга крыс. Алкогольный абстинентный синдром приводит к повышению содержания ГВК в стриатуме. При комбинированном воздействии данных факторов происходит снижение уровня тирозина в гипоталамусе. В стриатуме при этом наблюдается уменьшение концентрации тирозина и 3-метокситирамина на фоне повышения содержания ГВК и норадреналина.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Анохина, И. П. Новый взгляд на роль дофамина в механизмах формирования алкогольной зависимости / И. П. Анохина // Вопросы наркологии. – 2021. – №6 (201). – С. 17-27.

2. Боровская, А. С. Здоровый образ жизни как альтернатива гиподинамии / А. С. Боровская, Е. В. Родионова, А. А. Сидорова // Историческая и социально-образовательная мысль. – 2022. – Т. 14. – №6. – С. 56-65.

3. 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.

4. Коваленко Е. А., Гусовский Н. Н. Гипокинезия. – М.: Медицина, 1990. – 319 с.

5. Косарев, А. Н. Десинхронизирующие эффекты лекарственных средств, применяемых для медикаментозной седации при осложненном абстинентном алкогольном синдроме / А. Н. Косарев, О. Н. Рагозин // Вопросы наркологии. – 2014. – №3. – С. 29-36.

6. Сахаров, А. В. динамика некоторых показателей эндотелиальной дисфункции и нейромаркеров у больных алкогольной зависимостью при

синдроме отмены алкоголя, неосложненном и осложненном делирием / А. В. Сахаров, С. Е. Голыгина, П. П. Терешков // Вопросы наркологии. – 2017. – №10. – С. 53-63.

7. Шейбак, В. М. Обмен свободных аминокислот и КоА при алкогольной интоксикации / В. М. Шейбак. – Гродно: ГрГМУ, 1998. – 153с.

8. Liegro, C. M. D. Physical activity and brain health / C. M. D. Liegro, G. Schiera, P. Proia, I. D. Liegro // Genes (Basel). – 2019. – Vol. 9. – №10. – P. 1-40.

## **ОБМЕН СЕРОТОНИНА В НЕКОТОРЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ АЛКОГОЛЬНОГО АБСТИНЕНТНОГО СИНДРОМА И ГИПОДИНАМИИ**

**Мамедова А. Е.**

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

**Актуальность.** Зависимость от этанола является заболеванием мозга, сходным по своему течению с другими хроническими болезнями [1]. Прекращение поступления в организм алкоголя после длительного приема приводит к развитию алкогольного абстинентного синдрома (ААС), который сопровождается целым рядом метаболических изменений, в том числе со стороны серотонинергической нейромедиаторной системы.

Несмотря на то, что гиподинамия не является болезнью, она представляет собой фактор, приводящий к изменению скорости метаболических процессов, заболеваниям сердечно-сосудистой, опорно-двигательной и дыхательной систем, а также вызывает адаптационные перестройки в ЦНС [2]. Потребность человека в движении – это естественная потребность, такая же, как потребность в еде, пище и сне. Важную роль в управлении моторной активностью занимает серотонинергическая нейромедиаторная система, в основном за счет регуляции выброса дофамина [4].

Состояние серотонинергической системы при ААС или гиподинамией достаточно хорошо изучены. Однако, исследования комплексного воздействия данных факторов на обмен серотонина в мозге в литературе отсутствуют. В связи с этим актуальным является изучение сочетанного воздействия ААС и гиподинамией на серотонинергическую нейромедиаторную систему головного мозга крыс.

**Цель.** Изучить содержание основных метаболитов серотонинергической системы коры больших полушарий, среднего мозга и стриатума головного мозга крыс при алкогольном абстинентном синдроме на фоне гиподинамии.

**Материалы и методы исследования.** Опыты проводились на беспородных белых крысах самцах массой 180-220 г. Моделирование гиподинамии проводилось путем помещения крыс в индивидуальные клетка-пеналы, ограничивающие их подвижность, на 14 суток [3]. Для моделирования ААС животным в/ж вводился 25%-ный раствор этанола 2 раза в сутки в дозе 5 г/кг в течение 5 суток (вечер 9-х суток – утро 14-х суток) с последующей

отменой. Животные, находящиеся в контрольной группе и иммобилизованные в течение 14 суток, получали эквивалентное количество физиологического раствора.

Формировались следующие экспериментальные группы: 1-я – контроль, 2-я – гиподинамия 14 суток (ГД 14), 3-я – ААС, 4-я – ААС на фоне гиподинамии 14 суток (ГД 14 + ААС). Декапитацию проводили на 15-е сутки от начала эксперимента. Все манипуляции выполнены в соответствии с Хельсинкской Декларацией о гуманном обращении с животными.

Определение содержания основных метаболитов серотонинергической системы (триптофана, 5-гидрокситриптофана, серотонина и 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК)) в коре больших полушарий, среднем мозге и стриатуме головного мозга крыс проводилось с использованием ион-парной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием прибора Agilent 1200.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0 с применением t-критерия Стьюдента для независимых выборок после контроля нормальности распределения с помощью критерия Колмагорова-Смирнова. В случае отклонения распределения от нормального достоверность различий проверяли с помощью теста Краскела-Уоллиса и критерия Манна-Уитни. Для удобства все показатели выражали в виде медианы (Me) и квартилей (25, 75%). Достоверно значимыми различия между группами считали при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Иммобилизация крыс в течение 14 суток (2-я группа) вызвала статистически значимое снижение концентрации триптофана по сравнению с контролем в коре больших полушарий, среднем мозге и мозжечке (таблица). Это может быть связано с нарушением поступления тирозина в мозг, так как наблюдающийся при гиподинамии распад белка повышает уровень свободных аминокислот в крови и приводит к конкуренции последних на этапе транспорта в головной мозг. Алкогольный абстинентный синдром (3-я группа) не приводил к значимым изменениям ни в одном из исследованных отделов головного мозга крыс.

Комбинированное воздействие ААС и гиподинамии (4-я группа) приводило к наиболее выраженным изменениям в коре больших полушарий головного мозга крыс, где наблюдалось достоверное снижение содержания триптофана, 5-гидрокситриптофана и 5-ОИУК по сравнению с контролем, а также триптофана и 5-гидрокситриптофана по сравнению с 4-й группой. Данные изменения могут указывать на снижение активности серотонинергической нейромедиаторной системы в коре больших полушарий головного мозга крыс при ААС на фоне гиподинамии. В среднем мозге отмечается снижение уровня триптофана по сравнению с контролем и 3-й группой, а также 5-гидрокситриптофана по отношению к 3-й группе. При этом в стриатуме уровень триптофана ниже, чем в контрольной и 3-й группах.

Таблица – Содержание метаболитов серотонинергической системы в коре больших полушарий, среднем мозге и стриатуме крыс (нмоль/г) при алкогольном абстинентном синдроме и гиподинамии (медиана, 1-я и 3-я квартили)

Показатель	1 группа (контроль)	2 группа (ГД14)	3 группа (ААС)	4 группа (ГД14+ААС)
<b>Кора больших полушарий</b>				
Триптофан	50,08 (48,70; 51,52)	<b>41,44 *</b> <b>(37,35; 45,67)</b>	48,71 (43,81; 52,48)	<b>42,21 * ■</b> <b>(39,40; 45,00)</b>
5-гидрокси-триптофан	0,24 (0,20; 0,29)	0,19 (0,13; 0,22)	0,27 (0,25; 0,30)	<b>0,18 *■</b> <b>(0,16; 0,20)</b>
Серотонин	6,49 (5,87; 7,40)	6,88 (6,30; 8,26)	6,20 (5,49; 7,46)	6,20 (5,06; 7,51)
5-ОИУК	3,92 (3,46; 5,06)	3,82 (2,48; 4,51)	2,98 (2,60; 4,39)	<b>2,86 *</b> <b>(2,11; 3,19)</b>
<b>Средний мозг</b>				
Триптофан	44,66 (42,36; 50,14)	<b>36,89 *</b> <b>(31,97; 37,94)</b>	44,40 (38,39; 46,94)	<b>36,21 * ■</b> <b>(34,55; 38,72)</b>
5-гидрокси-триптофан	0,35 (0,28; 0,50)	0,26 (0,21; 0,39)	0,44 (0,28; 0,57)	0,31 ■ (0,28; 0,34)
Серотонин	12,92 (11,89; 13,82)	13,75 (10,87; 14,84)	13,96 (12,43; 14,95)	13,30 (11,41; 14,90)
5-ОИУК	10,21 (9,63; 10,83)	9,52 (9,06; 10,72)	9,88 (9,67; 11,06)	10,43 (9,02; 11,06)
<b>Стриатум</b>				
Триптофан	53,72 (49,34; 58,03)	<b>43,68 *</b> <b>(36,34; 45,54)</b>	51,54 (48,75; 60,61)	<b>43,45 * ■</b> <b>(41,29; 48,50)</b>
5-гидрокси-триптофан	0,11 (0,09; 0,12)	0,09 (0,05; 0,14)	0,14 (0,12; 0,16)	0,13 (0,08; 0,14)
Серотонин	5,90 (4,57; 6,95)	5,28 (5,13; 6,87)	6,09 (5,62; 8,63)	6,35 (5,59; 7,12)
5-ОИУК	3,92 (3,40; 5,23)	3,57 (3,10; 4,35 )	4,21 (3,80; 5,61)	3,89 (3,43; 5,00)

Примечание:

\*- статистически значимые изменения по сравнению с контролем

Δ- статистически значимые изменения по сравнению со 2-й группой

■- статистически значимые изменения по сравнению со 3-й группой

**Выводы.** Гиподинамия сроком 14 суток вызывает статистически значимое снижение концентрации триптофана в коре больших полушарий, среднем мозге и мозжечке головного мозга крыс. При этом алкогольный абстинентный синдром не приводит к достоверным изменениям ни в одном из описываемых отделов мозга. Комбинированное воздействие ААС и гиподинамии сопровождается падением уровня триптофана в коре больших

полушарий, среднем мозге и мозжечке, а также к уменьшению содержания 5-гидрокситриптофана и 5-ОИУК к коре больших полушарий.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Анохина, И. П. Основные биологические механизмы болезней зависимости от психоактивных веществ / И. П. Анохина // Вопросы наркологии. – 2017. – №2-3. – С. 15-41.
2. Паршин, П. А. Метаболический статус белых крыс при гипокинезии и его фармакокоррекция аминоселетоном / П. А. Паршин, Г. А. Востроилова, Н. А. Хохлова, Ю. А. Чаплыгина // Ветеринарная патология. – 2019. – №4. – С. 49-54.
3. Федоров, И. В. Проблемы космической биологии. Обмен веществ при гиподинамии. – М.: Наука, 1982. – Т. 44. – 254 с.
4. Хайдарлиу, С. Х. Нейромедиаторные механизмы адаптации. – Кишнев : «Штиинца», 1989. – 180 с.

### СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА МОЗЖЕЧКА ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ И ГИПОДИНАМИИ

Мамедова А. Е., Лелевич В. В., Шулика В. Р., Курбат М. Н.  
*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,  
г. Гродно, Республика Беларусь*

**Актуальность.** Алкоголизм представляет собой одну из наиболее серьезных проблем клинической медицины, которая во всем мире на протяжении многих лет не теряет своей актуальности. Адаптационные перестройки метаболизма под действием хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) затрагивают целый ряд органов и систем, но в первую очередь длительный прием алкоголя приводит к нарушению работы нейромедиаторных систем, что лежит в основе развития синдрома зависимости [1]. Роль серотонина в качестве медиатора, влияющего на потребление алкоголя, в первую очередь обусловлена его модулирующими эффектами, влияющими на выработку дофамина в мезолимбической системе [5].

Серотонинергическая система контролирует формирование двигательных актов, а также является основной нейромедиаторной системой, контролирующей агрессивное поведение и выраженность тревожных проявлений на фоне меняющихся условий внешней среды [2]. Гиподинамия является стрессорным фактором и, также как алкогольная интоксикация, приводит к развитию метаболической адаптации. На фоне иммобилизации уже через сутки в тканях мозга происходит повышение концентрации серотонина на 49%, а через 7 суток – на 63%, что говорит об активации серотонинергической системы [3].

На сегодняшний день влияние ХАИ или гиподинамии на серотонинергическую систему хорошо изучено и продолжает изучаться.

Однако, в научной литературе отсутствуют данные о влиянии комбинированного воздействия указанных факторов на метаболизм серотонина в головном мозге. В связи с этим, актуальным является изучение обмена серотонина в мозжечке головного мозга крыс при ХАИ на фоне гиподинамии.

**Цель.** Изучить особенности метаболизма серотонина в головном мозге крыс при сочетанном воздействии ХАИ и гиподинамии.

**Материалы и методы исследования.** Опыты проводились на беспородных белых крысах самцах массой 180-220 г. Моделирование гиподинамии проводилось путем помещения крыс в индивидуальные клеточки-пеналы, ограничивающие их подвижность, на 14 и 28 суток [4]. Контрольная группа животных находилась в общей клетке с обычным двигательным режимом. При моделировании хронической алкогольной интоксикации животным предоставлялся раствор этанола в качестве единственного источника жидкости в течение 14 и 28 суток. В течение первой недели использовался 10%-й раствор этанола, в течение второй недели – 15%-й, в течение третьей недели и далее – 20%-й раствор. Средняя степень алкоголизации в группах с ХАИ (4-я и 5-я группы) составила 8,4-9,2 г/кг массы тела, а в группах с комплексным воздействием ХАИ и ГД (6-я и 7-я группы) – 10,2-11,3 г/кг.

Определение концентрации основных метаболитов серотонинергической системы (триптофана, 5-гидрокситриптофана, серотонина и 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК)) в мозжечке головного мозга крыс проводилось с использованием ион-парной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием прибора Agilent 1200. Количественное определение уровня кортизола в плазме крови крыс проводилось с помощью набора для иммуноферментного анализа Cortisol ELISA Kit cat. № EU0391. Принцип данного набора основан на фермент-связанной иммуносорбентной сэндвич-технологии исследования.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0 с применением t-критерия Стьюдента для независимых выборок после контроля нормальности распределения с помощью критерия Колмагорова-Смирнова. В случае отклонения распределения от нормального достоверность различий проверяли с помощью теста Краскела-Уоллиса и критерия Манна-Уитни. Для удобства все показатели выражали в виде медианы (Me) и квартилей (25, 75%). Достоверно значимыми различия между группами считали при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Гиподинамия сроком 14 суток (2-я группа) сопровождалась статистически значимым снижением концентрации триптофана в мозжечке крыс. Данные изменения могут быть связаны с замедлением транспорта триптофана через гематоэнцефалический барьер, поскольку гиподинамия сопровождается усилением катаболизма белков, что приводит к повышению уровня свободных аминокислот в плазме крови с последующей конкуренцией между ними за связывание с транспортером. Увеличение срока иммобилизации до 28 суток (3-я группа) приводит к уменьшению уровня 5-гидрокситриптофана по сравнению со 2-й группой (табл.).

Двухнедельная алкогольная интоксикация (4-я группа) не сопровождается статистически значимыми изменениями содержания серотонина, его предшественников и метаболита. При хронической алкоголизации в течение 28 суток (5-я группа) наблюдается снижение концентрации 5-гидрокситриптофана и 5-ОИУК по отношению к 4-й группе (табл.).

Комбинированное воздействие ХАИ и гиподинамии в течение 14 суток (6-я группа) приводило к уменьшению уровня триптофана и 5-ОИУК в мозжечке крыс по сравнению с контролем, что является признаком снижения активности серотонинергической системы (табл.). Кроме того, содержание триптофана ниже, чем во 2-й и 4-й группах. При увеличении срока сочетанного воздействия до 28 суток (7-я группа) концентрации триптофана и 5-ОИУК оставались ниже контрольных значений и снижены по сравнению с 5-й группой (табл.). Кроме того, во всех экспериментальных группах животных уровень кортизола в плазме крови оставался в рамках контрольных значений.

Таблица - Содержание компонентов серотонинергической системы (нмоль/г) в мозжечке крыс при ХАИ и гиподинамии (медиана, 1-й и 3-й квартили)

Показатель	1 группа (контроль)	2 группа (ГД14)	3 группа (ГД28)	4 группа (ХАИ-14)	5 группа (ХАИ-28)	6 группа (ГД+ХАИ-14)	7 группа (ГД+ХАИ-28)
Триптофан	56,11 (45,99; 60,25)	<b>44,99*</b> <b>(42,16; 49,63)</b>	48,41 (38,79; 54,34)	58,79 (56,24; 68,64)	65,79 (45,24; 69,73)	<b>38,61* ° •</b> <b>(35,44; 41,01)</b>	<b>39,24 * ■</b> <b>(34,07; 43,01)</b>
5-гидрокситриптофан	0,08 (0,04; 0,10)	0,08 (0,05; 0,11)	0,04 ° (0,03; 0,05)	0,10 (0,07; 0,14)	0,04 • (0,03; 0,07)	0,08 (0,07; 0,09)	0,04 (0,02; 0,07)
Серотонин	1,14 (0,96; 1,23)	0,97 (0,76; 1,08)	1,17 (0,90; 1,32)	1,51 (1,02; 1,65)	1,00 (0,79; 1,16)	0,93 (0,64; 1,10)	1,05 (0,98; 1,27)
5-ОИУК	0,88 (0,51; 0,95)	0,61 (0,53; 0,68)	0,62 (0,51; 0,82)	0,56 (0,50; 0,72)	0,79 • (0,53; 1,04)	<b>0,51 *</b> <b>(0,45; 0,55)</b>	<b>0,39 * ■</b> <b>(0,32; 0,68)</b>

**Выводы.** Иммобилизация в течение 2 недель приводит к снижению уровня триптофана в мозжечке крыс. Гиподинамия сроком 28 суток, а также алкоголизация сроком 14 и 28 дней не сопровождаются статистически значимыми изменениями уровня основных метаболитов серотонинергической системы. Комплексное воздействие хронической алкогольной интоксикации и гиподинамии в течение 14 и 28 суток вызывает снижение концентрации триптофана и 5-ОИУК в мозжечке крыс.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Анохина, И. П. Основные биологические механизмы болезней зависимости от психоактивных веществ / И. П. Анохина // Вопросы наркологии. – 2017. – №2-3. – С. 15-41.

2. Бохан Н. А., Иванова С. А., Левчук Л. А. Серотониновая система в модуляции депрессивного и аддиктивного поведения. – Томск: Изд-вр «Иван Федоров», 2013. – 102 с.

3. Камскова, Ю. Г. Влияние долговременной гипокинезии на физиологические механизмы стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем: автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 03.03.01 ; 03.00.04 / Ю. Г. Камскова ; Тюмен. Гос. Ун-т. – Тюмень, 2004. – 43 с.

4. Коваленко, Е. А. Гипокинезия / Е. А. Коваленко, Н. Н Гусовский. – М.: Медицина, 1990. – 319 с.

5. Копытов, А. В. Фармакотерапия алкогольной зависимости с учетом клинико-генетических особенностей серотониновой нейромедиаторной системы / А. В. Копытов // Медицинский журнал. – 2015. – №4. – С. 70-76.

## **СОДЕРЖАНИЕ КОФЕРМЕНТА А В КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ – БИОМАРКЕР ДЕФИЦИТА ВИТАМИННОГО ПРЕДШЕСТВЕННИКА И НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНОЙ ПАТОЛОГИИ**

**Мойсеёнок А.Г., Омелянчик С.Н., Катковская И.Н.**

*ГП «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси», г. Гродно, Республика Беларусь*

В текущем году исполняется 75 лет выдающего события в биохимии – идентификации кофермента ацетилирования (КоА, кофермента А) кофактора многочисленных реакций активирования и переноса ацильных групп, основной метаболически активной формы пантотеновой кислоты (ПК, витамин В5, по некоторым данным В3), универсально распространенной в биологических системах. Это открытие Ф. Липмана, удостоенное Нобелевской премии, послужило основанием разработки метода определения КоА, основанного на реакции N-ацетилирования ариламинов [10, 15], в т. ч. в крови человека. Полученные результаты свидетельствовали о присутствии кофермента в кровообращении человека в количестве 3-4 единиц (соответствующих двум γПК) на 1 мл упакованных эритроцитов и внушали определенный оптимизм в применении данного анализа в клинической биохимии, в частности, для выявления В5-дефицитных состояний [15].

Это направление исследований не получило дальнейшего развития в связи с трудно выполняемой (громоздкой) процедурой предложенного метода анализа КоА по реакции ацетилирования с сульфониламидом с использованием реакций деазотирования ацетилируемого продукта реакции и недостаточной чувствительности метода [10], а также формированием концепции о малой вероятности развития недостаточности (дефицита) витамина В5 в организме человека по причине распространенного присутствия ПК в продуктах питания и частичного поступления из биоценоза кишечника. В5-витаминный статус при различных физиологических и патологических состояниях организма оценивался по содержанию ПК в сыворотке (и плазме) крови, цельной крови и моче.

До 1970-х годов биохимическое сообщество придерживалось постулата о КоА как единственной биологически активной форме пантотеновой кислоты, однако открытие 4'-фосфопантетеина, как фрагмента ацил-переносящего белка синтеза жирных кислот и комплексов синтеза антибиотиков – стало новой вехой в понимании биологических функций витамина В5, что, наряду с детализацией процесса биосинтеза КоА, открыло новые возможности получения витаминных и фармакотерапевтических препаратов на основе ПК (различные формы D-пантотенатов, D-пантенол, КоА-содержащие препараты, D-пантетин и др. Важным дополнением универсальных реакций и распространения системы КоА явилась идентификация S-сульфопроизводных пантетина (предшественника КоА) и их роли в физиологии бифидобактерий.

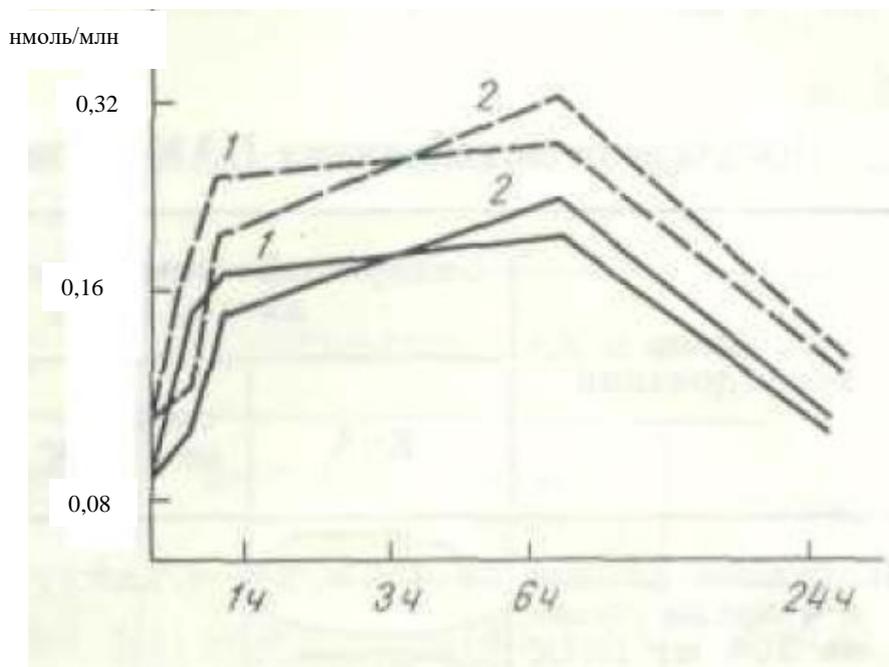
Настоятельная необходимость в разработке доступного широкому кругу исследователей метода анализа КоА была нами разрешена посредством использования п-аминобензальдегида – реагента для количественного определения сульфаниламидов и их ацетилированных форм. Предполагалось, что этот вариант с прямой спектрофотометрией неацетилированного субстрата (сульфаниламид, ПАБК) может быть универсальным подходом к изучению процессов ацетилирования [5]. Благодаря сотрудничеству с лабораторией гетероциклических соединений НПО «Витамины» (г. Москва) в тест-системе ацетилирования ПАБК с полу-очищенными ферментами ацетил-КоА-синтетазой и N-ацетилтрансферазой было установлено, что наряду с КоА, реакция катализируется 4'-фосфопантетеином [5], и, как было продемонстрировано в ранних исследованиях – дефосфо-КоА. Следовательно, «кофермент ацетилирования» представляется полиморфным показателем, отражающим суммарную активность 3-х метаболитов ПК, способных к образованию и N-ацетилированию субстрата ариламина. Аналогичное участие предшественников биосинтеза КоА выявлено в реакции, катализируемой холинацетилтрансферазой.

Нацеленность витаминологических исследований в нашей стране на проблему алкоголизма и злоупотребления алкоголем с начала 80-х годов и проведение Всесоюзного симпозиума «Биохимия алкоголизма» в конце 1980 г. мотивировали изучение В5 (В3)-витаминного дефицита при алкогольной патологии. В рамках координированной научной программы на базе кафедр психиатрии Гродненского и Иркутского медицинских институтов были внедрены методы анализа КоА в лейкоцитах (по N-ацетилирующей активности), сочетанные с микробиоанализом экскретируемых форм ПК. По результатам комплексных исследований была выявлена глубокая степень дефицита ПК у пациентов с алкогольным абстинентным синдромом и алкогольным делирием [4, 7].

Предварительные исследования на группе здоровых добровольцев показали, что метод анализа КоА в лейкоцитах динамически отражает поступление пантотената в кровообращение как при парентеральном, так при энтеральном назначении фармакотерапевтической дозы (рис. 1) [7].

Представленный рисунок 1 демонстрирует динамику показателя КоА на протяжении 24 ч наблюдений у здоровых лиц с максимумом увеличения

показателя к 6 ч после назначения препарата ПК. Обращает на себя внимание исходная величина содержания КоА в лейкоцитах здоровых лиц. Она составляет 0,09-0,11 нмоль/млн и не была определена как предварительная величина по причине полиморфизма коферментной активности (см. выше).

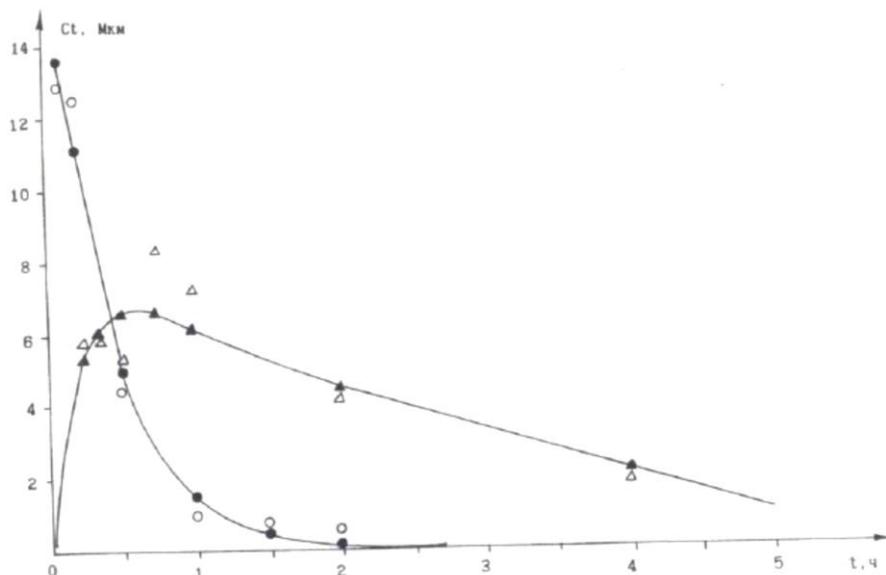


**Рисунок 1 - Изменение активности КоА (сплошная линия) и суммарного содержания ПК (пунктирная линия) в лейкоцитах доноров в различные сроки после внутримышечного (1) или перорального (2) введения 200 мг пантотената**

Лейкоциты (концентрированная взвесь белых клеток крови в растворе декстрана) были ранее использованы в нашей лаборатории для определения активности ферментов пентозофосфатного цикла (транскетолаза), дегидрогеназ 2-оксокислот, что предполагало функционирование КоА-зависимой реакции трансацетилирования или транссукцинирования [5]. Кроме того известно, что лейкоциты, обладающие митохондриями, наряду с гликолизом осуществляют  $\beta$ -окисление жирных кислот для энергообеспечения. Разумеется, речь идет об основном компоненте лейкоцитов периферической крови, составляющем фракцию нейтрофилов. Исходя из физиологического количества лейкоцитов в пределах  $4 \times 10^9 - 1,1 \times 10^{10}/л$  стандартная процедура предполагала выделение 1-5 млн лейкоцитарных клеток из 5 мл стабилизированной крови с последующим подсчетом в камере Горяева. Взвесь лейкоцитов после кипячения использовалась в аналитической процедуре, поскольку субстанция КоА является термостабильной [10, 15]. Метод исследования КоА в лейкоцитах был признан приоритетным [9].

Естественно, предложенный способ анализа КоА был использован в фармакокинетических исследованиях [11], наряду с  $^3H$ -КоА, синтезированным в НПО «Витамины». В этих исследованиях была изучена дисульфидная форма

КоА (т.е. КоА-S-S-КоА), получаемая биотехнологическим способом с использованием эффективного синтезатора *Brevibacterium ammoniagenes*. Судя по данным биораспределения в кровообращении подопытных животных, субстанция КоА чрезвычайно быстро гидролизуется, и возможность её количественного анализа в плазме крови не реальна (рис. 2). В последствии было установлено присутствие в крови высокоактивных ферментов гидролиза КоА.



**Рисунок 2 - Динамика концентраций радиоактивного материала в сыворотке крови мышей после внутривенного или подкожного введения  $^3\text{H}$ -КоА (15 мг/кг; 0,48 мкМ/животное)**

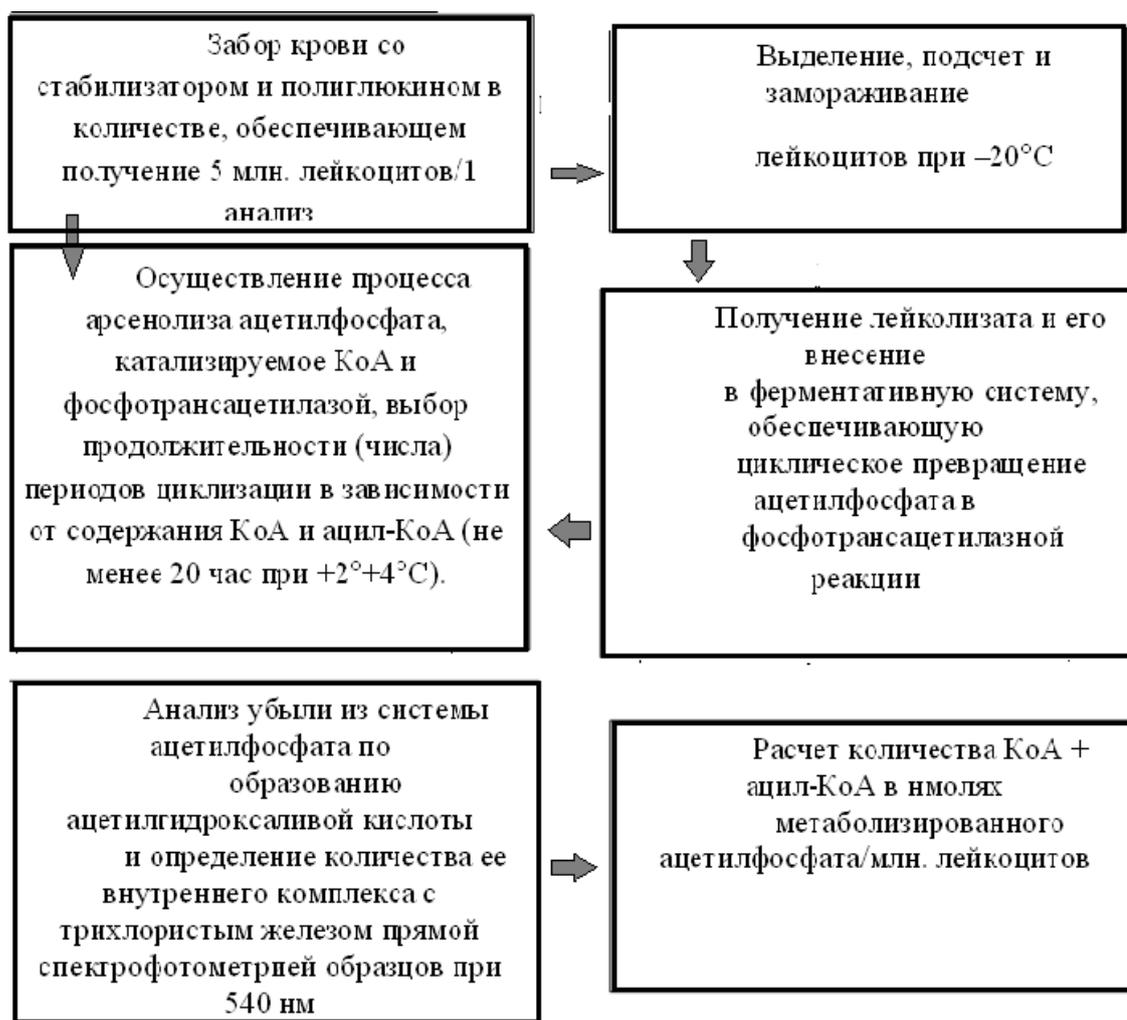
**Примечания:** ●, ▲ – теоретические значения; ○, △ – данные эксперимента

Несмотря на очевидный прогресс с исследованием предшественников биосинтеза КоА в качестве лекарственных препаратов задачи биохимических экспериментов и поиска биомаркера дефицита ПК диктовали необходимость высокоспецифичного исследования КоА, с учетом его природы как «кофермента ацилирования» [5].

Еще в 1951 г был предложен циклический метод на основе фосфотрансацетилазной реакции, позволяющий по убыли ацетилфосфата контролировать количество КоА и ацетил-КоА [19]. Модификация данного метода с вариантом отдельного определения свободного КоА и короткоцепочечных ацил-КоА позволила проводить высокоспецифичное исследование КоА в биологических тканях [17]. В 1984 г. нами был осуществлен сопоставительный анализ ферментативных методов в количественном определении кофермента ацелирования и адаптирована реакция арсенолиза ацетилфосфата, катализируемая фосфотрансацетилазой для исследования КоА в лейкоцитах [6].

Метод определения КоА в лейкоцитах был рекомендован для мониторинговых исследований в проблемной комиссии АМН СССР «Проблемы витаминологии» для клинической витаминологии и осуществлялся

стандартной процедурой с использованием 6% раствора декстрана (рис. 3) [6, 9].



**Рисунок 3 - Схема тест-системы определения уровня CoA + ацил-CoA (фосфотрансацетилазореагирующие ацил-CoA) в лейкоцитах периферической крови человека**

Указанный метод был применен в исследовании N-ацетилтрансферазных реакций у 74 лиц с различными формами туберкулеза в зависимости от потребления алкоголя и назначении пантотенотерапии. Установлено низкое содержание КоА и активности N-ацетилтрансферазы в лейкоцитах пациентов и положительная динамика показателей при курсовом назначении инъекционной формы пантотената Са (400 мг внутримышечно в течение 10 дней). Выявленные значения КоА у пациентов находились в пределах  $0,036-0,052 \text{ нМ} \times 10^{-6}$  лейкоцитов и возрастали в процессе комплексной терапии с пантотенатом Са до  $0,075-0,086 \text{ нМ} \times 10^{-6}$  лейкоцитов [2].

Обнаружение генетически детерминированных форм нейродегенеративных синдромов, обусловленных дефектом ферментов биосинтеза КоА, актуализировало поиск биомаркеров КоА-дефицитных состояний в клинике, хотя прямые исследования уровня кофермента в

изолированных фибробластах пациентов не обнаружили его дефицита [14]. Предприняты попытки исследования ключевого фермента биосинтеза КоА – пантотенаткиназы в эритроцитах [18], что может быть ценным биомаркером с учетом КоА-синтезирующей активности красных клеток крови [1] и развития нейроакантоцитоза при врожденной патологии с дефектом пантотенаткиназы [14].

На базе клиники невропатологии Гродненского государственного медицинского университета нами были проведены предварительные исследования возможности использования в качестве биомаркера лейкоцитарного КоА, результаты которых были доложены в 2013 г на международном симпозиуме «Биологические функции пантотеновой кислоты. Пантотеновая кислота и мозг» [8]. В таблице представлены основные результаты исследований, свидетельствующие о возможности ферментативного исследования КоА в лейкоцитах в неврологической практике и открывает возможность использования этого биомаркера в качестве этиопатогенетического теста при нейродегенеративной патологии.

Таблица 1 - Содержание КоА и КоА-реагирующих ацил-КоА (суммарный показатель) в лейкоцитах контрольных лиц и пациентов с нейродегенеративной патологией, нмоль×10<sup>-6</sup> клеток [8]

№ п/п	Группа исследованных лиц	Число	Показатель	P
1	Рассеянный склероз	6	0,095±0,008	>0,05
2	Болезнь Альцгеймера, Паркинсона, деменция сочетанного генеза	10	0,061±0,009	<0,05
3	Сосудистая деменция с депрессивными расстройствами	12	0,076±0,006	<0,05
4	Группа здоровых лиц	22	0,106±0,008	–

Исследования последних лет, проведенные на посмертном материале пациентов с болезнью Хантингтона, Альцгеймера и других нейродегенеративных заболеваний с использованием метода метаболомики, включающем исследование ПК в нейроструктурах, выявили глубокий дефицит пантотеновой кислоты (витамина В5), ассоциированного с нарушением нейрофибрилл, цитоархитектоники нейронов, системы КоА и процессом демиелинизации [16, 20]. Возникает настоятельная необходимость совершенствования исследования системы КоА в экспериментальной и клинической неврологии. Безусловно, необходимо ориентироваться на методы, основанные на разделении КоА и ацил-КоА высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ). Такой метод уже апробирован, но, к сожалению, для исследования содержания КоА и ацетил-КоА в плазме крови лабораторных животных [13]. Полученные результаты уровня КоА (~9 нМ) и ацетил-КоА

(~0,3 нМ) вызывают сомнение, поскольку гидролиз кофермента в кровообращении протекает чрезвычайно быстро (см. рис. 2). Наиболее перспективным представляется исследование форменных элементов крови, выделенных с применением флотирующих агентов (декстран, фикоил и др.), в особенности, если будет исследоваться фракция Т-лимфоцитов с учетом аутоиммунного компонента нейродегенеративной патологии. Роль системы КоА как этиопатогенетического фактора нейродегенеративных болезней очевидна [12, 14], в особенности в связи с установлением КоА-зависимых механизмов антиоксидантной защиты нейронов и стабилизации нейронального редокс-статуса [3].

В связи с актуализацией исследования КоА, как биомаркера дефицита витамина В5, развития и прогноза нейродегенеративной патологии проведен ретроспективный анализ исследования КоА в лейкоцитах с использованием N-ацетилтрансферазной или фосфотрансацетилазной реакции. Продемонстрирована недостаточность пантотеновой кислоты и ее коферментной формы у пациентов при алкогольной патологии и туберкулезе, а так же возможность использования биомаркеров в контроле эффективности пантотенотерапии и в фармакокинетических исследованиях. Указывается на необходимость исследования уровня КоА современными методами (ВЭЖХ и др.) в форменных элементах крови, в частности, во фракциях лейкоцитов и дальнейшего изучения метаболизма кофермента в эритроцитах.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Биотрансформация пантотената в эритроцитах крови человека / В. А. Гуринович [и др.] // Пантенол и другие производные пантотеновой кислоты : биохимия, фармакология и медицинское применение : мат. междунар. симп. НАН Беларуси / Институт биохимии ; под ред. А. Г. Мойсеёнка – Гродно, 1998. – С. 48–56.
2. Динамика N-ацетилтрансферазных реакций у больных туберкулезом в зависимости от потребления алкоголя и пантотенотерапии / А. Г. Мойсеёнок [и др.] // Здоровоохранение Белоруссии. – 1991. – № 3. – С. 8–12.
3. Кофермент А – модулирующий компонент развития окислительного и метаболического стресса в структурах ЦНС / А. Г. Мойсеёнок [и др.] // Кислород и свободные радикалы : сб. мат. науч.-практич. конф. с междунар. участием, 26-27 мая 2022 г. / под ред. проф. В. В. Зинчука. – Гродно: ГрГМУ. – 2022. – С. 116–118.
4. Мойсеёнок, А. Г. Биотрансформация пантотеновой кислоты в условиях витаминной недостаточности у человека / А. Г. Мойсеёнок, Е. А. Цвербаум, М. А. Рыбалко // Вопросы мед. химии. – 1981. – Т. 27, № 6. – С. 780–784.
5. Мойсеёнок, А. Г. Пантотеновая кислота / А. Г. Мойсеёнок // Экспериментальная витаминология : справочное руководство / под ред. Ю. М. Островского. – Минск, Наука и техника, 1979. – Гл. VII. – С. 267–320.
6. Мойсеёнок, А. Г. Ферментативные методы в количественном определении кофермента ацетилирования / А. Г. Мойсеёнок, С. Н. Омелянчик

// Ферменты в биохимических анализах : тез. сообщ. всесоюзной конф. по применению ферментов в биохим. анализах. – Вильнюс, 1984. – Ч. 1. – С. 107–111.

7. Мойсеёнок, А. Г. Особенности биотрансформации препаратов пантотеновой кислоты у больных хроническим алкоголизмом / А. Г. Мойсеёнок, Е. А. Цвербаум, М. А. Рыбалко // Химико-фарм. журнал. – 1981. – № 11. – С. 24–28.

8. Омелянчик, С. Н. Исследование системы биосинтеза CoA в лейкоцитах при заболеваниях нервной системы / С. Н. Омелянчик, Я. Я. Гордеев, А. Г. Мойсеёнок // Биологические функции пантотеновой кислоты. Пантотеновая кислота и мозг. Новые возможности метаболической и диетической терапии : материалы междунар. симпозиума, Гродно, 28 июня 2013 г. / под ред. А. Г. Мойсеёнка. – Гродно, 2013. – С. 54–56.

9. Способ количественного определения коэнзима А в лейкоцитах: а.с. 1040412 СССР, G 01 N 31/48 / А. Г. Мойсеёнок, М. А. Рыбалко, Е. А. Цвербаум, В. И. Петров. – № 2662824; – опубл. 10.05.83.

10. Сытинская, О. Н. Модификация метода определения сульфаниламидов в приложении к исследованию содержания КоА и ацетилирующей способности тканей / О. Н. Сытинская // Вопросы мед. химии. – 1956. – Т. II, вып.3. – С.214–221.

11. Фармакокинетика и биотрансформация <sup>3</sup>H-КоА у мышей / Б. Ф. Дорофеев [и др.] // Кофермент А и его предшественники: синтез, анализ и экспериментальное изучение : сб. тр. / под ред. В. И. Гунар [и др.]. – Москва, 1997. – С. 100–108.

12. Coenzyme A biochemistry: from neurodevelopment to neurodegeneration / L. Mignani [et al.] // Brain Sci. – 2021 – Vol. 11. – P. 1031. doi: 10.3390/brainsci11081031.

13. Determination of Coenzyme A and acetyl-Coenzyme A in biological samples using HPLC with UV detection / Y. I. Shurubor [et al.] // Molecules. – 2017. – Vol. 22. – P. 1388. doi: 10.3390/molecules220913388.

14. Hayflick, S. J. Defective pantothenate metabolism and neurodegeneration / S. J. Hayflick // Biochem. Soc. Trans. – 2014. – Vol. 42, № 4. – P. 1063–1068. doi:10.1042/BST20140098.

15. Kaplan, N. O., Lipmann, F. J. The assay and distribution of coenzyme / N. O. Kaplan, F. J. Lipmann // J. Biol. Chem. – 1948. – Vol. 174, № 1. – P. 37–44.

16. Lashley, T. Extensive anti-CoA immunostaining in Alzheimer's disease and covalent modification of tau by a key cellular metabolite Coenzyme A / T. Lashley [et al.] // Front. Cell Neurosci. – 2021. – vol. 1 – P. 739425. doi: 10.3389/fncel.2021.739425.

17. McDougal, D. B., Dargar, R. V. A spectrophotometric cycling assay for reduced coenzyme A and its esters in small amounts of tissue / D. B. McDougal, R. V. Dargar // Anal. Biochem. – 1979. – Vol. 1. – P. 103–115. doi: 10.1016/0003-2697(79)90333-6.

18. PKAN neurodegeneration and residual PANK2 activities in patient erythrocytes / M. Werning [et al.] // Ann. Clin. Transl. Neurol. – 2020. – Vol. 7. – P. 1340–1351. doi: 10.1002/acn3.51127.

19. Stadman, E. R. Coenzyme A function in and acetyl transfer by the phosphotransacetylase system / E. R. Stadman, G. D. Novelli, F. Lipman // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 191. – P. 365–379.

20. Substantively lowered levels of pantothenic acid (vitamin B5) in several regions of the human brain in Parkinson's disease dementia / M. Scholefield [et al.] // Metabolites. – 2021. – Vol. 11, № 9. – P. 569. doi: 10.3390/metabo11090569.

## **ГЛЮКАГОНОПОДОБНЫЙ ПЕПТИД (GLP-1): КОРРЕКЦИЯ УРОВНЯ ПРИ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ И ДИАБЕТЕ 2 ТИПА У КРЫС**

**Надольник Л.И., Полубок В.Ч., Виноградов В.В.**

*Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси», г. Гродно, Республика Беларусь*

**Актуальность.** Глюкагоноподобный пептид (GLP-1) – инкретиновый гормон, высвобождаемый из энтероэндокринных клеток кишечника, играет ключевую роль в регуляции постпрандиального уровня глюкозы, контролирует гликемические колебания, связанные с приемом пищи, за счет увеличения синтеза инсулина и ингибирования секреции глюкагона [1]. Кроме того, GLP-1 обладает защитным действием на  $\beta$ -клетки поджелудочной железы, снижает аппетит и массу тела, что предполагает его использование как средства для лечения диабета 2 типа и ожирения [2].

Данный гормон рассматривается как важная мишень для лечения инсулинорезистентности (ИР) и диабета 2 типа. Разработаны лекарственные средства для повышения эффективности действия GLP-1, которые являются агонистами рецепторов GLP-1 (GLP-1 RA) [3]. GLP-1 RA – важный класс препаратов для лечения пациентов с диабетом. Агонисты GLP-1 короткого действия (эксенатид, ликсисенатид) снижают уровень постпрандиальной глюкозы, а длительного действия (альбиглутид, дулаглутид, лираглутид, семаглутид) – снижают уровень глюкозы натощак, повышая глюкозозависимую секрецию инсулина и снижая секрецию глюкагона [4]. Недостатком различных лекарственных форм GLP-1 является непродолжительность времени действия, поскольку они быстро инактивируются дипептидилпептидазой-4. Известен способ лечения гипергликемии с использованием ингаляционного введения лекарственной формы GLP-1, что приводит к снижению побочных эффектов, которые обычно связаны с подкожным и внутривенным введением GLP-1.

**Цель.** Оценить возможность коррекции уровня глюкагоноподобного пептида при экспериментальном диабете у крыс введением витаминно-аминокислотного комплекса на основе липоевой кислоты.

**Материалы и методы исследования.** Исследования выполнены на 30 половозрелых самках крыс Вистар массой 210–250 г. На протяжении эксперимента они содержались в стандартных условиях по 5 особей в клетке. Все манипуляции с животными проводились согласно требованиям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для научных целей, руководство по уходу и использованию лабораторных животных (№ 123; [ETS 123 – Protection of Vertebrate Animals, 18.III.1986]).

Продолжительность эксперимента составила 18 недель; исследования проведены на трех группах животных: интактный контроль, высокожировая диета+введение стрептозотоцина (ВЖД+СТЗ), высокожировая диета+введение стрептозотоцина+введение гомеостазина (ВЖД+СТЗ+ГСН). Калорийность ВЖД составляла 4,5 ккал/г, контрольные животные содержались на стандартной диете вивария (2,2 ккал/г). Моделирование сахарного диабета 2 типа проводилось внутрибрюшинной инъекцией СТЗ (ChemCruz, U-9889) в дозе 40 мг/кг после 12 недель употребления животными ВЖД. Группе крыс ВЖД+СТЗ+ГСН, после введения СТЗ, на протяжении 4 недель интрагастрально вводился гомеостазин в дозе 250 мг/кг. Уровень глюкозы в капиллярной крови контролировали утром натощак с использованием тест-полосок (Rightest Test Strips GS 100) и глюкометра Rightest GM 100 («Bionime GmbH», Switzerland). В сыворотке крови концентрация глюкозы измерялась глюкозооксидазным методом (коммерческие наборы Анализ Х, РБ). Толерантность к глюкозе оценивалась в интраперитонеальном глюкозотолерантном тесте (ИГТТ) при введении крысам натощак 40% раствора глюкозы (2 г/кг, в объеме 2 мл). В сыворотке крови определяли концентрацию глюкозы, показатели липидного обмена (триглицеролы, общий холестерол, ЛПВП, ЛПНП) с использованием наборов Анализ Мед (Минск, РБ). Концентрация GLP-1 измерялась в сыворотке методом иммуноферментного анализа, согласно инструкции производителя («Finetest», Китай).

Межгрупповые сравнения проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа по Краскелу-Уоллесу в пакете статистических программ STATISTICA 12.0 (StatSoft, USA). За статистически значимые принимались значения при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Моделирование диабета 2 типа проявлялось у крыс развитием гипергликемии, нарушением метаболизма липидов на фоне снижения концентрации GLP-1 в сыворотке крови. В группе ВЖД+СТЗ концентрация глюкозы в сыворотке крови повысилась на 25,9% по сравнению с группой контроль, на фоне повышения уровня инсулина на 32,1%, что согласуется с метаболическими изменениями, характерными для диабета 2 типа. В крови снизился уровень GLP-1 на 38,6%, что тесно связано с развитием гипергликемии и инсулинорезистентности.

Введение витаминно-аминокислотного комплекса гомеостазин (липоевая кислота, тиамин, тирозин) в течение 4 недель, в дозе 250 мг/кг, проявлялось улучшением метаболизма глюкозы и снижением степени ИР у крыс при диабете 2 типа. Эффекты гомеостазина характеризовались снижением до контрольных значений концентрации глюкозы в капиллярной крови натощак и

в сыворотке (в 1,97 раза) по сравнению с группой ВЖД+СТЗ, а также снижением уровня инсулина (в 1,75 раза). Концентрация GLP-1 повысилась на фоне введения гомеостазина в 1,78 раза ( $p=0,06$ ) и 1,24 раза, соответственно, по сравнению с группой ВЖД+СТЗ и с группой контроль.

Полученные результаты свидетельствуют, что введение комплекса (липоевая кислота, тиамин, тирозин) повышает сниженный при развитии диабета 2 типа уровень GLP-1 в крови крыс, что может быть, по-видимому, причиной снижения степени ИР и оптимизации метаболизма глюкозы.

Результаты ИГТТ свидетельствуют, что введение витаминно-аминокислотного комплекса улучшает всасывание и увеличивает клиренс глюкозы. Площадь под кривой ИГТТ, повышенная у крыс при диабете (группа ВЖД+СТЗ) на 216,34% ( $p=0,0015$ ), снизилась на фоне введения гомеостазина на 122,73% ( $p=0,0004$ ). Введение комплекса нормализовало также некоторые общие биохимические показатели, что свидетельствует о его существенном влиянии на метаболизм. Показано снижение на 55,2% уровня мочевины ( $p=0,04$ ), и на 28,9% уровня креатинина ( $p=0,005$ ), повышенных у крыс при диабете.

Механизмы выявленных эффектов исследуемого комплекса, безусловно, определяются его составом; обнаружены единичные работы, где предполагается стимулирующий эффект липоевой кислоты в отношении GLP-1 [5]. Тиамин играет важную роль в энергообеспечении организма в рамках цикла Кребса. Препараты тиамина способны тормозить гликолиз, образование лактата и конечных продуктов гликирования, ослабляя тем самым токсический эффект гипергликемии при диабете [6]. Литературные данные по влиянию тиамина на уровень GLP-1 не обнаружены. Тирозин – мягкий психостимулятор, который повышает устойчивость к стрессу, обладает антидепрессивным действием, увеличивает продукцию нейромедиаторов дофамина, норадреналина и адреналина, меланина, коэнзима Q10, гормонов щитовидной железы; его влияние на уровень GLP-1 не установлено, но мы предполагаем, что в будущем могут быть получены опосредованные доказательства.

**Выводы.** Проведенные исследования показали, что разработанный витаминно-аминокислотный комплекс (фармацевтическая композиция) повышает уровень GLP-1, нормализует уровень глюкозы в капиллярной крови натошак, в сыворотке крови. Композиция улучшает клиренс и метаболизм глюкозы в ИГТТ, снижает степень гипергликемии, уровень инсулина и степень ИР, что предполагает её хорошие терапевтические эффекты для профилактики и коррекции метаболических нарушений при диабете 2 типа.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Drucker D.J. Mechanisms of Action and Therapeutic Application of Glucagon-like Peptide-1. // Cell Metab. – 2018. – Vol. 27, №4. P. 740–756.
2. Cheang J.Y, Moyle P.M. Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1)-Based Therapeutics: Current Status and Future Opportunities beyond Type 2 Diabetes. / J.Y Cheang, P.M. Moyle // Chem. Med. Chem. – 2018. – Vol.13, № 7. – P. 662–671.

3. Bailey C.J. Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists and Strategies To Improve Their Efficiency. // Mol. Pharm. – 2019. – Vol.16, №6, – P. 2278–2295.
4. Glucagon-like peptide-1 receptor agonists in type 2 diabetes treatment: are they all the same? / Gentilella R. [et al] // Diabetes Metab Res Rev. – 2019. – Vol.35, is.1, – P. e3070.
5. McCarty M.F., DiNicolantonio J.J. Maintaining Effective Beta Cell Function in the Face of Metabolic Syndrome-Associated Glucolipotoxicity- Nutraceputical Options. / M.F. McCarty, J.J. DiNicolantonio // Healthcare (Basel). – 2021 – Vol. 10, № 1, P. 3.
6. Bartakova V. Dysfunctional protection against advanced glycation due to thiamine metabolism abnormalities in gestational diabetes. / Bartakova V. [et al.] // Glycoconj J. – 2016, – Vol. 33, is.4. – P. 591–598.

## МЕТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ: ПОЛИОЛЬНЫЙ ПУТЬ

Наумов А.В., Петушок Н.Э.

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

Глюкоза в клетках животных и человека непосредственно принимает участие только в четырех реакциях: 1) фосфорилирование с образованием глюкозо-6-фосфата; 2) восстановление (полиольный путь) с образованием сорбитола и эндогенной фруктозы; 3) реакции гликирования и 4) синтез лактозы в железистой ткани молочной железы.

Фосфорилирование происходит под контролем четырёх изоферментов *гексокиназы* (I–IV, последняя, а именно гексокиназа IV, более известна под названием *глюкокиназа*). Продукт этой реакции – глюкозо-6-фосфат в дальнейшем даёт начало многим метаболическим путям: гликолизу, пентозофосфатному пути, синтезу гликогена и глюкозаминов.

Полиольный путь начинается с реакции восстановления альдегидной группы глюкозы и превращения её в шестиатомный спирт сорбитол с участием скорость-лимитирующего фермента *альдозоредуктазы* (КФ 1.1.1.21). Коферментом реакции выступает восстановленный НАДФН [4]. Следующую реакцию – окисление сорбитола (D-глюцитола) по второму углеродному атому до D-фруктозы – катализирует  $Zn^{2+}$ -зависимая *сорбитолдегидрогеназа* (СДГ, КФ 1.1.1.14). В условиях гипергликемии ~ 30% глюкозы метаболизируется именно по этому пути [13,18].

Оба продукта играют важную роль в развитии многих патологических процессов. Накопление сорбитола в клетке приводит к возрастанию осмотического давления и осмотическому стрессу, следствием которого является увеличение объёма клеток. А это становится одной из причин сужения сосудов (эндотелиоциты), гипоксии и нарушения трофики тканей [20].

Фруктоза, содержащая кетонную группу, весьма эффективно участвует в процессе гликирования, намного превосходя в этой способности глюкозу [16].

Ещё более мощным гликирующим агентом является фосфорилированное производное эндогенной фруктозы – фруктозо-3-фосфат (фермент *фруктозо-3-фосфокиназа*) и её производное 3-дезоксиглюкозон, рост уровня которых, наряду с сорбитол-3-фосфатом при сахарном диабете возрастает на порядок [10, 14].

Интенсивная наработка продуктов гликирования белков является одним из краеугольных камней в патогенезе метаболического синдрома, сахарного диабета, гипертонии, нефропатии и сердечно-сосудистой патологии. Увеличение метаболического потока субстратов по полиольному пути при гипергликемии различной этиологии приводит к увеличению продукции свободных радикалов кислорода из-за активации НАДФН-оксидазы, митохондриальной дисфункции, активации лейкоцитов и провоспалительных процессов, изменению работы ионных каналов, повреждению и апоптозу клеток [18].

Гипергликемия становится одним из ключевых факторов стимуляции активности альдозоредуктазы, имеющей высокую  $K_m$ . Соответственно, она сопровождается накоплением сорбитола и гликированных белков, факторов вазоконстрикции, вызывающих гипоксию и активирующих пути неоваскуляризации [12]. Происходит увеличение потребления НАДФН. Это ведет к конкуренции с *глутатионредуктазой*, восстанавливающей глутатион, и усилению окислительного стресса [4, 20]. Чрезмерная продукция свободных радикалов кислорода вызывает активацию ядерного фактора лёгких цепей каппа В лейкоцитов (NF-κB), происходит экспрессия генов воспалительных цитокинов и сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) [11]. Ингибирование же полиольного пути подавляет воспалительную реакцию в клетках [2].

Активация *альдозоредуктазы* играет важную роль в патохимических механизмах многих воспалительных заболеваний, таких как диабет, рак, сепсис, астма и т. д. Она способствует увеличению продукции провоспалительных факторов (цитокинов/хемокинов), свободных радикалов кислорода, приводит к дисбалансу окислительно-восстановительного потенциала (НАДН/НАД<sup>+</sup>). А вот ингибирование *альдозоредуктазы* в нормогликемических условиях, наоборот, подавляет процессы воспаления. [18].

Рост соотношения НАДН/НАД<sup>+</sup> при активизации полиольного пути ведёт к дефициту субстрата (НАД<sup>+</sup>) для основных белковых деацетилаз – сиртуинов (Sirt2), экспрессия которых снижается при сахарном диабете. В этой ситуации увеличивается количество ацетилированных белков, что сказывается на их функциональных способностях [20]. Например, рост уровня ацетилированных белков кавеолинов стимулирует процесс атерогенеза, так как приводит к усилению транслокации липопротеинов низкой плотности через эндотелиоциты в интиму сосудов [7]. Ацетилированная форма белка p65 (субъединица провоспалительного ядерного фактора NFκB) стимулирует экспрессию провоспалительных цитокинов [1].

Изменение активности *альдозоредуктазы* играет важную роль в патогенезе аутоиммунных процессов в лёгких, диабетических осложнений, атеросклероза, при ретино-, нефро- и нейропатиях [6].

Эксперименты показали, что *альдозоредуктаза* является ключевым звеном повреждения ткани сердца при моделировании ишемии/реперфузии у животных с диабетом I-II типа. У крыс в данном случае выявлена повышенная активность ферментов полиолового пути: *альдозоредуктазы* и *сорбитолдегидрогеназы*. Рост концентрации сорбитола и эндогенной фруктозы играют ключевую роль в развитии ишемического повреждения тканей [4]. Ингибирование каждого из ферментов этого пути, нормализует содержание АТФ, и восстанавливает повышенный уровень внутриклеточного  $\text{Na}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$  в ткани сердца животных [5], уменьшает степень повреждений и улучшает функциональное и метаболическое восстановление сердца при реперфузии [15, 18].

У крыс с экспериментальным диабетом отмечается увеличенная экспрессия *альдозоредуктазы* и рост уровня осмотического и окислительного стресса, а ингибирование фермента подавляет прогрессирование диабетических осложнений (ретино-, нефро- и нейропатии) [3, 4], а удаление гена ALR2 (ген альдозоредуктазы) предотвращало развитие диабетической нефропатии [8].

Увеличение наработки эндогенной фруктозы из сорбитола и фосфорилирование её во фруктозо-1-фосфат *кетогексокиназой* (КГК) /*фруктокиназой* способствует активации расходования АТФ, распаду пуринов и росту выработки мочевой кислоты, которая, в свою очередь, стимулирует экспрессию *альдозоредуктазы* в эндотелиоцитах, создавая своеобразный порочный круг [9, 10].

У человека обнаружено две изоформы *кетогексокиназы* (КГК) /*фруктокиназы*: КГК-А и КГК-С. Причём КГК-С имеет на порядок более высокое сродство к фруктозе –  $K_m=0,8$  мМ, тогда как *гексокиназа IV*  $\sim 2.0$  мМ. Активность фруктокиназы не регулируется по принципу отрицательной обратной связи, что способствует падению соотношения АТФ/АМФ. В результате интенсивного (пропорционально уровню наработки эндогенной фруктозы) использования АТФ образуется большое количество АМФ [10].

Дезаминирование АМФ, катализируемое *АМФ-деаминазой* и последующее окисление гипоксантина *ксантиноксидазой* приводит к выработке мочевой кислоты [9, 19]. Мочевая кислота оказывает ингибирующее действие на *АМФ-активируемую протеинкиназу* (АМРК), активирует (посредством стимуляции элемент-связывающего белка, регулируемого углеводами, ChREBP) фруктокиназу и альдозоредуктазу (посредством NFAT5, ядерного фактора, активированного T-клетками 5), способствует транслокации *НАДФН-оксидазы 4* (NOX4) из цитозоля в митохондрии, что увеличивает образование свободных радикалов кислорода в митохондриях, инактивирует *аконитазу* и способствует выходу цитрата в цитозоль. А это стимулирует синтез жирных кислот и триацилглицеролов [19]. Считается, что в этом заключается один из механизмов развития неалкогольного жирового перерождения печени [4].

Процесс выглядит следующим образом: образовавшийся в ходе фруктокиназной реакции фруктозо-1-фосфат расщепляется *альдозой В* на дигидроксиацетонфосфат (ДГАФ) и глицеральдегид, который фосфорилируется до глицеральдегид-3-фосфата (*трикиназа*), и/или метаболизируется в гликолизе или превращается в ДГАФ (фермент *триозофосфатизомераза*). В свою очередь, ДГАФ под действием глицерол-3-фосфатдегидрогеназы восстанавливается до глицерол-3-фосфата, который участвует в синтезе триацилглицеролов.

Таким образом, представленная в данном обзоре информация красноречиво свидетельствует об исключительно важном значении полиольного пути метаболизма глюкозы и описывает основные биохимические механизмы нарушений, возникающих при гипергликемии.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Acetyl-CoA derived from hepatic mitochondrial fatty acid  $\beta$ -oxidation aggravates inflammation by enhancing p65 acetylation / Chen Q. et al. // Science. – 2021. – Vol. 24(11):103244. doi: 10.1016/j.isci.2021.103244.
2. Aldose reductase inhibition decelerates optic nerve degeneration by alleviating retinal microglia activation / M. Rao et al. // Sci. Rep. – 2023. – № 13(1). – P. 5592.
3. Aldose reductase inhibition suppresses oxidative stress-induced inflammatory disorders / S. K. Srivastava et al. // Chem. Biol. Interact. – 2011. – Vol. 191(1–3). – P. 330-338.
4. Aldose Reductase: a cause and a potential target for the treatment of diabetic complications / S. Thakur et al. // Arch Pharm Res. – 2021. – Vol. 44(7). – P. 655-667. doi: 10.1007/s12272-021-01343-5.
5. Attenuation of ischemia induced increases in sodium and calcium by the aldose reductase inhibitor zopolrestat / R. Ramasamy et al. // Cardiovasc. Res. – 1999. – № 42(1). – P. 130-139.
6. Chang, K.C. Aldo-ketoreductases: Multifunctional proteins as therapeutic targets in diabetes and inflammatory disease / K.C. Chang, J.M. Petrash // Adv. Exp. Med. Biol. – 2018. – № 1032. – P. 173-202.
7. Deacetylation of Caveolin-1 by Sirt6 induces autophagy and retards high glucose-stimulated LDL transcytosis and atherosclerosis formation / Y. Zhao et al. // Metabolism, 2022 Jun;131:155162. doi: 10.1016/j.metabol.2022.155162.
8. Development of aldose reductase inhibitors for the treatment of inflammatory disorders / M. Chatzopoulou et al. // Expert. Opin. Drug Discov. – 2013. – № 8(11). – P. 1365-1380.
9. Diabetic Cardiomyopathy: The Case for a Role of Fructose in Disease Etiology / L. Delbridge et al. // Diabetes – 2016. – Vol. 65(12). – P. 3521-3528. doi: 10.2337/db16-0682.
10. Fructose-induced increases in expression of intestinal fructolytic and gluconeogenic genes are regulated by GLUT5 and KHK. / Patel C. et al. // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2015. – Vol. 309(5):R499-509. doi: 10.1152/ajpregu.00128.2015.

11. Inhibition of aldose reductase prevents angiogenesis *in vitro* and *in vivo* / R. Tammali et al. // *Angiogenesis* – 2011. – Vol. 14. – № 2. – P. 209–221.
12. Julius, A. Natural aldose reductase inhibitors act as potent agonists of PPAR $\gamma$  / F. Julius, W. Hopper // *Journal of Young Pharmacists*, 2018. – Vol. 10. – № 1. – P. 62-65.
13. Krezel, A. Thionein/metallothionein control Zn(II) availability and the activity of enzymes / A. Krezel, W. Maret // *J BiolInorg Chem.* – 2008. – № 13(3). – P. 401-409.
14. Lal, S. Fructose-3-phosphate production and polyol pathway metabolism in diabetic rat hearts / S. Lal et al. // *Metabolism* – 1997. – № 46(11). – P. 1333-1338.
15. Li, Q. Polyol pathway and modulation of ischemia-reperfusion injury in Type 2 diabetic BBZ rat hearts / Q. Li, Y.C. Hwang, R. Ananthakrishnan // *Cardiovasc. Diabetol.* – 2008 Oct 28;7:33.
16. Milne, R. Advanced glycation end products and diabetic retinopathy / R. Milne, S. Brownstein // *Am. Acids.* – 2013. – № 44(6). – P. 1397–1407.
17. Rashid. K, Microglia in retinal degeneration / K. Rashid, I. Akhtar-Schaefer, T. Langmann // *Front. Immunol.* – 2019. – 10. – P. 1975.
18. Singh, M. Physiological and Pathological Roles of Aldose Reductase / M. Singh, A. Kapoor, A. Bhatnagar // *Metabolites* – 2021. – № 11(10). – P. 655.
19. The Good, the Bad and the New about Uric Acid in Cancer / S. Allegrini et al. // *Cancers* – 2022. – Vol. 14(19). – P. 4959. doi: 10.3390/cancers14194959.
20. Yan, L.J. Redox imbalance stress in diabetes mellitus: role of the polyol pathway / L. J. Yan // *Anim. Models Exp. Med.* – 2018. – Vol 1(1). – P. 7–13. <https://doi.org/10.1002/ame2.12001>

## **МОДИФИКАТОР МИКРОБИОМА ОРЕГОНИН ВЛИЯЕТ НА ПРОФИЛЬ АЗОТ-СОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ В МИКРОБНО-ТКАНЕВОМ КОМПЛЕКСЕ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА**

**Николаева И.В., Шейбак В.М., Павлюковец А.Ю., Жмакин А.И.,  
Островская О.Б., Смирнов В.Ю.**

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

**Актуальность.** Орегонин диарилгептаноид (диарилгептаноиды - класс природных продуктов на основе 1,7-дифенилгептана) полученный из экологически чистого сырья – коры серой ольхи (*Alnus incana*), произрастающей на европейской территории Беларуси и Латвии, имеет общую химическую формулу 1,7-бис-(3,4-дигидроксифенил)-3-гидроксигептан-5-Д-кслопиранозид [1]. Орегонин оказывает благоприятное действие на организм, обладает антиоксидантными свойствами, нормализует обмен веществ и способствует детоксикации организма. Одновременно, этот класс соединений обладает антибактериальным эффектом в отношении патогенной микрофлоры [2]. Нами показано, что орегонин повышает содержание бифидо- и лактобактерий в мукозе тонкого кишечника и стимулирует

противоинфекционные иммунные механизмы (патент ЕС №14569). Основные реакции катаболизма свободных аминокислот микрофлорой и эпителиоцитами кишечника сводятся к декарбоксилированию и деаминированию. Теоретически, кишечные бактерии обладают способностью катаболизировать почти все виды АК. Тем не менее, некоторые аминокислоты, такие как глутамин/глутамат, аспарагин/аспартат, лизин, серин, треонин, аргинин, глицин, гистидин и АК с разветвленной цепью, могут быть предпочтительными субстратами для метаболизма кишечными бактериями. Продуктами бактериального гидролиза аминокислот являются азот, водород, углекислый газ, метан и сероводород. Отдельные метаболиты могут быть включены в синтез бутирата, пропионата и ацетата, жирных кислот, органических кислот [3]. Следовательно, регуляция количества определенных популяций микробиома может увеличивать синтез и/или абсорбции аминокислот, что в конечном итоге, будет способствовать обеспечению аминокислотами организма-хозяина.

**Целью** исследования явилось изучение влияния орегонина на формирование пула аминокислот в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника с учетом состояния микробиома и гистологии кишечника.

**Материалы и методы.** Эксперименты выполнены на белых беспородных крысах массой 160-180 г. Животным ежедневно однократно внутривентрикулярно вводили орегонин в дозе 5 мг/кг массы тела. Через 24 ч после 10-го введения орегонина крысы декапитировали. Асептически выделенный микробно-тканевой комплекс тонкого кишечника использовали для определения свободных аминокислот методом обращеннофазной ВЭЖХ и микробиологического анализа по стандартной методике. Окончательный результат количественного содержания бактерий выражали как lg КОЕ/г. Гистологическое исследование парафиновых срезов, окрашенных гематоксилин-эозином и по Шабадаш, просматривали в микроскопе Leica DM1000, цифровые фотоснимки получали при помощи камеры Panasonic WV-CP410/G.

**Результаты и их обсуждение.** Курсовое 10-дневное энтеральное введение орегонина не вызывает существенных визуальных деструктивных изменений морфологической структуры стенки тощей кишки. Одновременно, регистрируются многочисленные бокаловидные клетки, растянутые глобулами слизи и некоторая активация выделения секрета.

Анализ структуры микробиоценоза пристеночного муцина показал, что введение орегонина по описанной схеме достоверно повышает общее количество анаэробов ( $9,6 \pm 0,21$  против  $8,6 \pm 0,28$ ), за счет увеличения популяций бифидобактерий ( $8,8 \pm 0,20$  против  $8,0 \pm 0,32$ ) и лактобактерий ( $8,9 \pm 0,08$  в сравнении с  $8,2 \pm 0,26$ ). Одновременно в опытной группе отсутствовала лактозоотрицательная и газообразующая микрофлора в пристеночной слизи.

Воздействуя на микробиоценоз кишечника, орегонин одновременно влияет на формирование аминокислотного пула в микробно-тканевом комплексе энтероцитов. Так энтеральное введение орегонина снижает (на 20%) суммарное содержание протеиногенных аминокислот и метаболитов ( $24905 \pm 1708$  против  $31055 \pm 1326$  в контрольной группе) их азотсодержащих производных (на 30%,  $6683 \pm 296$  и  $9666 \pm 447$ , соответственно). Среди

незаменимых аминокислот уменьшаются концентрации треонина (на 38%), лизина (на 35%). Были ниже контрольных значений уровни аланина (на 17%) и серина (на 22%). Одновременно падают концентрации таурина (на 34%), орнитина (на 32%) этаноламина (на 27%), и фосфоэтанолamina (29%),  $\alpha$ -аминомасляной кислоты (на 38%) и  $\alpha$ -аминоадипиновой кислоты (на 56%).

**Выводы.** Орегонин обладает высокой биологической активностью и при энтеральном поступлении в течение 10 дней существенно влияет на микробиом кишечника. Как изменения в микробиоме (продукция азот-содержащих соединений), так и метаболические сдвиги в клетках тонкого кишечника существенно влияют на пул свободных аминокислот и их метаболитов в микробно-тканевом комплексе. Орегонин может быть рекомендован для дальнейшего изучения как модификатор и стимулятор метаболизма нутриентов в организме животных.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Oregonin from *Alnus incana* bark affects DNA methyltransferases expression and mitochondrial DNA copies in mouse embryonic fibroblasts / J. Krasilnikova [et.al.] // J.Enzyme Inhib Med Chem. – 2018. – Vol. 33, №1. – P.1055–1063.
2. Шейбак В.М. Орегонин – растительный антиоксидант и стимулятор иммунной системы / В.М. Шейбак // «Современные проблемы биохимии и молекулярной биологии» сб. статей II Белорусского биохимического конгресса, Гродно, 17-18 мая 2018 г. / – Гродно, 2018. – С. 644-649.
3. Intestinal luminal nitrogen metabolism: Role of the gut microbiota and consequences for the host / A.M. Davila [et.al.] // Pharmacological Research. – 2013. – Vol. 68, №1. – P. 95-107.

### ИССЛЕДОВАНИЕ СРАВНИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ 1,3-ДИИНДОЛИЛПРОПЕНОНОВ В РЕАКЦИИ ПРИСОЕДИНЕНИЯ ТИОЛОВ ПО МИХАЭЛЮ

**Панада Я. В., Фалетров Я. В., Фролова Н. С., Шкуматов В. М.**

*Научно-исследовательский институт физико-химических проблем  
Белорусского государственного университета, г.Минск, Республика Беларусь*

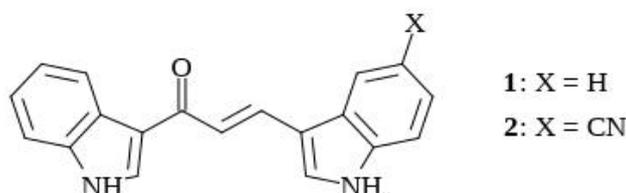
**Актуальность.** Данная тема представляет интерес в рамках разработки молекулярных зондов и реагентов для исследования функций белков, а также создания противоопухолевых лекарств, действующих по принципу необратимого ковалентного ингибирования цистеин-содержащих белков.

**Цель.** Целью работы была оценка реакционной способности 1,3-дииндолилпропенонов на примере модельных тиолов.

#### **Материалы и методы исследования.**

Перечень использованных сокращений и обозначений: 2-ME – 2-меркаптоэтанол, TGA – тиогликолевая кислота, DTE – дитиоэритрит, DNCB – 1-хлор-2,4-динитробензол, Tris – трис(гидроксиметил)аминометан.

В работе были использованы следующие реагенты производства компании Sigma-Aldrich: 2-меркаптоэтанол (99%), тиогликолевая кислота (р-р в воде, 80% м/м), дитиозэритрит (99%), цистеин (98%), трис(гидроксиметил)аминометан (99%), 1-хлор-2,4-динитробензол (99%). 1,3-дииндолилпропеноны **1** и **2** были получены ранее путем реакции Клайзена-Шмидта между коммерческими альдегидами- и кетоиндолами.

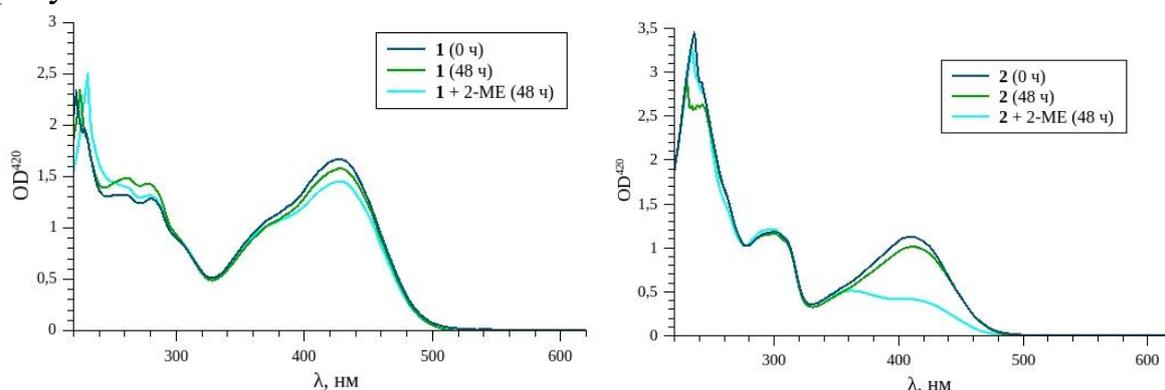


**Рис. 1.** Структура исследованных 1,3-дииндолилпропенонов

Фотометрический анализ проводили на спектрофлуориметре Solar CM2203. К 1,2 мл смеси 1 М Tris-HCl - этанол (1:5, об/об) добавляли 25 мкл р-ра 1,3-дииндолилпропенона в этаноле в расчете на конечную концентрацию 20-40 мкМ. К раствору добавляли 25 мкл 0,1 М р-ра тиола в расчете на конечную концентрацию 4 мМ [1]. В качестве положительного контроля реакцию проводили с 50 мкМ DNCB. Все измерения проводили при 25°C трижды.

#### Результаты и обсуждение.

При инкубации DNCB с тиолами наблюдается быстрое повышение оптической плотности при 340 нм, характерное для 2,4-динитро-1-тиофенильной группы. В аналогичных условиях **1** и **2** не проявляют признаков реакции на протяжении 60 мин, что согласуется с литературными константами скорости подобных реакций. Для анализа реакции образцы были выдержаны при 25°C на протяжении 72 ч. Анализ проводили с периодичностью 24 ч. Сравнительные изменения в спектрах поглощения по мере реакции изображены на рисунке 2.



**Рис. 2.** Изменения в спектрах поглощения соединения **1** и **2** при взаимодействии с 2-меркаптоэтанолом

Степень превращения оценивали по убыванию оптической плотности при 420 нм. Данные, полученные для ряда тиолов, приведены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1. Сравнительная степень превращения **1** для различных тиолов

t, ч	Контроль		2-ME		TGA		DTE		Cys*	
	OD <sup>420</sup>	%								
0	1,643	-	1,979	-	1,471	-	1,471	-	1,037	-
24	1,558	94,8	1,795	90,7	1,113	75,7	1,240	84,3	1,088	105
48	1,541	93,8	1,712	86,5	0,934	63,5	1,144	77,8	1,036	99,9
72	1,517	92,3	1,640	82,9	0,923	62,7	1,104	75,0	1,003	96,7

Таблица 2. Сравнительная степень превращения 2 для различных тиолов

t, ч	Контроль		2-ME		TGA		DTE		Cys*	
	OD <sup>420</sup>	%								
0	1,072	-	1,072	-	1,496	-	1,496	-	1,496	-
24	1,001	93,4	0,562	52,4	0,781	52,2	0,665	44,5	1,443	96,4
48	0,980	91,4	0,385	35,9	0,621	41,5	0,498	33,3	1,367	91,4
72	0,954	89,0	0,400	37,3	0,785	52,5	0,582	38,9	1,370	91,6

\*В случае цистеина тиол ограниченно растворим в реакционной среде, что не позволяет применить приближение псевдопервого порядка реакции.

Из таблиц 1 и 2 следует, что 2 обладает большей реакционной способностью, что согласуется с электрон-оттягивающим эффектом цианогруппы. Следует отметить, что в случае соединения 2 после 48 ч наблюдалось обратное повышение OD<sup>420</sup>. Это позволяет предположить, что аддукт соединения 2 подвергается распаду до исходного соединения, т. е. реакция является равновесной, что согласуется с литературными данными [2].

Для оценки реакционной способности был проведен кинетический анализ. В условиях настоящего эксперимента начальная скорость реакция описывается уравнением псевдопервого порядка:

$$-\frac{d[X]}{dt} = k_a \cdot [RSH] \cdot [X_0] \quad (1);$$

где [X] – концентрация 1,3-дииндолилпропенона, моль·л<sup>-1</sup>; [RSH] – концентрация тиола, моль·л<sup>-1</sup>. Путем преобразования и подстановки можно получить следующую расчетную формулу:

$$k_a = -\frac{d[X]}{[X_0] \cdot [RSH] \cdot dt} = -\frac{dI}{I_0 \cdot [RSH] \cdot dt} \quad (2);$$

где I – значение оптической плотности, пропорциональное концентрации 1,3-дииндолилпропенона. Расчетные значения приведены в таблице 3. Полученные значения согласуются с литературными данными для подобных соединений [1].

Таблица 3. Константы скорости реакции между 1,3-дииндолилпропенонами и тиолами в приближении псевдопервого порядка

Соединение	k, ·10 <sup>-4</sup> М <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>
------------	---

	2-ME	TGA	DTE
1	0,98	6,9	3,4
2	11,8	8,5	10,1

\*Примечание. Данные значения вычислены в приближении пренебрежимо малой скорости обратной реакции.

**Выводы.** В ходе работы изучено сравнительное взаимодействие 1,3-дииндолилпропенонов с рядом тиолов. Выявленные закономерности согласуются с электрофильностью заместителей и их предполагаемым влиянием на электронную структуру 1,3-дииндолилпропенонов.

**Благодарности.** Работа выполнена при фин. поддержке ГПНИ (№ гос. рег. 20210560).

### ЛИТЕРАТУРА

1. Reactivity assessment of chalcones by a kinetic thiol assay / S. Amslinger [et al.] // *Org. Biomol. Chem.* – 2013. – Vol. 4. – P. 549-554.

2. Inhibition of XPO-1 mediated nuclear export through the Michael-acceptor character of chalcones / M. Gargantilla [et al.] // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2021. – Vol. 14, no. 11. – Article number 1131.

## БИОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РОЛИ ВИТАМИНА D В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА

**Першин Р.В., Сулова В.А., Китан И.Н.**

Научный руководитель: д.м.н, профессор П. И. Цапок  
ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет»,  
г. Киров, Российская Федерация

**Актуальность** темы заключается в том, что жители нашего региона регулярно сталкиваются с недостатком витамина D. Они, не зная симптоматику гиповитаминоза витамина D, подбирают самостоятельно неверное лечение, тем самым могут нанести вред своему организму.

**Цель исследования:** изучить современные сведения о витамине D, проследить опытным путем влияние витамина D на организм человека и разработать рекомендации по профилактике гиповитаминоза D.

**Материалы и методы исследования:** анализ и формализация современных литературных данных о витамине D с помощью компьютерного пакета Word, мониторинг влияния приема витамина D с помощью биохимического анализа крови на D 25-ОН(на оборудовании Maglumi 4000), качество сна оценивалб с помощью программы «Sleep tracker», оценку психоэмоционального состояния определяли по методике О.Елисеева, оценку состояния кожи определяли визуальным и пальпаторным методом исследования, статистическая обработка проводилась с использованием компьютерных пакетов Excel и Statistica Advansed.

**Результаты:** Витамин D — это группа биологически активных жирорастворимых веществ, похожих строением и действием на своих основных представителей — эргокальциферол (D2) и холекальциферол (D3). Стоит отметить, что D2 является аналогом у растений основного витамина D3, который вырабатывается у животных, но выводится из крови быстрее и, следовательно, оказывает меньший эффект на организм. По своей биологической активности в организме человека разницы между витаминами D2 и D3 нет. Они оба превращаются в активный метаболит кальцитриол, который играет важную роль в регуляции кальциевого обмена.

**Источники витамина D.** Потребность в витамине D компенсируется за счет витамина D3 (холекальциферола), который образуется в коже из провитаминов под воздействием ультрафиолетовых лучей солнечного света. Провитамины частично поступают в организм в готовом виде из растений, а частично образуются в тканях из холестерина. Дополнительными пищевыми источниками витамина D являются молочные продукты, рыбий жир, печень рыб, икра, яичный желток, овсянка, картофель, петрушка. А также некоторые травы – люцерна, зелень одуванчика, крапива и хвощ, тоже содержат витамин D в небольших количествах. Суточная потребность в витамине D составляет 25 мкг.

**Основные биохимические функции витамина D.** 1. Увеличение концентрации кальция и фосфатов в плазме крови. Для этого кальцитриол: стимулирует всасывание ионов  $Ca^{2+}$  и фосфат-ионов в тонком кишечнике (главная функция); стимулирует реабсорбцию ионов  $Ca^{2+}$  и фосфат-ионов в проксимальных почечных канальцах. 2. В костной ткани роль витамина D двояка: стимулирует выход ионов  $Ca^{2+}$  из костной ткани, так как способствует дифференцировке моноцитов и макрофагов в остеокласты и снижению синтеза коллагена I типа остеобластами; повышает минерализацию костного матрикса, так как увеличивает производство лимонной кислоты, образующей здесь нерастворимые соли с кальцием. 3. Участие в реакциях иммунитета, в частности в стимуляции легочных макрофагов и в выработке ими азотсодержащих свободных радикалов, губительных, в том числе, для микобактерий туберкулеза. 4. Подавляет секрецию паратиреоидного гормона через повышение концентрации кальция в крови, но усиливает его эффект на реабсорбцию кальция в почках. 5. Витамин D участвует в регуляции тирозингидроксилазы – фермента, который необходим для выработки дофамина, адреналина и норадреналина.

Оптимальный уровень этих гормонов – важнейшее условие для хорошего настроения и самочувствия, поэтому «солнечный витамин» защищает от депрессии, проблем с памятью. Состояние волос и кожи также сильно зависят от витамина D. Он участвует в формировании барьера рогового слоя, пролиферации и дифференцировке кератиноцитов, стимулирует и регулирует выработку антимикробных пептидов в коже. 6. Он необходим для синтеза половых гормонов (тестостерона, эстрадиола, прогестерона), нормализует чувствительность яичников и эндометрия к половым гормонам, участвует в регуляции менструального цикла. Предстательная железа, сперматогонии, семенные пузырьки имеют рецепторы к данному витамину и ферменты для его

использования. У мужчин с низким уровнем витамина D снижается общее число сперматозоидов, и особенно их подвижность.

Для того, чтобы подтвердить функции витамина D и доказать его положительное влияние на организм, под наблюдением врача-терапевта, у испытуемых (5 юношей и 5 девушек) были взяты анализы на витамин D 25-ОН. Их средний показатель в крови составил  $16,9 \pm 0,3$  нг/мл, что является дефицитом при норме 30–100 нг/мл. Дополнительно совместно с врачом-терапевтом были выявлены следующие симптомы гиповитаминоза D: значительная потеря аппетита, снижение массы тела, ухудшение состояния кожи, раздражительность и апатия, а также снижение иммунного ответа и большая подверженность простудным и инфекционным заболеваниям. Терапевтом был назначен курс витамина D3 (Аквдетрим) длительностью 1,5 месяца с дозировкой 7000 МЕ в день. А также был составлен план питания, в рацион которого были включены продукты с повышенным содержанием витамина D: печень трески, рыба (горбуша, сельдь, скумбрия, тунец), куриные яйца, молочные продукты (сыр, творог, сливки, сливочное масло). За неделю до начала приема витамина, были измерены следующие показатели: время на засыпание – 1-1,5 ч, качество сна (соотношение медленной и короткой фаз сна) – 62-68%, кол-во приемов пищи с появлением аппетита – 0-1 раз, и состояние кожи (наличие акне, постакне, комедонов) – около 60% поверхности кожи лица – акне. Спустя 1,5 месяца приема препарата и соблюдения определенной диеты, был сделан повторный анализ на D 25-ОН. Средний показатель составлял  $32 \pm 0,3$  нг/мл, что уже является нормой. В последнюю неделю приема препарата вновь были измерены показатели: время на засыпание – 0,5-0,7 ч, качество сна – 78-80% (фаза медленного сна увеличилась), кол-во приемов пищи с появлением аппетита – 2-3 полноценных приема, состояние кожи – акне и небольшое кол-во закрытых комедонов присутствует теперь только на T-зоне (лоб, нос и подбородок). Стоит отметить и улучшение психического здоровья и активности ЦНС – преимущественно приподнятое настроение, отсутствие апатии и пониженная раздражительность.

Исходя из наблюдения за испытуемыми, были составлены следующие рекомендации по профилактике гиповитаминоза D: после восполнения недостаточности или дефицита следует принимать поддерживающие дозы колекальциферола или эргокальциферола в дозе не менее 1000–2000 МЕ ежедневно или 6000-14000 МЕ еженедельно постоянно без перерыва на летние месяцы; необходимо чаще гулять на свежем воздухе, быть физически активными (хотя бы 30 минут в день 5 раз в неделю) и следить, чтобы в рационе присутствовали полезные продукты, в том числе, содержащие витамин D.

**Заключение.** Адекватная обеспеченность витамином D принципиально важна для поддержания здоровья людей всех возрастов. В дополнение к воздействию, которое витамин D оказывает на опорно-двигательный аппарат, в настоящее время он играет важную роль в поддержании иммунитета, психического здоровья и общей продолжительности жизни населения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Никитина. И.Л. Дефицит витамина D и здоровье / И.Л. Никитина, Т.Л. Каронова, Е.Н. Гринёва // Артериальная гипертензия. – 2010. – Т. 16, № 3. – С. 277-281. <https://doi.org/10.18705/1607-419X-2010-16-3-277-281>
2. Скрипникова. И.А. Диагностика, лечение и профилактика дефицита витамина D / И.А. Скрипникова, М. Ю. Сорокин // Остеопороз и остеопатии. – 2012. - Т. 15, № 1. – С. 34-37. <https://doi.org/10.14341/osteo2012134-37>
3. Общественная организация «Российская ассоциация эндокринологов». Клинические рекомендации «Дефицит витамина D». – М, 2021 г.
4. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых / Е. А. Пигарова. [и соавт.] // Проблемы эндокринологии. – 2016. – Т. 62. – №. 4. – 60-85.
5. Мальцев, С.В. Метаболизм витамина D и пути реализации его основных функций / С.В. Мальцев, Г.Ш. Мансурова // Практическая медицина. - 2014. - №1. – С. 12-18.

## КОРРЕКЦИЯ ИЗМЕНЕНИЙ АКТИВНОСТИ ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ И СОДЕРЖАНИЯ НЕБЕЛКОВЫХ SH-СОЕДИНЕНИЙ В ЛЕГКИХ НОВОРОЖДЕННЫХ ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРОКСИЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЛЬФА-ТОКОФЕРОЛА И N-АЦЕТИЛЦИСТЕИНА

Рутковская Ж. А., Котович И. Л., Матюхевич А. С., Саттаров Р. М.,  
Таганович А. Д.

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Республика Беларусь*

**Актуальность.** Одной из причин развития бронхолегочной дисплазии (БЛД) – полиэтиологического хронического заболевания незрелых легочных структур, возникающего при оксигенотерапии недоношенных новорожденных - является дефицит антиоксидантных систем, в том числе и системы глутатион/глутатионзависимые ферменты. Компонентами этой системы являются трипептид глутатион и ферменты глутатионпероксидаза (ГП) и глутатионредуктаза. Глутатионпероксидаза представлена 7 изоферментами, содержащими в своем составе атом селена. Этот фермент катализирует реакцию превращения восстановленной формы глутатиона в окисленную дисульфидную, в результате которой пероксид водорода и липидные гидроперекиси восстанавливаются до воды или гидроксипроизводных [1]. Глутатион является многофункциональной молекулой и участвует в регуляции апоптоза и метаболизме ксенобиотиков и метаболитов клетки. Однако его основной ролью является антиоксидантная защита клеток как в качестве кофактора глутатионпероксидазы (ферментативная антиоксидантная защита), так и самостоятельно (неферментативно) благодаря наличию тиольной группы [2].

У новорожденных детей концентрация ГП и восстановленного глутатиона низкая, следовательно клеточные структуры легких плохо защищены от воздействия активных форм кислорода [3]. Установлено, что дефицит антиоксидантов приводит к избыточному образованию активных форм кислорода и усугубляет острое гипероксическое повреждение легких, связанное с повышенным окислительным стрессом и воспалением [4].

Патогенетически обусловленной является коррекция изменений глутатионовой антиоксидантной системы в условиях гипероксии с использованием антиоксидантов. Для эффективной доставки препаратов в ткань легкого использовали липосомы и ингаляционный способ введения препаратов.

**Цель** – сравнить влияние липосом, содержащих альфа-токоферол или N-ацетилцистеин, на активность ГП и содержание небелковых SH-соединений в бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) новорожденных морских свинок в условиях гипероксии.

**Материалы и методы исследования.** Для проведения эксперимента использовались новорожденные морские свинки, находящиеся на стандартном рационе вивария БГМУ. В ходе исследования строго соблюдались требования биомедицинской этики. Было сформировано 6 групп животных: первая группа – контрольная – дышали обычным воздухом, вторая – животные находились в условиях гипероксии, третья – дышали обычным воздухом и получали липосомы с токоферолом, четвертая – находились в условиях гипероксии и получали липосомы с альфа-токоферолом, пятая - дышали обычным воздухом и получали липосомы с N-ацетилцистеином (N-АЦ), шестая - получали N-ацетилцистеин в составе липосом в условиях гипероксии.

Для создания условий гипероксии животных в течение суток после рождения помещали в плексигласовую камеру, в которую постоянно подавали кислород (70%). Длительность воздействия гипероксии составляла 3 суток и 14 суток. Введение липосом осуществляли с помощью небулайзера Comp Air. Для ингаляций применяли липосомы с N-АЦ (250 мг/кг) или альфа-токоферолом (12,5 мг/кг). Для приготовления липосом использовали L- $\alpha$ - ДПФХ (50 мг/кг).

По окончании эксперимента животных наркотизировали тиопенталом натрия (15 мг/кг) и для исследования получали бесклеточный супернатант БАЛЖ, в котором определяли активность ГП, содержание восстановленного глутатиона и других небелковых SH-соединений.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 6,0. Значения коэффициентов считали статистически значимыми при уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** После воздействия гипероксии в течение 3 суток активность ГП снизилась на 57% ( $p < 0,05$ ), а после 14 суток воздействия – на 69% ( $p < 0,05$ ).

Ингаляционное введение липосом, содержащих токоферол, приводило к статистически значимому увеличению активности ГП в БАЛЖ в 4 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой «гипероксия без коррекции». Использование препарата N-АЦ увеличило активность фермента в меньшей степени - в 2 раза ( $p < 0,05$ ). Такие различия, по нашему мнению, могут быть обусловлены тем, что, как

известно из литературы, витамин Е является индуктором синтеза данного фермента и способствует включению селена в состав активного центра ГП [5].

Длительная экспериментальная гипероксия (14 суток) приводит к постепенному истощению антиоксидантных систем, что сопровождается уменьшением содержания глутатиона и других небелковых SH-соединений в легких новорожденных животных более чем на 32% ( $p < 0,05$ ).

Некоторые литературные источники приводят данные о том, что N-АЦ не способен противодействовать неблагоприятному влиянию пероксида водорода, супероксид аниона, но эффективен против действия радикалов оксида азота и гипогалогеновых кислот [6].

Антиоксидантные свойства токоферола, как правило, связаны с наличием в его структуре гидроксильной группы фенолов с подвижным атомом водорода, способным связываться с пероксид-радикалами [5].

Введение липосом, содержащих витамин Е или N-АЦ, эффективно корригирует уровень небелковых SH-соединений, что выражается в увеличении их количества 1,5 и 1,3 раза соответственно ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой «гипероксия без коррекции».

Вероятно, прямой антиоксидантный эффект N-АЦ не так важен, как роль предшественника глутатиона. N-ацетилцистеин способен пополнять пул глутатиона при его истощении, параллельно осуществляя функции прямого антиоксиданта для некоторых соединений.

В литературе описано, что токоферол индуцирует ферменты (глутатионпероксидаза, гамма-глутамилцистеинлигаза), участвующие в процессе внутриклеточного синтеза глутатиона, и снижает скорость окисления небелковых SH-соединений [5]. Внутриклеточный глутатион подавляет выработку медиаторов воспаления, препятствует прямому повреждению легочной ткани под влиянием свободнорадикальных реакций.

Таким образом, использование липосом с токоферолом или N-АЦ способствует восстановлению содержания внутриклеточного глутатиона и повышению активности ГП у новорожденных морских свинок в условиях длительной гипероксии.

**Выводы.** Длительная гипероксия приводит к постепенному истощению антиоксидантной системы глутатиона. Альфа-токоферол в составе липосом эффективнее по сравнению с N-ацетилцистеином корригирует активность глутатионпероксидазы в БАЛЖ. И альфа-токоферол и N-АЦ в равной степени увеличивают содержание глутатиона и небелковых SH-соединений в легких новорожденных морских свинок.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Меньщикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К. и др. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2006. 556 с.
2. Борисенок О. А., Бушма М. И., Басалай О. Н., Радковец А. Ю. Биологическая роль глутатиона // Медицинские новости. 2019. №7 (298).
3. Павлинова Е. Б. Бронхолегочная дисплазия: современное состояние проблемы / Павлинова Е. Б. // Омский научный вестник. – 2011. - № 1. – С. 37–40.

4. Severe Vitamin E deficiency exacerbates acute hyperoxic lung injury associated with increased oxidative stress and inflammation / Yamaoka S., Kim H. S., Ogihara T., Oue S., Takitani K., Yoshida Y., & Tamai H. // Free radical research. – 2008. – № 42(6). – P. 602–612.

5. Морозкина Т. С., Мойсеёнок А. Г. Витамины. – Минск: Асар, 2002. – С. 66–72.

6. Aldini G., Altomare A., Baron G. et al. N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why, Free Radical Research, 2018 Jul, 52:7, 751-762.

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МОЛЕКУЛЫ С3А С СИНТЕТИЧЕСКИМИ ПЕПТИДАМИ *IN VITRO*

Рябцева Т.В.<sup>1</sup>, Макаревич Д. А.<sup>2</sup>, Мартинович В.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный медицинский университет;

<sup>2</sup>ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси»,  
г. Минск, Республика Беларусь

**Актуальность.** Короткие пептиды обладают такими преимуществами как простой и экономичный синтез, высокая механическая стабильность и низкая иммуногенность [1,2,3]. Так как затраты на производство и контроль чистоты повышаются с увеличением длины пептида, то пептиды из 3-5 аминокислотных остатков являются отличной альтернативой полипептидам. Примером успешного применения ультракоротких пептидов можно назвать флуоренилметоксикарбонил-дифенилаланин, который обладает антимикробной активностью [4] и применяется для ускорения регенерации поврежденных тканей [5]. Короткие пептиды широко используются в качестве биосенсоров для диагностики и лечения различных заболеваний [6–7]. Таким образом, исследования свойств коротких пептиды является актуальной задачей биохимии и характеризуются высокой практической значимостью.

Методом молекулярного докинга была изучена энергетическая эффективность комплексов С3а компонента комплемента с трипептидами, являющимися структурными аналогами рецептора С3аR. В результате были отобраны наиболее перспективные для химического синтеза трипептиды, комплексы которых с С3а характеризовались максимальными модулями свободной энергии связывания.

**Целью** данного исследования являлась оценка эффективности взаимодействия синтетических трипептидов с С3а компонентом комплемента *in vitro*.

**Материалы и методы исследования.** Для экспериментов в лаборатории прикладной биохимии Института биоорганической химии НАН Беларуси синтезировали оригинальные трипептиды: Pro-Trp-Asn, Gly-Gln-Trp, Trp-Pro-Tyr. Для проведения экспериментов ацилированные пептиды иммобилизовали путем адсорбции на дне 96-луночных планшетов. Блокировку планшетов осуществляли при помощи PBS буфера с 0,05% Твин-20. Концентрацию С3а определяли иммуноферментным методом, используя наборы реагентов

(Elabscience, Китай). Используя реактивы набора для иммуноферментного анализа, определяли концентрацию С3а в лунках с пептидом, без пептида и с адсорбированными моноклональными антителами к С3а. На основании изменения концентрации компонента системы комплемента делали вывод о взаимодействии олигопептида с С3а. Результаты представляли в виде медианы и интерквартильного размаха (25-75%). Анализ результатов экспериментальных исследований осуществляли непараметрическими методами статистики с использованием пакета статистического анализа данных Statistica10.0 («StatSoft Inc.», США).

**Результаты и обсуждение.** Результаты оптической плотности раствора в лунке с адсорбированными пептидами после проведения иммуноферментного определения С3а указывают на то, что молекулы компонента комплемента прочно связываются с трипептидами и не удаляются во время этапов промывки. Оптическая плотность раствора нарастает при увеличении концентрации С3а в растворе, добавляемом в лунки. Наиболее интенсивное нарастание оптической плотности среди исследованных пептидов наблюдали в лунках с адсорбированным Gly-Gln-Trp, с 0,065 у.е. до 1,326 у.е. (таблица 1). Однако оно было меньше, чем в лунках с адсорбированными моноклональными антителами (МАТ).

Таблица 1 – Изменение оптической плотности раствора в лунке с адсорбированными трипептидами после добавления раствора С3а в результате иммуноферментного анализа

Концентрация С3а, добавляемого в лунку, нг/мл	Pro-Trp-Asn	Gly-Gln-Trp	Trp-Pro-Tyr	МАТ
20	1,152 (1,118;1,163)	1,326 (1,302;1,344)	1,124 (1,092;1,167)	2,641 (2,597;2,690)
10	0,956 (0,923;0,971)	1,129 (1,101;1,138)	0,963 (0,932;0,978)	1,455 (1,414;1,469)
5	0,303 (0,289;0,313)	0,481 (0,457;0,495)	0,377 (0,348;0,389)	0,603 (0,583;0,624)
2,5	0,231 (0,207;0,243)	0,242 (0,217;0,273)	0,205 (0,191;0,219)	0,284 (0,265;0,301)
1,25	0,120 (0,111;0,126)	0,153 (0,141;0,175)	0,142 (0,134;0,155)	0,160 (0,152;0,177)
0,625	0,052 (0,047;0,059)	0,063 (0,059;0,070)	0,051 (0,043;0,055)	0,064 (0,060;0,073)
0	0,006 (0,005;0,007)	0,007 (0,005;0,007)	0,007 (0,006;0,008)	0,006 (0,005;0,009)

Если принять оптическую плотность в лунках с МАТ за 100%, то можно рассчитать процент связывания для каждого пептида. Процент связывания С3а с трипептидами увеличивается при увеличении концентрации компонента комплемента до 5 нг/мл. Затем процент связывания снижается, что может

свидетельствовать о насыщении всех доступных для С3а трипептидов, так как при адсорбции пептида в одной плоскости (на дне лунки) существуют определённые стерические препятствия.

Все три пептида показали высокую эффективность связывания с С3а компонентом комплемента. Трипептид Gly-Gln-Trp связывает наибольшее количество молекул С3а по сравнению с другими пептидами, что соотносится с данными молекулярного докинга. Модуль свободной энергии связывания С3а с данным пептидом превышает значения двух других исследуемых пептидов.

Таблица 2 – Процент связывания С3а с адсорбированными на полистироле трипептидами

Концентрация С3а, добавляемого в лунку, нг/мл	Процент связывания С3а, %		
	Pro-Trp-Asn	Gly-Gln-Trp	Trp-Pro-Tyr
20	43,61 (41,89;45,19)	50,20 (48,05;53,37)	42,55 (40,83;43,91)
10	65,70 (62,81; 68,03)	77,59 (75,24;79,53)	66,18 (65,01;68,27)
5	50,24 (48,19;53,72)	79,76 (77,40;81,39)	62,52 (60,49;65,27)
2,5	81,33 (80,89;84,26)	85,21 (82,56;86,52)	72,18 (70,66;73,85)
1,25	75,00 (74,18;76,39)	95,62 (94,71;96,88)	88,75 (87,09;89,32)
0,625	81,25 (80,61;82,94)	98,40 (97,54;98,90)	79,68 (77,91;80,34)

**Выводы.** Адсорбированные на полистироле трипептиды Pro-Trp-Asn, Gly-Gln-Trp, Trp-Pro-Tyr эффективно связывают С3а компонент комплемента. Gly-Gln-Trp является наиболее эффективным из исследуемых пептидов, так как процент связывания с С3а компонентом комплемента составил 98,4%. Однако для повышения количества связанного с пептидом компонента комплемента необходимо использование носителя, обеспечивающего более высокую стерическую доступность пептидов для взаимодействия с С3а.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Morimoto, B. H. Therapeutic peptides for CNS indications: Progress and challenges / B. H. Morimoto // *Bioorganic & medicinal chemistry*. – 2018. – Vol. 26, N 10. – P. 2859-2862.
2. Systematic moiety variations of ultrashort peptides produce profound effects on self-assembly, nanostructure formation, hydrogelation, and phase transition / K.H. Chan [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7. – P.12897–12908.
3. Ni, M. Ultrashort peptides: Minimum number in amino acid residues, maximum number in bioapplications / *Revistabionatura*. – 2019. – Vol 4. – P. 763–764.

4. Self-assembling, ultrashort peptide gels as antimicrobial biomaterials / I. Kurbasic [et al.] // Curr. Top. Med. Chem. – 2020. – Vol 20. – P. 1300–1309.
5. Yadav, N. Short to ultrashort peptide-based hydrogels as a platform for biomedical applications // N. Yadav, M.K. Chauhan, V.S. Chauhan // Biomater. Sci. – 2020. – Vol. 8. – P. 84–100.
6. Agarwal, G. Antiviral peptides: Identification and validation / Agarwal, G.; Gabrani, R. // Int. J. Pept. Res. Ther. – 2020. – Vol. 18. – P. 1–20.
7. The pH-dependent bilayer destabilization by an amphipathic peptide / N. K. Subbarao [et al.] // Biochemistry. – 1987. – Vol. 26. P. 2964–2972.

## **ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ 48-МИНУТНЫХ УЛЬТРАДИАННЫХ БИОРИТМОВ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КРЫС В ТЕСТЕ АКТОМЕТРИИ В УСЛОВИЯХ «ИНЪЕКЦИОННОГО» СТРЕССА**

**Саванец О.Н.**

*«Институт биоорганической химии НАН Беларуси»,  
г. Минск, Республика Беларусь*

**Актуальность.** Недостаточная эффективность традиционной фармакотерапии в клинике нервных и психических заболеваний стимулирует к поиску новых лекарственных препаратов [3]. Немаловажным фактором может служить внедрение хронофармакологических подходов, которые будут способствовать более полному пониманию механизмов действия тех или иных лекарственных средств [2]. Ранее были показаны особенности ультрадианных 24-, 12-, 6-минутных колебательных процессов на фоне стрессирующих воздействий у мышей [4].

**Цель.** Изучение ультрадианных биоритмов с 48-минутной гармоникой горизонтальной (ГДА) и вертикальной (ВДА) двигательной активности крыс в тесте актометрии в условиях «инъекционного» стресса.

**Материалы и методы исследования.** Эксперименты проводились с использованием лабораторных крыс-самцов Wistar. Определение двигательной активности (ГДА и ВДА) животных проводили в 2 этапа: адаптация к экспериментальной камере в течение 30 мин (для исключения ориентировочной компоненты двигательной активности) и тестирование (через два часа после адаптации) на протяжении 30 мин с поминутной регистрацией активности. Показатели локомоторной (ГДА) и исследовательско-ориентировочной (ВДА) активности определяли с помощью многоканального регистратора «Activity Cages» в условиях высадки животных поодиночке.

До адаптации крысы (n=16) 6-кратно интрагастрально (и/г) получали воду для инъекций, на этапе тестирования осуществлялось 7 введение растворителя животным.

Обработка данных осуществлялась методом косинор-анализа двумя способами: а) 30 интервалов наблюдения по 1 минуте; б) 15 интервалов наблюдения продолжительностью 2 минуты каждый. Определяли параметры, необходимые для построения эллипсов ошибок, а также амплитуду ритма (A),

акрофазу ( $\phi$ ), и мезор ( $h$ ). Наличие или отсутствие статистически достоверных 6-, 12-, 24-, 48-минутных ритмов ( $p < 0,05$ ) определялось графически: существование ритмов считали доказанным, если эллипс не перекрывал начало системы координат. Обработку результатов осуществляли с помощью программного обеспечения Biostat 4.03, Cosinor 2.5 для Excel, CorelDRAW.

**Результаты и обсуждение.** *Горизонтальная двигательная активность.* На этапе адаптации у животных были отмечены статистически значимые 48- и 24-минутные ритмы локомоторной активности. При повторной высадке крыс в камеры актометра были выявлены только ритмы с 48-минутной гармоникой: исчезновение короткопериодных флюктуаций локомоторной активности свидетельствовало об отсутствии стрессорного напряжения [1]. Пребывание в знакомых условиях способствовало достоверному падению амплитуды 48-минутного ритма, а также снижению мезора для всех гармоник ритма (табл. 1), что может быть следствием ослабления исследовательско-ориентировочной реакции в результате оценки животным окружающей обстановки, как не имеющей биологического значения [6].

Таблица 1. – Особенности ультрадианных ритмов локомоторной активности крыс-самцов Wistar на фоне 7-кратного «инъекционного» стресса

Показатель			Условия эксперимента	
			Адаптация	Тестирование
			Группа (n=16)	
ГДА	48 мин	$h$	51,6±6,2	24,4±2,8*
		$A; \phi$	27,4; -0,2	11,8*; 2,7
		$P$	$p < 0,05$	$p < 0,05$
	24 мин	$h$	24,3±2,5	14,5±1,3*
		$A; \phi$	12,1; 5,2	4,0; 7,4
		$P$	$p < 0,05$	-
	12 мин	$h$	24,0±2,5	14,5±1,3*
		$A; \phi$	4,1; 4,0	1,4; 3,9
		$P$	-	-
	6 мин	$h$	23,9±2,4	14,4±1,3*
		$A; \phi$	2,3; 3,9	2,2; 3,1
		$P$	-	-

Примечание:  $P$  – статистически значимые эллипсы ошибок; \* – различия статистически значимы с этапом адаптации,  $p < 0,05$ , критерий Уилкоксона

*Вертикальная двигательная активность.* Вертикальную двигательную активность животных можно рассматривать как индикатор тревожного поведения [5]. В условиях эксперимента при первом ознакомлении с камерой у животных присутствовали достоверные 24- и 48 минутные ритмы исследовательско-ориентировочной активности, что свидетельствует о повышенной реактивности на новые условия. При повторном тестировании отмечены достоверное снижение мезора и элиминация ультрадианных ритмов всех гармоник, что может указывать на снижение уровня тревожности. Не

исключено, что указанные изменения могут быть связаны не только со снижением уровня тревожности, но и с уменьшением активности в дневные часы грызунов, ведущих преимущественно ночной образ жизни [1].

Таблица 2. – Особенности ультрадианных ритмов исследовательско-ориентировочной активности крыс-самцов Wistar на фоне 7-кратного «инъекционного» стресса

Показатель		Условия эксперимента		
		Адаптация		Тестирование
		Группа (n=16)		
ВДА	48 мин	<i>h</i>	48,5±6,2	22,5±3,7*
		<i>A; φ</i>	24,8; -0,7	8,8; 2,6
		<i>P</i>	$p < 0,05$	-
	24 мин	<i>h</i>	22,1±2,6	12,5±1,4*
		<i>A; φ</i>	11,4; 5,0	3,1; 8,8
		<i>P</i>	$p < 0,05$	-
	12 мин	<i>h</i>	21,8±2,6	12,6±1,4*
		<i>A; φ</i>	4,0; 4,3	2,0; 4,2
		<i>P</i>	-	-
	6 мин	<i>h</i>	21,8±2,5	12,5±1,4*
		<i>A; φ</i>	1,9; 3,6	2,4; 3,5
		<i>P</i>	-	-

Примечание: то же, что и для таблицы 1.

Дополнительного изучения требуют особенности ультрадианных колебаний в различное время суток, так как имеет место различное поведение животных в утренние, дневные и ночные часы [1].

**Выводы.** Подходы к изучению особенностей 48-минутных ультрадианных биоритмов двигательной активности крыс в тесте актометрии способствует более полной оценке поведенческих реакций животных в условиях «инъекционного» стресса. Данная методика может быть применима при изучении лекарственных средств с анксиолитическим, адаптогенным и ноотропным, хронотропным эффектами.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Арушанян, Э. Б. Хронотипические особенности циркадианной локомоции у крыс / Э. Б. Арушанян, А. В. Попов // Мед. вестник Сев. Кавказа–2006. – № 2. – С. 58–61.
2. Булгакова, А. С. Хронофармакологические аспекты действия анксиолитических средств : автореф. дисс. ... канд. биол. наук :14.03.06 / А. С. Булгакова; Ставроп. гос. мед. академия. М., – 2012. – 22 с.
3. Воронина, Т.А. Перспективы поиска новых анксиолитиков / Т.А. Воронина, С.Б. Середенин // Эксперим. и клинич. фармакология– 2002. – Т. 65, № 5. – С. 4–17.

4. Кравченко, Е. В. Регуляция ультрадианных ритмов поведенческой активности олигопептидами, структурно родственными окситоцину / Е. В. Кравченко, Н. А. Бизунок, Б. В. Дубовик // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2021. – Т. 65, № 2. – С. 191–198.

5. Максимова, Л. В. Влияние генетически обусловленного уровня тревожности на неассоциативное обучение животных / Л. В. Максимова // Вестник БГУ. – 2008. – Т. 2, № 3. – С. 54–58.

6. Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств с ноотропным типом действия. / Т. А. Воронина [и др.] // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. А. Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – Гл. 17. – С. 276–296.

## **ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЛИТИЯ ТАУРАТА И ЛИТИЯ КАРБОНАТА НА УЛЬТРАДИАННЫЕ БИОРИТМЫ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ В ТЕСТЕ АКТОМЕТРИИ**

**Саванец О.Н.<sup>1</sup>, Кравченко Е.В.<sup>1</sup>, Ольгомец Л.М.<sup>1</sup>, Зильберман Р.Д.<sup>1</sup>, Каранкевич Е.Г.<sup>2</sup>, Куваева З.И.<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси;*

*<sup>2</sup>Институт физико-органической химии НАН Беларуси,  
г. Минск, Республика Беларусь*

**Актуальность.** Биполярное аффективное расстройство (БАР) является хроническим рецидивирующим заболеванием из категории психических расстройств аффективной сферы. Распространенность БАР по зарубежным данным составляет от 0,5 до 2% (в среднем около 1%), риск развития в течение жизни достигает 5%, а с учетом субсиндромальных форм – до 12 % [2]. Соли лития включены в клинические рекомендации последних лет при терапии БАР [2]. Тест актометрии позволяет выявить общее депримирующее действие [1]. В то же время он не является специфическим, поскольку вещества различных фармакологических групп (снотворные, седативные, транквилизаторы, нейролептики) способны угнетать ориентировочно-двигательную реакцию и локомоторную активность животных [1]. Актуальными и перспективными являются разработка отечественного препарата на основе органической соли лития и его максимально полное фармакологическое исследование, в том числе – с использованием новых методических подходов. Целесообразно применение нового хронофармакологического подхода к оценке эффектов солей лития с использованием данных актометрии.

**Цель.** Изучение влияния лития таурата (ЛТ) и лития карбоната (ЛК) на 48-минутные биоритмы двигательной активности в тесте актометрии.

**Материалы и методы исследования.** Эксперименты по сравнительной оценке ЛТ и ЛК проводились в условиях актометрии с использованием лабораторных крыс-самцов Wistar. Определение двигательной активности (горизонтальная двигательная активность – ГДА; вертикальная двигательная активность – ВДА) животных проводили в 2 этапа: адаптация к

экспериментальной камере в течение 30 мин (для исключения ориентировочной компоненты двигательной активности) и тестирование на протяжении 30 мин с поминутной регистрацией активности. Целесообразно было использование нового подхода к оценке психотропных эффектов обеих солей лития – изучение их хронофармакологического действия в отношении 48-минутных ультрадианных ритмов. Показатели локомоторной и исследовательско-ориентировочной активности определяли с помощью многоканального регистратора «Activity Cages» с вертикальными и горизонтальными ИК-сенсорами «Ugo Basile» (Италия). Крыс размещали поодиночке в камерах размером 41 см × 44 см × 32 см.

Крысам контрольной группы (КГ) интрагастрально (и/г) вводили воду для инъекций (ОАО «Несвижский завод медицинских препаратов», РБ; годен до 01.05.2025); животным основных групп назначали лития таурат – ЛТ (субстанция, ИФОХ НАН Беларуси, РБ, с. 280722) в дозах 1,0; 2,0 и 3,0 мЭкв/кг соответственно; лития карбонат – ЛК (литий углекислый, х. ч., ТУ 6-09-3728-83) в дозах 1,0; 2,0 и 3,0 мЭкв/кг соответственно. Введение образцов осуществлялось 6-кратно (на этапе адаптации) или 7-кратно (на этапе тестирования).

Обработка данных, представленных за 15 интервалов наблюдения продолжительностью 2 минуты каждый, осуществлялась методом косинор-анализа. Определяли параметры, необходимые для построения эллипсов ошибок, а также амплитуду ритма ( $A$ ), акрофазу ( $\phi$ ), и мезор ( $h$ ). Наличие или отсутствие статистически достоверных 48-минутных ритмов ( $p < 0,05$ ) определялось графически: существование ритмов считали доказанным, если эллипс не перекрывал начало системы координат. Обработку результатов осуществляли с помощью программного обеспечения Biostat 4.03, Cosinor 2.5 для Excel, CorelDRAW.

**Результаты и обсуждение.** На этапе адаптации у животных КГ были отмечены статистически значимые 48-минутные ритмы ГДА и ВДА. ЛТ и ЛК в дозах 2,0 и 3,0, но не 1,0 мЭкв/кг, устраняли достоверные ритмы локомоторной активности, что может являться следствием выраженного депримирующего действия солей лития в указанных дозах [5]. Субстанция ЛТ в дозах 2,0 и 3,0 мЭкв/кг способствовала элиминации ритмов исследовательско-ориентировочной активности, субстанция ЛК устраняла ритмы ВДА только в дозе 3,0 мЭкв/кг (табл. 1).

Мезор статистически значимых 48-минутных ритмов ГДА достоверно снижался при применении ЛТ и ЛК в дозе 1,0 мЭкв/кг. Применение ЛТ в дозе 1,0 мЭкв/кг и ЛК в дозе 2,0 мЭкв/кг способствовало снижению значений мезора ВДА ( $p < 0,05$ ). Эти изменения  $h$  ГДА и ВДА, по-видимому, связаны со снижением реактивности в отношении внешних стимулов, характерных для солей лития [5]. Отмечено снижение амплитуды достоверных ритмов ВДА с 48-минутной гармоникой ( $p < 0,05$ ) на фоне введения ЛК 2,0 и 3,0 мЭкв/кг. Показатель  $\phi$  на обоих этапах исследования не претерпел существенных изменений под действием тестируемых образцов.

Таблица 1. – Влияние 7-кратного интрагастрального введения лития таурата и лития карбоната в дозах 1,0; 2,0 и 3,0 мЭкв/кг на параметры 48-минутных ритмов ГДА и ВДА крыс-самцов Wistar

<b>АДАПТАЦИЯ</b>								
Группа, доза (мЭкв/кг)	ГДА				ВДА			
	<i>h</i>	<i>A</i>	$\varphi$	<i>p</i>	<i>h</i>	<i>A</i>	$\varphi$	<i>p</i>
КГ	51,6±6,2	27,4	-0,2	$p<0,05$	48,5±6,2	24,8	-0,7	$p<0,05$
ЛТ 1,0	28,5±6,0*	13,4	2,5	$p<0,05$	23,2±4,7* <sup>0</sup>	11,8	4,3	$p<0,05$
ЛТ 2,0	35,3±5,7	16,7	-0,1	-	36,4±6,4	15,9	1,0	-
ЛТ 3,0	35,3±6,4	10,1	-2,8	-	26,9±4,9	4,5	-2,8	-
ЛК 1,0	29,6±5,0*	16,4	5,1	$p<0,05$	27,7±3,4	13,6*	5,2	$p<0,05$
ЛК 2,0	28,0±6,3 <sup>0</sup>	10,9	-0,6	-	25,5±6,0*	11,3*	0,5	$p<0,05$
ЛК 3,0	22,4±4,4 <sup>0</sup>	1,9	1,7	-	16,6±3,3 <sup>0</sup>	1,7	0,3	-
<b>ТЕСТИРОВАНИЕ</b>								
КГ	24,4±2,8 <sup>#</sup>	11,8	2,7	$p<0,05$	22,5±3,7 <sup>#</sup>	8,8	2,6	-
ЛТ 1,0	15,3±5,3 <sup>×</sup>	4,9	-5,1	$p<0,05$	17,5±5,7	5,3	-3,0	-
ЛТ 2,0	13,7±2,4	2,4	0,7	-	11,5±3,0	0,5	7,5	-
ЛТ 3,0	16,5±3,8	6,8	-2,3	-	13,1±3,8	5,4	-1,9	-
ЛК 1,0	22,3±4,6	10,9	-0,6	-	23,4±2,7	11,9	-1,3	$p<0,05$
ЛК 2,0	13,2±4,2	2,4	-0,1	-	13,1±4,2	3,1	-2,1	-
ЛК 3,0	11,7±3,1 <sup>0</sup>	2,3	3,9	-	9,7±2,8	1,6	8,6	-

Примечание: КГ – контрольная группа; ЛТ – лития таурат; ЛК – лития карбонат; *p* – статистически значимые эллипсы ошибок; различия статистически значимы: в сравнении с КГ:  $P<0,05$ , \* – критерий Крускалла-Уоллиса с последующей обработкой по критерию Данна (для групп, характеризующихся достоверными ритмами); то же, <sup>×</sup> – критерий Манна-Уитни; то же, <sup>0</sup> – критерий Крускалла-Уоллиса с последующей обработкой по критерию Данна (для всех исследуемых групп); различия статистически значимы в сравнении с этапом адаптации:  $P<0,05$ , <sup>#</sup> – критерий Уилкоксона

В условиях пост-адаптационного тестирования статистически значимые ритмы ГДА присутствовали в контроле и на фоне введения ЛТ (1,0 мЭкв/кг) – это означало, что на этапе тестирования, как и на этапе адаптации, органическая соль лития не вызывала «тонких» нарушений биоритмов, в то же время оказывала депримирующее действие, снижая мезор (на 37,3 % от уровня контроля,  $p<0,05$ ). ЛК, вводимый в той же дозе, с одной стороны, дизрегулировал ультрадианные ритмы локомоторной активности, с другой – не вызывал седации (снижение мезора на 8,6 % относительно контроля,  $p>0,05$ ).

Результаты проведенных экспериментов показали следующее: на этапах адаптации и тестирования ЛТ в дозе 1,0 мЭкв/кг, не нарушая «естественный» рисунок биоритмов ГДА и ВДА (повторяющий таковые на фоне введения растворителя), оказывал существенное успокаивающее действие. Напротив, ЛК в дозе 1,0 мЭкв/кг вызывал дизритмию на этапе «тестирование», что расценивалось

как побочное действие, тогда как целевого седативного эффекта не было выявлено (он проявлялся в существенно более высоких дозах 2,0 и 3,0 мЭкв/кг).

**Выводы.** Использование нового подхода к оценке изменений параметров 48-минутных ритмов двигательной активности на фоне применения солей лития в тесте актометрии позволяет более полно оценить хронотропные эффекты, неизменно сопровождающие основное фармакологическое действие указанных соединений [3]. Наиболее чувствительным показателем в выбранных нами экспериментальных условиях был мезор ГДА и ВДА.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Методические рекомендации по изучению нейролептической активности лекарственных средств / Р.У. Островская [и др.] // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – Гл. 15. – С. 251–263.

2. Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) and International Society for Bipolar Disorders (ISBD) 2018 guidelines for the management of patients with bipolar disorder // Lakshmi N Yatham [et al.] // Bipolar Disord. – 2018. – Vol. 20, No 2. – P. 97–170.

3. O'Donnell, K.C. The Behavioral Actions of Lithium in Rodent Models: Leads to Develop Novel Therapeutics / K.C. O'Donnell, T.D. Gould // Neurosci Biobehav Rev. – 2007. – Vol. 31, No 6. – P. 932–962.

## ИЗМЕНЕНИЯ В ПУЛЕ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЫ КРЫС ПРИ 28-ДНЕВНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

*Семенчук А.К.*

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

**Введение.** На фоне хронического употребления этанола развивается большое количество патологий, одной из которых является алкогольная миопатия. Симптомы мышечной слабости, затруднения при ходьбе, мышечные судороги у лиц, злоупотребляющих алкоголем, были установлены еще в конце 19 века американским доктором Дж. Джексоном. По современным данным, у 40-60% людей, неумеренно употребляющих спиртное, одним из наиболее распространенных повреждений мышечной ткани является алкогольная миопатия [1]. Несмотря на широкое распространение данной патологии, ее патогенетические механизмы до конца не выяснены, что вызывает сложности при постановке диагноза и подборе эффективной терапии.

Алкогольное поражение мышц является многофакторным заболеванием, механизм его возникновения сложен. Основным механизмом данного явления является длительный дисбаланс между накоплением и распадом белка в скелетных мышцах. При этом основным фактором, способствующим такому

состоянию, является снижение скорости синтеза мышечного белка. Показано, что хроническое употребление алкоголя снижает аутофосфорилирование mTOR (мишень рапамицина у млекопитающих), протеинкиназы, стимулирующей синтез белка [4, 5]. Помимо этого, ухудшается инициация кэп-зависимой трансляции мРНК и эффективность трансляции [5]. Высказываются предположения, что этанол может оказывать избирательное повреждающее воздействие на сократительные белки скелетных мышц, например на миозин [6]. Результаты исследований показали, что при хронической алкогольной миопатии определяющим является снижение синтеза белка, в то время как роль внутриклеточной деградации белка в развитии алкогольной миопатии изучена недостаточно и является предметом дискуссии [4].

В структуре белков, а также в пуле свободных аминокислот, особую группу составляют серосодержащие аминокислоты, принимающие непосредственное участие в формировании уровней организации белковых молекул, в процессах метилирования биологически важных соединений, а также в развитии ряда патологических процессов [2]. Влияние алкогольной интоксикации на концентрацию серосодержащих аминокислот в тканях на данный момент является предметом изучения.

**Материалы и методы исследования.** В эксперименте было использовано 20 белых беспородных крыс-самцов массой 180-220 г, находящихся на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. Моделирование хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) осуществлялось путем внутрижелудочного введения этанола в дозе 3,5 г/кг массы тела два раза в сутки в виде 25%-го раствора в течение 28 суток.

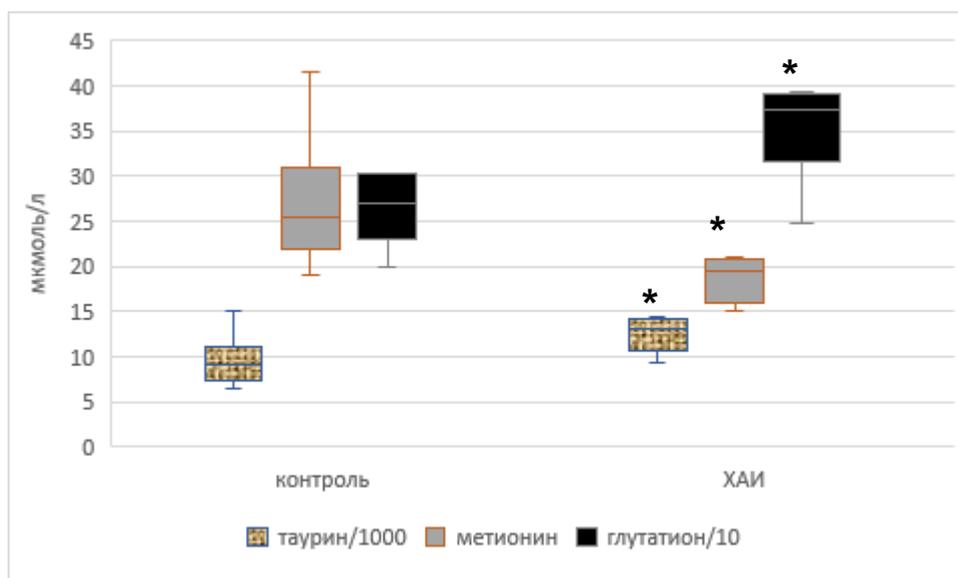
Животные контрольной группы внутрижелудочно дважды в сутки получали эквивалентные количества воды. Декапитацию проводили через 3 часа после последнего введения алкоголя или воды. При выполнении эксперимента придерживались правил и норм биоэтического обращения с экспериментальными животными.

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) [3].

Статистическую обработку данных проводили с помощью непараметрических методов анализа. 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.** 28-суточная хроническая алкогольная интоксикация в скелетной мускулатуре крыс привела к достоверному повышению содержания таурина (медианное значение отличается в 1,4 раза) и глутатиона (медианное значение так же отличается в

1,4 раза), но снижению уровня метионина (медианное значение отличается в 1,3 раза) по сравнению с контрольными значениями.



**Рисунок 1 – Концентрация таурина, метионина и глутатиона в скелетной мускулатуре крыс при хронической алкогольной интоксикации (мкмоль/л). Контроль: n=11, ХАИ: n=9**  
Примечание: :  $p < 0,05$  – \* - по отношению к контрольной группе

При этом концентрации серина и глицина, участвующих в процессе транссульфирования гомоцистеина в тканях, достоверно не изменялись. Однако глицин мог расходоваться на синтез глутатиона, уровень которого достоверно повышен, а уровень серина оставаться постоянным благодаря взаимопревращениям серин-глицин в реакции, катализируемой сериноксиметилтрансферазой. Содержание цистатионина так же достоверно не отличалось от контрольных значений.

Повышение содержания глутатиона наряду с повышением уровня таурина может свидетельствовать о некоторой активации процессов транссульфирования, так как концентрация цистатионина, хотя достоверно не изменялась, имела тенденцию к уменьшению.

В связи с этим можно предполагать, что повышение концентрации таурина в скелетной мускулатуре при ХАИ может свидетельствовать об усилении катаболизма серосодержащих соединений и их превращении в таурин через образование цистеинсульфиновой кислоты.

**Выводы.** 28-суточная хроническая алкогольная интоксикация в скелетной мускулатуре крыс вызвала сдвиги в пуле серосодержащих соединений, которые проявились в повышении содержания таурина и глутатиона, и снижении уровня метионина.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Казанцева Ю.В. Алкогольная миопатия: вопросы патогенеза и подходы к лечению/ Ю.В. Казанцева, Н.С. Щеглова, О.Е. Зиновьева // Эффективная фармакотерапия. Неврология и психиатрия. – 2012. – №3.
2. Наумов А.В. Гомоцистеин. Медико-биологические проблемы. Минск: Профессиональные издания, 2013. 312 с.
3. Новгородская, Я. И. Влияние метотрексата на пул низкомолекулярных серосодержащих соединений в головном мозге крыс / Я. И. Новгородская, М. Н. Курбат, Е. М. Дорошенко // Нейрохимия. – 2019. –Т. 36, № 2. – С. 164–169.
4. Simon L. Alcoholic myopathy: pathophysiologic mechanisms and clinical implications. / L. Simon, S. Jolley, P. Molina // Alcohol Research: Current Reviews. – 2017. – Vol. 38, No. 2. – p. 207-217.
5. Steiner J. L. Dysregulation of skeletal muscle protein metabolism by alcohol. / J. L. Steiner, Ch. H. Lang // Am J Physiol Endocrinol Metab. – 2015. – Vol. 1.308(9). – P. E699–E712.
6. The importance of alcohol-induced muscle disease / Preedy V.R. [et al.] // J. Muscle Res. Cell. Motil. – 2003. – Vol. 24. № 1. – P. 55–63.

## ТРАНСФОРМАЦИЯ ПУЛА СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ 28-ДНЕВНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

*Семенчук А.К.*

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

**Введение.** Последние десятилетия характеризуются высоким уровнем потребления алкоголя во многих странах, что выдвигает алкогольную зависимость на одно из ведущих мест среди причин, приносящих серьезный материальный и моральный ущерб. Определение вреда, причиненного употреблением алкоголя, усложняется многочисленными механизмами, посредством которых он влияет на здоровье. Как известно, здесь имеет место и прямое токсическое воздействие этанола на клетки и ткани и опосредованное влияние через трансформацию протекающих в организме биохимических процессов.

Для сохранения азотистого равновесия и поддержания здоровья человека необходимо нормальное функционирование систем белкового обмена, одним из компонентов которого являются аминокислоты. У взрослого человека при нормальной обеспеченности пищевым белком в норме поддерживается постоянная концентрация аминокислот в крови (0,5 г/л или около 2,5 г во всем объеме крови) [1]. Как было показано рядом исследований, алкоголь вызывает изменения в пуле свободных аминокислот плазмы крови, которые зависят от объема и характера употребления этанола [6]. В экспериментах на животных и

у человека показано, что хроническая алкогольная интоксикация (ХАИ) сопровождается увеличением способности печени элиминировать этанол, в результате чего многие фармакологические эффекты алкоголя либо нивелируются, либо уменьшаются [2]. Так же при ХАИ отмечается стойкий эффект уменьшения концентраций аминокислот в плазме крови через 1 ч после прекращения алкоголизации, сохраняющийся на 10-е сутки введения этанола в дозе 4,5 г/кг. При этом в аминокислотном пуле плазмы крови возрастает доля заменимых аминокислот (ЗА) [2]. В свете этого представляет интерес влияние длительности приема этанола на аминокислотный пул и возможность развития адаптационных механизмов.

В отдельную группу в пуле свободных аминокислот плазмы крови можно выделить серосодержащие аминокислоты, принимающие непосредственное участие в процессах метилирования и синтеза биологически важных соединений, а также в обезвреживании ряда токсических метаболитов [3]. Влияние алкогольной интоксикации на концентрацию серосодержащих аминокислот в тканях на данный момент является предметом изучения.

**Материалы и методы исследования.** В эксперименте было использовано 20 белых беспородных крыс-самцов массой 180-220 г, находящихся на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. Моделирование хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) осуществлялось путем внутрижелудочного введения этанола в дозе 3,5 г/кг массы тела два раза в сутки в виде 25%-го раствора в течение 28 суток.

Животные контрольной группы внутрижелудочно дважды в сутки получали эквивалентные количества воды. Декапитацию проводили через 3 часа 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). Определение SH-содержащих соединений (цистеина, гомоцистеина, цистеинилглицина и глутатиона) проводили с использованием предколоночной дериватизации с аммоний-7-фторбензол-2-оксо-1,3-диазола-4-сульфонатом (SBD-F) с последующим разделением полученных производных методом обращенно-фазной ВЭЖХ с изократическим элюированием и детектирование по флуоресценции. В качестве внутреннего стандарта использовали N-ацетилцистеин. Для восстановления тиолов из дисульфидов и высвобождения связанных с белками тиолов использовали трис-(карбоксиэтил)фосфин гидрохлорид (ТСЕР)[4].

Статистическую обработку данных проводили с помощью непараметрических методов. Результаты выражали в виде медианы (Me) и рассеяния (25 и 75 перцентилей). Для сравнения двух независимых выборок по количественным признакам использовали U-критерий Манна-Уитни, различия

считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . При этом использовали пакет статистических программ Statistica 10.0.

**Результаты исследования и их обсуждение.** При 28-суточной хронической алкогольной интоксикации в плазме крови крыс наблюдалось достоверное снижение концентрации целого ряда определяемых показателей. Это согласуется с данными других авторов, свидетельствующими об обеднении аминокислотного пула плазмы крови при ХАИ [2]. Так, в данной группе наблюдалось достоверное уменьшение концентрации метионина с 78,51 [68,49;83,44] до 50,91 [45,95; 57,37] мкмоль/л ( $p < 0,05$ ) и цистеина с 138,53 [100,67;145,67] до 60,3855 [55,80; 77,31] мкмоль/л ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контрольной группой. Снижение уровня метионина наблюдалось и в других тканях крыс при 28-суточной алкоголизации – в миокарде и скелетной мускулатуре, что было показано авторами в предыдущих публикациях [6]. Такое изменение уровня метионина может приводить к нарушению процессов метилирования, играющих важную роль в биосинтезе ряда биологически активных соединений.

В группе ХАИ достоверно снизился уровень  $\gamma$ -глутамилцистеина (с 6,26 [5,52; 6,37] до 3,8713 [3,61; 4,71] мкмоль/л ( $p < 0,05$ )), цистеинилглицина (с 3,80 [2,89; 4,35] до 1,95 [1,86; 2,43] мкмоль/л ( $p < 0,05$ )), уменьшилась концентрация глутатиона (с 61,74 [48,06; 73,04] до 41,53 [37,12; 45,14] мкмоль/л ( $p < 0,05$ )) в плазме крови крыс по отношению к контролю. Поскольку данные соединения являются основными метаболитами  $\gamma$ -глутамильного цикла, снижение их концентраций может свидетельствовать о нарушении процессов транспорта аминокислот через клеточные мембраны. Способность этанола и ацетальдегида влиять на перенос аминокислот через клеточные мембраны, индуцируя, таким образом, возникновение аминокислотного дисбаланса, отражена в ряде работ [1].

При этом 28-дневная ХАИ вызвала снижение уровня глутатиона в плазме крови, но его повышение в миокарде и скелетной мускулатуре [6], что может быть связано с развитием окислительного стресса, вызванного этанолом и продуктами его метаболизма.

Концентрация глицина в плазме крови при ХАИ достоверно не изменялась, но это может быть связано с взаимопревращениям серин-глицин в реакции, катализируемой сериноксиметилтрансферазой, так как уровень серина в плазме крови крыс данной группы понизился по сравнению с контролем (с 482,40 [457,00; 540,05] до 436,68 [366,40; 455,06] мкмоль/л ( $p < 0,05$ )).

В отличие от 14-суточной ХАИ, где уровень гомоцистеина в плазме крови был повышен [5], при 28-суточной ХАИ концентрация гомоцистеина снизилась с 5,14 [3,90; 5,16] до 2,90 [2,36; 3,43] мкмоль/л ( $p < 0,05$ ) по отношению к контролю. Это может быть связано с общим обеднением пула аминокислот в плазме крови при ХАИ, и, в частности, с уменьшением концентрации метионина.

**Выводы.** 28-суточная хроническая алкогольная интоксикация в плазме крови крыс привела к изменениям в пуле серосодержащих соединений, которые проявились в уменьшении концентрации серина, метионина, цистеина, гомоцистеина, цистеинилглицина,  $\gamma$ -глутамилцистеина, глутатиона.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Костюченко, Л. Н. Границы возможностей нутриционной поддержки при критических состояниях/ Л. Н. Костюченко // Приложение consilium medicum. Хирургия. – 2014г. – №2. – С. 25-32.
2. Лелевич, В. В. Состояние пула свободных аминокислот крови и печени при хронической алкогольной интоксикации / В. В. Лелевич, О. В. Артемова // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2010. – № 2. – С. 16–19.
3. Наумов, А.В. Гомоцистеин. Медико-биологические проблемы. Минск: Профессиональные издания, 2013. 312 с.
4. Новогродская, Я. И. Показатели фонда свободных аминокислот и их дериватов в плазме крови и печени крыс при введении тиацетамида / Я. И. Новогродская, М. Н. Курбат // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2021. – Т. 19, № 6. – С. 679–685.
5. Семенчук, А. К. Содержание серосодержащих аминокислот и родственных соединений в плазме крови крыс при различных типах алкогольной интоксикации / А.К. Семенчук, В.В. Лелевич // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2021. – Т. 19, № 2. – С. 170–175.
6. 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.

## ЗАКОНОМЕРНОСТИ СВЯЗЫВАНИЯ ФНО-АЛЬФА С ОЛИГОПЕПТИДАМИ С РАЗЛИЧНЫМ ЧИСЛОМ АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ

Смурага Д. Д., Рябцева Т. В., Таганович А. Д.

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Республика Беларусь*

**Актуальность.** Надсемейство фактора некроза опухоли (ФНО) включает 19 лигандов и 29 рецепторов и играет в организме разнообразную роль [1]. ФНО- $\alpha$  человека транслируется как белок массой 26 кДа, в котором отсутствует классический сигнальный пептид. Для биологической активности требуется тримеризация ФНО- $\alpha$ . Передача сигналов происходит за счет распознавания тримеров ФНО- $\alpha$  эндогенными рецепторами ФНО (TNFR) 1 и 2, которые образуют тримеры для образования комплекса с ФНО- $\alpha$  [2].

Большинство членов суперсемейства обладают как полезными, так и потенциально вредными эффектами [1]. ФНО- $\alpha$  относится к провоспалительным цитокинам и участвует в развитии цитокинового шторма. Цитокиновый шторм возникает, когда высвобождается слишком много провоспалительных цитокинов. Высвободившиеся в избыточном количестве цитокины провоцируют интерстициальное воспаление, эндотелиальное повреждение и активацию коагуляции, в патогенезе которой ключевая роль принадлежит тканевому фактору (ТФ). Гипервоспалительные реакции приводят к тканевым повреждениям,

нарушению эндотелиального барьера и неконтролируемой активацией коагуляции. Поскольку эндотелий ответственен за поддержание сосудистого тонуса и гомеостаза, его повреждение на различных уровнях может вызвать системную дисфункцию кровообращения, характеризующуюся сужением сосудов, с последующей ишемией пораженных органов и нарушением микроциркуляции. В результате ишемии происходит повреждение органов и тканей, что приводит к еще большему выбросу цитокинов [3].

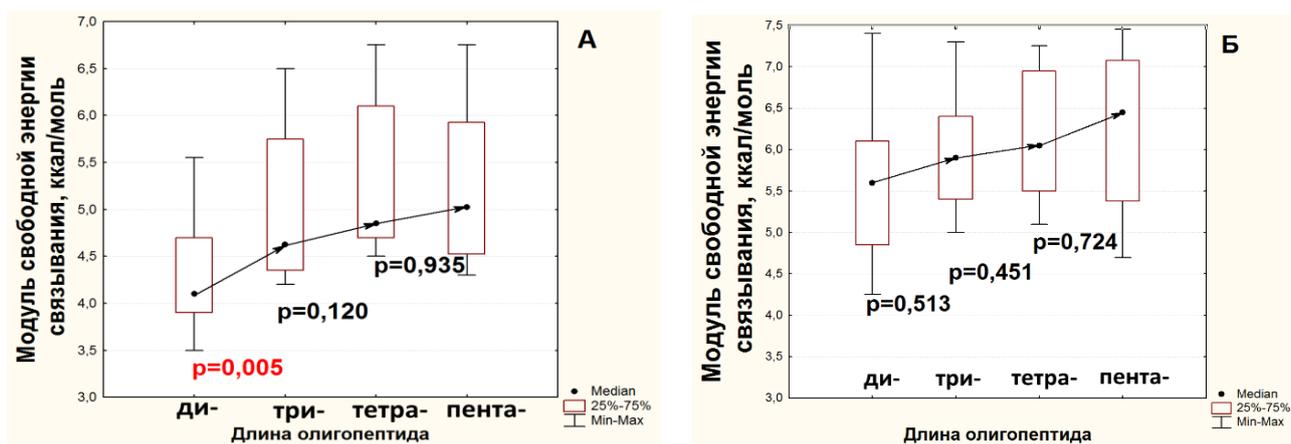
Таким образом, существует необходимость в разработке методов для снижения концентрации цитокинов при их чрезмерной продукции. В настоящее время для использования в клинике одобрено пять ингибиторов: инфликсимаб, адалимумаб и голимумаб, цертолизумаб пегол и этанерцепт. Однако антагонисты ФНО- $\alpha$  имеют ряд недостатков, таких как повышение риска микобактериальных и других внутриклеточных микробных инфекций; повышение риска развития злокачественных новообразований; анергия и риск развития хронических воспалительных заболеваний [2].

**Цель:** проанализировать энергию связывания ФНО- $\alpha$  с олигопептидами, являющимися аналогами цитокиносвязывающего домена рецептора TNFRSF1B *in silico*.

**Материалы и методы исследования.** Визуализацию молекулярных комплексов, работу с pdb-файлами и оценку свободной энергии связывания олигопептидов с цитокинами проводили с помощью программного обеспечения Chimera 1.14 с утилитой AutoDockVina. Для молекулярного докинга использовали pdb-файл 3ALQ. Результаты исследования обрабатывали непараметрическими методами статистики с использованием пакетов статистического анализа данных Statistica10.0. Для представления результатов рассчитывали медиану (Me) и интерквартильный размах (25 %; 75 %).

**Результаты и обсуждение.** На основании анализа трехмерной модели комплекса ФНО- $\alpha$  с рецептором TNFRSF1B выделили участок аминокислотной последовательности, обеспечивающий наиболее тесный контакт между цитокином и рецептором. Выделенная аминокислотная последовательность была разделена на олигопептиды, потенциально способные к взаимодействию с ФНО- $\alpha$ . Для ФНО- $\alpha$  сконструировали и исследовали *in silico* 54 олигопептида (15 ди-, 14 три-, 13 тетра- и 12 пентапептидов).

Для определения оптимальной длины олигопептида использовалось сравнение результатов измерения свободной энергии связывания ФНО- $\alpha$  с ди- и трипептидами, три- и тетрапептидами, тетра- и пентапептидами (метод Манна–Уитни).



**Рисунок 1 – Энергия связывания олигопептидов с мФНО- $\alpha$  (А) и трФНО- $\alpha$  (Б) в зависимости от количества аминокислотных остатков**

Максимальный модуль энергии связывания демонстрируют пентапептиды. Для связывания с мФНО- $\alpha$  он составил |5,0 (4,5; 5,9)| ккал/моль, а с трФНО- $\alpha$  – |6,5 (5,4; 7,1)| ккал/моль. Минимальный модуль энергии связывания был у дипептидов. Для связывания с мФНО- $\alpha$  он составил |4,1 (3,9; 4,6)| ккал/моль, а с трФНО- $\alpha$  – |5,6 (5,0; 6,1)| ккал/моль. Медиана свободной энергии связывания трФНО- $\alpha$  с дипептидами составила |5,6 (5,0; 6,1)| ккал/моль, с трипептидами – |5,9 (5,4; 6,3)| ккал/моль, с тетрапептидами – |6,1 (5,5; 7,0) ккал/моль, с пентапептидами - |6,5 (5,4; 7,1)| ккал/моль.

Результаты экспериментов показали, что по мере роста количества аминокислотных остатков в олигопептиде с двух до трех наблюдается увеличение эффективности связывания. Для взаимодействия олигопептидов с трФНО- $\alpha$ , несмотря на тенденцию к увеличению медианного значения энергии связывания в группах ди- и три-, три- и тетра-, тетра- и пентапептидов, статистически значимых различий обнаружено не было (рис. 1).

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что взаимодействие олигопептидов с трФНО- $\alpha$  энергетически выгоднее, чем с мФНО- $\alpha$ , и поэтому является приоритетным. Модуль энергии связывания, рассчитанный для взаимодействий трФНО- $\alpha$ , выше, чем модуль свободной энергии связывания для мФНО- $\alpha$  (табл. 1).

**Таблица 1 – Величина энергии связывания олигопептидов в зависимости от формы молекулы ФНО- $\alpha$  (мономер, тример)**

Длина олигопептида	Модуль свободной энергии связывания, ккал/моль		Разница энергии связывания, ккал/моль
	мФНО- $\alpha$	трФНО- $\alpha$	
Ди- (n=15)	4,1 (3,9; 4,7)	5,6 (4,9; 6,1)*	1,4 (1,0; 1,8)
Три- (n=14)	4,6 (4,4; 5,8)	5,9 (5,4; 6,4)*	1,0 (0,6; 1,3)
Тетра- (n=13)	4,9 (4,7; 6,1)	6,1 (5,5; 7,0)*	0,8 (0,5; 1,2)
Пентапептид (n=12)	5,0 (4,5; 5,9)	6,5 (5,4; 7,1)*	1,0 (0,4; 1,4)

Примечание – \* – разница между группами «мФНО- $\alpha$ » и «трФНО- $\alpha$ » статистически значима,  $p < 0,05$  (тест Манна–Уитни)

Разница в энергии связывания одинаковых олигопептидов с различными формами ФНО- $\alpha$  обусловлена различной энергией межмолекулярного взаимодействия тримера и мономера с олигопептидом.

**Выводы.** Оценка эффективности связывания олигопептидов с ФНО- $\alpha$  позволила установить особенности взаимодействия олигопептидов с провоспалительными цитокинами и определить наиболее перспективные олигопептиды для дальнейшего исследования. Полученные результаты показывают, что трипептиды являются оптимальными по длине для связывания с поверхностью молекулы цитокина. Тетрапептид Trp-Asn-Trp-Val, являющийся структурным аналогом цитокинсвязывающей области TNFRSF1B среди всех исследуемых олигопептидов имеет максимальное по модулю значение свободной энергии связывания с ФНО- $\alpha$  |7,2 (7,1; 7,5)| ккал/моль.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Kang S., Kishimoto T. TNF $\alpha$  and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s) // *Microscopy Research and Technique*. – 2000. – Vol. 50. – P. 184–195.
2. Aggarwal B. B., Gupta S.C., Kim J.H. Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey // *Blood*. – 2012. – Vol. 119, No. 3. – P. 651–665.
3. Tisoncik J.R., Korth M.J., Simmons C.P., Farrar J., Martin T.R., Katze M.G. Into the eye of the cytokine storm // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2012. – Vol. 76, No. 1. – P. 16–32.

### АМИНОКИСЛОТНЫЙ СПЕКТР КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ И СТВОЛА ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ЗИДОВУДИНА И S-АДЕНОЗИЛМЕТИОНИНА Филина Н.И.

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

Нуклеозидный аналог азидотимидин (AZT, 3'-азидо-3'-дезокситимидин, зидовудин) – лекарственное средство, которое активно используется в клинике для проведения антиретровирусной терапии. Препарат обладает доказанной нейротоксичностью, которая обусловлена изменением липидного и белкового метаболизма, повреждением митохондрий и окислительным стрессом, что в конечном итоге приводит к повреждению нейронов [1]. Именно поэтому исследование возможных механизмов нивелирования этих эффектов, т.е. поиск корректоров, является актуальным.

В отношении S-аденозилметионина (SAM), широко известного как донора метила, ряд последних исследований направлен на оценку нейропротекторного действия, что связано с ингибированием окислительного стресса и нейровоспаления. Показано, что SAM снижает потерю нейронов, повышает уровень мозгового нейротрофического фактора в гиппокампе,

ингибирует уровень амилоидо- $\beta$  и активацию микроглии, а также уровни провосполительных факторов в гиппокампе и сыворотке [2]. Однако имеются противоречивые данные о том, что S-аденозилметионин вызывал значительное окисление липидов и белков, снижал концентрацию глутатиона и изменял активность важных антиоксидантных ферментов в коре головного мозга и полосатом теле в модели внутримозгового желудочкового введения. В совокупности предполагается, что нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза, возможно, связанное с активацией микроглии и дисфункцией нейронов, вызванной SAM, может представлять собой вредные патомеханизмы, участвующие в патофизиологии повреждения головного мозга при дефиците S-аденозилгомоцистеина гидролазы [3].

**Цель.** Выявить влияние S-аденозилметионина на содержание свободных протеиногенных аминокислот в коре больших полушарий (КБП) и стволе головного мозга крыс при длительном воздействии лекарственного средства азидотимидин (AZT).

**Методы исследования.** Эксперимент выполнен на 42-х особях белых беспородных крыс-самцов массой 200-240 г, содержащихся на стандартном рационе вивария без ограничения доступа к воде. Крысы были разделены на 4 группы: контрольную и три опытные по 7 особей в каждой группе. Все препараты вводили внутривентрикулярно (в/ж) через зонд в суспензии на 0,9% растворе натрия хлорида. Животные 1-й группы – SAM в дозе 10 мг/кг/сутки 14 сут («SAM»), 2-й группы – AZT в дозе 100 мг/кг/сутки 21 сут («AZT»). Животным 3-й группы на фоне AZT вводили SAM, начиная с 8-го дня применения AZT («AZT+SAM»). Контрольные животные получали в/ж эквивалентное количество 0,9% раствора натрия хлорида. За 12 часов до забоя животных лишали пищи с сохранением воды в качестве источника питья.

После декапитации животных извлекали головной мозг, промывали охлажденным 0,9% раствором натрия хлорида и выделяли исследуемые отделы, которые замораживали в жидком азоте.

Определение свободных аминокислот и их производных проводили в хлорнокислых экстрактах с помощью обращеннофазной ВЭЖХ.

Статистическую обработку данных проводили с применением t-критерия Стьюдента для независимых выборок с использованием пакета статистических программ STATISTICA 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q).

**Результаты и их обсуждение.** Воздействие препарата AZT вызывает дисбаланс содержания протеиногенных АК в сторону снижения в исследуемых структурах (таблица).

Таблица – Содержание свободных протеиногенных аминокислот в коре больших полушарий и стволе головного мозга крыс (нмоль/г) при воздействии препарата AZT и S-аденозилметионина

Аминокислота	контроль	SAM (1-я группа)	AZT (2-я группа)	AZT+SAM (3-я группа)
Кора больших полушарий				
Аспаргат	2403,37±89,63	1467,92±55,83*	2374,79±46,31	1392,53±43,52*+
Глутамат	8068,39±190,64	6765,84±151,44*	8085,13±179,56	6349,14± 143,41*+
Глицин	398,82±18,40	767,25±51,97*	376,00±17,36	658,70±19,23*+
Треонин	376,47±16,64	231,5±11,76*	295,02±25,75*	194,36±8,68*•
Валин	71,98±2,80	46,91±1,11*	61,49±3,30*	45,63±1,62*+
Метионин	28,85±1,44	13,30±0,51*	21,63±1,02*	14,14±0,87*+
Фенилаланин	42,85±1,64	30,10±1,16*	35,70±0,53*	27,77±1,62*+
Изолейцин	25±1,30	14,93±0,30*	18,60±0,96*	15,57±0,59*+
Лейцин	53,11±2,72	41,27±1,36*	42,05±1,84*	40,82±1,64*
Лизин	137,08±4,68	71,65±5,44*	92,3±8,33*	76,62±5,90*
Тирозин	115,89±6,20	85,37±6,34*	106,07±8,53	85,88±7,65*
Триптофан	19,32±1,46	24,74±1,31*	13,17±0,62*	23,88±1,81+
Ствол				
Аспаргат	1286,16±19,81	1096,15±30,98*	1198,98±33,46*	1050,29±30,75*+
Гистидин	35,18±2,44	53,49±3,41*	45,50±3,66*	59,91±2,97*+
Глицин	464,50±62,41	579,39±32,86	433,57±46,55	642,29±51,86*+
Аргинин	41,61±2,54	33,57±1,49*	37,28±0,72	34,27±0,51*•
Валин	26,08±1,04	15,94±0,65*	22,03±0,91	17,13±0,58*+
Метионин	35,58±1,87	31,38±0,66*	34,11±1,13*	29,66±0,77*+
Фенилаланин	16,53±1,77	12,08±0,63*	12,90±0,68	12,75±0,38*+
Изолейцин	39,26±3,61	34,51±1,76*	33,09±1,01	34,33±0,78
Лизин	269,88±11,41	143,92±7,09*	175,63±7,41*	162,20±5,71*
Тирозин	118,77±5,05	92,09±4,45*	118,20±10,86	94,27±5,25*

Примечание: \* – статистически значимые различия с контролем; • – с 1-й группой + – с 1-й группой; p<0,05.

Отметим для 2-й опытной группы падение концентраций незаменимых АК на 19% в КБП и на 25% – в стволе (p<0,05); уменьшение содержания АРУЦ в сравнении с контролем в КБП на 20% в стволе – на 16% (p<0,05); уровни возбуждающих, тормозных и ароматических АК значительно не изменились, показав тенденцию к снижению.

В КБП в группе «AZT+SAM» в сравнении с группой «AZT» снижается концентрация возбуждающих АК на 26%, при этом содержание тормозных увеличивается на 64% (p<0,05). Соотношение возбуждающие/тормозные составляет 3,62 в группе «AZT+SAM» и 8,03 в группе «AZT». Содержание АРУЦ уменьшилось на 17% в 3-й опытной группе в сравнении со 2-й (p<0,05).

В стволе в группе «AZT+SAM» в сравнении с группой «AZT» при неизменном уровне возбуждающих АК содержание тормозных повысилось на 42% (p<0,05). Концентрации АРУЦ и ароматических АК уменьшились незначительно.

При одновременном применении с ингибитором обратной транскриптазы AZT препарат SAM нивелирует выраженность изменений уровней АК во 2-й опытной группе, количественные выражения которых сводятся к таковым 1-й группы («SAM»).

**Выводы.** Применение SAM на фоне введения AZT минимизирует дисбаланс содержания незаменимых протеиногенных аминокислот (метионин, фенилаланин, лизин, триптофан, треонин, аргинин, гистидин) и АРУЦ в коре больших полушарий и стволе головного мозга крыс. Таким образом, S-аденозилметионин в использованной дозе может быть применен для коррекции нарушений аминокислотного обмена, обусловленного использованием антиретровирусных препаратов, в том числе и AZT.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Ankit, S. Neurotoxicity in the post-HAART Era: caution for the antiretroviral therapeutics/ Ankit Shah, Mohitkumar R. Gangwani, Nitish S. // Neurotox Res. 2016. – Vol. 30, iss. 4. – P. 677-697.

2. Zhang, Y. S-adenosylmethionine improves cognitive impairment in D -galactose-induced brain aging by inhibiting oxidative stress and neuroinflammation / Yawen Zhang, Rui Ma, Qian Deng // Chem Neuroanat. – 2023. – Vol. 128.

3. Seminotti, B. Disruption of Brain Redox Homeostasis, Microglia Activation and Neuronal Damage Induced by Intracerebroventricular Administration of S-Adenosylmethionine to Developing Rats / Bianca Seminotti, Ângela Zanatta, Rafael Teixeira Ribeiro, Mateus Struecker da Rosa, Angela T S Wyse, Guilhian Leipnitz, Moacir Wajner // Mol Neurobiol. 2019. – Vol. 56 iss.4. – P . 2760-2773.

### ДИЗАЙН, СИНТЕЗ И СВОЙСТВА НОВЫХ ВОДИРУ-СОДЕРЖАЩИХ ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫХ $\beta$ -ЛАКТАМНЫХ АНТИБИОТИКОВ

Хорецкий М.С.<sup>1</sup>, Чилик Ю.А.<sup>2</sup>, Добровольская П.В.<sup>1</sup>,  
Горбацевич Г.С.<sup>1</sup>, Шкуматов В.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Учреждение БГУ «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем»;

<sup>2</sup>Научно-испытательный центр ООО "КАМПИЛАБ",  
г. Минск, Республика Беларусь

**Актуальность.** Ежегодно значительная доля человеческих смертей является следствием инфекционных бактериальных заболеваний. Это обуславливается широким разнообразием патогенных микроорганизмов, наличием сопутствующих неинфекционных болезней, а также географическими и социокультурными факторами. Важнейшим средством в борьбе с бактериальными заболеваниями на сегодняшний день являются антибиотики. Среди известных классов антибиотиков первыми в практику вошли пенициллины, различные производные которых продолжают широко

применяться в настоящее время. Благодаря  $\beta$ -лактамному фрагменту они взаимодействуют с пенициллин-связывающими белками, вызывая нарушение биосинтеза пептидогликана и последующую гибель бактериальной клетки [1].

Параллельно с разработкой новых структур антибиотиков расширяется и спектр микроорганизмов резистентных к их действию, что ещё больше стимулирует разработку новых структур антибактериальных препаратов. Поэтому не менее остро стоит вопрос создания новых средств определения пенициллин-связывающих белков, методов изучения особенностей механизмов действия антибиотиков и путей возникновения резистентности к ним, а также средств диагностики бактериальных заболеваний [2]. Данные задачи помогает решить использование флуоресцентных производных, применение которых значительно упрощает изучение процессов в клетках и их визуализацию.

Среди доступных флуорофоров для применения в данной области соединения на основе BODIPY (бордипиррометен) выделяются сочетанием хорошей фотостабильности, больших квантовых выходов флуоресценции и небольших молекулярных размеров [3]. На основе BODIPY представлены и успешно применяются флуоресцентные аналоги холестерина (TopFluor cholesterol), ванкомицина (Vancomycin BODIPY FL), а также единственный коммерчески доступный флуоресцентный пенициллин Vocillin FL.

**Цель.** Целью работы является разработка и получение новых структур флуоресцентных пенициллинов в качестве инструментов определения пенициллин-связывающих белков и средств диагностики бактериальных заболеваний.

**Материалы и методы исследования.** В работе использованы методы синтетической и аналитической химии, биоинформатики. Все реагенты и растворители для синтеза очищены и высушены непосредственно перед применением. Структуры полученных соединений подтверждены с использованием методов  $^1\text{H}$  ЯМР и ESI-MS. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) осуществлялась на хроматографической колонке C18 250×4,6 мм, 5 мкм, 100 Å при 35 °С. Подвижная фаза деионизированная вода (pH 5,5)/метанол 30/70. В качестве стандартов использованы пиррол, 1,3-динитробензол, 4-нитротолуол, бензофенон, бифенил ( $r^2$  0,98). Доверительный интервал для установленных значений LogP находится в пределах  $\pm 0,04$ . Молекулярный докинг выполнен в программе AutodockVina, с учётом возможных конформационных переходов аминокислотных остатков активных центров белков.

**Результаты и обсуждение.** При разработке структур биоактивных соединений липофильность выступает одним из ключевых физико-химических свойств, определяющих фармакокинетику соединения. Количественно липофильность выражается через распределение вещества между фазами октанола-1/вода (LogP). С помощью ВЭЖХ установлены значения коэффициентов LogP для некоторых BODIPY производных. Полученные величины сравнены с таковыми для соединений молекулярных фрагменты которых используются в структурах актуальных пенициллинов. Например, для метицилина рассмотрен 1,3-диметоксибензол, для нафциллина 2-этоксинафталин. Полученные значения представлены в таблице 1.

Таблица 1. Коэффициенты LogP рассмотренных соединений

№ BODIPY	LogP	Фрагмент пенициллина	XLogP3
1 8-метилBODIPY	1,51	1,3-диметоксибездол	2,21
2 8-фенилBODIPY	2,95	5-метил-3-фенил-1,2-оксазол	2,43
3 8-пентафторфенилBODIPY	3,05	метилбездол	2,73
4 BODIPY 493/503	3,64	2-этоксинафталин	3,84

Значения коэффициентов LogP рассмотренных BODIPY производных схожи с таковыми для заместителей вводимых в структуру б-аминопенициллановой кислоты при получении пенициллинов. Аналогичные структурные фрагменты других β-лактамных антибиотиков имеют значения XLogP3 в схожем диапазоне. С учётом небольших молекулярных размеров BODIPY фрагмента это указывает на возможность использования BODIPY производных для модификации б-аминопенициллановой кислоты и получения новых структур флуоресцентных производных пенициллинов, обладающих биологической активностью.

На основе соединений 1-3 получены соответствующие флуоресцентные пенициллины. Для возможности введения флуорофоров в структуру б-аминопенициллановой кислоты на основе 1 и 2 получены соответствующие карбоновые кислоты 8-(1-карбоксиэт-2-ил)BODIPY и 8-(2-карбоксифенил)BODIPY. С помощью молекулярного докинга дана оценка возможности полученных производных связываться в активных центрах пенициллин-связывающих белков таких бактерий как *E. coli*, *S. aureus*, *N. gonorrhoeae* и *P. aeruginosa*. На рисунке 1 представлены рассчитанные структуры некоторых из белок-лигандных комплексов.

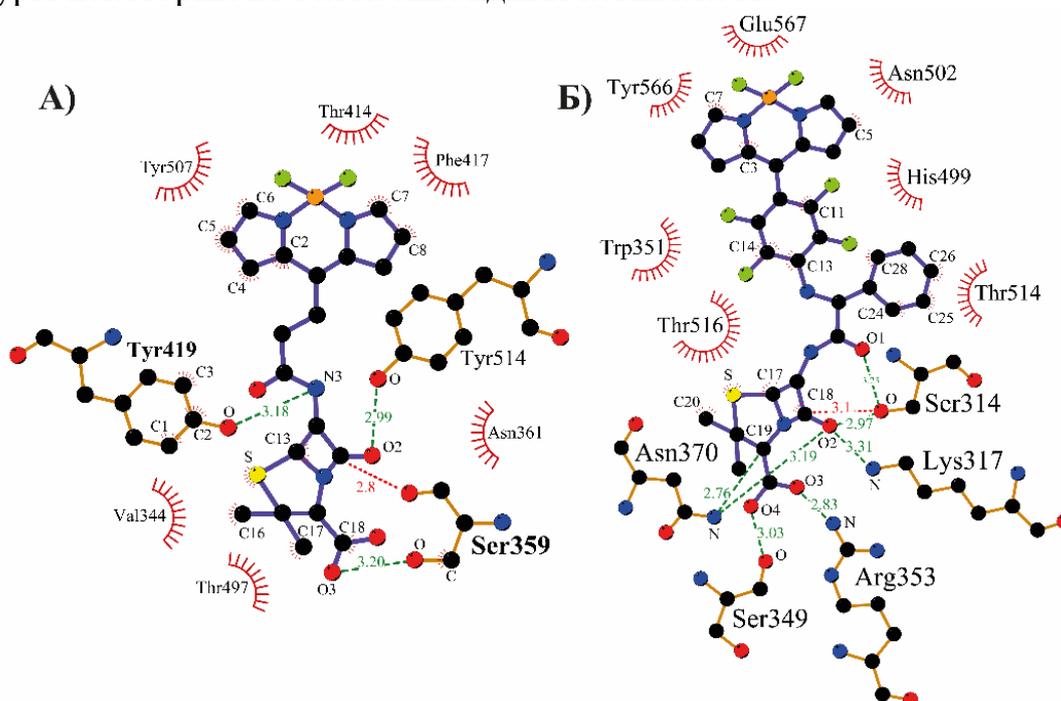


Рисунок 1. А) Связывание производного 8-(1-карбоксиэт-2-ил) BODIPY в активном центре белка 4bjr *E. coli* ( $E_{св}$  -8,1 ккал/моль); Б) Связывание производного 3 в активном центре белка 7o49 *S. aureus* ( $E_{св}$  -10,4 ккал/моль)

Согласно результатам молекулярного докинга производное 8-(1-карбоксиэт-2-ил)BODIPY способно связываться в активном центре фермента 4bjr. При этом расстояние между ответственным за активность фермента остатком Ser359 и карбонильным атомом углерода  $\beta$ -лактамного фрагмента составляет 2,8 Å, что указывает на возможность ингибирования. По отношению к белку 7o49 *S. aureus* аффинностью потенциально обладает производное флуорофора 3. Данный белок-лигандный комплекс стабилизирован обширной сетью из межмолекулярных водородных связей. При этом расстояние между  $\beta$ -лактамным фрагментом и гидроксильной группой каталитического Ser314 составляет 3,1 Å. Для других рассмотренных белок-лигандных комплексов рассчитанные энергии связывания в большинстве случаев находятся в диапазоне от -7 до -10 ккал/моль.

**Выводы.** Величины коэффициентов LogP для рассмотренных BODIPY флуорофоров имеют схожий диапазон значений с молекулами, фрагменты которых используются в структуре актуальных антибиотиков. Это позволило разработать и получить соответствующие BODIPY пенициллины. Структуры белок-лигандных комплексов полученных производных с пенициллин-связывающими белками бактерий указывают на возможность применения BODIPY  $\beta$ -лактамных антибиотиков в качестве флуоресцентных исследовательских инструментов.

**Благодарности.** Работа выполнена при поддержке гранта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований «Наука-М X21M-059».

## ЛИТЕРАТУРА

1. The Penicillins / A. J. Wright // Mayo Clin Proc. – Vol. 74, № 3. – P. 290–307.
2. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria / W. C. Reygaert // AIMS Microbiol. – 2018. – Vol. 4, № 3. – P 482–501.
3. Synthesis, Optical Properties, Preliminary Antimycobacterial Evaluation and Docking Studies of Trifluoroacetylated 3-Pyrrolyl Boron-Dipyrromethene / M. Horetski [et al.] // ChemistrySelect. – 2022. – Vol. 7, № 22. – P. e202200506.

## НТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ МЕЛАТОНИНА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА IN VIVO И IN VITRO

Цинцевич А.В., Байгот Е.С.

УО «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы»,  
г. Гродно, Республика Беларусь

**Актуальность.** Эндогенный и экзогенный мелатонин играет значительную роль в поддержании равновесного уровня восстановительных эквивалентов в клетке и обладает высоким терапевтическим потенциалом. В то

же время, механизмы антиоксидантных и метаболических эффектов мелатонина в норме и при патологии в полной мере не изучены [1, 2].

В травмировании и смерти гепатоцитов чувствует формирующийся окислительный стресс. При этом молекулярные механизмы смерти клетки, активируемые уменьшением глутатиона в итоге метаболических изменений АРАР, остаются неясными.

**Цель.** Цель работы – оценить антиоксидантную активность гормона эпифиза мелатонина при моделировании окислительного стресса *in vivo* и *in vitro*.

**Материалы и методы исследования.** Эритроциты здоровых доноров, которые были взяты на станции переливания крови г. Гродно, промывали изотоническим забуференным раствором соли (PBS: 0,145 М NaCl, 19 мМ NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 8.1 мМ Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7.4) три раза и затем удалили слой лейкоцитов и применяли в виде суспензии с гематокритом 5% в PBS.

Окислительный стресс в суспензии эритроцитов индуцировали. tВНР применяли в виде свежеизготовленного 100 мМ раствора в PBS. Суспензию эритроцитов преинкубировали с разными концентрациями мелатонина или с триптофаном продолжительностью 15 мин соблюдая комнатную температуру. Концентрацию образовавшихся стабильных продуктов перекисного окисления мембранных липидов, реагирующих с ТБК (ТБКРС), измеряли спектрофотометрически по методу Stocks и Dormandy [4], применяя молярный коэффициент поглощения  $\epsilon_{532} = 1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

Эксперименты проводили на 30 крысах линии Wistar. Их вес составлял 200 – 250 г. Грызуны были приспособлены на протяжении недели к 12-часовому циклу изменения световой (с 8 ч) и теневой (с 20 ч) фаз суток и поделены на 5 групп. Они были названы: «контроль», «АРАР+Mel», «АРАР», «АРАР+NNT», «NNT». В 9 часов утра грызунам в группах «АРАР», «АРАР+NNT», «АРАР+Mel» был внесен ацетаминофен в виде 1% суспензии крахмала в дозе 1500 мг/кг массы тела, внутривентрикулярно (в/ж), грызунам в группах «контроль» и «NNT» вводили 1% суспензию крахмала (в/ж). Через 4 и 6 часов грызунам в группах «NNT» и «АРАР+NNT» вводили раствор NNT (2 мг/кг), внутривентрикулярно (в/б), животным в группе «АРАР+Mel» вводили мелатонин (10 мг/кг, в/б), в группах «контроль» и «АРАР» вводили 0,9% раствор NaCl (в таких же объемах, что и растворы NNT и мелатонина, в/б). Мелатонин (8,6 мг), непосредственно, до внесения растворяли в 150 мкл этанола, далее объем был доведён к 2 мл раствором 0,9% NaCl, NNT (1,86 мг) растворяли в 90 мкл этанола и затем доводили объем до 2 мл раствором 0,9% NaCl. Спустя сутки после введения ацетаминофена грызунов декапитировали и брали образцы крови и тканей.

**Результаты и обсуждение.** Подходящей клеточной моделью рассмотрения механизмов окислительного повреждения служат эритроциты, высоко специализированные красные кровяные тельца, не имеющие возможности репарации образовавшихся повреждений и имеющие большие концентрации ионов переходных металлов (ионы железа гемоглобина).

Внесение в суспензию эритроцитов известного окислительного агента, водорастворимого аналога гидроперекисей липидов tВНР дозозависимо индуцировало образование продуктов ПОЛ, что мы и регистрировали с помощью тиобарбитуровой кислоты, ТБК, (вторичные продукты ПОЛ). Преинкубация суспензии эритроцитов с различными концентрациями мелатонина приводила к выраженному дозозависимому ингибированию процесса ПОЛ в эритроцитах (на 80%). Преинкубация с триптофаном, предшественником мелатонина, снижала уровень ПОЛ на 12–15%.

Мы сравнили радикал-скэвенджерную активность мелатонина, известного антиоксиданта, триптофана и липофильного органического соединения, производного фенола, широко используемого для ингибирования генерации свободных радикалов, бутилгидрокситолуола (ВНТ), при tВНР-индуцированном перекисном окислении липидов (1,5 мМ).

Как следует из полученных результатов, антиоксидантная активность мелатонина сравнима с антиоксидантной активностью ВНТ при tВНР-индуцированном перекисном окислении липидов эритроцитов человека.

Таким образом, в экспериментах *in vitro* мы показали, что мелатонин, а не триптофан, является эффективным скэвенджером алкоксильных и пероксильных радикалов, генерируемых в клетках, обработанных оксидантом, ингибирует реакции перекисного окисления липидов в модельных системах. Радикал-скэвенджерные свойства мелатонина можно объяснить высоким дипольным моментом, который является самой простой экспериментальной мерой плотности заряда в молекуле.

Далее исследовали механизмы гепатопротекторных эффектов производных триптофана: мелатонина (Mel) и N-ацетил-N-нитрозотриптофана (NNT). Чрезвычайно важным эффектом вносимых производных триптофана стало сокращение гепатотоксичности АРАР в присутствии мелатонина: в плазме крови при внесении мелатонина сократилась активность АлТ в 1,7 раза, показатель общего билирубина – 1,2 раза в сопоставлении с соответствующими показателями в плазме крови интоксигированных животных. К тому же, внесение грызунам NNT и мелатонина на фоне интоксикации АРАР восстанавливало степень смешанных дисульфидов глутатиона с клеточными белками.

**Выводы.** В результате проделанной работы было показано, что мелатонин дозозависимо (0,5–2 мМ) ингибировал реакции перекисного окисления липидов в модельной системе, в то же время метаболический предшественник мелатонина, триптофан, практически не демонстрировал антиоксидантную активность. Антиоксидантная активность мелатонина сравнима с активностью липофильного органического соединения, производного фенола, антиоксиданта, бутилгидрокситолуола (ВНТ).

В эксперименте *in vivo* было установлено, что производные триптофана и мелатонин тормозят процесс гепатолиза, вызванного интоксикацией АРАР. N-ацетил- N-нитрозотриптофан – донор окиси азота является эффективным модулятором энергопродуцирующей функции митохондрий клеток печени,

выступающим в качестве мягкого разобщителя процессов окисления и фосфорилирования в изолированных митохондриях.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Gillette, M.U. Circadian actions of melatonin at suprachiasmatic nucleus/ M.U. Gillette, A.J. McArthur // *Behav. Brain. Res.* – 1995. – V.73. – P.135–139.
2. The chemistry of melatonin's interaction with reactive species/ M. Allegra // *Journal of Pineal Research.* - 2003. - Vol. 17 (3). – P. 1-10.
3. Peroxynitrite is a critical mediator of acetaminophen hepatotoxicity in murine livers: protection by glutathione/ T.R. Knight [et al.]// *J Pharmacol Exp Ther.*- 2002. – Vol.303. -P. 468-475
4. Stocks, J.The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide / J. Stocks, T.L. Dormandy // *Br. J. Haematol.* – 1971. – Vol. 20 (1). – P. 95-111.
5. Klein, D.C. New light is shining on the melatonin rhythm enzyme/ D.C. Klein, P.H. Roseboom, S.L. Coon// *Trends Endocrinol. Metab.*- 1996.- Vol. 7.- P. 106–112.
6. Korf, H.W. The pineal organ, its hormone melatonin, and the photoneuroendocrine system/ H.W. Korf, C. Schomerus, J.H. Stehle // *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol.* – 1998. – V.146. –P. 1–100.
7. Wittenderby, P.A. Characterization and regulation in human ml(1A) melatonin receptor stably expressed in chinese-hamster ovary cells/ P.A. Wittenderby, M.L. Dubocovich // *Mol. Pharmacol.* – 1996. -V.50. – P.166–174.

### СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ ВВЕДЕНИИ АМИНОКИСЛОТНОЙ КОМПОЗИЦИИ И ЛИПОПОЛИСАХАРИДА E. COLI K-235

Шейбак В.М., Павлюковец А.Ю., Дорошенко Е.М., Мойсеёнок А.Г.,  
Канунникова Н.П.

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

Липополисахарид (ЛПС) является структурным компонентом внешней мембраны клеточной стенки грамотрицательных бактерий, обладающий широким спектром биологической активности. Основным «физиологическим» резервуаром ЛПС является сапрофитная и условно-патогенная грамотрицательная микрофлора кишечника, обеспечивающая формирование факторов врожденного иммунитета. В норме из толстого кишечника в кровотоки проникает незначительное количество ЛПС, обеспечивающее постоянную активацию иммунной системы. Ряд гуморальных и клеточных факторов, связывает ЛПС бактериального происхождения (липопротеины высокой удельной плотности, антитела к гликолипиду хемотипа Re, клетки Купфера, полиморфноядерные лейкоциты и макрофаги). При патологических состояниях

(стресс, ионизирующее излучение, воздействие ксенобиотиков, инфекционные и неинфекционные заболевания) повышается проницаемость кишечного барьера и количество ЛПС, поступающего в системный кровоток. ЛПС обладает пирогенностью, токсичностью, активирует выработку белков острой фазы, а также изменяет реологические свойства крови. Системное действие ЛПС приводит к стимуляции системы фагоцитов и массивному выбросу провоспалительных медиаторов, что в определенной степени блокирует процессы детоксикации печени и приводит к повреждению эукариотических клеток вторичными продуктами метаболизма и формированию полиорганной недостаточности [2].

Известно, что при воспалении развивается гиперметаболическое состояние, с преобладанием катаболических процессов. Протеолиз белка позволяет обеспечивать повышенную потребность в аминокислотах для поддержания острофазового ответа.

Таурин – многофункциональная аминокислота, участвующая во всех без преувеличения метаболических процессах в клетке – от синтеза белка в митохондриях до поддержания нормофлоры в кишечнике. Отдельно указывают на ее противовоспалительное и антиоксидантное действие. Показано, что предварительное введение таурина животным оказывает протективное действие на метаболизм клеток печени животных, получавших ЛПС, за счет повышения их антиоксидантной и противовоспалительной активности, которые были связаны с повышенной экспрессией гемоксигеназы-1 и снижением уровней экспрессии фактора NF-κB, циклооксигеназы-2 и киназы, связанной с внеклеточным сигналом (p-ERK) [3].

**Целью исследования** явился общий анализ аминокислотного пула плазмы крови крыс, получавших композицию таурина и цинка диаспарта в течение 10 дней перед однократным введением ЛПС.

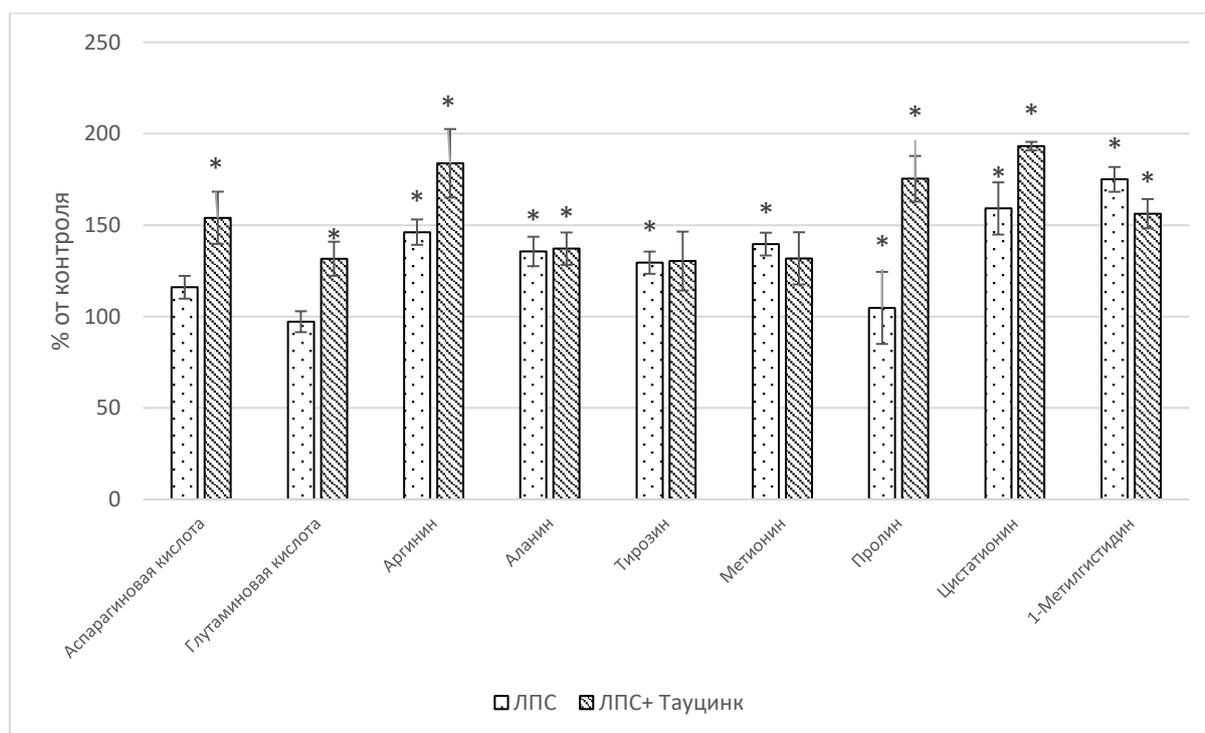
#### **Материалы и методы**

Эксперимент проведен на 30 половозрелых белых крысах-самках массой 180-200 г, содержащихся на стандартном рационе вивария. Животные были разделены на 3 группы: Крысы 1-й группы – контрольные, получавшие внутрижелудочно 0,9% раствор хлорида натрия. Крысам 2-й группы за 24 ч до декапитации внутрибрюшинно вводили бактериальный липополисахарид (ЛПС), выделенный из *Es. coli* K-235, в дозе 0,4 мг/кг. Крысы 3-й группы – опытные, которым внутрибрюшинно вводился ЛПС (в дозе и режиме, аналогичном 2-й группе) после предварительного 10-ти дневного внутрижелудочного назначения препарата Тауцинк в дозе 100 мг/кг 1 раз в сут. Все опыты проведены с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Для анализа использовали пейеровы бляшки. Определение свободных аминокислот производили методом обращеннофазной ВЭЖХ с о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой с изократическим элюированием и детектированием по флуоресценции (231/445 нм). Определение ароматических аминокислот (тирозина и триптофана) проводили методом ион-парной ВЭЖХ с детектированием по природной флуоресценции (280/320 нм для тирозина и 280/340 нм – для триптофана). Все

определения проводили с помощью хроматографической системы Agilent 1100, прием и обработка данных – с помощью программы Agilent ChemStation A10.01. Математическая обработка данных проведена с помощью программы Statistica 6.0.

### Результаты и обсуждение

Провоспалительный бактериальный эндотоксин ЛПС нарушает синтез белка и негативно влияет на энергетическое состояние клеток организма. Нами обнаружено, что в плазме крови крыс, получавших ЛПС снижено соотношение аминокислот с разветвленной углеродной цепью к ароматическим аминокислотам (с  $2,7 \pm 0,17$  до  $2,2 \pm 0,08$ ), повышены концентрации аргинина (в 1,5 раза), аланина (в 1,4 раза), тирозина (в 1,3 раза) и метионина (в 1,4 раза), соединений участвующих в основных клеточных биохимических процессах – от инициации синтеза белка до иммуномодулирующих реакций. Изменение концентраций цистатинина (в 1,6 раза) и 1-метилгистидина (в 1,8 раза) указывает на влияние бактериального эндотоксина на путь транссульфирования и протеолиза (рис. 1).



**Рисунок 1 – концентрации свободных аминокислот и их азотсодержащих производных в плазме крови животных, получавших ЛПС и тауцинк**

Предварительное введение композиции «тауцинк» повышало относительное содержание в плазме крови заменимых аминокислот, но существенно не влияло на другие показатели пула определяемых нами азотсодержащих соединений.

Важно отметить, что по данным литературы введение ЛПС модулирует функционирование L-аргинин-NO системы через активацию эндотелиальной и ингибирование индуцибельной изоформ NO-синтазы, что может являться причиной повышению уровня аргинина в плазме крови. Если это так, то NO

влияет на активность цистатионин-метаболизирующих ферментов, способствуя повышению его превращения в пируват и  $H_2S$  в плазме крови. Повышение концентрации  $H_2S$ , как правило, индуцируется воспалительным стрессом и, в свою очередь, подавляет продукцию провоспалительных цитокинов, что способствует развитию толерантности к ЛПС [1].

### **Выводы**

Таким образом, даже однократное внутрибрюшинное введение ЛПС снижает соотношение аминокислот с разветвленной углеродной цепью к ароматическим аминокислотам и увеличивает концентрации аргинина, аланина, тирозина, метионина, цистатионина и 1-метилгистидина. Предварительное 10-кратное введение композиции таурина и цинка аспартата в дозе 100 мг/кг массы не оказывает выраженного протективного действия на пул свободных аминокислот плазмы крови животных, получавших ЛПС.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Eto K., Kimura H. A novel enhancing mechanism for hydrogen sulfide-producing activity of cystathionine beta-synthase // J. Biol. Chem. – 2002. - N 277. – P. 42680-42685.
2. Marrocco, A. Role of metabolic reprogramming in pro-inflammatory cytokine secretion from LPS or silica-activated macrophages. / A. Marrocco, L.A. Ortiz // Front Immunol. – 2022. – Vol. 21. – P. 61-67.
3. Taurine alleviates lipopolysaccharide-induced liver injury by anti-inflammation and antioxidants in rats. / Y. Liu [et al] // Mol Med Rep. – 2017. – Vol. 16. – P. 6512-6517.

## **РАЗРАБОТКА СОСТАВА МИНИЗОЛЯ, СТАБИЛИЗИРУЮЩЕГО СОСТОЯНИЕ КИШЕЧНИКА ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ АЦЕТАМИНОФЕНОМ**

**Шейбак В.М., Николаева И.В., Островская О.Б., Кравчук Р.И.**

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,*

*г. Гродно, Республика Беларусь*

Одним из элементов токсического действия ацетаминофена является повышение проницаемости кишечника, увеличение бактериальной транслокации, приводящее к усугублению гепатотоксичности самого ацетаминофена [1].

В настоящее время принято считать, что пищевые добавки «функциональных аминокислот» принимают участие в регуляции ключевых метаболических путей в кишечнике. Треонин – предшественник всех трех основных короткоцепочечных жирных кислот (ацетат, пропионат, бутират), считается незаменимой аминокислотой повышающей уровень муцинов. Метаболизм аргинина тесно связан с образованием цитруллина в клетках кишечника [2]. Таурин – повышает барьерную функцию кишечного эпителия,

снижает стимуляцию иммунного ответа на ЛПС. Комплекс таурина с цинком  $[Zn(NH_3CH_2CH_2SO_3)_2]$  (100, 200 мг/кг) оказывал гастропротекторное действие, путем снижения интенсивности перекисного окисления липидов, образования  $H_2S$  и ингибирования образования оксида азота [3]. Смеси аминокислот определенно состава положительно влияют на барьерную функцию кишечника: благоприятное воздействие наблюдалось при комбинации L-глутамина и L-глутамата, а также при комбинации L-аргинина, АРУЦ и L-цистина в весовом соотношении 42:33:25 [2-3].

Курсовое внутривентрикулярное введение аминокислотно-минеральной композиции, состоящей из глутамина, аргинина, таурина и цинка сульфата модулирует состав и концентрации свободных аминокислот и азот-содержащих метаболитов в микробно-тканевых комплексах тонкого и толстого кишечника. Количество азот-содержащих метаболитов влияет на формирование микробиоценоза кишечника и модулирует внутрикишечный гомеостаз, может быть причиной колебаний внутрипеченочного и плазменного содержания свободных аминокислот и их метаболитов. При энтеральном введении минизоля у некоторых животных наблюдали незначительное утолщение поверхностного слоя слизи и увеличение наполненности бокаловидных клеток, что с точки зрения микробиоценоза кишечника является положительным эффектом [4].

**Целью** работы явилась продолжение изучения положительных эффектов минизоля и возможности стабилизации микробиоценоза и морфологического состояния кишечника при введении крысам токсических количеств ацетаминофена.

**Материалы и методы.** Эксперименты были выполнены на белых крысах-самках массой 180–220 г. Контрольная группа - получала энтерально 2% раствор крахмала; первой опытной группе, пятикратно, через день, вводили ацетаминофен в растворе крахмала в дозе 1500 мг/кг массы тела; второй опытной группе таким же способом вводили ацетаминофен и минизоль, состоящий из треонина, глутамина, аргинина, таурина и цинка аспартата в суммарной дозе 500 мг/кг массы. Содержимое толстого кишечника доставляли в микробиологическую лабораторию для выделения основных групп микробиоты толстого кишечника. Образцы тонкого кишечника (участок тощей кишки – на расстоянии около 15 см от 12-перстной кишки), фиксировали в жидкости Карнуа и заключали в парафин. Полученные препараты просматривали в микроскопе Leica DM1000, цифровые фотоснимки для демонстрации получали при помощи камеры Panasonic WV-CP410/G. Статистически значимыми считали различия между контрольной и опытными группами при значениях  $p < 0,05$ .

#### **Результаты и их обсуждение.**

У животных, получавших ацетаминофен, в большей степени и чаще чем в контроле, наблюдали отслойку эпителиоцитов не только на верхушке, но и на боковых поверхностях ворсинок. Также на верхушках ворсинок отмечали истончение и десквамацию эпителия, наблюдали расширение лимфатических капилляров ворсинок и слабо выраженный отек межкриптной стромы.

Морфометрически у животных получавших ацетаминофен достоверно снижалась толщина слизистой, высота ворсинок и глубина крипт. Окраска по Шабадаш выявила увеличение наполнения бокаловидных клеток слизистой секретом, а также умеренное утолщение гликопротеин-содержащего слоя на поверхности ворсинок. Морфологическая структура слизистой оболочки животных, которым вводили минизоль совместно с ацетаминофеном в целом сходна с контрольной, однако на некоторых участках наблюдается расширение лимфатических капилляров ворсинок. В отличие от группы «Ацетаминофен», отмечается достоверное увеличение толщины слизистой оболочки ( $584,9 \pm 12,44$ ) и высоты ворсинок ( $381,0 \pm 11,25$ ), умеренное наполнение бокаловидных клеток крипт и ворсинок слизистой секретом и толщина поверхностного слоя гликопротеин-содержащего слоя слизи, сравнимая с наблюдаемой в контрольной группе, указывает на отсутствие нарушения экстррузии слизи из бокаловидных клеток.

Бактериологический анализ микрофлоры толстого кишечника после введения ацетаминофена выявил изменения со стороны как анаэробного, так и аэробного компонентов кишечного биоценоза. Введение ацетаминофена приводило к снижению численности анаэробов – бифидобактерий и лактобактерий (на 14%), повышая содержание аэробных условно-патогенных микроорганизмов (на 65%), что привело к падению индекса анаэробы/аэробы (на 36%). Одновременное введение ацетаминофена и минизоля в желудочно-кишечный тракт достоверно снижает в сравнении с первой опытной группой (на 18%) количество аэробов и оказывает стимулирующее влияние на молочнокислых (выше на 25%) представителей индигенной микробиоты. Однако качественный показатель дисбиоза – соотношение анаэробов к аэробам, достоверно не изменился и был ниже контрольных значений (на 29%).

**Заключение:** Применение ацетаминофена по описанной схеме вызывает умеренные дистрофические изменения эпителия апикальных частей ворсинок слизистой оболочки тощей кишки, локальное расширение лимфатических капилляров и слабо выраженный отек межкриптной стромы, а также приводит к умеренному снижению толщины слизистого слоя, осуществляющего защитную функцию. Введение ацетаминофена приводило к снижению численности анаэробов – бифидобактерий и лактобактерий, повышая содержание аэробных условно-патогенных микроорганизмов, что привело к увеличению количества факультативных анаэробов и формированию дисбиоза.

В группе «Ацетаминофен-Смесь» структурные характеристики слизистой оболочки близки к контрольным, а также отмечается нормализация секреции слизи бокаловидными клетками эпителия крипт и ворсинок. В просветном микробиозе толстого кишечника, при сравнении с группой животных получавших ацетаминофен, снижается количество аэробов при одновременном росте популяций молочнокислых анаэробов. Однако качественный показатель дисбиоза – соотношение анаэробов к аэробам, достоверно не изменился и оставался ниже контрольных значений.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Comparison of toxic responses to acetaminophen challenge in ICR mice originating from different sources / T.B. Jeong [et al.] // *Laboratory Animal Research*. – 2019. – Vol. 35. – P.16.
2. Functional amino acids in pigs and chickens: implication for gut health / T. Chalvon-Demersay [et al.] // *Front Vet Sci*. – 2021. – Vol. 25, №8. – P.663–727.
3. Protective effects of taurine on growth performance and intestinal epithelial barrier function in weaned piglets challenged without or with lipopolysaccharide / Z. Tang [et al.] // *Animal Prod Sci*. – 2018. – Vol. 58. – P. 2011–2020. doi: 10.1071/AN16249
4. Аминокислотный состав микробно-тканевого комплекса тонкого кишечника крыс при энтеральном введении смесей аминокислот / В. М. Шейбак [и др.] // *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. – 2016. – Т.15, №3. – С. 5–11.

### МИТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ БИОСИНТЕЗА НИКОТИНАМИДА ДЕНИНДИНУКЛЕОТИДА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Шляхтун А.Г., Максимчик Ю.З., Букша Е.В., Сутько И.П., Радуга Е.Ф,  
Богдевич Е.В, Мотылевич Ж.В., Гуринович В.А.

*ГП «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси», г. Гродно, Республика Беларусь*

**Актуальность.** Митохондриальная дисфункция, развивающаяся при хронической алкогольной интоксикации (ХАИ), считается одним из ключевых событий, запускающих развитие алкогольного поражения печени [2]. Одним из ключевых событий, запускающих каскад повреждения гепатоцитов, и в том числе митохондрий, при ХАИ является дисбаланс НАД/НАДН. Для его коррекции предложено использовать метаболические предшественники биосинтеза НАД *de novo* – никотинамид (НА), никотинамида рибозид (НР) и никотинамида мононуклеотид (НМН). Влияние этих соединений на митохондрии печени при алкогольной интоксикации не исследовано [3].

**Цель работы.** Оценить митопротекторное действие предшественников биосинтеза НАД при ХАИ.

**Материалы и методы исследования.** Моделирование ХАИ проводили на самцах крыс линии Wistar массой 160–180 г. ХАИ вызывали путем в/ж введения 30 % в/о этанола дважды в сутки в дозе 5,0 г/кг/раз, в 8<sup>00</sup> и 20<sup>00</sup>, на протяжении 14 дней. Животные были разделены на 5 групп по 8 крыс в каждой. Крысы получали НА, НР или НМН, с первого дня эксперимента в/ж по 2,05 ммоль/кг/сут, утром, через 2 ч после этанола. В конце эксперимента животных эвтаназируют. Митохондрии получали путём дифференциального центрифугирования в среде выделения из 0,25 М сахарозы, 20 мМ Трис и 1 мМ ЭДТА, рН 7,2. Активности комплексов электрон-транспортной цепи

митохондрий (ЭТЦ) I (НАДН-дегидрогеназа), II (сукцинатдегидрогеназа) и IV (цитохром *c* оксидаза), а также активность цитратсинтазы оценивали (CS) ранее описанными методами [1]. Для оценки процессов перекисидации в митохондриях определяли концентрации соединений, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС), а для оценки антиоксидантной системы определяли содержание низкомолекулярных тиолов (НМТ) по методу Элмана, активности глутатионредуктазы (ГР) по Carlberg и Mannervik, глутатион-S-трансферазы (GST) по Habig, глутатионпероксидазы (ГПО) по Paglia и Valentine и каталазы. Содержание белка в митохондриальной фракции определяли по Lowry в модификации Peterson.

**Результаты и обсуждение.** Известно, что метаболизм ацетальдегида, тесно связан с митохондриями, так как его окисление катализируемое АльДГ-2 сопровождается снижением соотношения НАД/НАДН, что в свою очередь приводит к снижению активности ферментов цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) и нарушением переноса электронов в ЭТЦ. При этом усиливается образование активных форм кислорода (АФК), за счет утечки электронов с комплексов I-III ЭТЦ на кислород.

Установлено, что ХАИ привела к существенному снижению активностей комплексов I, II и IV ЭТЦ, на 22,7 %, 21,1 % и 51,5 %, а также активности CS на 52,0 % по сравнению с контрольной группой. Активность CS является маркером митохондриальной массы и отражает количество функционально активных митохондрий. Снижение активности CS в митохондриальной фракции печени при ХАИ свидетельствуют об уменьшении количества функционально активных митохондрий (рисунок).

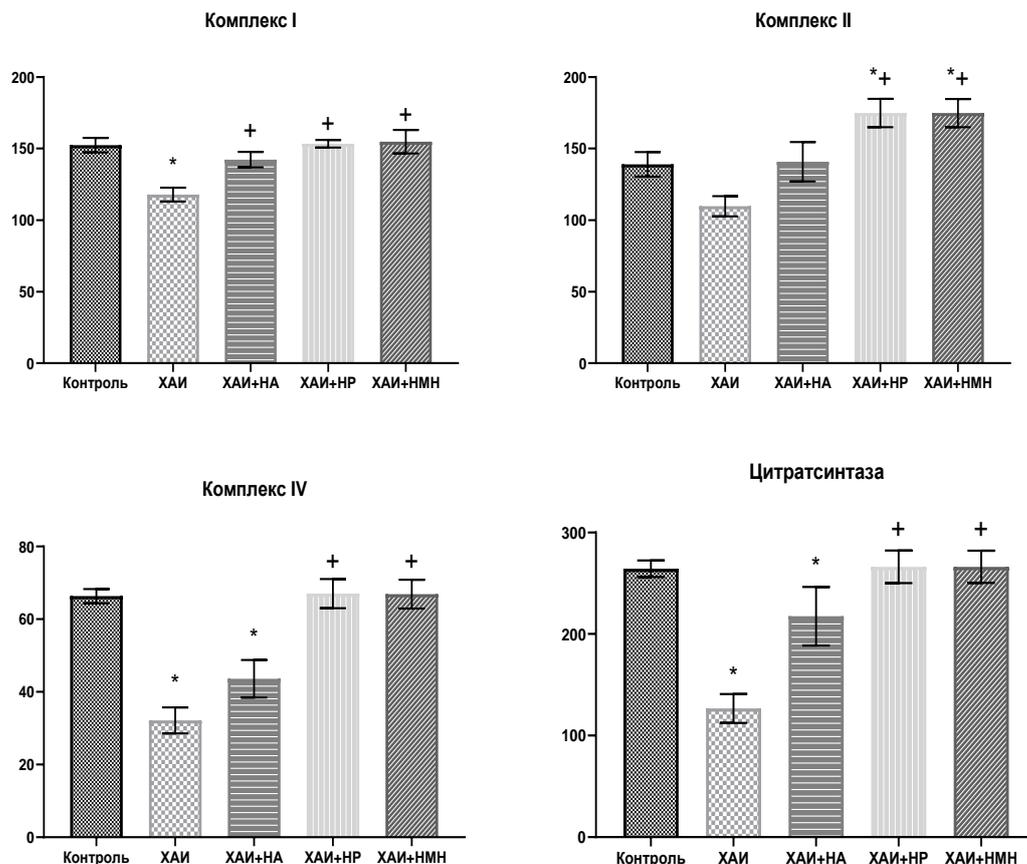
Показано, что введение НА при ХАИ сопровождалось сохранением активностей I и II комплексов на контрольных уровнях, но активность IV комплекса была ниже на 34,3 % чем в контрольной группе. При введении никотинамида на фоне ХАИ активность CS также была ниже на 17,7 % чем в контроле. Введение животным НР и НМН сопровождалось сохранением активностей комплексов I, II и IV, а также активности CS на уровне контрольных значений, что свидетельствует о выраженном митопротекторном действии соединений при ХАИ (рисунок).

Установлено, что содержание ТБКРС в митохондриальной фракции печени крыс при ХАИ было практически в 2 раза выше по сравнению с контролем. При этом концентрации НМТ снижалось на 34,9 % по сравнению с контрольной группой. Полученные результаты вместе с данными о снижении активностей комплексов ЭТЦ и CS, подтверждает развитие в митохондриях печени выраженного окислительного стресса при ХАИ (таблица).

Активности антиоксидантных ферментов в митохондриях печени при ХАИ были значимо выше, чем в контроле – отмечено увеличение активности ГР на 50,1 % и GST на 89,7 % по сравнению с контролем. Наблюдаемые изменения активностей ГР и GST, вероятно, носят адаптивный характер и направлены на устранение последствий окислительного стресса.

Введение на фоне алкоголизации НА незначительно улучшало показатели перекисидации и состояния антиоксидантной системы митохондрий, по

сравнению с животными, не получавшими препараты, тогда как у животных, получавших НР и НМН, уровни ТБКРС, глутатиона, активности ферментов антиоксидантной системы сохранялись на контрольных уровнях (таблица).



**Рисунок – Влияние предшественников биосинтеза НАД на активности I, II и IV комплексов ЭТЦ митохондрий и CS в печени крыс при ХАИ**  
 Обозначения: \*, + –  $p < 0,05$  по отношению к контрольной группе и к группе ХАИ

**Таблица– Влияние НА, НР и НМН на содержание ТБКРС и показатели антиоксидантной системы митохондрий печени крыс при ХАИ**

Показатели	Группы				
	Контроль	ХАИ	ХАИ+НА	ХАИ+НР	ХАИ+НМН
ТБКРС, нмоль/мг	4,95±0,33	9,69±0,72 <sup>А</sup>	7,63±0,82 <sup>А</sup>	5,57±0,44 <sup>В</sup>	5,64±0,25 <sup>В</sup>
Глутатион, нмоль/мг	5,73±0,35	3,73±0,37 <sup>А</sup>	3,92±0,51 <sup>А</sup>	6,36±0,55 <sup>В</sup>	6,21±0,34 <sup>В</sup>
ГР, нмоль/мин/мг	15,70±1,86	23,57±1,09 <sup>А</sup>	17,22±1,59 <sup>В</sup>	15,42±0,77 <sup>В</sup>	14,44±0,73 <sup>В</sup>
ГСТ, мкмоль/мин/мг	1,50±0,14	2,84±0,28 <sup>А</sup>	2,01±0,16 <sup>В</sup>	1,71±0,17 <sup>В</sup>	1,91±0,17 <sup>В</sup>
Каталаза, ед/мин/мг	30,55±1,56	23,98±1,65 <sup>А</sup>	18,82±2,36 <sup>А</sup>	29,72±2,49 <sup>В</sup>	28,34±1,54 <sup>В</sup>

Примечание – А, В –  $p < 0,05$  по отношению к контрольной группе и к группе ХАИ

**Выводы.** Установлено, что ХАИ сопровождается увеличением содержания продуктов пероксидации и снижения показателей антиоксидантной системы, значимым нарушением функционального, и вероятно, структурного состояния митохондрий печени крыс. Полученные результаты показывают, что предшественники биосинтеза НАД – НА, НР и НМН оказывают митопротекторное действие в условиях ХАИ. При этом протекторное действие значительно более выражено у НР и НМН, тогда как эффект НА достаточно умеренный.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Assessment of mitochondrial respiratory chain enzymatic activities on tissues and cultured cells / M. Spinazzi [et al.] // Nature Protocols. – 2012. – Vol. 7, Iss. 6. – P. 1235–1246.
2. Middleton, P. Mitochondrial dysfunction and liver disease: role, relevance, and potential for therapeutic modulation / P. Middleton, N. Vergis // Therap. Adv. Gastroenterol. – 2021. – Vol. 14. – Article ID. 17562848211031394.
3. Preclinical and clinical evidence of NAD<sup>+</sup> precursors in health, disease, and ageing / O. K. Reiten [et al.] // Mech. Ageing Dev. – 2021. – Vol. 199. – Article ID.111567.

#### КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ЦИТОХРОМОВ P450 ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ЛЕКАРСТВ, МЕЖЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ И ПОИСКА НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ В КАЧЕСТВЕ СУБСТРАТОВ И ИНГИБИТОРОВ ЭТИХ ФЕРМЕНТОВ

Шумянцева В.В.<sup>1,2</sup>, Королева П.И.<sup>1</sup>, Булко Т. В.<sup>1</sup>, Агафонова Л.Е.<sup>1</sup>,  
Масамрех Р.А.<sup>1,2</sup>, Кузиков А.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт биомедицинской химии  
имени В.Н. Ореховича

<sup>2</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет  
имени Н.И. Пирогова, г. Москва, Российская Федерация

#### Актуальность

Все метаболические процессы организма человека регулируются ферментными системами. Цитохромы P450 активно исследуются вследствие высокой функциональной и медицинской значимости (Guengerich F.P., 2018). Широкая субстратная специфичность цитохромов P450 позволяет использовать их для исследования метаболических превращений лекарственных препаратов, для получения фармакологически значимых химических соединений (Schneider, E., Clark, D. S., 2013). Монооксигеназная система цитохромов P450 выполняет функции контроля, выведения, регуляции уровня метаболитов, гормонов, защиты от повреждающего действия ксенобиотиков. Системы цитохромов P450 являются одним из основных источников генерации активных форм кислорода (АФК). Электрохимические цитохром P450-системы активно используются как

в режиме биосенсоров для регистрации субстрат-ингибиторного потенциала этого класса гемопротеинов, так и для исследования сложного и многостадийного механизма цитохромов P450 (Shumyantseva et. al., 2018).

### **Цель**

Целью данного исследования является разработка методов для регистрации метаболической трансформации лекарств, анализа субстрат/ингибиторного потенциала цитохромов P450, для исследования межлекарственных взаимодействий, а также разработка подходов для повышения эффективности цитохром P450-электрокаталитических процессов.

### **Материалы и методы исследования**

В работе использовали трехконтактные электроды, полученные методом трафаретной печати (ООО «КолорЭлектроникс», Москва, <http://www.colorel.ru/>); с графитовыми рабочим с диаметром электрода 0,2 см (площадь 0,0314 см<sup>2</sup>) и вспомогательными и хлорсеребряным электродом сравнения. Потенциалы объектов приведены по отношению к электроду сравнения (Ag/AgCl). Электрохимические исследования цитохромов P450 проводили в электролитном буфере состава 0,1 М калий-фосфат, и 0,05 М NaCl, pH 7,4. Электрохимические исследования проводили с помощью потенциостата/гальваностата AUTOLAB PGSTAT 302N («Metrohm Autolab», Нидерланды), программное обеспечение NOVA (версия 2.0) и потенциостата/гальваностата AUTOLAB PGSTAT12 12 (программное обеспечение GPES). Для анализа каталитической активности цитохромов P450 использовали циклическую вольтамперметрию, квадратно-волновую вольтамперметрию, дифференциально-импульсную вольтамперметрию, амперметрию при контролируемом потенциале рабочего электрода. Для иммобилизации цитохромов P450 использовали химически модифицированные электроды.

### **Результаты и обсуждение**

В нашем исследовании предложена неинвазивная модель на основе цитохромов P450, иммобилизованных на электроде как источнике электронов, для исследования межлекарственных взаимодействий при проведении комплексной терапии (Рис. 1). Исследованы электрокаталитические цитохром P450 3A4, P450 2C9, P45017A1 системы как наиболее функционально-значимые изоформы. Найдены эффективные ингибиторы цитохрома P450 17A1 как потенциальные препараты для лечения рака предстательной железы (Kuzikov A.V. et. al., 2014). Показана стимулирующая роль антиоксидантных метаболических препаратов (мексидол, таурин, цитохром с, витамин с) на каталитическую активность цитохромов P450. Антиоксидантные метаболические препараты стабилизируют изоферменты цитохрома P450 проявляя свойства «ловушек» активных форм кислорода за счет уменьшения скорости накопления пероксида водорода и кислородсодержащих радикалов, образующегося при разобщении каталитического цикла. В режиме перехода от 2Д к 3Д сенсору за счет включения фермента в регулярные нанопоровые мембраны анодного оксида алюминия (Anodisc 13), или порообразующего белка стрептолизина O, помещенные на рабочую поверхность электрода

(Шумянцева В.В. и др., 2022) показано повышение эффективности электрокатализа цитохромов P450 3A4 и 2C9.



*Рис. 1. Схема электрон-транспортных путей цитохрома P450 в природной и электрохимической системах*

### Выводы

Биокомплексы с флавиновыми нуклеотидами и рибофлавином как модели электрон-транспортной цепи переноса электродов исследованы в реакциях N-деметилирования эритромицина и 4-гидроксилирования диклофенака (Shumyantseva V.V., 2023). Разработанные подходы позволили увеличить эффективность электрокаталитических цитохром P450-систем на 20-200 %.

Разработанные электрохимические системы на основе цитохромов P450 3A4, P450 2C9, P340 17A1 являются эффективными неинвазивными моделями для анализа межлекарственных взаимодействий на уровне биотрансформации ксенобиотиков, для поиска новых лекарственных препаратов в качестве субстратов или ингибиторов этого функционально значимого класса гемопротеинов. Проведено исследование влияния клинически значимых комбинаций на активность цитохрома P450 3A4. Установлено влияние витаминов группы В и антиоксидантных метаболитических препаратов на каталитическую активность цитохрома P450 3A4 по отношению к нестероидному противовоспалительному препарату диклофенаку (вольтарен) и макролидным антибиотикам эритромицину и кларитромицину. Полученные результаты могут быть использованы для направленной модуляции активности цитохромов P450 у полиморбидных пациентов, получающих комбинированную фармакотерапию. Разработаны подходы для повышения эффективности электрохимических систем на основе функционально значимых цитохромов P450 3A4 и 2C9. Разработаны методы электрохимического анализа субстратов и метаболитов цитохромов P450 для количественной оценки каталитической активности этого класса гемопротеинов.

Исследование выполнено в рамках проекта по созданию и развитию научных центров мирового уровня «Цифровой дизайн и персонализированное здравоохранение» при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение No 075-15-2022-305).

#### ЛИТЕРАТУРА

4. Guengerich F. P. Reference Module in Biomedical Sciences. Comprehensive Toxicology (Third Edition) 2018, 54–86.
5. Kuzikov A. V., Dugin N. O., Stulov S. V., Shcherbinin D. S., Zharkova M. S., Tkachev Y. V., Timofeev V. P., Veselovsky A. V., Shumyantseva V. V., Misharin A. Yu. Steroids. 2014. 38, 66-71.
6. Schneider, E., Clark, D. S. 2013, Biosens. Bioelectron., 39, 1-13.
7. Shumyantseva V. V., Koroleva P. I., Bulko T. V., Shkel T. V., Gilep A. A., Veselovsky A. V. Bioelectrochemistry, 2023, 149, 108277.
8. Shumyantseva V. V., Kuzikov A. V., Masamrekh R. A., Bulko T. V., Archakov A. I. Biosens. Bioelectron. 2018. 121, 192-204.
9. Шумянцева В. В., Королева П. И., Гилеп А. А., Напольский К. С., Иванов Ю. Д., Канашенко С. Л., Арчаков А. И. Доклады РАН. Науки о жизни 2022, 506, 62-67.

### ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС КАК БИОХИМИЧЕСКАЯ ПРИЧИНА СТАРЕНИЯ ЧЕЛОВЕКА

**Юсафзай Н.А., Болдак Е.А., Виницкая А.Г.**

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

На данный момент существует множество теорий, объясняющих причины старения: эволюционная, митохондриальная, гликозилирования белков; повреждения ДНК, и другие теории. Одной из основных ученые считают теорию оксидативного или окислительного стресса [1].

В 1956 году советский академик *Н.Н. Семенов* получил Нобелевскую премию за открытие свободных радикалов. Позже на основе этого открытия *D. Harman* выдвинул гипотезу о наличии связи между старением организма и процессами производства и накопления активных форм кислорода (АФК) в тканях [2]. В соответствии с этой гипотезой при старении возрастает риск повреждения молекул ДНК, белков и липидов, что может привести к старению кожи, развитию онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний, ожирению, сахарному диабету 2-го типа [2, 3].

Окислительный стресс – это несостоятельность антиоксидантной системы организма, при которой клетки подвергаются воздействию чрезмерных уровней АФК. Свободный радикал – это молекула, имеющая неспаренный электрон на внешней орбите, что обуславливает его агрессивность и способность не только вступать в реакцию с белками, нуклеиновыми кислотами и липидами биологических мембран клеток, но также и превращать их в свободные

радикалы, повреждая в результате жизненно важные структуры организма [1, 3, 4]. Позже было установлено, что во внеклеточном пространстве АФК разрушают гликозаминогликаны основного вещества соединительной ткани, изменяя тем самым проницаемость цитоплазматических мембран и нарушая водно-ионный гомеостаз клеток, что может быть одним из механизмов деструкции суставов [4].

Традиционная точка зрения в области свободнорадикальной биологии состоит в том, что свободные радикалы и активные формы кислорода (АФК) являются токсичными, в основном из-за прямого повреждения чувствительных и биологически значимых мишеней, и, таким образом, являются основной причиной окислительного стресса; что сложные ферментативные и неферментативные системы действуют совместно, чтобы противодействовать этой токсичности; и что большую защитную роль играет феномен адаптации. Другая часть традиционного взгляда состоит в том, что процесс старения, по крайней мере, частично, обусловлен накопленным ущербом, причиняемым этими вредными видами. Однако недавние исследователи в этой и смежных областях изучают мнение о том, что супероксидный радикал и активные формы кислорода могут оказывать благотворное влияние [4].

Для того чтобы вернуть окислительный стресс в контролируемые рамки, наш организм имеет собственную антиоксидантную защиту [5]. Антиоксиданты — важнейшие средства борьбы со свободнорадикальными процессами, спасители клеток; защищают клетки от внешних и внутренних токсических воздействий (т.е. прооксидантов); способны нейтрализовать АФК и поддерживать их в незначительной концентрации [1]. Синтез нескольких собственных антиоксидантов, таких как супероксид дисмутаза, каталаза, пероксидаза, глутатион, коэнзим Q - это уникальная способность нашего организма защититься от вредного воздействия свободных радикалов [6].

Одним из наиболее изученных эндогенных антиоксидантов является коэнзим Q10, способный во многом предупредить возрастные изменения в митохондриях [7]. Это единственный жирорастворимый антиоксидант, способный синтезироваться в организме человека и животных, а также постоянно регенерировать с помощью ферментных систем. Непосредственное антиоксидантное действия коэнзим Q10 заключается в предупреждении цепных реакций свободнорадикального окисления, в том числе перекисного окисления липидов клеточных мембран и липопротеинов плазмы крови. Коэнзим Q10 как антиоксидант тормозит развитие атеросклероза улавливая свободные радикалы и предупреждая прооксидантное действие витамина E. Предупреждая окислительное повреждение клеточных мембран и липопротеинов, продлевая работоспособность митохондрий, коэнзим Q10 тормозит процесс старения [7].

Также важными антиоксидантами являются альфа-липовая кислота, бета-каротин, витамин C, витамин E. В организме человека бета-каротин играет две важные роли: участвует в антиоксидантной защите организма и является предшественником витамина A. Витамин A не синтезируется в организме человека, а поступает из пищи. Витамин C – мощный антиоксидант. Он играет важную роль в регуляции окислительно-восстановительных процессов,

участвует в синтезе регулирует свертываемость крови, нормализует проницаемость капилляров, необходим для кроветворения, оказывает противовоспалительное и противоаллергическое действие. Витамин Е, или токоферол – сильный антиоксидант, предупреждающий окисление липидов. Поскольку из липидов состоят мембраны клеток, он предотвращает их разрушение свободными радикалами. Витамин Е улучшает усвоение кислорода, усиливает иммунную реакцию, играет важную роль в предупреждении катаракты, вызванной воздействием свободных радикалов, снижает риск коронарных заболеваний.[5]

Многие исследования показали, что диеты, богатые антиоксидантами, не продлевают ни продолжительность жизни, ни общее состояние здоровья людей из контрольной группы [4, 5]. Бесспорно, что глутатион, аскорбат и витамин Е действуют как антиоксиданты, и в разных организмах они либо синтезируются, либо поступают с обычной пищей. Однако в реакциях с радикалами или АФК они обычно не подвергаются непоправимой модификации, а подвергаются одно- или двухэлектронному окислению, и продукты таких окислений затем восстанавливаются восстановительным путем. Следовательно, процессы, ограничивающие скорость, являются процессами этой восстановительной реактивации, и фактически часть адаптации к окислительному стрессу обусловлена усилением этих восстановительных реактиваций. Добавки, содержащие аскорбат и витамин Е, будут быстро окисляться, особенно при окислительном стрессе, поскольку в этой ситуации процессы восстановительной реактивации испытывают проблемы с поддержанием нормального уровня их восстановленных форм. Неудивительно, что прием витаминных добавок имеет смысл только в случаях несбалансированного питания и в ситуациях, когда витамины быстро метаболизируются. Другие природные соединения растительного происхождения, которые, как считается, действуют как поглотители АФК, вместо этого могут быть агентами, запускающими благоприятную адаптацию к окислительному стрессу [4]

#### **Вывод.**

Таким образом, окислительный стресс токсичен для организма, поскольку вызывает множественные повреждения важных клеточных мишеней. АФК рассматриваются как участвующие в клеточной регуляции, действуя как (окислительно-восстановительные) сигналы, и их вредные эффекты наблюдаются в основном в результате нарушения передачи сигналов, а не из-за прямого повреждения чувствительных мишеней. В то же время окислительный стресс снижает скорость метаболизма и увеличивает время генерации клеток. Полагают, что пониженный уровень метаболизма может быть естественным фактором, уменьшающим продукцию АФК [4]. Следовательно, данная тема еще недостаточно хорошо изучена, и требует проведения дополнительных исследований.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Оксидативный стресс и старение: возможности коррекции / Т. Титова, [и соавт.] //Врач. – 2015. – №. 6. – С. 6-10.

2. Harman, D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry / D. Harman // *J. Gerontol.* – 1956. – Vol. 11. – P. 298–300.
3. Скулачев, В. П. Попытка биохимиков атаковать проблему старения: "мегапроект" по проникающим ионам. Первые итоги и перспективы (обзор) / В.П. Скулачев // *Биохимия.* – 2007. – Т. 72., №. 12. – С. 1700-1714.
4. Liochev, S.I. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging / S.I. Liochev // *Free Radic Biol Med.* – 2013. – Vol. 60. – P. 1-4. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.011. Epub 2013 Feb 19. PMID: 23434764.
5. Лудан, В. В. Роль антиоксидантов в жизнедеятельности организма / В. В. Лудан, Л. В. Польская // *Таврический медико-биологический вестник.* – 2019. – Т. 22., №. 3. – С. 86-92.
6. Гаджиев, А. М. Свободные радикалы и антиоксиданты при мышечной деятельности / А. М. Гаджиев, А. К. Гасанова // *Научный вестник Академии физической культуры и спорта.* – 2020. – Т. 2-3. – С. 64-69. – DOI 10.28942/ssj.v2i3.252. – EDN WTSNWQ.
7. Медведев, О. С. Замедление процессов старения: в фокусе коэнзим Q10 / О.С. Медведев // *Трудный пациент.* – 2012. – Т. 10, №. 4. – С. 50-60.

## Секция 2. **КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ**

### **ОЦЕНКА ПОКАЗАНИЙ И ЧАСТОТЫ НАЗНАЧЕНИЯ В ПЕДИАТРИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ МОЗГОВОГО НАТРИЙУРЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА КАК ОСНОВНОГО ПРОГНОСТИЧЕСКОГО ИНДИКАТОРА РАЗВИТИЯ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

**Арцименя В.А., Прокопович В.Г., Зеневич О.А.**

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

**Актуальность.** Сердечная недостаточность (далее – СН) представляет собой важную причину заболеваемости и смертности во всем мире. Циркулирующие биомаркеры, отражающие патофизиологические пути, участвующие в развитии и прогрессировании СН, могут помочь клиницистам в ранней диагностике и лечении пациентов с СН. Натрийуретические пептиды (NP) – это кардиопротекторные гормоны, выделяемые кардиомиоцитами в ответ на давление или перегрузку объема. Натрийуретический пептид (BNP) типа В (или мозга) синтезируется в сердечных миоцитах и высвобождается в кровеносное русло. Название «мозговой» – исторически сложившееся, так как впервые указанный пептид был обнаружен в головном мозгу свиней. Перегрузка давления/объема, нейрогуморальные факторы, цитокины и ишемия повышают экспрессию proBNP, который расщепляется на активный натрийуретический гормон BNP (аминокислота 77-108) и неактивную часть – NT-proBNP (аминокислота 1-76). Протеолитические ферменты фурин и корин участвуют в катализации этой реакции.

N-концевой фрагмент мозгового натрийуретического гормона (В-типа) (NT-proBNP) представляет собой фрагмент белка, который постоянно образуется в левом желудочке в небольших количествах. Если нагрузка на сердце возрастает, и ему приходится работать в усиленном режиме, продукция белка proBNP, а соответственно, и NT-proBNP начинают резко увеличиваться.

Основная роль данного пептида – регуляция объема циркулирующей крови (далее ОЦК) в сосудах, которая непосредственно влияет на силу сокращения сердечной мышцы. Увеличение продукции мозгового натрийуретического гормона приводит к повышенной секреции ионов натрия и воды почками. Это все ведет к уменьшению ОЦК, следовательно, нагрузка на сердце уменьшается.

**Цель.** Проанализировать частоту назначения лабораторного показателя NT-proBNP у детей, находившихся на стационарном лечении в учреждения здравоохранения «Гродненская областная детская клиническая больница» (далее – УЗ «ГОДКБ») с учётом возраста, нозологии и степени тяжести состояния пациентов.

**Материалы и методы исследования.** Ретроспективно проанализированы медицинские карты детей, находившихся на стационарном обследовании и лечении в УЗ «ГОДКБ», у которых методом ИФА были выявлены повышенные показатели NT-proBNP в крови. В работе использовали базу данных программного обеспечения 4dclient.

**Результаты и обсуждение.** За период с 2022 по 2023 год в УЗ «ГОДКБ» было проведено 47 исследований на NT-proBNP. Диагностически значимое повышение данного показателя наблюдалось у 21 пациента, в равном количестве, как у девочек, так и у мальчиков. Распределение повышенного показателя NT-proBNP в зависимости от возраста: у детей грудного возраста – 33,33% (из них новорожденных детей – 4,76%), от 1 года до 3 лет – 14,3%, от 4 до 6 лет – 14,3%, от 7 до 11 лет – 9,5%, от 12 до 18 лет – 28,57%.

У большинства исследуемых пациентов с повышенным показателем NT-proBNP наблюдались поражения со стороны органов дыхательной системы 52,38% (в 33,33% основным диагнозом была пневмония, а у 19,05% – бронхолегочная дисплазия, муковисцидоз, острые респираторные инфекции). Увеличение показателя при заболеваниях сердечно-сосудистой системы было зарегистрировано в 28,57% (из них острый миокардит как основной диагноз выставлен у 14,28%, болезнь Кавасаки – 9,52%, врожденные пороки сердца – 4,77%). Повышение NT-proBNP при других заболеваниях (бактериальный сепсис новорожденного, политравма, острая кишечная инфекция, медикаментозное отравление) составило 19,05% от всех случаев.

Наибольшее количество детей – 80,95%, у которых было выявлено повышение NT-proBNP, находились на лечении в отделении интенсивной терапии и реанимации, лишь 19,05% – в соматических отделениях детской больницы.

**Выводы.** При дисфункции левого желудочка и застойной сердечной недостаточности повышение содержания NT-proBNP в плазме выявляется раньше, по сравнению с их признаками, выявляемыми при инструментальных исследованиях, включая ЭХОКГ. Причины повышения уровня натрийуретического пептида в крови бывают не только сердечные, но и есть данные о повышении этого показателя при тяжёлом течении пневмонии, бактериальном сепсисе, почечной недостаточности и анемии тяжёлой степени. Это делает практически незаменимым определение содержания NT-proBNP в крови для ранней диагностики и профилактики рисков развития сердечной недостаточности у детей.

## 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. – Гродно : ГрГМУ, 2014. – 155 с.
2. Трухан, Д. И. Болезни сердечно – сосудистой системы: клиника, диагностика и лечение: учебное пособие / Д. И. Трухан, С. Н. Филимонов. – Санкт-Петербург : СпецЛит, 2016. – 321 с.

## УСТАНОВЛЕНИЕ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ КРИТЕРИЕВ РИСКА ДИСЛИПИДЕМИИ У ЛИЦ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

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

ГУО «Белорусская медицинская академия постдипломного образования»,  
г. Минск, Республика Беларусь

**Актуальность.** Прогрессирующее старение населения и рост заболеваний, ассоциированных с возрастом, обуславливают необходимость поиска новых эффективных методов лечения, профилактики и улучшения качества жизни людей пожилого возраста. Ожирение напрямую взаимосвязано с развитием метаболического синдрома (МС), патогенетической платформой которого выступает инсулино- и лептинорезистентность. Термин «метаболический синдром» включает комплекс факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний: абдоминальное ожирение, гипергликемия, дислипидемия, артериальная гипертензия, хроническое воспаление [1, 2]. В связи с этим актуальной и социально значимой является задача сохранения физических, психических и интеллектуальных качеств человека в преклонном возрасте для увеличения периода активной, полноценной жизни. Решение такой сложной задачи предполагает необходимость изучения биохимических процессов, лежащих в основе старения и долгожительства.

**Цель исследования** – установить клинико-лабораторные критерии риска развития дислипидемии у лиц пожилого возраста с целью повышения эффективности профилактики, лечения МС и возраст-ассоциированных заболеваний.

**Материалы и методы исследования.** Обследовано 86 лиц старше 65 лет, которые сформировали следующие группы исследования: основная группа состояла из 61 пациента с избыточной массой тела (средний возраст  $72,3 \pm 8,0$  лет), группу сравнения составили 25 лиц пожилого возраста с нормальной массой тела без эндокринных заболеваний (средний возраст  $67,8 \pm 10,4$  года). Набор пациентов в исследование осуществлялся в отделениях терапевтического профиля Республиканского клинического *госпиталя* инвалидов *ВОВ*.

Критериями включения пациентов в основную группу исследования являлись следующие: возраст старше 65 лет; клинически удовлетворительное общее состояние; ясное сознание; способность к адекватному и продуктивному контакту; отсутствие выраженных когнитивных нарушений; удовлетворительная физическая активность; способность к самообслуживанию; добровольное информированное согласие на проведение клинической и лабораторной диагностики.

Оценивался комплекс следующих клинико-фенотипических показателей: антропометрические параметры (рост стоя, масса тела, индекс массы тела (ИМТ), окружность талии (ОТ), физиологические показатели (частота сердечных сокращений, частота дыхания, уровень артериального давления и клинико-инструментальные данные (электрокардиография, ультразвуковые и рентгенологические обследования).

Взятие крови у пациентов осуществляли утром натощак путем пункции локтевой вены в количестве 5 мл при помощи вакутайнеров. Концентрацию инсулина, лептина, сосудистого эндотелиального фактора роста (СЭФР), белка, связывающего жирные кислоты, 3 типа (БСЖК3) определяли с помощью иммуноферментного анализа. Общую антиоксидантную активность сыворотки крови (ОАА) оценивали спектрофотометрическим методом.

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью программы Statistica v10.0, AtteStat 8.0. Диагностическую эффективность исследуемых параметров оценивали с помощью построения характеристических кривых (ROC-анализ). Определяли пороговый уровень изучаемого параметра, дихотомически разделяющего обследуемых лиц на группы, а также диагностическую чувствительность и специфичность. За пороговую точку cut-off принимали значение диагностического критерия, соответствующее максимуму чувствительности и специфичности на характеристической кривой. Оценивали площадь под характеристической кривой, которая характеризует эффективность диагностического теста (в интервале 1,0-0,9 – абсолютно информативный тест, в интервале 0,9-0,8 – хорошая информативность, в интервале 0,8-0,7 – удовлетворительная, 0,7-0,6 – посредственная информативность, 0,6-0,5 – неинформативный тест). Статистически значимыми являлись различия при  $p < 0,05$  независимо от метода применяемого анализа.

**Результаты и обсуждение.** Для установления клинико-лабораторных критериев риска развития дислипидемии разработан алгоритм оценки клинико-анамнестических данных и лабораторных показателей состояния липидного обмена у лиц пожилого возраста. Решающую роль для стратификации пациентов на группы с риском дислипидемии и без такового играет регистрация отклонений от установленных пороговых уровней биохимических маркеров риска дислипидемии. Алгоритм включает три этапа: клинико-анамнестический, лабораторный, интерпретация полученных результатов.

На 1 этапе проводится анализ клинико-анамнестических данных, что позволяет стратифицировать пациентов старших возрастных групп на лиц с нормальной массой тела (ИМТ  $< 24$  ед., ОТ  $< 80$  см у женщин и  $< 94$  см у мужчин) и избыточной массой тела (ИМТ  $> 24$  ед., ОТ  $> 80$  см у женщин и  $> 94$  см у мужчин). На 2 этапе проводят определение следующих биохимических маркеров: СЭФР, БСЖК3, ОАА, инсулин, лептин. Третий этап включает анализ полученных результатов клинико-лабораторного исследования, что представлено в таблице. К критериям риска развития дислипидемии у лиц пожилого возраста относят следующие изменения уровней изученных биохимических маркеров:

- СЭФР  $> 168,0$  нг/л в сыворотке крови;
- БСЖК3  $> 12,0$  мкг/л в сыворотке крови;
- ОАА  $< 0,80$  мкмоль/л в сыворотке крови;
- инсулин  $> 45,0$  мкЕд/мл в сыворотке крови;
- лептин  $> 27,0$  мкг/л в сыворотке крови.

Таблица – Биохимические маркеры определения риска дислипидемии у лиц пожилого возраста, ROC-анализ

Маркер	Пороговый уровень	Площадь под кривой	Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность
СЭФР, нг/л	168,0	1,0±0,0 p<0,001	100,0%	100,0%
БСЖКЗ, мкг/л	12,0	0,71±0,051 p=0,003	61,0%	82,0%
ОАА, мкмоль/л	0,80	0,80±0,047 p<0,001	68,0%	92,0%
Инсулин, мкЕд/мл	45,0	1,0±0,0 p<0,001	100,0%	100,0%
Лептин, мкг/л	27,0	0,86±0,040 p<0,001	81,0%	82,0%

Известно, что в результате снижения уровня метаболической активности у пожилых изменяется соотношение и состав тканей тела человека: снижается содержания мышечной и увеличивается доля жировой ткани [3]. Продемонстрировано, что исследование содержания СЭФР, БСЖКЗ, ОАА, инсулина и лептина в крови пациентов старших возрастных групп с избыточной массой тела характеризуется высокой диагностической эффективностью, что свидетельствует об усугублении нарушений липидного гомеостаза, сопряженных с ускорением процессов атерогенеза и высоким риском сердечно-сосудистых осложнений – инфарктов миокарда, острых и хронических нарушений мозгового кровообращения.

**Выводы.** Алгоритм определения клинико-лабораторных критериев риска развития дислипидемии у лиц пожилого возраста основан на оценке анамнестических данных и лабораторных показателей сыворотки крови пациентов. Определены пороговые уровни клинико-лабораторных маркеров дислипидемии с высокой диагностической чувствительностью и специфичностью. Решающую роль для стратификации пациентов пожилого возраста с нарушением липидного метаболизма играет регистрация отклонений от установленных пороговых уровней биохимических маркеров риска дислипидемии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Рудой, А.С., Метаболический синдром: современный взгляд на проблему / А.С. Рудой, О.В. Черныш // Военная медицина. – 2016. – № 1. – С. 107–114.
2. Lovell, M. Caring for the elderly: Changing perceptions and attitudes / M. Lovel, // J. Vasc. Nurs. Med. Dir. Assoc. – 2015. – Vol. 24. – P. 22-26.
3. Mathew, H. Metabolic health and weight: understanding metabolically unhealthy normal weight or metabolically healthy obese patients / H. Mathew, O.M. Farr, C.S. Mantzoros // Metabolism. – 2016. – Vol. 65. – P. 73–80.

## ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ИНФЕКЦИИ COVID-19 У БЕРЕМЕННЫХ

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

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

**Актуальность.** В 2019 году в Китае впервые была выявлена новая коронавирусная инфекция, вызванная SARS-CoV-2. В январе 2020 года Всемирной организацией здравоохранения была объявлена пандемия инфекции COVID-19. Эта проблема по-прежнему волнует врачей всех специальностей, включая врачей-акушеров-гинекологов [2]. Учитывая новизну и тяжесть новой коронавирусной инфекций, поиск диагностических маркеров прогрессирования COVID-19 у беременных женщин продолжается. Для выявления пациенток, склонных к прогрессированию заболевания, развитию серьезных осложнений и смерти, необходимы новые тестовые показатели. Определение новых тест-показателей тесно связано с пониманием вирусного патогенеза и механизмов повреждения клеток и органов. Валидированные маркеры могли бы помочь в диагностике, клиническом ведении беременных женщин и профилактике осложнений.

**Цель.** На основании анализа аминокислотного обмена создать диагностическую модель инфекции COVID-19 у беременных.

**Материалы и методы исследования.** Для достижения поставленной цели было обследовано 86 пациенток. Выделена 1-я группа (основная) – 51 беременная с подтвержденным диагнозом COVID-19; 2-я группа (контрольная) – 35 соматически здоровых женщин с беременностью без осложнений. Все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании. Данное исследование было одобрено этическим комитетом УЗ «Гродненский областной клинический перинатальный центр». Определение концентрации аминокислот, их производных и метаболитов проводили в научно-исследовательской лаборатории УО «Гродненский государственный медицинский университет» на хроматографической системе HPLC Agilent 1200. Определялась концентрация цистеина (Cys), гомоцистеина (Hcy), цистеинилглицина (CysGly),  $\gamma$ -глутамилцистеина ( $\gamma$ GluCys), глутатиона (GSH), цистеиновой кислоты (CA), фосфосерина (PSer), цистеинсульфината (CSA), аспартата (Asp), гомоцистеата (HCA), глутамата (Glu), аспарагина (Asn), серина (Ser),  $\alpha$ -аминоадипиновой кислоты ( $\alpha$ AAA), глутамина (Gln), гистидина (His), треонина (Thr), 1-метилгистидина (1MHis), 3-метилгистидина (3MHis), глицина (Gly), фосфоэтанолamina (PEA), цитруллина (Citr), аргинина (Arg), ансерина (Ans), аланина (Ala),  $\beta$ -аланина ( $\beta$ Ala), карнозина (Car), таурина (Tau), ассиметричного диметиларгинина (ADMA), симметричного диметиларгинина (SDMA),  $\alpha$ -аминомасляной кислоты ( $\alpha$ ABA),  $\beta$ -аминомасляной кислоты ( $\beta$ ABA),  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (GABA), тирозина (Tyr), этаноламина (EA), валина (Val), метионина (Met), цистатионина (Ctn), триптофана (Trp),

фенилаланина (Phe), изолейцина (Ile), лейцина (Leu), лизина (Lys), орнитина (Orn).

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием пакета программ Statistica 10.0 (SN - AXAR207F394425FA-Q).

**Результаты и обсуждение.** Пациентки, включенные в исследование, не имели значимых различий по возрасту, сроку беременности, соматической и гинекологической заболеваемости ( $p > 0,05$ ). В основной группе 15 (29,4%) пациенток были с легкой формой клинического течения инфекции COVID-19, 33 (64,7%) – со среднетяжелой и 3 (5,9%) – с тяжелой формой заболевания.

При анализе полученных данных было выявлено, что концентрация 32 параметров в сравниваемых группах статистически значимо различается: концентрация цистеина (Cys), гомоцистеина (Hcy), гамма-глутамилцистеина (gGluCys), фосфосерина (PSer), цистеинсульфината (CSA), аспартата (Asp), гомоцистеата (HCA), глутамата (Glu), аспарагина (Asn), серина (Ser), глутамина (Gln), треонина (Thr), 1-метилгистидина (1MHis), глицина (Gly), цитруллина (Ctr), аргинина (Arg), ансерина (Ans), аланина (Ala), карнозина (Car), асимметричного диметиларгинина (ADMA), симметричного диметиларгинина (SDMA),  $\beta$ -аминомасляной кислоты ( $\beta$ ABA),  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (GABA), тирозина (Tyr), валина (Val), метионина (Met), триптофана (Trp), фенилаланина (Phe), изолейцина (Ile), лейцина (Leu), лизина (Lys), орнитина (Orn).

Множественная логистическая регрессия была проведена для выявления маркеров, ассоциированных с инфекцией COVID-19. Важной задачей этого этапа было сокращение числа переменных модели без значительного снижения прогностической ценности. Для этого переменные были предварительно отобраны с помощью процедуры Борута. После сравнения многомерных регрессионных моделей, построенных с использованием отобранных переменных, можно было выбрать только одну наилучшую модель с наименьшим значением AIC и достоверными коэффициентами регрессии. Значимость полученной регрессионной модели подтверждается высокой достоверностью коэффициентов регрессии и величиной R<sup>2</sup> Макфаддена (аналог коэффициента детерминации для логистической регрессии), значение которого составило 63,6 %, а также низкой (относительно других моделей) величиной AIC = 49,93.

Диагностическая модель инфекции COVID-19:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

где

$p$  – вероятность инфекции COVID-19 у беременных;

$z = b_0 + b_1 [\text{GABA}] + b_2 [\text{Asp}]$ ;

$b_0 = -7,7$ ;  $b_1 = 2,8$ ;  $b_2 = 0,0228$ ;

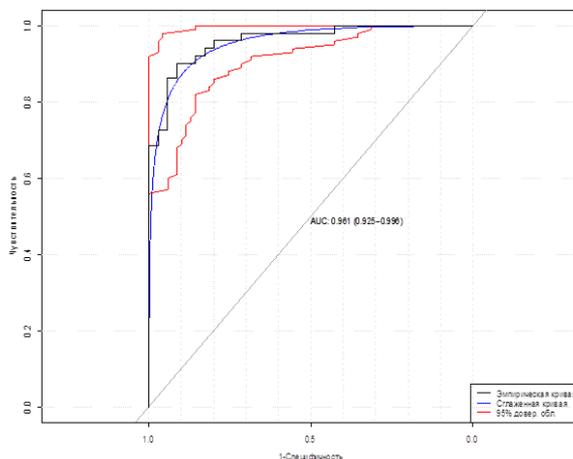
[GABA] = концентрация  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (мкмоль/л);

[Asp] = концентрация аспартата (мкмоль/л).

$e$  – основание натурального логарифма ( $e = 2,718$ ).

При расчетном значении  $p > 0,488$  прогнозируется высокая вероятность инфекции COVID-19 у беременных. Чувствительность метода – 90,2%, специфичность – 91,4%, прогностическая ценность положительного результата – 93,9%, прогностическая ценность отрицательного результата – 86,5%.

Прогностическая эффективность полученной модели была оценена при помощи ROC-анализа. Вычисленная площадь под ROC-кривой составила 0,961 [95% ДИ 0,925; 0,996] (рис.1).



**Рис. 1 – ROC-анализ - прогностическая эффективность полученной модели**

Своевременная и качественная диагностика является одним из ключевых элементов в борьбе с инфекцией COVID-19. На сегодняшний день для определения этиологии COVID-19 разработаны и применяются две основные группы лабораторной диагностики. Это генетическая диагностика, которая выявляет РНК возбудителя и серологическая диагностика, которая выявляет вирусоспецифические антигены и анти-SARS-CoV-2-антитела [1,3].

По результатам применения множественной логистической регрессии, получена математическая формула, включающая концентрацию аспартата и  $\gamma$ -аминомасляной кислоты, которая может быть использована как дополнительный диагностический маркер инфекции COVID-19 у беременных при ложноположительных результатах ПЦР.

**Вывод.** Для диагностики инфекции COVID-19 у беременных женщин была разработана математическая модель, включающая уровни аспартата и  $\gamma$ -аминомасляной кислоты, с чувствительностью – 90,2%, специфичностью – 91,4% и прогностической ценностью положительного результата – 93,9%.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Амвросьева, Т. COVID-19: лабораторная диагностика // Т. Амвросьева, Н. Поклонская // Наука и инновации. – 2020. – №7. С. 22-27. DOI: 10.29235/1818-9857-2020-7-22-27
2. Никифоров, В.В. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19): клиничко-эпидемиологические аспекты / В.В. Никифоров, Т.Г. Суранова, Т.Я. Чернобровкина // Архивь внутренней медицины. – 2020. – №10(2). – С. 87-93. DOI: 10.20514/2226-6704-2020-10-2-87-93.

3. Диагностика COVID-19: современное состояние проблемы и перспективы в отрасли / А.А. Горбунов, [и соавт.] // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2020. – Т.10, №2. – С.69-77.

## **СЕРОСОДЕРЖАЩИЕ АМИНОКИСЛОТЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ У БЕРЕМЕННЫХ С ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19**

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

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

**Актуальность.** Вопрос изучения течения беременности и родов у женщин с COVID-19 остается актуальным. Идентификация новых лабораторных параметров тесно связана с пониманием вирусного патогенеза, а также механизма повреждения клеток и органов в условиях новой коронавирусной инфекции. Многочисленными исследованиями было показано, что концентрация свободных аминокислот и их производных в физиологических жидкостях и тканях является своеобразным интегральным показателем гомеостаза, характеризующего обмен веществ, а закономерности формирования аминокислотного фонда в организме объективно отражают состояние метаболического баланса [3]. Серосодержащие аминокислоты и их производные (цистеин Cys, цистеин (CA), цистатионин (Ctn), таурин (Tau), метионин (Met), гомоцистеиновая кислота (Hcy), глутатион (GSH)) обладают широким спектром воздействия на биологические процессы *in vivo*. SH-группа участвует в реализации таких процессов, как дыхание и окислительное фосфорилирование, в работе большинства ферментов, регуляции проницаемости мембран, синтезе многих биологически активных веществ [1]. Большое теоретическое и практическое значение имеет изучение групповых изменений серосодержащих аминокислот и их производных при различных физиологических и патологических состояниях.

**Цель.** Изучить концентрацию серосодержащих аминокислот и их производных в плазме крови у беременных с COVID-19 и установить корреляционные связи со степенью тяжести инфекции.

**Материалы и методы исследования.** Для достижения поставленной цели было обследовано 86 пациенток. Выделена 1-я группа (основная) – 51 беременная с подтвержденным диагнозом COVID-19; 2-я группа (контрольная) – 35 соматически здоровых женщин с беременностью без осложнений. Данное исследование было одобрено этическим комитетом УЗ «Гродненский областной клинический перинатальный центр». Критерии включения в исследование: возраст беременных от 18 до 45 лет, положительный результат ПЦР на РНК вируса SARS-CoV-2 при заборе крови, одноплодная беременность на сроке от 22 до 40 недель. Критерии исключения: отсутствие резус- и АВО-изоиммунизации, хромосомных аномалий, генетических мутаций и

врожденных пороков развития у плода, наличие у матери тяжелой экстрагенитальной патологии, миомы матки больших размеров.

Определение концентрации серосодержащих аминокислот проводили в научно-исследовательской лаборатории УО «Гродненский государственный медицинский университет» на хроматографической системе HPLC Agilent 1200. Определялась концентрация цистеина (Cys), гомоцистеина (Hcy), цистеинил-глицина (CysGly), глутатиона (GSH), цистеиновой кислоты (CA), цистеинсульфината (CSA), гомоцистеата (HCA), таурина (Tau), метионина (Met), цистатионина (Ctn) [4]. Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием пакета программ Statistica 10.0 (SN - AXAR207F394425FA-Q).

**Результаты и обсуждение.** Пациентки, включенные в исследование, не имели значимых различий по возрасту, сроку беременности, соматической и гинекологической заболеваемости ( $p > 0,05$ ). В основной группе 15 (29,4%) пациенток были с легкой формой клинического течения инфекции COVID-19, 33 (64,7%) – со среднетяжелой и 3 (5,9%) – с тяжелой формой заболевания.

Содержание серосодержащих аминокислот в плазме крови обследованных пациенток представлена в таблице.

При анализе полученных данных было выявлено статистически значимое повышение концентрации цистеина на 27% ( $p = 0,001$ ), гомоцистеина на 19% ( $p = 0,017$ ), гамма-глутамилцистеина на 20,8% ( $p = 0,000$ ), цистеинсульфината на 37,8% ( $p = 0,000$ ), гомоцистеата на 25% ( $p = 0,002$ ), метионина на 15% ( $p = 0,002$ ) у пациенток с инфекцией COVID-19 по сравнению с контрольной группой.

Принимая во внимание то, что аминокислоты их производные играют важную роль в метаболических процессах в клетке, их можно рассматривать в качестве диагностических и прогностических маркеров заболевания, а также в качестве универсальных природных регуляторов и эндогенных модификаторов биологических реакций [2].

Таблица – Концентрация серосодержащих аминокислот в плазме крови в сравниваемых группах, мкмоль/л

Показатель	Основная группа (n=51)	Контрольная группа (n=35)	p - уровень
Метионин (Met)	57,014 [46,365-66,098]*	48,511 [44,395-54,202]	0,002
Цистатионин (Ctn)	12,105 [6,191-17,337]	11,48 [5,766-15,013]	0,819
Цистеин (Cys)	272,901 [242,257-296,923]*	214,279 [178,386-244,295]	0,000
Цистеиновая кислота (CA)	1,957 [1,543-2,321]	1,872 [1,628-2,023]	0,654
Цистеинсульфинат (CSA)	1,581 [1,227-1,883]*	0,984 [0,701-1,286]	0,000
Цистеинил-глицин	21,912	24,679	0,165

(Cys-Gly)	[16,072-26,716]	[19,804-27,62]	
γ-глутамилцистеин (γGluCys)	13,823 [11,836-15,35]*	10,949 [10,076-11,85]	0,000
Глутатион (GSH)	5,235 [3,974-6,262]	5,892 [4,7-6,652]	0,055
Таурин (Tau)	90,945 [62,306-116,008]	78,654 [58,23- 90,749]	0,17
Гомоцистеин (Hcy)	10,271 [7,585-12,532]*	8,311 [6,706-9,81]	0,017
Гомоцистеат (HCA)	0,357 [0,289-0,41]*	0,266 [0,181-0,366]	0,002
Серосодержащие аминокислоты	407 [375-466]*	353 [305-386]	0,001

Примечание:

- данные представлены в виде медианы, 25% и 75% процентиля;
- \* статистически значимые различия (тест Манна-Уитни).

Проведенный нами, корреляционный анализ между серосодержащими аминокислотами и степенью тяжести инфекции показал слабую прямую зависимость с концентрацией гомоцистеина ( $R=0,26$ ,  $p<0,05$ ), гамма-глутамилцистеина ( $R=0,57$ ,  $p<0,05$ ), цистеина ( $R=0,52$ ,  $p<0,05$ ), метионина ( $R=0,34$ ,  $p<0,05$ ).

#### **Выводы:**

1. У беременных с инфекцией COVID-19 отмечается статистически значимое увеличение концентрации серосодержащих аминокислот – цистеина, гомоцистеина, гамма-глутамилцистеина, цистеинсульфината, гомоцистеата, метионина.

2. При нарастании степени тяжести коронавирусной инфекции у беременных отмечаются повышение уровня гомоцистеина ( $R=0,26$ ,  $p<0,05$ ), гамма-глутамилцистеина ( $R=0,57$ ,  $p<0,05$ ), цистеина ( $R=0,52$ ,  $p<0,05$ ), метионина ( $R=0,34$ ,  $p<0,05$ ), что свидетельствует о росте оксидантного стресса по мере увеличения тяжести данной патологии.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Гараева, О.И. Серосодержащие аминокислоты как маркеры состояния стресса / О.И. Гараева // Buletinul ASM. Stiintele vietii, Fiziologia si Sanocreatologia. - 2011. - № 3. -С. 50-62.
2. Клинические аспекты гипергомоцистеинемии: монография / В. А. Снежицкий, В. М. Пырочкин, В. В. Спас и др. - ГрГМУ, 2011. - 292 с.
3. Наумов, А. В. Гомоцистеин. Медико-биологические проблемы / А. В. Наумов. – Минск: Профессиональные издания, 2013. – 312 с.

4. Наумов, А. В. Определение гомоцистеина методом ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией в микрообъемах биологической жидкостей /А.В. Наумов, Е.М. Дорошенко// Сборник тезисов докладов Республиканской научной конференции по аналитической химии с международным участием «Аналитика РБ – 2010», Минск, 14-15 мая 2010 г. – 138 с.

## **ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ПЛОВЦОВ**

**Гилеп И.Л., Будко А.Н., Гаврилова С.О.**

ГУ «Республиканский научно-практический центр спорта»,  
*г. Минск, Республика Беларусь*

**Актуальность.** В настоящее время широко используется позитивное влияние горной гипоксии на функциональные возможности спортсменов. В циклических видах спорта подготовка в среднегорье используется для повышения работоспособности на разных этапах подготовки как в подготовительном, так и в предсоревновательном. Тренировки в условиях гипобарической гипоксии способствуют увеличению транспорта кислорода и изменению использования кислорода тканями посредством метаболической модуляции [4]. Что в свою очередь приводит к повышению аэробной выносливости и общей работоспособности [1]. Однако последствия острой гипобарической гипоксии на фоне нерационального использования тренировочных нагрузок, могут способствовать повышенному риску развития острой высотной болезни и срыву адаптационных перестроек. В связи с этим остается актуальным изучение метаболического ответа организма спортсменов на специфические нагрузки специальной подготовки в условиях среднегорья.

**Целью исследования** являлась метаболическая оценка адаптации и переносимости тренировочных нагрузок пловцов в условиях среднегорья.

**Материалы и методы исследования.** В исследовании принимали участие 13 спортсменов национальной команды республики Беларусь по плаванию (10 мужчин, 3 женщины, из них 6 – МСМК, 7 – МС). Исследования проводились перед учебно-тренировочным сбором (УТС), после двухнедельного пребывания в условиях среднегорья и на следующее утро после возвращения с УТС. Взятие крови для определения биохимических показателей осуществлялось утром, натощак, в отставленном постнагрузочном периоде. Содержание метаболитов, гормонов и ферментов в крови осуществляли, используя стандартные наборы ЗАО «Диакон ДС» (Россия) с помощью полуавтоматического спектрофотометра "PV 1251C–Solar" (Республика Беларусь). Гормональные исследования осуществляли с использованием фотометра для микропланшетов HiPo MPP-96. Определение гематологических показателей проводили на стационарном гематологическом анализаторе SYSMEX XT(2000i) (Япония).

Анализ базы данных проводился с использованием программного обеспечения «SPSS Statistics 21». Для накопления данных и первичной работы с ними использована программа «Microsoft Excel 2017».

**Результаты исследования и их обсуждение.** Анализ биохимических показателей до проведения учебно-тренировочного сбора в среднегорье, после двухнедельного пребывания в горах и после возвращения спортсменов к исходным условиям показал, что большинство среднегрупповых показателей находились в пределах клинической нормы (таблица).

Так концентрация мочевины, активность ферментов КФК, АСТ, АЛТ находились в среднем во всех группах в пределах клинической нормы. Анализ индивидуальных значений показал увеличение активности АСТ выше клинической нормы в 38 % случаев после двухнедельного пребывания в горах. Что указывало на недостаточную адаптацию сердечно-сосудистой системы к нагрузочному режиму в среднегорье. В среднем по группе уровень кортизола как у мужчин, так и у женщин после сбора снижается по сравнению с уровнем кортизола до сбора.

Несмотря на то, что значимых отличий не наблюдается, можно говорить, что тренировочный процесс в горах оказывает положительное влияние на стрессоустойчивость организма. В то же время уровень тестостерона не увеличился как в среднем по группе, так и при индивидуальном анализе спортсменов. Следует отметить, что концентрация тестостерона у всех спортсменов мужчин находилась в верхней половине значений референтного интервала нормальных величин, что характерно для спортсменов высокого класса, тренирующихся в скоростно-силовых видах спорта [5].

Таблица – групповые биохимические показатели крови пловцов с учетом пола

Группы	Мужчины			Женщины		
	До сбора	После 2-х недель	После сбора	До сбора	После 2х недель	После сбора
	1	2	3	4	5	6
Мочевина, ммоль/л	5,38 (4,6; 6,2)	5,95 (5,2; 7,3)	7,45 (7,1; 8,1)	4,13 (3,8; 4,8)	6,3 (5,3; 7,5)	5,9 (5,6; 6,0)
КФК, Ед/л	253 (202; 363)	218,5 (169; 284)	233 (131; 246)	130 (115; 231)	148 (105; 202)	162 (134; 176)
АСТ, Ед/л	33,2 (24,9; 37,7)	38,4 (31,0; 49,7)	25,4 (22,9; 28,6)	23,5 (20,5; 25,6)	25,4 (21,3; 28,9)	23,5 (20,5; 25,6)
АЛТ, Ед/л	21,4 (19,6; 27,4)	27,7 (23,6; 38,4)	26,5 (19,1; 28,4)	17,2 (16,2; 18,6)	25,4 (23,8; 27,6)	19,1 (17,8; 23,4)
Кортизол, нмоль/л	706 (507; 794)	478 (453; 533)	337 (257; 526)	677 (583; 737)	672 (652; 762)	372 (370; 611)
Тестостерон, нмоль/л	27,9 (26,3; 29,9)	33,5 (28,4; 37,5)	27,3 (22,8; 33,2)	2,7 (2,35; 3,4)	3,7 (3,4; 3,9)	4,4 (3,6; 4,7)
Гемоглобин, г/л	155* <sup>2</sup> (146; 159)	166* <sup>1</sup> (161; 169)	167 (158; 169)	132* <sup>5</sup> (123; 135)	159* <sup>4</sup> (157; 159)	140 (139; 150)
Гематокрит, %	46,0* <sup>2</sup> (42,1; 46,7)	49,1* <sup>1</sup> (48,5; 50,6)	48,9 (45,5; 49,4)	39* <sup>5</sup> (35,5; 40,5)	47,7* <sup>4</sup> (47,1; 47,9)	42,3 (41,5; 43,9)
* - значимые различия между группами по U-критерию Манна-Уитни, (P<0,05)						

Концентрация гемоглобина значительно увеличивается в двух группах, что свидетельствует о формировании положительной адаптации спортсменов в условиях среднегорья (таблица) [2, 3]. Наряду с этим, наблюдается значимое увеличение гематокрита после двухнедельного пребывания в горах как у мужчин, так и у женщин. Анализ индивидуальных значений выявил увеличение гематокрита у некоторых спортсменов выше нормальных величин, что свидетельствует о повышении вязкости крови и важности соблюдения питьевого режима в горах. Известно, что влажность воздуха в горах на высоте 2000 м в два раза меньше, а следовательно воздух суше, чем на уровне моря. При этом присутствует низкое парциальное давление кислорода во вдыхаемом воздухе. Следовательно, усиливается потеря жидкости организмом не только путем испарения с кожи, но и через легкие, путем гипервентиляции. В связи с этим важно не допускать обезвоживания организма.

### **Выводы.**

Воздействие умеренной гипобарической гипоксии в среднегорье после двухнедельного УТС приводит к росту концентрации гемоглобина и гематокрита в крови пловцов. Это является положительным адаптационным механизмом на понижение парциального давления кислорода во вдыхаемом воздухе, улучшением кислородтранспортных функций организма. Однако повышенная вязкость крови может стать причиной ряда заболеваний, поэтому необходимо осуществлять биохимический контроль в течение УТС. Важно отметить, что концентрация кортизола у спортсменов снижается после трехнедельного прибывания в среднегорье, что положительно влияет на стрессоустойчивость организма. Данное исследование может оказать позитивное влияние на построение тренировочного процесса пловцов в условиях среднегорья.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Николаева, А. Г. Использование адаптации к гипоксии в медицине и спорте. Монография/ А. Г. Николаева. – Витебск: ВГМУ, 2015. – 150 с.
2. Сухань, Е. В. Адаптационные реакции организма спортсменов-биатлонистов к физическим нагрузкам в равнинных и горных условиях / Е. В. Сухань, Л. С. Сосна, Н. В. Шведова // Прикладная спортивная наука. – 2018. – № 1(7). – С. 63–67.
3. Фролова, О. В. Диагностика аэробных возможностей организма спортсменов циклических видов спорта в условиях гипоксии / О. В. Фролова, Ю. А. Кондакова // Вестник СурГУ. – 2015. – № 3(9). – С. 61–64.
4. Athletes at High Altitude / M Khodaei [et al] // Sports Health. – 2016. – № 8(2). – P. 126–132.
5. Fink J. The role of hormones in muscle hypertrophy / J. Fink, B. J. Schoenfeld, K. Nakazato // The Physician and Sportsmedicine. – 2018, – V. 46, – P. 129-134.

# ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ У НОСИТЕЛЕЙ ГЕНОТИПОВ ПО ПОЛИМОРФНОМУ МАРКЕРУ rs34532313 ГЕНА MTNR1A В ОТВЕТ НА СРЕСС-РЕАКЦИЮ

Глуткин С.В., Зинчук В.В., Гуляй И.Э., Грицевич Д.Г.,  
Гритченко К.М.

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

**Актуальность.** Известны мембранные рецепторы мелатонина MTNR1A и MTNR1B, которые экспрессируются в супрахиазматическом ядре, мозжечке, таламусе, гиппокампе, а также в периферических тканях. Реакции, опосредованные рецепторами мелатонина MTNR1A и/или MTNR1B, следует рассматривать в качестве потенциальных мишеней для лечения нарушений обучения и памяти, нейродегенерации и наркомании. Рецептор мелатонина MTNR1A связывается с белками G $\alpha$ i и нечувствительными белками Gq/11G и ингибирует циклический аденозинмонофосфат, передачу сигналов протеинкиназы A и фосфорилирование транскрипционного фактора [1].

Различия в последовательностях ДНК влияют на то, как системы мозга реагируют на стресс. Влияние стресса на организм может изменить способ экспрессии генов, то есть то, насколько легко они активируются, без изменения самой последовательности ДНК [2]. Через активацию рецепторов MTNR1A наблюдается фазовый сдвиг циркадных ритмов, реализуются нейрохимические процессы ослабления депрессивных расстройств, ингибирование гибели митохондриальных клеток и др. [3; 4].

**Цель.** Выявить особенности проявления функционального состояния у носителей генотипов по полиморфному маркеру rs34532313 гена MTNR1A в ответ на стресс-реакцию.

**Материалы и методы исследования.** В исследовании приняли участие 79 студентов мужского пола в возрасте от 18 до 23 лет. Исследования проводились при добровольном согласии студентов в соответствии с рекомендациями и решением Комитета по биомедицинской этике УО «Гродненский государственный медицинский университет». Эксперимент проводился в условиях различной продолжительности светлой и темной частей суток: в периоды весеннего равноденствия (ПВР), зимнего (ПЗС) и летнего солнцестояния (ПЛС). Среднее значение долготы дня составляло 7 часов и 24 минуты для зимнего солнцестояния, 12 часов и 5 минут – для весеннего равноденствия, 17 часов и 7 минут – для летнего солнцестояния.

Определение индивидуально-типологических особенностей и функционального состояния обследуемых осуществлялась в утреннее время с помощью компьютерного комплекса для психофизиологического тестирования «НС-Психотест» фирмы «Нейрософт». Психофизиологический статус добровольцев оценивался до и после интеллектуальной нагрузки. У каждого участника исследования было проведено определение среднего значения времени реакции, стрессоустойчивости, подвижности нервных процессов, коэффициента силы нервной системы (КСНС), индекса утомляемости (ИУ),

коэффициента асимметрии внимания (КАВ) до и после интеллектуальной нагрузки в условиях различной продолжительности светлой и темной частей суток.

В качестве материала для генетического исследования использовали буккальный соскоб. Лицам, включенным в исследование, был выполнен молекулярно-генетический анализ распределения частот аллелей и генотипов С/Т гена MTNR1A (rs34532313). Экстракция геномной ДНК проводилась из буккального эпителия с использованием «Комплекта реагентов для экспресс-выделения ДНК из буккального соскоба», производства ООО НПФ «Литех», РФ.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием программы «Statistica». Использовали методы непараметрической статистики: Н-критерий Краскела-Уоллиса, U-критерий Манна-Уитни, Т-критерий Уилкоксона, коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r). Данные представлены в виде Me [25%-75%], где Me – медиана, [25%-75%] – [25 перцентиль-75 перцентиль]. Критический уровень значимости принимали  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Оценка частоты встречаемости полиморфного варианта С/Т гена MTNR1A (rs34532313) показала, что гомозиготный дикий тип СС наблюдается у 60% обследованных, генотип СТ – 34,9% , генотип ТТ – 5,1%. Распространенность аллеля С составляет – 77,5%, мутантного аллеля Т – 22,5%. В зависимости от генотипов гена рецептора мелатонина MTNR1A были сформированы три экспериментальные группы: 1-ая – СС, 2-ая – СТ, 3-ья – ТТ.

Межгрупповое сравнение выявило более высокое значение КАВ до нагрузки у лиц генотипа СТ (1 [1;1,18]) чем у генотипа СС (0,5 [0;1],  $p < 0,01$ ) в период наибольшей продолжительности темной части суток. Среднее значение времени реакции у носителей генотипа ТТ (277 [271;284] сек.) после интеллектуальной нагрузки было ниже чем у СТ типа (300 [290;320] сек,  $p < 0,05$ ) и СС типа (307 [294;317] сек,  $p < 0,01$ ) в ПВР. После нагрузки у лиц генотипа СТ наблюдался меньший уровень показателя возбуждения 0,5 [-0,75;1,03] в сравнении с СС генотипом (1,22 [0,61;2,66],  $p < 0,01$ ) в условиях одинаковой продолжительности светлой и темной частей суток. В ПЛС у носителей генотипа ТТ среднее значение времени реакции было более низким (277 [269;288] сек.) чем у СС типа (296 [286;312] сек,  $p < 0,01$ ).

Интеллектуальная нагрузка привела к понижению КАВ у лиц генотипа СТ с 1 [1;1,18] до 0 [0;1,3] ( $p < 0,05$ ) в период наименьшей и до 0,2 [0;1] ( $p < 0,05$ ) наибольшей продолжительности светлой части суток. У генотипа СС воздействие на мозговую активность привело к снижению среднего значения скорости реакции с (298 [286;306] сек.) до (287 [279;302] сек,  $p < 0,001$ ), ИУ с (1,44 [1,29;1,56]) до (1,37 [1,31;1,47],  $p < 0,01$ ), КАВ с 0,5 [0;1] до 0 [0;0,93] ( $p < 0,05$ ) в условиях наибольшей продолжительности темной части суток.

У носителей генотипа СТ выявлена корреляционная зависимость: в ПВР между показателем возбуждения после нагрузки и показателем стрессоустойчивости до нагрузки ( $r = -0,67$ ), КСНС после и показателями

торможения ( $r=-0,68$ ) и возбуждения ( $r=-0,62$ ) до нагрузки; в ПВР между показателем возбуждения после и КАВ до нагрузки ( $r=-0,66$ ), средним значением скорости реакции после и КАВ до нагрузки ( $r=-0,77$ ); в ПЛС между показателем торможения после и ИУ до нагрузки ( $r=0,67$ ).

У носителей генотипа СС установлены корреляционные связи: в ПВР между ИУ после и показателем торможения до нагрузки ( $r=-0,34$ ), КАВ и показатель возбуждения после нагрузки ( $r=-0,31$ ); в ПЛС между показателем возбуждения после и средним значением скорости реакции до ( $r=-0,3$ ), КСНС до ( $r=0,3$ ), показателем торможения ( $r=0,3$ ), ИУ ( $r=-0,33$ ) после нагрузки,

**Выводы.** Таким образом, выявленные различия указывают на особенности реагирования носителей разных генотипов по полиморфному маркеру rs34532313 гена MTNR1A в ответ на мыслительную активность и меняющуюся продолжительность светлой и темной частей суток, что можно использовать для профилактики формирования аллостатического напряжения у данных лиц.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. MT1 and MT2 Melatonin Receptors: A Therapeutic Perspective / Liu J [et al.] // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2016. – № 56. – P. 361-383.
2. Buchanan, T.W. The role of genetics in stress effects on health and addiction / T.W. Buchanan, W.R. Lovallo // *Curr. Opin. Psychol.* – 2019. – № 27. – P. 72-76.
3. Effect of MT1 melatonin receptor deletion on melatonin-mediated phase shift of circadian rhythms in the C57BL/6 mouse / M.L. Dubocovich [et al.] // *J. Pineal Res.* – 2005. – Vol. 39, № 2. – P 113-20.
4. Alterations of melatonin receptors MT<sub>1</sub> and MT<sub>2</sub> in the hypothalamic suprachiasmatic nucleus during depression / Y-H Wu [et al.] // *J. Affect. Disord.* – 2013. – Vol. 148, № 2-3. – P. 357–67.

#### АКТИВАЦИЯ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ У ПАЦИЕНТОВ С КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19

Глуткина Н.В.<sup>1</sup>, Гуляй И.Э.<sup>1</sup>, Рабковская Е.М.<sup>1</sup>, Норик С.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>УО «Гродненский государственный медицинский университет»

<sup>2</sup>УЗ «Гродненская университетская клиника (поликлиника)»,

г. Гродно, Республика Беларусь

**Актуальность.** Коронавирусная инфекция характеризуется тем, что у большого количества пациентов наблюдаются серьезные поражения легких, приводящие к тяжелому развитию этой патологии и в ряде случаев к летальному исходу [3]. Выяснение механизмов генеза этой легочной патологии позволит определить правильное направление для успешного лечения данного заболевания [5]. В связи с этим, представляется важным осуществление исследований по патогенезу COVID-19, особенностям течения этого заболевания.

Развитие респираторных вирусных инфекций, включая COVID-19, как правило, сопровождается накоплением в крови и в тканях продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и, соответственно, развитием окислительного стресса, что предполагает целесообразным использование антиоксидантов и иных средств, улучшающих насыщенность крови кислородом [6].

**Цель.** Изучить активность показателей перекисного окисления липидов у пациентов с коронавирусной инфекцией.

**Материалы и методы исследования.** Объектом исследования являлись пациенты с коронавирусной инфекцией COVID-19 (15 человек), диагноз был установлен на основании верификации вируса при качественном определении РНК SARS-CoV-2 в соскобе клеток ротоглотки методом полимеразной цепной реакции, а также на основании типичной клинической картины и характерных для данной патологии изменений в легких по данным рентгеновской компьютерной томографии органов грудной клетки. Степень тяжести вирусной пневмонии определяли по регионарной классификации диагностики и лечению COVID-19, согласно которой отсутствие признаков вирусной пневмонии определялась как – КТ-0; легкая форма пневмонии с участками «матового стекла», выраженность патологических изменений менее 25% – КТ-1; умеренная пневмония, поражено 25-50% легких – КТ-2; среднетяжелая пневмония, поражено 50-75% легких – КТ-3; тяжелая форма пневмонии, поражено >75% легких – КТ-4. Данные изменения соответствовали классификации Голландской ассоциации радиологов, CO-RADS 4-5. Средний возраст 58,0 (58,0; 62,0), 6 женщин; 9 мужчин. Группа сравнения состояла из 15 соматически здоровых лиц (5 женщин; 10 мужчин) в возрасте 54,0 (53,0; 57,0) лет. Все пациенты, участвовавшие в исследовании, давали письменное информированное согласие. Проведение исследования одобрено этическим комитетом УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Интенсивность свободнорадикального окисления липидов оценивали в плазме и эритроцитах по уровню первичных (диеновые конъюгаты (ДК)) и промежуточных (малоновый диальдегид (МДА)) продуктов ПОЛ. Уровень ДК определяли по интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока в области спектра 232–234 нм, характерного для конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов [4]. Оптическую плотность измеряли на спектрофлуориметре СМ2203 «СОЛАР» (Беларусь) при длине волны 233 нм по отношению к контролю. Концентрацию МДА оценивали по взаимодействию с 2'-тиобарбитуровой кислотой, которая при нагревании в кислой среде приводит к образованию триметинового комплекса розового цвета [4]. Интенсивность окраски измеряли на спектрофотометре РV1251С «СОЛАР» (Беларусь) при длине волны 535 и 540 нм для плазмы и эритроцитов по отношению к контролю. Концентрацию МДА выражали в мкмоль/л.

Все 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”. Достоверность полученных данных с учетом размеров малой выборки, множественных сравнений, оценивалась с использованием U-критерия Манна-Уитни. Для удобства все показатели выражали в виде медианы (Me) и квартилей (25, 75%). Достоверно значимыми различия между группами считали при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** В ходе проведенных исследований были получены результаты, в соответствии с которыми установлено увеличение концентрации основных показателей ПОЛ в крови при этом заболевании. Так, у пациентов с COVID-19 до лечения наблюдался рост продуктов ПОЛ (ДК и МДА) как в плазме, так и в эритроцитах по сравнению с контрольной группой. При этом уровень ДК в плазме увеличился в 1,81 раза ( $p < 0,05$ ), в эритроцитах – 2,37 раза ( $p < 0,05$ ). Концентрация МДА в плазме в группе до лечения значительно выше в сравнении с контрольной и с группой после лечения соответственно: в 3,96 раза ( $p < 0,05$ ) и 1,73 раза ( $p < 0,05$ ) в эритроцитах и 1,37 раза ( $p < 0,05$ ) в плазме и 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) в эритроцитах. МДА является высокотоксичным продуктом ПОЛ и служит информативным индикатором оксидативного стресса, который является одним из возможных факторов развития тяжелой степени COVID-19 [7].

В нашем исследовании отмечается статистически значимое повышение уровня ДК и концентрации МДА в крови, что свидетельствует об активации свободнорадикальных процессов в группе до лечения и является одной из причин развития данной патологии у пациентов с коронавирусной инфекцией. Одним из возможных факторов развития тяжелой степени COVID-19 является оксидативный стресс. В физиологических условиях производство активных форм кислорода контролируется эффективной системой антиоксидантов – молекул, которые способны их нейтрализовать. Для адекватного ответа на вирусную инфекцию в организме поддерживается редокс-гомеостаз, а его нарушение в сторону избыточного образования АФК приводит к развитию окислительного стресса и последующему повреждению клеток и тканей [7]. В наших предыдущих исследованиях показано, что у пациентов с коронавирусной инфекцией отмечается сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо, а при снижении  $pO_2$  в крови это можно расценивать, как попытку организма компенсировать кислородную недостаточность, но в условиях окислительного стресса, когда нарушена утилизация кислорода тканями и значительная его часть используется в оксигеназных реакциях, ведущих к образованию активных форм кислорода, это может приводить к активации процессов свободнорадикального окисления.

После лечения показатели ПОЛ (ДК и МДА) достоверно снизились по сравнению с группой до лечения. Уровень ДК в 1,35 раза ( $p < 0,05$ ) в плазме и в 1,28 раза ( $p < 0,05$ ) в эритроцитах. Концентрация МДА в плазме снизилась в 2,89 раза ( $p < 0,05$ ), а в эритроцитах – в 1,33 раза ( $p < 0,05$ ). Можно предположить, что снижение оксидативного стресса достигается как за счет непосредственного взаимодействия мелатонина с активными формами кислорода и азота, так и опосредованно через активацию работы антиоксидантных ферментов [1].

**Выводы.** Согласно результатам нашего исследования, у пациентов с коронавирусной инфекцией наблюдается значимая активность свободнорадикального окисления липидов, проявляющаяся в росте ДК, МДА, которые в значительной степени отражают развитие окислительного стресса. В процессе проведенной терапии наблюдается снижение активности процессов липопероксидации в группе после лечения, что свидетельствует об эффективности проводимой терапии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Андрианова, Н. В. Воспаление и окислительный стресс как мишени для терапии ишемического повреждения почек / Н. В. Андрианова, Д. Б. Зоров, Е. Ю. Плотников // Биохимия. – 2020. – Т. 85, № 12. – С. 1873-1886.
  2. Влияние мелатонина на кислородзависимые процессы / Зинчук В. В. [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – Т. 76, № 2. – С. 32–36.
  3. Громова, О.А. О перспективах применения тиамин, пиридоксина и цианокобаламина в комплексной терапии и реабилитации пациентов с COVID-19 / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, А. Г. Чучалин // Пульмонология. – 2021. – Т. 31, № 3. – С. 355-363.
  4. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В. С. Камышников. – 2-е изд. – Мн.: Беларусь, 2002. – Т. 1. – 465 с.
  5. Пандемия COVID-19: особенности механизма действия лекарственных средств / Карева Е. Н. [и др.] // Экспериментальная и клиническая физиология. – 2021. – Т. 84, № 3. – С. 28-40.
  6. Окислительный стресс и воспаление в патогенезе COVID-19 / Кулес В. Г. [и др.] // Росс. мед. журнал. – 2020. – Т. 26, № 4. – С. 244-247.
  7. COVID-19 и окислительный стресс / Черняк Б. В. [и др.] // Биохимия. – 2020. – Т. 85, № 12. – С. 1816-1828.
- Финансирование осуществляется в рамках научного проекта ГПНИ № 20210366.*

## ОЦЕНКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БЕРЕМЕННЫХ С COVID-19 ПРИ ГОСПИТАЛИЗАЦИИ В СТАЦИОНАР

*Гриневич Т.Н., Островская К.А., Кот М.О., Бизунова О.П.,  
Селезень Ж.Н.*

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

**Актуальность.** Коронавирусная болезнь 2019 года (COVID-19) может быстро перерасти в острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) и привести к серьезным осложнениям. С ростом заболеваемости COVID-19 возрастает количество случаев данной инфекции у беременных. При

беременности иммунитет ослабевает, чтобы защитить плод от рисков случайной атаки со стороны иммунной системы матери. Поэтому беременные становятся более восприимчивы к патогенным микроорганизмам и инфекционным заболеваниям.

Лабораторная медицина вносит немаловажный вклад в диагностику и в процесс принятия клинических решений при многих инфекционных заболеваниях, включая COVID-19. И хотя биохимический анализ крови не дает какой-либо специфической информации, но обнаруживаемые отклонения могут указывать на наличие органной дисфункции, декомпенсацию сопутствующих заболеваний и/или развитие осложнений. Большинство ранее опубликованных результатов лабораторного анализа при COVID-19 основаны на данных обследования пациентов в целом. Относительно беременных, переболевших вирусом Sars-Cov-2, имеются ограниченные данные. Потребность в улучшении исходов беременности у женщин с COVID-19 создает основу для дальнейших исследований по этой теме.

**Цель.** Оценить изменения биохимических показателей у госпитализированных беременных, заболевших коронавирусной инфекцией нового типа SARS-CoV-2.

**Материалы и методы исследования.**

Всего было обследовано 132 беременных, находившихся в УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи города Гродно» за 2020-2021 гг.: из них 90 пациенток с диагнозом «Вирусная инфекция Sars-Cov-2» составили опытную группу и 42 беременные женщины без коронавирусной инфекции составили контрольную группу.

Возраст обследуемых опытной группы составил от 19 до 40 лет, медиана (Me) – 29 лет, нижний квартиль (Q25) – 25 лет, верхний квартиль (Q75) – 32 года, срок беременности от 35 до 287 дней, Me/Q (25 – 75) – 259 (124 –274) дней. Критериями включения являлись репродуктивный возраст, положительные результаты ПЦР на наличие РНК вируса Sars-Cov-2 в назофарингеальном мазке или/и выявление в крови иммуноглобулинов класса М против антигенов вируса Sars-Cov-2, а также наличие информированного согласия на проведение исследования.

Возраст обследуемых контрольной группы составил от 17 до 40 лет, медиана (Me) – 30 лет, нижняя квартиль (Q25) – 27 года верхняя квартиль (Q75) – 34 лет, срок беременности от 28 до 284 дней Me/Q (25 – 75) – 267 (238 –273). Критериями включения были репродуктивный возраст, отрицательные результаты ПЦР на наличие РНК вируса Sars-Cov-2 в назофарингеальном мазке или/и выявление в крови иммуноглобулинов класса М против антигенов вируса Sars-Cov-2, а также наличие информированного согласия на проведение исследования.

Широкий спектр биохимических исследований выполнялся на анализаторе Beckman Coulter AU 5800 (США). Интерпретация полученных результатов проводилась с использованием референсных интервалов биохимических показателей, рассчитанных для беременных для каждого гестационного периода.

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 ( $M \pm \sigma$ ). Качественные признаки описывали с помощью абсолютных и относительных (%) показателей. Оценку корреляционной связи между количественными признаками проводили методом корреляционного анализа, исходя из расчета коэффициента корреляции Спирмена ( $p < 0,05$ ).

#### Результаты и их обсуждение.

Анализ лабораторных данных биохимического исследования при поступлении в стационар беременных основной и контрольной групп показал отсутствие статистически значимых различий при сравнении средних значений измеренных параметров у пациенток, кроме показателя общего билирубина (таблица).

Установлено, что уровень общего билирубина был достоверно выше ( $p = 0,011$ ) у беременных с инфекцией Sars-Cov-2, чем в чем в группе беременных без диагноза COVID-19. Следует отметить, что уровень билирубина в обеих группах не выходил за пределы референсных значений. Однако данные последних исследований демонстрируют, что показатель общего билирубина считается одним из главных лабораторных маркеров повреждения печени у пациентов с COVID-19, в особенности при прогрессировании и тяжести инфекционного процесса [1]. Повреждение печени при COVID-19 может быть обусловлено как прямым вирусным повреждением гепатоцитов и холангиоцитов, так и результатом системной воспалительной реакции, цитокиновой агрессией или лекарственной токсичности [1].

Таблица. – Данные биохимических исследований в основной и контрольной группах ( $M \pm \sigma$ )

Параметр	Основная группа	Контрольная группа	p
Общий белок, г/л	62 ± 5,42	62 ± 5,04	-
Мочевина, ммоль/л	3,2 ± 3,94	3.05 ± 0,58	-
Глюкоза, ммоль/л	4,38 ± 0,86	4.3 ± 0,56	-
Лактат, ммоль/л	1,06 ± 0,51	14,52 ± 40,30	-
Креатинин, мкмоль/л	58 ± 22,92	59 ± 27,43	-
Общий билирубин, мкмоль/л	11 ± 5,09	10,2 ± 2,1	0,011
Прямой билирубин, мкмоль/л	5,35 ± 1,06	5,01 ± 0,96	-
АСТ, ЕД/л	25 ± 10,18	26 ± 7,12	-
АЛТ, ЕД/л	17 ± 13,19	17 ± 10,07	-
ЛДГ, ЕД/л	449 ± 72,76	426 ± 45,21	-
СРБ, мг/л	17,0 ± 36,7	8,10 ± 43,18	-
Ферритин, нг/л	74,7 ± 39,2	16,8 ± 12,4	-

Примечание: ЛДГ – лактатдегидрогеназа. АЛТ – аланинаминотрансфераза. АСТ – аспаратаминотрансфераза. СРБ – С-реактивный белок

Согласно другим параметрам, отражающих печеночный профиль (АСТ и АЛТ), достоверных различий между опытной и контрольной группами не обнаружено. Тем не менее, у 14 (15,6%) беременных с COVID-19 наблюдался умеренно повышенный уровень АСТ и в 8,9% случаев – умеренное повышение АЛТ, что является признаком цитолитического процесса. По литературным данным активность трансаминаз при инфекции COVID-19 повышалась у 14-53% пациентов, а степень повышения была связана с тяжестью течения патологического процесса [2]. В большинстве случаев повышение активности АЛТ/АСТ, как правило, не превышало 1,5–2 норм от верхней границы нормы. При этом повышенный уровень АЛТ и АСТ у пациентов с инфекцией SARS-CoV-2 отмечался уже на ранних стадиях заболевания [2].

В отдельности следует отметить, что у 28,6% беременных с COVID-19 отмечалось увеличение СРБ в диапазоне 10–169 мг/л, являющийся неспецифическим и высокочувствительным маркером острого воспаления. Уровень данного биохимического маркера коррелирует с тяжестью состояния пациентов, распространенностью воспалительного процесса и неблагоприятным исходом COVID-19.

Необходимо подчеркнуть, что, не смотря на то, что уровень ферритина у женщин с инфекцией COVID-19 в большинстве случаев не выходил за референсные пределы, наблюдался широкий разброс данного показателя (от 15,8 до 1264,3 мкг/л). Ферритин является информативным маркером-индикатором острофазовой реакции воспаления, увеличение его концентрации отмечается при неблагоприятном течении данного заболевания.

#### **Выводы.**

Полученные результаты подтверждают диагностическую значимость исследования биохимических маркеров воспаления, содержания печеночных ферментов для адекватной оценки состояния беременной, что может способствовать своевременному выявлению начальных проявлений органной дисфункции и раннему началу терапии, а также иметь прогностическое значение.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Chen, N. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study / N. Chen, [et al.] // *Lancet*. – 2020. – Vol. 395. – P. 507-513.

2. Huang, C. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China / C. Huang, [et al.] // *Lancet*. – 2020. – Vol. 395. – P. 497–506.

## ОЦЕНКА МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА У БЕРЕМЕННЫХ С COVID-19

*Гриневич Т.Н., Бах М.С., Кот М.О., Скурашевская Т.Л.*

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

В марте 2020 года ВОЗ объявила пандемией COVID-19, заболевание, связанное с новым коронавирусом, получившее название тяжелого острого респираторного синдрома коронавируса-2 (SARS-CoV-2). У пациентов с COVID-19 развивается тяжелая интерстициальная пневмония, которая может закончиться острым респираторным дистресс-синдромом и синдромом системного воспалительного ответа.

Беременность является фактором риска и может привести к акушерским осложнениям, вызванных инфекцией COVID-19 по сравнению с небеременными в тех же условиях. Сведения касательно патогенеза инфекции COVID-19 при беременности немногочисленны. Не имеется неопровержимых сведений касательно вероятности вертикальной передачи вирусной инфекции от матери к плоду, понимания механизмов развития патологических процессов под воздействием SARS-CoV-2 в организме материи. Неясно и то, что непосредственно приводит к отрицательным перинатальным исходам: попадание вируса в плаценту, или избыточная активизация иммунной системы матери.

Нарушения минерального обмена могут сопровождать различные острые и подострые состояния и, по всей видимости, могут играть роль в патогенезе данного заболевания. На сегодняшний день существуют немногочисленные сведения касательно взаимосвязи изменений состава минерального обмена с течением инфекции COVID-19. Ввиду недостаточных данных о патоморфологических механизмах, влияющих на систему «мать-плацента-плод» при новой коронавирусной инфекции, комплексная оценка состояния минерального обмена особо актуальна.

**Цель.** Оценить изменения показателей минерального обмена у госпитализированных беременных с коронавирусной инфекцией нового типа SARS-CoV-2.

### **Материалы и методы исследования.**

Всего было обследовано 132 беременных, из них: 90 пациенток с диагнозом «Вирусная инфекция SARS-CoV-2», которые составили опытную группу и 42 беременные без коронавирусной инфекции, составивших контрольную группу. Диагноз COVID-19 устанавливался на основании эпидемиологического анамнеза, клинической картины, а также результатов молекулярно-биологического анализа ПНК SARS-CoV-2 в мазках из носо- и ротоглотки или/и выявления в крови иммуноглобулинов класса М против антигенов вируса Sars-Cov-2.

Показатели минерального обмена исследовали на автоматическом биохимическом анализаторе Beckman Coulter AU 5800 (США). Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ

STATISTICA 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q). Результаты статистической обработки представлены в виде величины верхней (Q75) и нижней (Q25) квартилей и медианы (Me) – Me (Q25–Q75), количества наблюдений (n), частоты встречаемости (%). Связь между переменными оценивали с помощью корреляционного анализа (по методу Spearman), сравнение двух независимых групп изучаемой переменной проводили с помощью теста Манна-Уитни (U).

#### Результаты и их обсуждение.

Возраст женщин, включенных в исследование, варьировал от 18 до 43 лет и составил 29 (25-32) лет в группе беременных с инфекцией COVID-19 и 30 (27-34) лет – в контрольной группе. У большинства пациенток опытной группы зарегистрировано бессимптомное течение COVID-19 (68,9%). Основными клиническими проявлениями вирусной инфекции SARS-CoV-2 в основной группе были гипертермия (41,7%), кашель (74,4%) и потеря обоняния (21,4%).

Результаты исследования минерального обмена в основной и контрольной группах беременных представлены в таблице.

Таблица – Данные исследования минерального обмена в основной и контрольной группах

Параметр	Основная группа	Контрольная группа	p
Ca, ммоль/л	2,2 (2,06-2,24)	2,11 (2,07-2,21)	-
Na, ммоль/л	140,2 (138,9-141,9)	141,7 (139-142,9)	-
K, ммоль/л	4,24 (4,05-4,5)	4,4 (4,05-4,74)	-
Cl, ммоль/л	103,6 (100,6-105,4)	105,7 (102-108,5)	0,009
Mg, ммоль/л	0,81 (0,77-0,99)	0,76 (0,67-0,77)	0,046
Железо, ммоль/л	15,6 (9,7-38,0)	14,9 (7-16,5)	-
ОЖСС, ммоль/л	77,7 (72-91,8)	80,8 (45-99)	-

В ходе исследования достоверные различия между основной и контрольной группой выявлены по уровню сывороточного магния и хлора. Так уровень магния был выше в группе беременных с подтвержденным диагнозом COVID-19, чем в чем в группе беременных без инфекции (p = 0,046). Магний считается один с основных адаптогенных факторов в организме человека. Так магний-содержащие ферменты, а также свободные ионы Mg<sup>2+</sup>, помимо участия в различных энергетических и пластических процессах, играют значительную роль при передаче нервных импульсов, синтезе АТФ, метаболизме простагландинов, окислении жирных кислот, принимают участие в регуляции осмотического равновесия, обмене катехоламинов и других нейротрансмиттеров. Физиологическая беременность сопровождается прогрессивным снижением уровня магния (в 2-3 раза по сравнению с таковым у небеременной женщины) как в сыворотке крови, так в тканях, в связи с высоким его потреблением на пластические и энергетические процессы, а также повышением его ренальной экскреции [1]. Исходя из этого, возможно допустить, что повышение уровня магния может быть результатом адаптивной

реакции и противовирусной защиты организма (в том числе нового вируса SARS-CoV-2).

Другой особенностью минерального обмена у здоровых беременных по сравнению с небеременными является задержка в организме солей натрия, калия, хлоридов. В нашем исследовании установлено достоверное снижение уровня сывороточного хлора в группе беременных с подтвержденным COVID-19 по сравнению с контролем ( $p = 0,009$ ). Хлор играет большую роль в процессах передачи нервного импульса, в синаптической передаче и в образовании соляной кислоты желудочного сока. Учитывая, что хлор вместе с натрием являются осмотически активными веществами, то в связи с падением уровня осмолярности в результате увеличения объема циркулирующей крови, наблюдается тенденция к снижению минутной экскреции и клиренса этих электролитов.

Отдельно стоит отметить, что статистических отличий в исследуемых группах по сывороточному кальцию не выявлено, однако гипокальциемия в нашем исследовании наблюдалась у 46 (55,1%) беременных с диагнозом COVID-19. Уровень кальция практически не меняется при физиологической беременности. Кальций необходим для мышечного сокращения, синаптической передачи нервного импульса и является одним из факторов свертывающей системы крови. В ряде исследований показано, что при коронавирусной инфекции гипокальциемия отмечается у 62–82% пациентов при поступлении в стационар и ассоциирована с более тяжелым течением заболевания [2]. Можно предположить, что развивающаяся у беременных гипокальциемия связана как с нарушением канальцевого транспорта кальция, так и снижением загрузки нефрона по мере повышенного расходования.

В завершение хочется отметить, что электролитный дисбаланс не редкость при коронавирусной инфекции. Так по данным Tezcan et al., у 53% из 408 лиц, инфицированных COVID-19, были выявлены электролитные нарушения: гипонатриемия (35,8%), гипокальциемия (9,5%), гипокалиемия (6,8%), гипохлоремия (6,8%) и гиперкалиемия (1,7%) [3].

### **Выводы**

Уровень сывороточного магния достоверно выше ( $p=0,046$ ), а хлора достоверно ниже ( $p=0,009$ ) у беременных с подтвержденным диагнозом COVID-19, чем в чем у беременных без инфекции. Гипокальциемия отмечалась у 55,1% беременных с SARS-COV-2.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Дадак, К. Клинические и биохимические аспекты применения препаратов магния в акушерстве, гинекологии и перинатологии / К. Дадак, А.Д. Макацария, Д.В. Блинов // Акушерство, Гинекология и Репродукция. 2014. – №8(2) – С. 69-78.
2. Hypocalcemia is highly prevalent and predicts hospitalization in patients with COVID-19 / L. Di Filippo [et al.] // Endocrine. – 2020. – Vol. 68, №3. – P. 475-8. doi:10.1007/s12020-020-02383-5.

3. Baseline electrolyte abnormalities would be related to poor prognosis in hospitalized coronavirus disease 2019 patients / M.E. Tezcan [et al.] // New Microbes New Infect. – 2020. – Vol. 37. – P. 100753. doi: 10.1016/j.nmni.2020.100753.

## **БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ У ДЕТЕЙ ДО И ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ**

**Девина Е.А., Драчан В.А.**

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Республика Беларусь*

**Актуальность.** Цирроз печени – хроническое заболевание, характеризующееся нарушением строения печени в результате некроза и уменьшения массы функционирующих гепатоцитов, развитием соединительной ткани и узлов регенерации. Этиологическими факторами формирования цирроза у детей являются атрезия желчных протоков, заболевания печени аутоиммунного и сосудистого генеза, наследственные болезни обмена веществ, гепатотропные вирусы (HSV 1/2 типа, цитомегаловирусы (ЦМВ), энтеровирусы) [5]. Циррозы печени у детей являются достаточно редкой, но тяжело протекающей патологией, сопровождающиеся желтухой, портальной гипертензией, асцитом, гепатоспленомегалией [3]. Трансплантация печени является единственным способом лечения при прогрессировании цирроза.

**Цель:** оценить биохимические показатели крови у детей с циррозом печени, до и после трансплантации, с целью контроля динамики восстановления детского организма.

**Материалы и методы.** Исследовали сыворотку крови детей (средний возраст 4,7 лет), находившихся на лечении в ГУ «Минский НПЦ хирургии, трансплантологии и гематологии» с диагнозом цирроз печени. С помощью анализатора Architect с8000 определяли содержание С-реактивного, общего белка, альбумина, билирубина, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), гамма-глутамилтранспептидазы (ГТТП), щелочной фосфатазы (ЩФ) за день до трансплантации, на следующий день и через 3 месяца после трансплантации. Статистическую обработку проводили непараметрическими методами. Данные представлены как медиана и интерквартильные размахи, n=7. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ . Контроль – возрастные референтные значения.

**Результаты и их обсуждение.** Согласно литературным данным, одной из основных причин формирования цирроза печени у детей является ЦМВ инфекция. Среди обследуемых нами пациентов у 71,5 % цирроз печени явился исходом атрезии желчевыводящих путей, у 28,6 % – ЦМВ инфекции и гигантоклеточного гепатита. Полагают, что причиной атрезии (обструкции) желчевыводящих путей является генетический дефект в одном из генов (CFC1, FOXA2) [1]. Ген CFC1 кодирует один из эпидермальных факторов роста. Кроме того, совсем недавно были обнаружены специфические полиморфизмы фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), ассоциированные с билиарной атрезией.

VEGF представляет собой ангиогенный фактор роста, связанный с клеточно-опосредованными воспалительными реакциями [4]. С ангиогенными свойствами VEGF связывают развитие гипоксии в патогенезе атрезии желчевыводящих путей. Патологические изменения в печени происходят на этапе внутриутробного развития. При рождении ребенка внешне проявлений атрезии желчных ходов не обнаруживается. Но уже через несколько дней появляется желтушность склер, слизистых, кожных покровов, моча приобретает темное окрашивание, стул становится ахоличным. Прогрессирование атрезии желчевыводящих путей в отсутствие лечения приводит к циррозу печени. Обычно к 5 месяцам развивается печеночная недостаточность.

При биохимическом исследовании крови до трансплантации установлено значительное повышение уровня общего билирубина - 389,5 (72,7-616,0) мкмоль/л, преимущественно за счет прямого, повышение активности АЛТ до 113,0 (34,6-220,0) Е/л и АСТ - 211,0 (75,4-233,0) Е/л, увеличение активности щелочной фосфатазы в 6,2 и ГГТП в 3,4 раза, снижение содержания общего белка, за счет уменьшения альбумина. Концентрации общего белка крови - важный диагностический показатель патологий, связанных с нарушением процессов, обеспечивающих поддержание жизнедеятельности детского организма. Снижение общего белка и повышение активности ферментов цитолиза (АЛТ и АСТ) указывают на нарушение белоксинтезирующей функции печени и деструкцию гепатоцитов. Повышенный сывороточный уровень общего билирубина, активности ГГТП и щелочной фосфатазы указывают на билиарную обструкцию.

У 50% обследуемых детей отмечено повышенное содержание С-реактивного белка. С-реактивный белок – является белком острой фазы воспалительного процесса. Как известно, цирроз печени у детей может протекать не только с пороками развития желчевыводящих путей, но и в сочетании с инфекционными агентами, в виде ЦМВ или другими возбудителями. Как указывалось выше, у 14,3 % детей выявились маркеры ЦМФ-инфекции (ДНК ЦМВ  $4,2 \times 10^4$  МЕ/мл в сыворотке крови) в сочетании с маркерами вирусного гепатита В (anti-HBs -728,4 мЕ/мл). Некоторые недавние опубликованные данные позволяют понять патологические механизмы развития цирроза печени во взаимосвязи с вирусной инфекцией. Было обнаружено увеличение числа холангиоцитов с маркерами апоптоза в желчных протоках после инфицирования новорожденных мышей ротавирусом-резусом [2]. Апоптоз также индуцировался, когда холангиоциты подвергались воздействию IFN- $\gamma$  и фактора некроза опухоли-альфа (TNF- $\alpha$ ) одновременно, но не по отдельности. Эти данные свидетельствуют о том, что апоптоз билиарного эпителия является результатом отдельных механизмов: 1) прямых последствий вирусной инфекции и 2) повышения концентрации провоспалительных цитокинов (таких как IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ ) в желчных протоках [2].

Диагноз, как правило, подтверждается в ходе оперативного вмешательства и после биопсии печени. Всем детям была произведена трансплантация левого латерального сектора от живого донора. Уже на

следующий день после операции отмечено снижение уровня общего билирубина, активности щелочной фосфатазы и ГГТП в сыворотке крови, однако активность АЛТ и АСТ еще более увеличилась и составила 1010,0 (860,0-1264,9) Е/л и 1997,7 (745,6-3024,5) Е/л, соответственно. Содержание общего белка, альбумина и С-реактивного белка осталось на прежних (до операционных показателях) и не изменялось.

Трансплантация печени при холестатических заболеваниях у взрослых (первичный билиарный цирроз, первичный склерозирующий холангит) сопровождается наилучшими результатами. Показатель пятилетней выживаемости превышает 90%.

Следует отметить, что качество жизни и самочувствие обследуемых нами детей существенно улучшаются после операции. Это подтверждают результаты исследований, проведенные через 3 месяца после трансплантации. У 100% наблюдаемых нами детей содержание общего белка составило 68,0 (65,8-72,1) г/л, альбумина – 48,0 (42,0-50,0) г/л, нормализуется уровень общего билирубина – 8,3 (8,5-13,7) мкмоль/л. У 71,5% пациентов активность ГГТП возвращается к показателям нормы, однако активность щелочной фосфатазы, АСТ и АЛТ у всех обследуемых детей остается выше возрастной нормы.

**Выводы.** У детей с циррозом печени отмечается гипербилирубинемия, гипопротейнемия, гипоальбуминемия, повышение активности щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтранспептидазы и сывороточных трансаминаз (АЛТ и АСТ).

После трансплантации печени восстанавливается белоксинтезирующая и экскреторная функция печени (в крови нормализуется концентрация общего белка, альбумина и билирубина). По сравнению с дооперационным уровнем, снижается уровень активности в сыворотке крови щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтранспептидазы, АЛТ и АСТ, однако через 3 месяца после трансплантации показатели остаются повышенными.

## ЛИТЕРАТУРА

1. FC1 Gene Involvement in Biliary Atresia with Polysplenia Syndrome. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* / A. Davit-Spraul, [et al]. – 2008. – Vol. 46, N 1. – P. 111-112, doi: 10.1097/01.mpg.0000304465.60788.f4
2. Temporal-spatial activation of apoptosis and epithelial injury in murine experimental biliary atresia / N. Erickson, [et al] // *Hepatology*. – 2008. – Vol. 47. – P. 1567-1577.
3. Diagnostic yield of newborn screening for biliary atresia using direct or conjugated bilirubin measurements / S. Harpavat, [et al] // *JAMA* – 2020. – Vol. 323, N 12. – P. 1141–1150, doi: 10.1001/jama.2020.0837
4. Genetic variation in the vascular endothelial growth factor gene is associated with biliary atresia / H. C. Lee, [et al] // *J Clin Gastroenterol*. – 2010. – Vol. 44. – P. 135-139.
5. Харитоновна, Л. А. Цирроз печени у детей / Л. А. Харитоновна, К. И. Григорьев // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. – 2022. – Vol. 67. № 5. – С. 78-88, doi.org/10.21508/1027-4065-2022-67-5-78-88.

## ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Девина Е.А., Ванда А.С., Малькевич Л.А., Осипова И.С.

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Республика Беларусь*

**Актуальность.** Коронавирусная инфекция, вызываемая вирусом SARS-CoV-2, ассоциируется с респираторными симптомами, пневмонией и коагулопатиями [3]. Однако у многих пациентов с ковид-19 отмечаются ещё и симптомы поражения желудочно-кишечного тракта (тошнота, рвота, диарея). О поражении желудочно-кишечного тракта вирусом свидетельствует тот факт, что уже на ранней стадии коронавирусной инфекции примерно у 3–10% пациентов обнаруживается РНК SARS-CoV-2 в образцах кала [2]. Установлено, что вирус SARS-CoV-2 проникает в клетку хозяина при взаимодействии S-белка и мембранных рецепторов CD147 и ангиотензинпревращающего фермента (ACE-2). Рецепторы ACE-2 экспрессированы на мембране большинства клеток, в их числе, клетки печени, канальцев почек, бронхов, эндотелий сосудов и эпителий слизистой кишечника [1]. После проникновения вируса в клетку через механизм эндоцитоза, опосредованного рецептором, и высвобождения генома в цитозоль, активируется трансляция вирусного генома. Следует считать, что внедрение коронавируса индуцирует чрезмерную, неконтролируемую реакцию врожденного иммунитета с выбросом значительного количества провоспалительных цитокинов, что носит название цитокинового шторма, и вызывает повреждение тканей. О причинах и механизмах повреждения и дисфункции клеток печени при ковид-19 известно крайне мало. Полагаем, что изучение причин и факторов, связанных с нарушением функционального состояния печени при коронавирусной инфекции весьма актуально.

**Цель.** Оценить некоторые биохимические параметры функциональных проб печени в динамике у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2.

**Материалы и методы исследования.** Исследовали сыворотку крови 76 пациентов (из них 48% мужчин и 52% женщин), средний возраст – 54 года (от 37 до 78 лет), находившихся на лечении в инфекционном отделении УЗ «4-я городская клиническая больница им. Н.Е. Савченко». ПЦР-тестирование подтвердило инфицирование SARS-CoV-2. Определяли и анализировали активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), концентрацию билирубина, мочевины, общего белка, С-реактивного белка (СРБ), фибриногена в сыворотке крови на 5, 14 и 21 сутки от начала заболевания. Измерения проводились на анализаторе ACL TOP 300. Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica10.0. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха, различия считали значимыми при  $p < 0,05$ . В качестве контроля использовали референтные значения.

**Результаты и обсуждение.** У пациентов с коронавирусной инфекцией (среднее и среднетяжелое течение) на 5 день заболевания установлено

увеличение концентрации С-реактивного белка и фибриногена в крови, медиана 54,43(38,4 – 74,5) мг/л и 6,25 (5,3– 7,45) г/л, соответственно. Как известно, С-реактивный белок и фибриноген синтезируется в печени, фибриноген не только участвует в процессе свертывания крови, но, и как СРБ является неспецифическим маркером активного воспаления и повреждения тканей [5].

На 5-7 день заболевания были выявлены отклонения от нормы функциональных тестов печени только у 4,1% обследуемых нами пациентов.

Однако на 14 день заболевания количество пациентов с отклонениями в функциональных пробах печени увеличилось до 69,5%. Увеличилась активность АСТ в сыворотке крови и еще более - активность АЛТ, что указывает на вовлечение печени в патологический процесс. Хотя у 31,5% пациентов, печеночные показатели оставались в норме. Другие авторы наблюдали такую же тенденцию у пациентов с ковид-19. Ранее было показано, что аномальные тесты функции печени в основном вызваны повышенным уровнем АСТ и АЛТ, причем повышенный уровень АСТ встречался чаще, чем АЛТ. Мы обнаружили обратную закономерность: уровень АЛТ был увеличен в 6 раз и составил (198,2:167,5-268,4 Ед/л), а уровень АСТ в 2,3 раза, составив (70,8: 56,2 - 98,7) Ед/л.

Со временем высокая активность АСТ, АЛТ в крови постепенно снижалась, но активность АЛТ оставалась повышенной, вплоть до выписки из стационара (21 день от начала заболевания), в то время как, активность АСТ возвращалась к норме. Снижение СРБ отмечается на 10 день заболевания (медиана 17,52 мг/л). По сравнению с АСТ и АЛТ активность щелочной фосфатазы, концентрация общего билирубина 11,7 (9,5–13,9) мкмоль/л, мочевины не изменялись и были в пределах нормы в течение наблюдаемого периода (с 5 по 21 день заболевания). Не обнаружили мы и достоверного снижения концентрации общего белка. Однако ряд авторов сообщает о нарушении белоксинтезирующей функции печени при тяжелой форме ковид-19, о гипоальбуминемии (уровень альбумина снижался до 30,4 г/л). Хотя печеночная недостаточность не наблюдалась даже при летальных исходах заболевания. В нескольких исследованиях сообщалось, что тяжелые случаи ковид-19 чаще сопровождалась тяжелым поражением печени по сравнению с легкими случаями.

В литературе можно встретить разные предполагаемые механизмы повреждения печени при ковид-19. Во-первых, это прямое повреждение гепатоцитов, связанное с воздействием вируса SARS-CoV-2 на рецепторы ACE2. В одном из исследований описаны морфологические изменения в ткани печени у пациентов, умерших от ковид-19: в цитоплазме гепатоцитов выявлены шиповидные структуры типичные для коронавирусов, в инфицированных гепатоцитах выявлен выраженный отек митохондрий, расширение цистерн эндоплазматического ретикулума, уменьшение количества гранул гликогена. Это признаки, характерные для вирусного поражения (апоптоз и регенерация гепатоцитов) и дистрофия гепатоцитов (жировая и баллонная). Признаков

гепатита (ни в портальной строме, ни в ацинусах) или тяжелого фиброза описано не было.

Во-вторых, иммуноопосредованное повреждение, вызванное тяжелой воспалительной реакцией после заражения коронавирусной инфекцией, также может вызывать поражение печени. При проникновении вируса SARS-CoV-2 в организм запускается иммунный ответ для борьбы с этим патогеном. На модели *in vitro* было показано, что в моноклеарных клетках, инфицированных SARS-CoV-1, высоко экспрессируются некоторые белки, включая фибриноген [4]. На это указывают и обнаруженные нами ранее и сейчас, повышенные концентрации маркеров воспаления (СРБ, фибриногена, D-димеров). Провоспалительные цитокины (интерлейкин-1, интерлейкин-6, фактор некроза опухоли и др.) способны активировать синтез С-реактивного белка, фибриногена, что и приводит к повышению их уровня в крови.

В-третьих, не исключается токсическое воздействие на гепатоциты лекарственных препаратов, применяемых для лечения коронавирусной инфекции и её проявлений.

Однако причины и молекулярный механизм повреждения печени при коронавирусной инфекции требуют дальнейшего изучения.

В дополнении заметим, что врачи при коронавирусной инфекции должны уделить внимание мониторингу печеночных проб; поддерживающей терапии и лечению сопутствующих заболеваний печени; свести к минимуму риск лекарственного поражения печени.

#### **Выводы.**

1. При коронавирусной инфекции изменяются биохимические показатели функциональных проб печени (увеличивается концентрация С-реактивного белка и фибриногена, возрастает активность аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы). Это свидетельствует о поражении печени при ковид -19.

2. Изменения функциональных проб печени при коронавирусной инфекции носят временный характер.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. COVID-19 pandemic: Pathophysiology and manifestations from the gastrointestinal tract / M. Galanopoulos, [et al] // World J Gastroenterol. – 2020; P. 4579 – 4588.

2. Jiandong, Shi Enteric involvement of SARS-CoV-2: Implications for the COVID-19 management, transmission, and infection control / Jiandong Shi, Jing Sun // Virulence. – 2020. – Vol. 11, N 1. - P. 941–944.

3. Miesbach, W. COVID-19: Coagulopathy, Risk of Thrombosis, and the Rationale for Anticoagulation // W. Miesbach, M. Makris // Clin Appl ThrombHemost. – 2020. doi: 10.1177/1076029620938149

4. A human *in vitro* model system for investigating genome-wide host responses to SARS coronavirus infection / L. F. Ng, [et al] // BMC Infectious Diseases. – 2004. – Vol. 34, N 4. doi:10.1186/1471-2334-4-34

5. The role of C-reactive protein as a prognostic marker in COVID-19 / D. Stringer, [et al] // International Journal of Epidemiology. – 2021. - Vol. 50, N 2. – P. 420–429.

## **ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ НЕФРОТОКСИЧНОСТИ**

**Довнар Р.И.**

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

Серебро в жизнедеятельности людей нашло самое широкое практическое применение. Так ещё в древние времена для хранения воды и вина использовались серебряные сосуды [2]. В настоящее время основными областями использования серебра являются: ювелирное дело, в связи с тем, что данный металл является самым дешёвым из всех драгоценных металлов, электротехническая промышленность, фотография, изготовление посуды, монет, зеркал, взрывчатых веществ, а также медицина [2]. Новый импульс применению серебра в последнее десятилетие придали успехи нанотехнологии, позволившей создавать наночастицы этого и других металлов, в том числе с использованием методов «зелёной химии» [1].

Возможность потенциально широкого использования наночастиц данного металла и изделий на их основе открывает новые вопросы перед современной наукой, в частности токсичности, которая детально не изучена и требует выполнения дополнительных исследований. Одним из таких вопросов является нефротоксичность наночастиц серебра, которая может быть оценена по ряду параметров, в частности по уровню мочевины и креатинина.

**Цель:** Оценка возможного токсического влияния наночастиц серебра на биохимические показатели нефротоксичности при локальном лечении кожной раны нанокompозитными перевязочными материалами.

**Материалы и методы исследования.** Для реализации намеченной цели на лабораторных беспородных белых крысах была создана экспериментальная гнойная рана. Использовались три группы животных: «контроль» – интактные крысы, оперативные вмешательства на которых не осуществлялись, «опыт-1» и «опыт-2» – животные с гнойной раной, в лечении которых применялся соответственно обычный бинт и бинт с наночастицами серебра. Взятие крови производилось на 14 сутки эксперимента с последующим центрифугированием и определением биохимических показателей, свидетельствующих о возможной нефротоксичности наночастиц серебра.

### **Результаты и обсуждение.**

В качестве биохимических показателей возможной нефротоксичности наночастиц серебра были взяты уровень мочевины и креатинина крови экспериментальных животных.

Мочевина образуется из аммиака под действием ферментов печени в цикле мочевины в процессе метаболизма белков. Большая часть поступающей

затем в кровоток мочевины легко фильтруется и экскретируется почками. Хотя почечные каналцы активно не секретируют и не реабсорбируют мочевины, она обладает способностью свободно диффундировать. Мочевина пассивно поступает в интерстициальную ткань почек и возвращается в кровоток. Пассивная диффузия мочевины зависит от скорости фильтрации мочи – чем выше скорость фильтрации, тем ниже уровень мочевины в крови. Образование мочевины повышается при усилении катаболизма белков, которое происходит при употреблении пищи богатой белками, желудочно-кишечном кровотечении или длительном применении кортикостероидов. И наоборот, продукция мочевины снижается при низком содержании белков в рационе. Учитывая то, что в эксперименте все группы животных были синхронизированы по питанию, данный алиментарный фактор был устранён.

Повышенный уровень мочевины в циркулирующей крови или азотемия может быть обусловлен преренальными, ренальными и постренальными расстройствами. Преренальная азотемия связана с нарушениями, при которых снижается скорость клубочковой фильтрации, вследствие чего уменьшается скорость тока в почечных канальцах. Происходит усиление обратной диффузии мочевины в перитубулярный интерстиций с последующим повышением уровня мочевины в крови. Ренальную азотемию обычно вызывают тяжёлые заболевания или токсические повреждения почек, связанные как уменьшением числа клубочков, так и нарушением их микроструктуры, которые приводят к снижению скорости клубочковой фильтрации. Постренальная азотемия чаще всего обусловлена обструктивными процессами в мочевыводящих путях.

Большая часть креатинина синтезируется в печени и транспортируется в скелетные мышцы, где некоторое количество креатинина фосфорилируется с образованием креатинфосфата. Креатин является основным компонентом высокоэнергетических фосфорилированных соединений, а креатинфосфат служит источником высокоэнергетических фосфатных групп, необходимых для метаболизма в мышечной ткани. Креатинин представляет собой конечный продукт метаболизма креатина, который спонтанно образуется путём необратимой неферментативной дегидратации креатинфосфата. Креатинин диффундирует в кровоток с относительно постоянной скоростью, пропорциональной мышечной массе и свободно фильтруется клубочками почек. Обычно метаболизм креатинина не подвержен влиянию большинства экстраренальных факторов, влияющих на уровень мочевины в циркулирующей крови. Повышенный уровень креатинина в кровотоке обычно бывает обусловлен расстройствами, вызывающими снижение скорости клубочковой фильтрации (преренальные причины), тяжёлыми заболеваниями или токсическими повреждениями почек (ренальные причины) и обструктивными расстройствами, препятствующими выведению креатинина с мочой. В связи с тем, что для эксперимента отбирались здоровые животные, возможные причины в форме пре- и постренальной азотемии или гиперкреатининемии исключались.

На 14 сутки эксперимента уровень мочевины в группе «контроль» составил 6,20 (4,10; 7,60) ммоль/л, в группах «опыт-1» и «опыт-2» – 6,55 (4,40;

6,85) и 5,10 (3,85; 6,05) ммоль/л соответственно. Значение уровня креатинина в группе с интактными животными («контроль») равнялось 67,00 (64,00; 68,00) Ед/л, у оперированных крыс при применении перевязочного материала, содержащего обычный бинт 69,50 (65,00; 71,50) Ед/л, а в группе с наночастицами серебра («опыт-2») – 66,00 (62,50; 68,50) Ед/л.

Произведенная статистическая обработка полученных результатов с заданным пятипроцентным уровнем статистической значимости не выявила достоверных отличий как в показателе мочевины, так и уровня креатинина.

#### **Выводы**

1) Наночастицы серебра, импрегнированные в состав перевязочных материалов, не оказывают статистически достоверных изменений показателей мочевины и уровня креатинина.

2) Отсутствие достоверных изменений мочевины, уровня креатинина свидетельствует об отсутствии негативного влияния наночастиц серебра на клетки почек, а значит и возможной нефротоксичности.

3) Для исследования возможного более углубленного токсического воздействия наночастиц серебра на организм необходимо проведение дополнительных исследований.

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках гранта Президента Республики Беларусь на 2023 год в сфере науки.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Наночастицы серебра: экологичный метод синтеза, свойства и использование против антибиотикорезистентной микрофлоры / Р. И. Довнар, [и др.] // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук. – 2021. – Т. 18, № 3. – С. 351–361.

2. Серебро в медицине / Е. М. Благитко, [и др.]. – Новосибирск : Наука-Центр, 2004. – 256 с.

### **ОЦЕНКА ОБЕСПЕЧЕННОСТИ ДЕТЕЙ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ЕСТЕСТВЕННОМ ВСКАРМЛИВАНИИ, ЭССЕНЦИАЛЬНЫМИ МИКРОЭЛЕМЕНТАМИ**

**Карнаухова И.В., Мачнева И.В., Лебедева Е.Н.**

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

**Актуальность.** Грудное вскармливание (ГВ) – ключевое условие нормального роста и развития младенцев. Для детей, находящихся исключительно на ГВ, материнское молоко является источником не только пластических и энергетических веществ, но и важнейших микроэлементов (МЭ), среди которых особое место занимает тетрада эссенциальных элементов – цинк, селен, медь, железо.

Так цинк является компонентом многих белков и ферментов, играющих важную роль в процессах роста, тканевой дифференцировки, формировании иммунного статуса, являясь кофактором огромного количества ферментов (цинк-зависимые ферменты представлены в каждом классе). Имеются данные о том, что дефицит цинка приводит к атрофии тимико-лимфатической системы, снижению функциональной активности макрофагов и Т-лимфоцитов, депрессии клеточного иммунитета и уменьшению уровня иммуноглобулинов.

Селен - это компонент различных селен-содержащих белков, в том числе ферментов (глутатионпероксидазы, дейодиназы), ключевая роль которого состоит в обеспечении антиоксидантного статуса организма [1].

Медь – микроэлемент с переменной валентностью (степенью окисления +2/+1) незаменим в роли кофактора оксидоредуктаз, участвующих в переносе электронов (церулоплазмин, цтхС-оксидаза, СОД, лизилоксидаза, тирозиназа) [3].

Среди элементов данной тетрады железу принадлежит ключевая эссенциальная роль. Общее содержание железа в организме взрослого человека может достигать 4,5-5 г., при этом большая его часть будет представлена гемовым железом (гемоглобин, миоглобин, цитохромы).

Дефицит выше указанных микроэлементов у новорожденных, может вызвать ряд тяжелых изменений, что делает актуальным оценку микроэлементного статуса детей раннего возраста. В то же время оценка микроэлементного статуса младенца не инвазивными методами затруднительна. В связи с этим актуальным является исследование микроэлементного спектра грудного молока (ГМ), позволяющее сделать выводы по адекватному потреблению эссенциальных МЭ детьми первых шести месяцев, находящихся исключительно на ГВ.

**Цель.** Определение содержания эссенциальных МЭ - цинка, селена, меди и железа в ГМ женщин, проживающих на территории города Оренбурга, и оценка обеспеченности данными МЭ детей раннего периода жизни.

#### **Материалы и методы исследования**

Материалом исследования выступало ГМ, полученное от 51 женщины, постоянно проживающих на территории г. Оренбурга. Все женщины дали информированное добровольное согласие и прошли анкетирование. Средний возраст женщин составил  $26,3 \pm 0,65$  года, а средний возраст детей -  $4,7 \pm 0,27$  месяцев. Абсолютное большинство детей (96%) находились исключительно на ГВ. При этом 60% женщин принимали различные витаминно-минеральные комплексы, которые включали данные МЭ.

Количественное определение МЭ в грудном молоке проводили методом атомно-адсорбционного анализа на спектрометре «Квант-2А». Для определения цинка, меди и железа пробоподготовку осуществляли методом сухого озоления, для исследования селена применялся метод мокрого озоления; для исследования отбирались утренние пробы ГМ.

Экспериментальные результаты были обработаны методами математической статистики. При определении уровня достоверности полученных данных применялся критерий Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

Исследование микроэлементного статуса ГМ женщин, проживающих на территории Оренбургской области, проведено впервые. Полученные результаты (табл.1) обнаруживают высокую вариабельность, что согласуется с результатами подобных исследований, проведенных в других регионах.

Таблица 1 - Содержание МЭ в грудном молоке женщин г. Оренбурга

МЭ	Референсные значения, мкг/л [2]	Средняя концентрация МЭ, мкг/л	Минимальная концентрация, мкг/л	Максимальная концентрация, мкг/л
Цинк	2492-4450	3570 ± 166	1200	6700
Селен	6-28	22,56±0,97	15	40
Медь	396-546	460 ± 180	200	900
Железо	40-1920	930 ± 56	340	1850

Анализ литературных данных позволил систематизировать актуальную информацию о референсных значениях содержания анализируемых МЭ в ГМ [2]. Референсные значения не являются фактической нормой, но представляют собой некий средний показатель с учетом периода лактации, паритета женщины, экологических особенностей региона, расовых и этнических особенностей, а также чувствительности метода.

Полученные нами данные, в целом согласуются с актуальными референсными значениями для данных МЭ (табл. 1).

Для оценки обеспеченности детей исследуемыми МЭ необходимо учитывать суточное потребление молока, которое составляет в данный период в среднем 850 мл, а также потребность младенцев в данном МЭ.

Так, среднее содержание меди и селена в ГМ женщин г. Оренбурга было 460 мкг/л и 22,56 мкг/л соответственно, при этом среднесуточное потребление меди составило 391мкг (при рекомендуемой суточной норме (РСН) 300-500 мкг/сут), а селена - 19,18 мкг (при РСН 15-20 мкг/сут).

Таким образом, можно говорить об адекватном потреблении данных МЭ младенцами и об отсутствии у них риска селен- и медь-дефицитных состояний.

Вместе с тем, концентрации цинка в пробах ГМ сильно различались, что дало возможность выделить группу женщин с наиболее низкой концентрацией данного МЭ в ГМ - менее 200 мкг/л (19,6% образцов ГМ). Среднесуточное потребление цинка для таких детей составило 1096 мг/сут, что в 4,5-5 раз ниже РСН (3000-5000 мкг/сут). Таким образом, проведенные исследования позволяют констатировать, что около 20% младенцев испытывают дефицит поступления цинка. Учитывая тот факт, что новорожденный ребенок рождается без запасов цинка в организме, данная группа детей подвержена риску развития цинк-дефицитного состояния, что в свою очередь может привести к нарушению нормального роста и развития ребенка.

По литературным данным наиболее широкий референсный диапазон концентраций МЭ в женском молоке характерен для железа, что было отмечено и в нашем исследовании (340-1850 мкг/л). Среднесуточное

потребление железа младенцами, рассчитанное с учетом полученных данных, составило 289 мкг- 1573мкг/сут, при РСН для данного возраста 2000- 4000 мкг/сут. Несмотря на широкий разброс медианных концентраций железа в грудном молоке, нет доказанного риска дефицита данного элемента у ребенка в течение первых 6 месяцев жизни. Это объясняется тем, что новорожденный имеет печеночные запасы железа и меди, которые помогают сбалансировать возможные низкие концентрации данных МЭ в ГМ [3]. Кроме этого отмечается высокая биодоступность железа ГМ (60%), этому способствует особая форма, в которой оно представлено в ГМ – в виде железосодержащего белка лактоферрина.

### **Выводы**

1. Содержание тетрады эссенциальных МЭ - цинк, селен, медь, железо в грудном молоке женщин г. Оренбурга согласуется с актуальными референсными значениями.

2. Полученные данные позволяют констатировать адекватное потребление селена и меди детьми, находящимися на грудном вскармливании, и отсутствие риска развития у них селен- и медь-дефицитных состояний.

3. У 20% обследуемых женщин выявлена низкая обеспеченность ГМ цинком, что позволяет сделать вывод о высоком риске развития цинк-дефицитного состояния у их младенцев

4. Среднесуточное потребление железа младенцами составило 289 мкг- 1573мкг/сут, при РСН 2000- 4000 мкг/сут. Однако это не может рассматриваться как риск развития железо-дефицитных состояний, т.к. новорожденный имеет печеночные запасы железа, кроме того отмечается высокая биодоступность железа грудного молока.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Сенькевич О.А., Комарова З.А. Потребление цинка и селена маловесными новорожденными при естественном вскармливании. Вопросы современной педиатрии. 2014;13(2):120-123

2. Björklund KL, Vahter M, Palm B, Grandér M, Lignell S, Berglund M. Metals and trace element concentrations in breast milk of first time healthy mothers: a biological monitoring study/ Environmental Health. 2012; 11:92.

3. Dorea JG. Iron and copper in human milk. Nutrition. 2000; 16(3):209-20.

## **БИОХИМИЧЕСКИЕ ОБОСНОВАНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ СХЕМ ЛЕЧЕНИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

**Коваль А.Н., Лесковец А. И.**

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

**Актуальность.** Рак молочной железы (РМЖ) – злокачественна опухоль железистой ткани молочной железы. Самое распространенное злокачественное

образование в мире у женщин – 16% всех случаев рака. Также, в редких случаях, наблюдается и у мужчин.

РМЖ – многофакторное заболевание. Виды по TNM классификация: Т – первичная опухоль; М – тип, характеризующийся отдаленным метастазированием с подвидами, включающими метастазирование и их отсутствие; N – регионарные лимфатические узлы с возможным метастазированием.

**Цель.** Проанализировать действие химиотерапевтических препаратов относительно протекающих в организме метаболических процессов при РМЖ.

**Материалы и методы исследования.** Выписки из медицинских карт 10 пациентов УЗ «Могилевский областной онкологический диспансер» с диагностированным РМЖ.

### Результаты и обсуждение

Таблица 1. –Схемы лечения пациентов с диагностированным РМЖ [3].

№	Первичный диагноз	Режим ХТ	Вид ХТ	Схема ХТ	Препараты
1	T2N0M0 – МТС	ПХТ	П	CMF	Циклофосфан, метотрексат, фторурацил; золедроновая к-та; ибранса (палбоциклиб), золодар
2	T1N0M0	МХТ, ПХТ	А	АС, АС×4→ Р×12	Циклофосфан, доксорубин; паклитаксел
3	T2N0M1 – МТС	ПХТ	П	CapVnb	Винорелбин, капецитабин; золодар
4	T1cN1aM0	МХТ, ПХТ	А	ЕС	Циклофосфан, эпирубин; паклитаксел
5	T2N0Mx – МТС	Анти-HER/неутерапия, ГТ, МХТ	П	-	Винорелбин, золедроновая к-та, Т-МАН, гемцитабин
6	T1cN1aM0	МХТ, ПХТ	А	ЕС	Циклофосфан, эпирубин; паклитаксел
7	T1N0M0	МХТ, ПХТ	А→П →А	АС×4→ Р×12	Циклофосфан, доксорубин, паклитаксел
8	T1N0M0 (тело матки. эндометрий); T2N1M0 – м/ж	МХТ, ГТ	А	-	Эпирубин; паклитаксел; Т-МАН
9	BRCA, T1cN0M0	ПХТ	А	-	Доцетаксел, дексаметазон, преднизолон, хлоропирамин
10	T1N0M0	ПХТ	А→П	АС×4→ Р×12	Циклофосфан, доксорубин; паклитаксел; Т-МАН

Сокращения: ХТ – химиотерапия, ПХТ – полихимиотерапия, МХТ – монохимиотерапия, ГТ – гормонотерапия, П – паллиативная, А – адьювантная

1. Паклитаксел [6]. Действующее вещество препарата – алкалоид паклитаксел, влияет на процесс деления клеток, стимулируя сборку тубулиновых микротрубочек и подавляя их деполимеризацию, что нарушает

митоз на этапе интерфазы. Доцетаксел – аналог паклитаксела. Оба препарата эффективны при метастатическом раке молочной железы, однако паклитаксел имеет менее серьезные побочные эффекты. Для доцетаксела отмечено формирование лекарственной устойчивости клеток.

2. Доксорубин [1]. Противоопухолевый антибиотик, обладающий цитостатическим свойством. Является ингибитором митоза и пролиферации клеток, действует в S- и G2-фазах. Препарат интеркалирует в ДНК, препятствуя ее репликации, кроме того дополнительно способствует образованию свободных радикалов, повреждая мембрану клеток.

3. Циклофосфан [1]. Действующее вещество циклофосфамид – цитостатик алкилирующего действия, подавляющий иммунную систему. Механизм действия основан образовании активного продукта алкилирующего типа при воздействии фосфатазы на циклофосфамид, что приводит к образованию сшивок в ДНК и запуску апоптоза.

4. Метотрексат [2, 5]. Цитостатик, антагонист фолиевой кислоты с выраженным иммуносупрессивным действием. Действует в S-фазу клеточного цикла. Механизм действия включает ингибирование синтеза пуриновых нуклеотидов и тимидилата в результате связывания препаратом с дигидрофолатредуктазой, что препятствует восстановлению дигидрофолата до тетрагидрофолата. Более активен в отношении быстро растущих клеток.

5. Фторурацил (флюороурацил) [1]. Цитостатик, антагонист пиримидинов, действует на активные метаболиты: фторуридинмонофосфат, фторуридинфосфат и фтордезоксифторуридинтрифосфат. При взаимодействии фторурацила с данными ферментами нарушается синтез ДНК и образуются несовершенные структуры РНК. За счет указанных эффектов угнетается деление раковых клеток.

6. Винорелбин [1]. Цитостатический препарат алкалоидного типа. Воздействует на сборку микротрубочек синтетического аппарата клетки и влияет на аксональные микротрубочки. Ингибирует полимеризацию тубулина, блокируя митоз клеток на стадии метафазы G2-M, вызывая гибель клеток во время интерфазы или при последующем митозе. Винорелбин влияет на метаболизм аминокислот, цАМФ и глутатиона, активность кальмодулинзависимой  $Ca^{2+}$ -транспортной АТФазы, клеточное дыхание и биосинтез нуклеиновых кислот и липидов.

7. Эпирубицин [4]. Является антрациклиновым цитостатическим препаратом, образует комплекс с ДНК путем обратимого включения его планарных колец между парами нуклеотидных оснований с последующим ингибированием синтеза нуклеиновых кислот. Такая внедрение запускает распад ДНК под воздействием топоизомеразы II, приводя к цитолитической активности. Эпирубицин также ингибирует активность ДНК-хеликазы, препятствуя репликации и транскрипции.

8. Гемцитабин [1]. Цитостатический препарат антиметаболической группы антагонистов пиримидинов. Действие препарата основано на ингибировании жизнедеятельности клеток в S-фазе и блокировании опухолевой пролиферации клеток в G1/S-фазе. Цитотоксический эффект завязан на

комбинированном действии препарата с активными метаболитами — ди-, трифосфатного нуклеозидов, — образующимися в результате внутриклеточной трансформации с участием нуклеозидкиназ. Активные метаболиты ингибируют образование дезоксирибонуклеозидтрифосфатов, встраиваясь в ДНК, останавливая ее репарацию.

9. Капецитабин [5]. Препарат антиметаболической группы. Оказывает селективное цитотоксическое действие на опухолевые клетки, превращаясь в 5-фторурацил (5-ФУ), который подвергается дальнейшему метаболизму. Образующиеся метаболиты нарушают образование тимидина, останавливая клеточное деление.

### **Выводы**

На основе анализа данных, основными препаратами при адъювантном лечении РМЖ в режиме полихимиотерапии могут быть паклитаксел/доцетаксел, доксорубицин/эпирубицин и циклофосфан, нарушающие митоз клетки, а также активирующие апоптоз.

При паллиативном лечении можно назначать остальные цитостатические препараты, проявляющие антиметаболический эффект, что приводит к нарушению матричного синтеза в активно пролиферирующих опухолевых клетках.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Интенсифицированная неадъювантная химиотерапия в уплотненном режиме с использованием комбинаций паклитаксела с гемцитабином и доцетаксела с доксорубицином при местно-распространенном раке молочной железы. / И.В. Фрай, [и соавт.] // Опухоли женской репродуктивной системы. - 2012. - № 3-4. - С. 73-84.

2. Лекарственное лечение метастатического рака молочной железы. / Е.В. Артамонова // Опухоли женской репродуктивной системы. - 2011. - № 4. - С. 46-54.

3. Постановление Министерства Здравоохранения Республики Беларусь от 6 июля 2018 г. № 60. Об утверждении клинического протокола «Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований». – С. 225-259.

4. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака молочной железы. / С.А.Тюляндин, [и соавт.] // Злокачественные опухоли. - 2021. - Т. 11. № 3S2-1. - С. 119-157.

5. Переводчикова, Н.И. Современная терапия метастатического рака молочной железы. / Н.И. Переводчикова, Д.В. Филоненко // Опухоли женской репродуктивной системы. 2007. № 4. С. 48-56.

6. Таксаны в лечении рака молочной железы. / В.Ф. Семиглазов, [и соавт.] // Фарматека. - 2016. – Т. 330, № 17. - С. 37-42.

## ПРИМЕНЕНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ПОДХОДА В ОЦЕНКЕ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА

Колоцей В.Н.<sup>1</sup>, Климович И.И.<sup>1</sup>, Страпко В.П.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>УО «Гродненский государственный медицинский университет»,

<sup>2</sup>УЗ «Гродненская клиническая больница скорой медицинской помощи»,  
г. Гродно, Республика Беларусь

**Актуальность.** Острый панкреатит (ОП) до настоящего времени остается смертельно опасным заболеванием среди острых хирургических заболеваний органов брюшной полости [1]. В диагностическом аспекте и в оценке адекватности лечения не существует единого универсального способа, который бы удовлетворял врача и пациента. В доступной многочисленной литературе зачастую противоречиво отражены сведения об информативности клинических, лабораторных и дополнительных методов диагностики и оценки результатов лечения ОП [2,3].

**Цель.** Выявить значимость комплексного учета клинических, лабораторных и дополнительных методов исследования для диагностики и оценки лечения ОП.

**Материал и методы исследования.** Нами ретроспективно изучены основные клинические, лабораторные и дополнительные методы исследования, которые применялись с целью диагностики и в процессе лечения у 136 пациентов ОП, которые находились на лечении в хирургическом отделении БСМП г. Гродно в 2017-2022 г. Мужчин было 105 (77,2%), женщин 31 (32,8%). Возраст пациентов от 21 до 85 лет, средний возраст составил 41,3 года. Учитывались основные клинические симптомы ОП, из лабораторных показателей при поступлении и в процессе лечения определяли общий анализ крови, мочи, биохимический анализ крови – уровни общего белка, билирубина, глюкозы, активности АСТ и АЛТ, содержание мочевины, креатинина С-реактивного белка, активности ферментов поджелудочной железы (амилазы и липазы) в плазме крови. Дополнительные методы включали УЗИ органов гепатопанкреатодуоденальной зоны, которые выполняли всем 136 (100%) пациентам с ОП, фиброгастродуоденоскопия (ФГДС) произведена 129 (94,8%), компьютерная томография (КТ) выполнена у 39 (28,7%) пациентов с острым деструктивным панкреатитом (ОДП), магниторезонансная томография (МРТ) у 28 (20,6%), лапароскопия – у 42 (30,9%) пациентов.

**Результаты и обсуждение.** Клинически ОП всегда проявлялся интенсивной болью в эпимезогастральной области. Иррадиация боли в спину и поясничную область больше слева отмечена нами у 61(44,8%) пациента, опоясывающий характер боли отмечен у 36 (26,5%). Рвота, не приносящая облегчения, отмечена у 32 (23,5%) пациентов. Вздутие живота и пальпируемый инфильтрат в эпимезогастральной области имели место у 62 (45,6%) пациентов. ОДП наблюдался у 26 (19,1%) пациентов, уровень амилазы у которых составил  $438 \pm 29,1$  МЕ/л, а липазы  $2019 \pm 38,6$  МЕ/л. Оперированы 26 (19,1%) пациентов. Уровень амилазы у оперированных пациентов составил  $641 \pm 44,7$  МЕ/л, а липазы  $2453 \pm 41,8$  МЕ/л. Операционные находки отражали данные

клинико-лабораторных исследований у 23(88,5%) пациентов, данные КТ у 24 (92,3%), МРТ у 25 (96,2%). Необходимо отметить, что при сомнении и недостаточно четком отражении очагов панкреонекроза в 10 (38,5%) случаев мы применяли КТ с контрастированием, что позволило более четко диагностировать очаги панкреонекроза до операции.

Ферментативный перитонит был у 21(15,4%) пациента, которым была выполнена лапароскопия, санация и дренирование брюшной полости. При этом выпот из брюшной полости брали на определение активности панкреатических ферментов, посев на микробиологические среды с определением характера микрофлоры и ее чувствительности к антибиотикам. Активность амилазы у этих больных составила  $628 \pm 37,1$  МЕ/л, а липазы  $372 \pm 20,9$  МЕ/л.

Остальные 110 (80,9%) пациента получали консервативное лечение согласно протоколам лечения. После оперативного лечения умерли 10 пациентов, послеоперационная летальность составила 38,5%. Наиболее высокие значения активности сывороточной амилазы наблюдали в течение первых суток от начала заболевания, а активность липазы повышалась в более поздние сроки. Прямой зависимости между активностью амилазы и формой острого панкреатита не отмечалось. Изменения показателей общего анализа крови у пациентов не были специфичными, однако в пользу инфицированного панкреонекроза свидетельствовало повышение уровня лейкоцитоза со сдвигом влево, если оно наблюдалось в динамике лечения. При панкреонекрозе и развитии септических осложнений наблюдали значительный лейкоцитоз с выраженным сдвигом влево и появлением токсической зернистости нейтрофилов, отмечались тромбоцитопения, уровень С-реактивного белка составлял  $269 \pm 31,8$  мг/л. В биохимическом анализе крови наблюдались: гипопроотеинемия за счет снижения альбуминов, диспротеинемия, гипергликемия. Выявлено, что наиболее постоянно при панкреонекрозе регистрировались повышенные активности аланиновой и аспарагиновой аминотрансфераз.

### **Выводы.**

1. При ОП липаза увеличивается через несколько часов в разы выше, чем амилаза и остается повышенной в течение 10—12 дней, а нормализация уровня липазы происходит позже нормализации амилазы.

2. Повышение концентрации С-реактивного белка больше 140 мг/л подтверждает наличие ОДП, а увеличение его концентрации в динамике заболевания более чем на 26-30 % от исходного уровня свидетельствует о развитии панкреатогенной инфекции.

3. Применение контрастирования при КТ у пациентов с ОП позволяет получить наиболее четкую и объективную информацию для диагностики и выбора метода и объема операции.

4. Использование комплексных методов исследования позволяет повысить уровень диагностики ОП и улучшить результаты его лечения.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Агапов, К.В. Роль спиральной компьютерной томографии и магнитнорезонансной томографии в выборе лечебной тактики при остром

панкреатите / К.В. Агапов, М.С. Егоров, Ф.А. Дзуткоева, А.А. Шутов // Альманах института хирургии имени А.В. Вишневского. – 2011. – Т6. №2. – С.124-125.

2. Араблинский, А.В. Диагностика, динамическое наблюдение и выработка тактики у больных с острым панкреатитом (данные компьютерной томографии и магнитно-резонансной томографии) / А.В. Араблинский, А.В. Шабунин, А.Ю. Лукин, Ю.В. Сидорова// Вестник рентгенологии и радиологии. – 2012. – №2. – С.4-12.

3. Колоцей, В. Н. Острый и хронический алкогольные панкреатиты: диагностика, лечение, профилактика / В. Н. Колоцей, И. И. Климович, В. П. Страпко // Актуальные медико-биологические проблемы алкогольной и других химических зависимостей. Сборник статей II Международной научно-практической конференции 7–8 октября 2021 г. г. Гродно, Республика Беларусь – С.47-50.

## **ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛА IN VITRO НА КИСЛОДТРАНСПОРТНУЮ ФУНКЦИЮ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С СОСТОЯНИЕМ ОТМЕНЫ АЛКОГОЛЯ**

**Лелевич А.В.**

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

**Актуальность.** Система транспорта кислорода крови регулирует адекватность диффузии кислорода в ткани. Этанол, при остром и хроническом поступлении в организм, оказывает значительное влияние на компоненты, определяющие функциональное состояние данной системы.

При острой алкогольной интоксикации молекула этилового спирта внедряется между полярными головками фосфолипидов мембран эритроцитов, уменьшая плотность упаковки последних и приводит к увеличению текучести мембран у интактных животных [1].

У пациентов с синдромом зависимости от алкоголя выявлено увеличение количества холестерина, мононенасыщенных жирных кислот и снижение полиненасыщенных в мембранах эритроцитов, что приводит к уменьшению текучести липидного бислоя [2,3], снижая чувствительность мембран к разжижающему действию этанола [4]. Обнаружено нарушение метаболизма железа и дефицит фолиевой кислоты [5], нарушение синтез гема в клетках печени и эритроидных клетках, снижение образования порфибилиногена [6].

Изменяются показатели кислородтранспортной функции крови. Однократное введение этанола экспериментальным животным вызывает разнонаправленные изменения сродства гемоглобина к кислороду (СГК) [7]. При хронической алкоголизации крыс обнаружено увеличение СГК, снижение среднего содержания и 2,3-дифосфоглицерата [8].

При отмене этанола у крыс в тканях происходят нарушения утилизации кислорода [9], что также должно отразиться кислородтранспортной функции крови.

**Цель:** изучить кислородтранспортную функцию крови у пациентов в состоянии отмены алкоголя и влияния на нее этанола *in vitro*.

**Материалы и методы исследования.** Исследовалась кровь 13 мужчин с диагнозом «Состояние отмены алкоголя. Неосложненное. Синдром зависимости от алкоголя II стадии», находившихся на стационарном лечении в отделении наркологии УЗ «Гродненский областной клинический центр «Психиатрия-Наркология» и 11 мужчин, у которых данный диагноз был исключен. Возраст пациентов колебался от 22 до 56 лет, возраст людей контрольной группы – 20-45 лет.

Для исследования прямых эффектов этанола на кислородтранспортную функцию крови производилась инкубация крови с раствором этанола. Кровь делилась на 2 части. Одну часть инкубировали с 0,2% раствором этанола (в конечной концентрации 50 ммоль/л), другую с эквивалентным количеством 0,9% раствора хлорида натрия в течение 1 часа.

Значение  $pO_2$ ,  $pCO_2$ , pH в исследуемых пробах крови измеряли на микрогазоанализаторе ABL-330 «Radiometr» (Дания). Показатели кислотно-щелочного равновесия: реальный дефицит или избыток буферных оснований (ABE), концентрация гидрокарбоната ( $HCO_3^-$ ), концентрация общей углекислоты ( $TCO_2$ ), стандартный дефицит буферных оснований (SBE), стандартный бикарбонат плазмы (SBC) рассчитывали автоматически по номограммам Siggaard-Andersen, встроенным в программу компьютера микрогазоанализатора. Сродство гемоглобина к кислороду (СГК) определяли методом «смешивания в модификации Борисюка М.В. и др. [10].

**Результаты и обсуждение.** Исследования показали, что у здоровых доноров инкубация крови с этанолом не влияет на СГК.

У пациентов с состоянием отмены этанола (СОА) СГК уменьшается на 6,6%,  $p=0,027$ , по сравнению с группой здоровых доноров (инкубация с NaCl), что отражает понижение отдачи кислорода гемоглобином в ткани в данном состоянии. В тоже время инкубация крови пациентов с СОА с раствором этанола приводит к снижению СГК по сравнению с кровью пациентов, инкубированной с изотоническим раствором NaCl: показатель  $p50_{реал}$  повышается на 6,8%,  $p=0,024$ ; значение  $p50_{станд}$  – на 4,0,  $p=0,014$ .

При СОА  $SO_2$  увеличивается на 47,5%,  $p=0,041$ ;  $pCO_2$  снижается на 17,7%,  $p=0,005$ ; pH повышается 0,8%,  $p=0,01$ ;  $HCO_3^-$  снижается на 7,7%,  $p=0,007$  и  $TCO_2$  снижается на 9,0%,  $p=0,008$ , по сравнению с контрольной группой (инкубация с NaCl). Выявленные изменения у пациентов с СОА свидетельствуют об увеличении насыщения гемоглобина кислородом в венозной крови, сдвиге КОС в щелочную сторону.

Увеличение показателя  $p50_{станд}$  у пациентов с СОА в опытах *in vitro* с добавлением раствора этанола может свидетельствовать о непосредственном влиянии этанола на молекулу гемоглобина.

При инкубации крови пациентов с СОА с этанолом происходит нормализация измененных показателей кислородтранспортной функции крови ( $p50_{\text{реал}}$ ,  $SO_2$ ), что свидетельствует о развитии компенсаторно-приспособительных реакций к хроническому поступлению этанола на уровне системы транспорта кислорода.

#### **Выводы:**

1. У пациентов с СОА происходит нарушение кислородтранспортной функции крови, проявляющееся повышением сродства гемоглобина к кислороду, увеличением степени насыщения гемоглобина кислородом, что может быть следствием смещения кислотно-основного состояния в щелочную сторону и способствовать снижению отдачи кислорода в ткани.

2. Снижение сродства гемоглобина к кислороду при добавлении этанола в среду инкубации у пациентов с СОА свидетельствует о компенсаторно-приспособительных изменениях кислородтранспортной функции крови к длительному поступлению этанола у пациентов.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Zerouga, M. Rat synaptic membrane fluidity parameters after intermittent exposures to ethanol in vivo / M. Zerouga, F. Beauge // *Alcohol*. – 1992. – Vol. 9, № 4. – P. 311-315.

2. Biophysical membrane correlates of tolerance and dependence on alcohol / F. Beauge [et al.] // *Drug alcohol depend.* - 1990. - Vol. 25, № 1. - P. 57-65.

3. In vitro effects of ethanol on erythrocyte membrane fluidity of alcoholic patients: an electron spin resonance study / W. G. Wood [et al.] // *Alcohol Clin Exp Res.* – 1987. – Vol.11, № 4. – P. 332-335.– DOI: 10.1111/j.1530-0277.1987.tb01320.x.

4. Vanderkooi, J. M. Effect of ethanol on membranes: a fluorescent probe study / J. M. Vanderkooi // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 1979. – № 3. – P. 60-63.

5. Lindenbaum, J. Hematologic complications of alcohol abuse / J. Lindenbaum // *Semin. Liver Dis. J.* – 1987. – Vol. 7, № 3. – P. 169-181.

6. Teschke, R. Influence of chronic alcohol consumption on hepatic heme and porphyrin metabolism / R. Teschke // *Biochem. Pharmacol.* – 1987. – Vol. 36, № 7. – P. 1133-1138.

7. Дремза, Н. К. Влияние этанола на газовый состав и сродство крови к кислороду / Н. К. Дремза, С. Я. Миканович // Система транспорта кислорода : сб. науч. тр., Гродно / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол.: М. В. Борисюк [и др.]. – Гродно, 1989. – С. 26-30.

8. Иржак, Л. И. Изменение сродства гемоглобина к кислороду у овец под влиянием этанола / Л. И. Иржак, Р. В. Щербаков // *Журн. эволюц. биохимии и физиологии.* – 1997. – Т. 33, № 1. – С. 124-125.

9. Лелевич, А. В. Скорость потребления кислорода гомогенатами головного мозга хронически алкоголизированных крыс при действии этанола и сукцината in vitro / А. В. Лелевич, И.К. Дремза // *Журн. ГрГМУ.* – 2021. – № 6 (19). – С. 663-666.

10. Сродство гемоглобина к кислороду / М. В. Борисюк [и др.] // Методы исследования массопереноса в системе микроциркуляции / [С. О. Алейников и др.] ; отв. ред. К. А. Шошенко ; АМН СССР, Сиб. отд-ние, Ин-т физиологии. – Новосибирск : Наука : Сиб. отд-ние, 1991. – С. 156-162.

## **РОЛЬ ГОМОЦИСТЕИНА И ЦИСТЕИНИЛГЛИЦИНА В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У ДЕТЕЙ**

**Лукша А.В., Наумов А.В., Дорошенко Е.М., Максимович Н.А.,  
Смирнов В.Ю.**

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

**Актуальность.** Поиск новых прогностических маркеров у пациентов с сердечно-сосудистой патологией для ранней диагностики заболеваний и предупреждения их прогрессирования является актуальным направлением современной кардиологии [1, 3, 4].

Учитывая роль серосодержащих аминокислот и их производных в регуляции уровня артериального давления, в последние годы у взрослых пациентов активно изучается метаболизм гомоцистеина (Hcy).

Одним из плазменных биомаркеров, с высокой прогностической значимостью и активно изучаемым научным сообществом, является гомоцистеин [2]. В то же время работ, посвященных изучению роли Hcy и родственных серосодержащих соединений в прогнозировании вероятности развития сердечно-сосудистых заболеваний в доступной литературе единичны [5].

**Цель исследования.** Установить роль гомоцистеина и цистеинилглицина в прогнозировании вероятности развития артериальной гипертензии у детей.

**Материалы и методы.** Обследовано 111 детей в возрасте от 14 до 18 лет, медиана возраста составила 15,2 (14,0; 16,5). Все пациенты были разделены на 3 группы: первую группу (n=51) составили дети с артериальной гипертензией, 2-ю группу (n=30) – с высоким нормальным артериальным давлением (ВНАД), 3-ю группу – 30 здоровых детей.

Содержание метионина (Met), гомоцистеина (Hcy), цистеина (Cys),  $\gamma$ -глутамилцистеина (gGluCys), цистеинилглицина (CysGly), глутатиона (GSH) и таурина (Tau) определяли в плазме крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентной детекцией (ВЭЖХ) по методике В.М. Gilfix в модификации А. В. Наумова с соавторами.

Статистическая обработка данных выполнялась с использованием пакета программ Statistica 10 (StatSoft Inc.) и «R». Количественные данные, распределение которых не являлось нормальным, представлялись в виде медианы (Me), нижней (Q25) и верхней (Q75) квартилей. Для оценки различий количественных признаков применялись непараметрические методы статического анализа (критерий Манна-Уитни, критерий Краскел-Уоллиса,

критерий Данна с поправкой Бонферрони для апостериорных попарных сравнений независимых групп). Различия считались статистически значимыми при значении  $p < 0,05$ . Построение регрессионных моделей было выполнено с помощью программы «R» с версией языка «R» 4.2, характеристики моделей определялись с помощью стандартного пакета «stats» расширения языка «R», ROC-анализ проводился с помощью пакетов расширения «pROC» и «ROCR». Пороговое значение уровня значимости было принято равным 0,05.

**Результаты исследования.** С целью установления признаков, определяющих риск развития артериальной гипертензии, была произведена логистическая регрессия. Снижение количества используемых переменных являлось важной задачей данного этапа. Переменные, имеющие высокий коэффициент парной корреляции, из дальнейшего рассмотрения были исключены. Далее с помощью процедуры Борута провели предварительный отбор переменных. Значимости переменных, включенных в анализ, представлены в порядке их убывания (таблица 1).

Таблица 1 – Статистика переменных, включенных в регрессионный анализ

Показатель	Значимость
Hcy	19,549
CysGly	10,266
Cys	2,947
Tau	2,347
gGluCys	0,92
Met	-0,045
GSH	-1,189

Для последующего анализа были отобраны переменные со значимостью более 3. Сравнительная характеристика отдельных показателей у пациентов представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Сравнительная характеристика показателей

Показатель, мкмоль/л	Группа 1	Группа 3	p
Hcy	9,49 (6,44; 10,36)	5,26 (4,62; 6,17)	0,001
CysGly	13,96 (12,16; 18,41)	10,00 (9,10; 12,41)	0,001

Анализ уровня Hcy и CysGly в плазме крови показал, что у детей 1-й группы уровень гомоцистеина и цистеинилглицина были достоверно выше по сравнению с группой 3 ( $p < 0,001$ , соответственно).

Сравнение многофакторных регрессионных моделей, построенных с использованием переменных из предложенного списка, по величине AIC (информационного критерия Акаике) и имеющих достоверные коэффициенты

регрессии выявило варианты моделей. ROC-анализ полученных регрессионных моделей позволил остановиться на следующем варианте (таблица 3).

Таблица 3. – Коэффициенты логистической регрессии

	Оценка	Стандартная ошибка	z-значение	p
(Intercept)	-6,003	5,61911,52	-3,94	0,0000798
Hcy, мкмоль/л	0,531	0,162	3,28	0,00105
CysGly, мкмоль/л	0,223	0,10	2,23	0,0258

На основании построенной регрессионной модели рассчитано уравнение для определения вероятности развития артериальной гипертензии:

$$1 + \exp^{-\frac{1}{(0,531x[Hcy]+0,223x[CysGly])}}$$

где: p – вероятность развития артериальной гипертензии; exp – основание натурального логарифма (e=2,718); Hcy – концентрация гомоцистеина в плазме крови, мкмоль/л; CysGly – концентрация цистеинилглицина, мкмоль/л.

Полученная математическая модель была оценена при помощи ROC-анализа. Вычисленная площадь под ROC-кривой (AUC) составила 0,871 (95% ДИ: 0,794-0,948), что свидетельствует об хорошей предсказательной способности построенной модели.

При расчетном значении  $p \geq 0,44$ , разработанная модель позволяет прогнозировать высокую вероятность артериальной гипертензии с чувствительностью 90,2%, специфичностью – 66,7% и диагностической эффективностью – 82,1%.

**Выводы.** Концентрация серосодержащих аминокислот гомоцистеина и цистеинилглицина в плазме крови у детей с артериальной гипертензией имеют общую тенденцию к повышению по сравнению с группой здоровых детей.

Разработана прогностическая модель на основании определения концентрации гомоцистеина и цистеинилглицина в плазме крови детей. При расчетном значении  $p \geq 0,44$ , разработанная модель позволяет прогнозировать высокую вероятность артериальной гипертензии с чувствительностью 90,2%, специфичностью – 66,7% и диагностической эффективностью – 82,1%.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Лукша, А. В. Функциональное состояние эндотелия сосудов при гипергомоцистеинемии у детей с артериальной гипертензией / А. В. Лукша, А. В. Наумов, Н. А. Максимович // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2023. – Т. 21, № 1. – С. 40-45.
2. Наумов, А. В. Гомоцистеин. Медико-биологические проблемы / А. В. Наумов. – Минск: Проф. изд., 2013. – 312 с.

3. Advances in Cardiovascular Biomarker Discovery / C. M. Ghantous [et al.] // *Biomedicines*. – 2020. – Vol. 8, № 12. – P. 552.
4. Arthur Mark Richards. Future biomarkers in cardiology: my favourites / Arthur Mark Richards // *European Heart Journal Supplements*. – 2018. – Vol. 20. – P. 37–44.
5. Plasma Sulfur Amino Acids and Risk of Cerebrovascular Diseases / K. J. Vinknes [et al.] // *Stroke*. – 2020. – Vol. 52, № 1. – P. 172-180. doi:10.1161/strokeaha.120.029177

## **СОДЕРЖАНИЕ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ В ПЛАЗМЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ**

**Лукша А.В., Наумов А.В., Дорошенко Е.М., Максимович Н.А.**  
*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,  
г.Гродно, Республика Беларусь*

**Актуальность.** В настоящее время серосодержащие аминокислоты являются потенциальными кандидатами в качестве факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний [1, 4]. В отношении артериальной гипертензии особую роль играют нарушения фолатного обмена, приводящие к накоплению в крови и моче – гомоцистеина (Hcy), повышенный уровень которого, может индуцировать окислительный стресс, способствовать повреждению или дисфункции эндотелиальных клеток [1, 5, 6].

Учитывая роль серосодержащих аминокислот в регуляции уровня артериального давления, в последние годы у взрослых активно изучаются метаболизм гомоцистеина и серосодержащих аминокислот и влияющие на них факторы. В то же время работ, посвященных изучению уровня Hcy и серосодержащих аминокислот в крови у детей с артериальной гипертензией, в доступной литературе единичны и противоречивы.

**Цель исследования.** Проанализировать содержание серосодержащих аминокислот и их производных в плазме крови у детей с артериальной гипертензией

**Материалы и методы исследования.** Обследовано 111 детей в возрасте от 14 до 18 лет, медиана возраста составила 15,2 (14,0; 16,5). Все пациенты были разделены на 3 группы: первую группу (n=51) составили дети с артериальной гипертензией, 2-ю группу (n=30) – с высоким нормальным артериальным давлением, 3-ю группу – 30 детей из групп периодического диспансерного наблюдения.

Содержание метионина (Met), гомоцистеина (Hcy), цистеина (Cys),  $\gamma$ -глутамилцистеина (gGluCys), цистеинилглицина (CysGly), глутатиона (GSH) и таурина (Tau) определяли в плазме крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентной детекцией (ВЭЖХ) по методике В.М. Gilfix в модификации А. В. Наумова с соавторами [3].

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы Statistica 10.0.

**Результаты исследования.** Проведен анализ содержания серо-содержащих аминокислот в плазме крови у обследованных детей (таблица 1).

Таблица 1 – Содержание серосодержащих аминокислот в плазме крови в зависимости от нозологического распределения обследуемых детей

Показатель, мкмоль/л	Группа 1	Группа 2	Группа 3	p		
				1-2	1-3	2-3
Met	24,98 (19,72; 35,75)*	31,53 (22,84; 37,58)#	20,19 (18,56; 26,32)	p>0,05	0,02	0,002
Hcy	9,49 (6,44; 10,36)*	7,76 (6,47; 10,35)#	5,26 (4,62; 6,17)	p>0,05	0,001	0,001
Cys	109,79 (81,82; 180,24)*	126,27 (76,21; 209,49)#	93,80 (64,82; 106,44)	p>0,05	0,005	0,02
gGluCys	4,50 (3,82; 5,46)	4,82 (4,24; 6,06)#	4,18 (3,40; 4,74)	p>0,05	p>0,05	0,01
CysGly	13,96 (12,16; 18,41)*	14,90 (10,83; 17,85)#	10,00 (9,10; 12,41)	p>0,05	0,001	0,002
GSH	3,71 (3,09; 4,84)	3,72 (3,25; 3,98)	3,27 (2,83; 4,00)	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Tau	40,10 (30,78; 48,52)*	37,47 (27,10; 51,24)	45,36 (40,86; 52,61)	p>0,05	0,03	p>0,05

Полученные в ходе исследования результаты указывают на статистически значимое увеличение концентрации метионина, гомоцистеина, цистеина и цистеинилглицина у детей с артериальной гипертензией в сравнении с группой здоровых детей ( $p=0,02$ ;  $p<0,001$ ;  $p=0,005$ ;  $p=0,001$ ), соответственно. Установлено, что в группе детей с артериальной гипертензией отмечается статистически значимое снижение таурина, по сравнению с группой сравнения ( $p=0,03$ ). Получены статистически значимые различия в содержании Met, Hcy, Cys, gGluCys, CysGly у пациентов с высоким нормальным артериальным давлением и детьми из группы сравнения ( $p=0,002$ ;  $p<0,001$ ;  $p=0,02$ ;  $p=0,01$ ;  $p=0,002$ ), соответственно. Статистически достоверных различий в содержании GSH между исследуемыми группами выявлено не было ( $p>0,05$ ).

Проведен корреляционный анализ взаимосвязи концентрации Hcy с уровнем серосодержащих аминокислот в плазме крови у детей с артериальной гипертензией. Установлена положительная корреляционная связь средней силы между содержанием Hcy и Cys ( $r=0,508597$ ,  $p<0,001$ ), Hcy и CysGly ( $r=0,444253$ ,  $p=0,001$ ). В группе детей с высоким нормальным артериальным давлением

обнаружена сильная взаимосвязь между содержанием Hcy и Cys ( $r=0,720690$ ,  $p<0,001$ ), с CysGly ( $r=0,616749$ ,  $p=0,001$ ).

**Выводы.** Концентрация серосодержащих аминокислот и их производных Met, Hcy, Cys и CysGly достоверно выше у детей с артериальной гипертензией, а концентрация Tau, напротив, ниже, в сравнении с группой здоровых детей.

Установлены корреляционные взаимосвязи концентрации Hcy с концентрацией серосодержащих аминокислот в плазме крови у детей с артериальной гипертензией.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Лукша, А. В. Ассоциация полиморфизмов A1298C и C677T гена MTHFR и уровень гомоцистеина у детей с артериальной гипертензией / А. В. Лукша // Вестник ВГМУ. – 2023. – Том 22, №1. – С. 67-75.
2. Наумов, А. В. Гомоцистеин. Медико-биологические проблемы / А. В. Наумов. – Минск: Проф. изд., 2013. – 312 с.
3. Наумов, А. В. Определение гомоцистеина методом ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией в микрообъемах биологических жидкостей / А. В. Наумов, Е. М. Дорошенко // Аналитика РБ – 2010: сб. тез. докладов республикан. науч. конф. по аналит. химии с междунар. участием. – Минск, 2010. – С. 138.
4. Homocysteine levels and cardiovascular risk factors in children and adolescents: systematic review and meta-analysis / L. de Oliveira Leite [et al.] // Nutr Rev. – 2021. – Vol. 79, № 9. – P. 1067-1078. doi:10.1093/nutrit/nuaa116
5. Hsu, C. N. Amino Acids and Developmental Origins of Hypertension / C. N. Hsu, Y. L. Tain // Nutrients. – 2020. – Vol. 12, № 6. – P. 1-20. <https://doi.org/10.3390/nu12061763>
6. Nitz, K. Amino Acids and Their Metabolism in Atherosclerosis / K. Nitz, M. Lacy, D. Atzler // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2019. – Vol. 39. – P. 319-330. doi: 10.1161/ATVВАНА.118.311572.

## ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ХРОНИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ, АССОЦИИРОВАННЫХ С НАРУШЕНИЕМ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА

Людчик Т.Б., Степанова Ю.И., Насибянец Н.В., Журко П.Т.,  
Соловей О.М.

*ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»,  
г. Минск, Республика Беларусь*

**Актуальность.** Повышение эффективности диагностики и лечения воспалительных заболеваний слюнных желез на протяжении последних десятилетий остаётся актуальной проблемой практического здравоохранения, что обусловлено ростом заболеваемости, хронизацией патологического процесса. Хронические сиалоадениты не независимо от этиологии, имеют схожее

клиническое течение, которое характеризуется снижением функции железы, медленным увеличением ее размеров, длительностью заболевания, эстетическим дискомфортом, являются рецидивирующим заболеванием, что может в итоге привести к утрате функции железы [1]. Проведение дифференциальной диагностики хронических воспалительных и реактивно-дистрофических заболеваний слюнных желез особенно затруднено в период острого состояния, так как все эти патологические состояния имеют сходную симптоматику. В доступной научной литературе имеются указания на единичные исследования, в которых были сопоставлены уровни гуморальных факторов у пациентов с воспалительной патологией челюстно-лицевого аппарата.

В связи с этим **целью исследования** явилось исследование уровня маркеров гуморального иммунитета в сыворотке крови у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями слюнных желез.

**Материалы и методы исследования.** В основную группу исследования включено 32 пациента с первично-хроническим сиалоаденитом в возрасте от 19 до 82 лет (средний возраст  $50,6 \pm 15,8$  г.), которые поступили в отделение стоматологии для взрослых МОДКБ. Контрольную группу составили 40 относительно здоровых лиц (средний возраст  $46,8 \pm 12,4$  г.).

Критериями включения пациентов в исследование были следующие: наличие хронического сиалоаденита с обострениями более 2 раз в год, возраст более 18 лет. Все пациенты были проинформированы об исследовании и подписывали информированное согласие на проведение клинической и лабораторной диагностики.

Проводили лабораторное исследование содержания в сыворотке крови методом ИФА следующих показателей: интерлейкины (ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-6), кластер дифференцировки CD40, иммуноглобулинов E (IgE) и G4 (IgG4). Статистический анализ полученных данных осуществляли с помощью компьютерной программы Statistica v10.0. Данные представляли в виде медианы и интервала между 25 и 75 перцентилями (Me (25%; 75%)), использовали непараметрические методы статистического анализа. Наличие связи двух случайных величин определяли с помощью корреляционного анализа Спирмена, оценку тесноты связи проводили по шкале Чеддока: коэффициент корреляции (r) 0,1-0,3 – связь слабая, 0,3-0,5 – связь умеренная, 0,5-0,7 – связь заметная, 0,7-0,9 – связь сильная. Статистически значимыми являлись результаты при  $p < 0,05$ , иначе различия между группами были статистически не значимы (НЗ).

**Результаты и обсуждение.** Результаты исследования уровня маркеров гуморального иммунитета в сыворотке крови у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями слюнных желез представлены в таблице.

Таблица – Маркеры гуморального иммунитета у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями слюнных желез, Ме (25%;75%)

Маркеры	IgG4, мг/дл	IgE, МЕ/л	ИЛ-1 $\alpha$ , пг/мл	ИЛ-1 $\beta$ , пг/мл	ИЛ-4, пг/мл	ИЛ-6, пг/мл	CD 40, пг/мл
Контроль ная группа	50,50 (27,75; 75,25)	23,1 (12,3; 38,7)	12,4 (6,0; 24,6)	2,6 (2,0; 3,4)	4,9 (2,4; 5,6)	1,5 (1,1; 2,3)	104,2 (85,6; 294,2)
Хрони- ческие сиало- адениты	138,0 (85,25; 184,0) p= 0,017	78,6 (41,1; 125,0) p=0,012	28,5 (23,8; 46,7) p=0,024	5,8 (5,4; 6,7) p=0,034	4,2 (2,0; 5,1) НЗ	4,2 (2,6; 6,3) p=0,02	276,9 (147,8; 397,1) p=0,012

В настоящее время диагностика IgG4-связанных заболеваний базируется на клинических, лабораторных и гистологических критериях, разработанных в 2020 году японскими учеными [2]. Основным диагностическим критерием IgG4-связанного сиалоаденита является содержание IgG4, равное или превышающее значение 135 мг/дл. В группе пациентов с хроническими сиалоаденитами выявлено значимое превышение диагностического уровня IgG4, что составило 138,0 (85,25;184,0) мг/дл. Данный факт свидетельствует о наличии IgG4-связанного сиалоаденита у пациентов этой группы наблюдения.

У пациентов основной группы уровень общего IgE достиг 78,6 (41,1; 125,0) МЕ/л, что в 3,4 раза превышало контрольное значение (p= 0,012). Полученные нами результаты позволяют заключить, что одним из патогенетических механизмов развития IgG4-ассоциированных сиалоаденитов является иммуноопосредованная аллергическая реакция.

При IgG4-связанных сиалоаденитах установлено увеличение уровней ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови соответственно в 2,3 (p=0,024) и в 2,2 раза (p=0,034) выше контрольных данных. Интерлейкин-4 противовоспалительный эффект, подавляя секрецию макрофагами ИЛ-1, ИЛ-5, ИЛ-6. Продемонстрирована тенденция к снижению концентрации ИЛ-4 с в сравнении с данными контрольной группы, что свидетельствует о разбалансировке гуморального иммунитета и подавлении противовоспалительного звена неспецифического гуморального иммунитета при иммуноопосредованных сиалоаденитах. Отсутствие ингибирующего влияния ИЛ-4 на продукцию цитокинов иммунокомпетентными клетками влияет на экспрессию цитокинов, определяющих провоспалительные иммунные реакции. Так, на фоне повышения экспрессии фракций ИЛ-1 у пациентов с сиалоаденитами обнаружен рост содержания ИЛ-6 в сыворотке крови до 4,2 (2,6; 6,3) пг/мл, что превышало контрольный уровень в 2,8 раза (p=0,023).

В свою очередь, ИЛ-6 является провоспалительным цитокином, синергистом ИЛ-1 и ИЛ-3, а также основным регулятором воспалительного ответа. Система сигнальных молекул «рецептор CD40–лиганд CD40» участвует в формировании иммуновоспалительных реакций при развитии

аутоиммунных заболеваний [3], что объясняет выраженное превышение экспрессии CD40 у пациентов с сиалоаденитами контрольного значения в 2,7 раза ( $p=0,012$ ).

С целью интегральной оценки ассоциативных взаимосвязей между маркерами гуморального иммунитета у пациентов с хроническими сиалоаденитами проведен корреляционный анализ. Установлены следующие статистически значимые взаимосвязи:

- CD40 на уровне заметной положительной с ИЛ-1 $\alpha$  ( $r=0,56$ ,  $p=0,031$ ) и ИЛ-1 $\beta$  ( $r=0,51$ ,  $p=0,038$ );
- CD40 на уровне высокой положительной с IgG4 ( $r=0,72$ ,  $p=0,011$ );
- ИЛ-4 на уровне умеренной отрицательной с IgG4 ( $r=-0,42$ ,  $p=0,024$ );
- ИЛ-4 на уровне высокой положительной с IgE ( $r=0,72$ ,  $p=0,014$ );
- ИЛ-4 на уровне высокой отрицательной с ИЛ-6 ( $r=-0,74$ ,  $p=0,012$ );
- ИЛ-6 на уровне умеренной положительной с IgG4 ( $r=0,46$ ,  $p=0,025$ );
- на уровне умеренной положительной с ИЛ-1 $\alpha$  ( $r=0,32$ ,  $p=0,031$ ) и ИЛ-1 $\beta$  ( $r=0,43$ ,  $p=0,021$ ).

Таким образом, активация IgG4-зависимого воспаления в слюнных железах потенцирует синтетическую функцию иммунокомпетентных клеток с гиперпродукцией ими провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и CD40 на фоне депрессии противовоспалительного цитокина ИЛ-4, что отражает существенный дисбаланс в гуморальном звене иммунной системы организма. Полученные данные свидетельствуют о существовании тесных взаимосвязей между маркерами гуморального иммунитета, аллергии и воспаления в сыворотке крови у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями слюнных желез, что обусловлено IgG4-зависимыми аутоиммунными механизмами формирования хронического склерозирующего сиалоаденита с нарушением регуляции неспецифического гуморального иммунитета.

**Выводы.** Такие иммунологические параметры, как ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-4, CD40 следует рассматривать в качестве маркеров нарушения гуморального иммунитета у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями слюнных желез аутоиммунного генеза.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Людчик, Т. Б. Хронический склерозирующий сиалоаденит как проявление IgG4-связанного заболевания / Людчик Т. Б., А. С. Артюшкевич, Ю. И. Степанова // Стоматология. Эстетика. Инновации. – 2021. – № 2. – С. 51-56.
2. The 2020 revised comprehensive diagnostic (RCD) criteria for IgG4-RD / H. Umehara H., [et al] // Mod. Rheumatol. – 2021. – Vol. 31, № 3. – P. 529-533.
3. Xu, Y. The role of CD40-CD154 interaction in cell immunoregulation / Y. Xu, G. Song // J. of Biomedical Sciencel. – 2005. – Vol. 11, № 4. – P. 426-438.

# АНАЛИЗ РОЛИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В ПРОГРЕССИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

Макаревич В.В., Пикуза А.Р.

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Республика Беларусь*

**Актуальность.** Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) развивается вследствие воспалительного процесса в дыхательных путях и тканей легкого и приводит к ограничению в них воздушного потока. Для данного заболевания характерно наличие таких первичных респираторных симптомов, как одышка, кашель, отхаркивание мокроты [2]. Три десятилетия ХОБЛ продолжает занимать одну из лидирующих позиций по распространенности в мире среди хронических респираторных заболеваний и входит в группу ведущих причин смертности в мире. В 2021 году в Республике Беларусь число пациентов с ХОБЛ превысило 38000. У 2188 человек диагноз был установлен впервые [4].

ХОБЛ характеризуется наличием воспалительных реакций в очаге повреждения, сопровождающегося изменением уровней цитокинов. Одними из значимых в регулировании данного процесса являются интерлейкин-10 (IL-10) и фактор некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ). TNF- $\alpha$  – ключевой медиатор воспаления и иммунного ответа, а также индуктор выработки воспалительных цитокинов и хемокинов. IL-10 – ингибитор воспаления и цитокинового распада, способен ограничивать чрезмерные воспалительные реакции, повышать врожденный иммунитет и стимулировать механизмы восстановления тканей [3]. Было установлено, что прогрессирование ХОБЛ приводит к снижению выработки противовоспалительного цитокина IL-10, а также к увеличению концентрации провоспалительного цитокина TNF- $\alpha$  [1]. Таким образом, имеет смысл изучение ассоциации полиморфных локусов генов, которые кодируют IL-10 и TNF- $\alpha$ , с изменением концентрации этих молекул в клетках крови.

**Цель.** Изучение и анализ связи полиморфных вариантов rs1800629 гена TNF- $\alpha$  и rs1800896 IL-10 с прогрессированием ХОБЛ среди населения Республики Беларусь.

**Материалы и методы исследования.** Для изучения частоты встречаемости полиморфизмов rs1800629 гена TNF- $\alpha$  и rs1800896 гена IL-10 среди населения Республики Беларусь была сформирована выборка из 190 человек, среди которых 95 пациентов с ХОБЛ и 95 клинически здоровые лица. Материалом для исследования служила геномная ДНК, полученная из лейкоцитов крови. Методом ПЦР проводилось генотипирование по полиморфным локусам с использованием Taq-Man зондов (ООО «ТестГен»). При помощи пакета программ Microsoft Excel изучались отклонения частот генотипов от равновесия Харди-Вайнберга. Нахождение различий между качественными показателями осуществлялось путем вычисления критерия хи-квадрат. Результаты считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Взаимосвязь изучаемых генотипов с развитием ХОБЛ проводили с помощью

составления таблиц сопряженности и оценки показателя отношения шансов (ОШ). Значения доверительного интервала 95% (ДИ95%) не включали 1.

**Результаты и обсуждение.** Определена частота аллелей А и G и генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF- $\alpha$  в группе пациентов с ХОБЛ и здоровых лиц (таблица 1).

Таблица 1. Частота аллелей и генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF- $\alpha$  у обследуемых лиц

Носительство аллелей и генотипов	Пациенты с ХОБЛ, n (%)	Здоровые лица, n (%)	$\chi^2$	P	Критерий V Крамера	ОШ	95% ДИ
A	45 (11,7%)	30 (8,0%)	3,188	1,333	0,095	1,334	0,8-2,23
G	163 (42,5%)	145 (37,8%)				0,75	0,449-1,252
AA	9 (9,5%)	3 (3,2%)	4,858	0,158	0,089	3,18	0,841-12,25
AG	27 (28,4%)	21 (22,1%)				1,397	0,725-2,703
GG	59 (62,1%)	71 (74,7%)				1,804	1,64-2,958

Статистический анализ на данном этапе не выявил существенных отличий в группах пациентов с ХОБЛ и здоровых лиц. В ходе анализа обнаружено, что наличие аллели G характернее для пациентов с ХОБЛ – 163 (42,5%). При этом в группе здоровых лиц преобладают носители генотипа GG – 71 (74,7%), что на данном этапе не позволяет дать точной информации об ассоциации между определенным вариантом генотипа и риском развития ХОБЛ. Однако, данные результаты могут указывать на то, что в прогрессирование ХОБЛ может вносить вклад наличие определенной аллели в совокупности с дополнительными факторами риска, вызывающими воспалительный процесс в дыхательных путях.

Далее было проведено сравнение частоты встречаемости аллелей А и G генотипов полиморфизма rs1800629 rs1800896 гена IL-10 в группе пациентов с ХОБЛ и здоровых лиц (таблица 2).

Исходя из проведенных расчетов можно сказать, что аллель А преобладает у лиц болеющих ХОБЛ (30,8%). Также отмечено, что пациенты с ХОБЛ чаще является носителями генотипа AA (42,1%). При расчете показателя отношения шансов выявлено, что вероятность развития ХОБЛ возрастает при носительстве гомозиготного генотипа AA цитокинового рецептора IL-10 в 2,72 раза ( $p=0,002$ ; ОШ=2,72; 95%ДИ>1). Исходя из полученных данных показано, что у здоровых лиц отмечается преобладание аллели G (28,7%), а носительство генотипа GG снижает вероятность развития ХОБЛ в 2,38 раз ( $p= 0,002$ ; ОШ= 0,42; 95%ДИ>1).

Таблица 2. Частота аллелей и генотипов полиморфизма rs1800896 гена IL-10 у обследуемых лиц

Носительство о аллелей и генотипов	Пациенты с ХОБЛ, n (%)	Здоровые лица, n (%)	$\chi^2$	P	Критерий V Крамера	ОШ	95% ДИ
A	117 (30,8%)	81 (21,3%)	13,80	0,0002	0,19	2,16	1,43-3,25
G	73 (19,2%)	109 (28,7%)				0,21	0,30-0,70
AA	40 (42,1%)	20 (21,0%)	12,00	0,002	0,249	2,72	1,43-5,17
AG	37 (39,0%)	41 (43,2%)				0,84	0,47-1,49
GG	18 (18,9%)	34 (35,8%)				0,42	0,2-0,81

**Выводы.** Аллель А гена IL-10 полиморфизма rs1800896 преобладает у лиц болеющих ХОБЛ (30,8%). Гомозиготный вариант генотипа AA полиморфизма rs1800896 гена IL-10 у пациентов с ХОБЛ встречается значительно чаще, чем у здоровых лиц и повышает риск возникновения ХОБЛ в 2,72 раза. Отмечено, что у носителей генотипа GG вероятность развития ХОБЛ снижается в 2,38 раза. В отношении распределения частот генотипов и аллелей для полиморфизма rs1800629 гена TNF- $\alpha$  у обследуемых лиц не удалось обнаружить статистически значимую разницу, что требует дополнительных исследований с учетом других факторов, провоцирующих ХОБЛ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Emami, A. M., Role of Serum Interleukin 6, albumin and C-reactive protein in COPD patients / A. M. Emami, O. Zaerin // *Tanaffos*. – 2015. – Vol. 14, №2. – P. 134–140
2. Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease (2023 report) // *GOLD assembly*. – 2023. – P. 5–6.
3. Kim E. Y., Moudgil K.D. Immunomodulation of autoimmune arthritis by pro-inflammatory cytokines. *Cytokine*. 2017; 98: 87–96. DOI: 10.1016/j.cyto.2017.04.012.
4. Богуш Л.С. Характеристика случаев микобактериоза легких у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких [Электронный ресурс] / Л. С. Богуш, Т. О. Апанасевич, Е. И. Давидовская, А. С. Дубровский // Научная сессия УО БГМУ (Минск, 26 января 2023 г) // Белорусский государственный медицинский университет bsmu.by (сайт). – Режим доступа: <https://www.bsmu.by/downloads/universitet/nauka/nauch%20sessiya/2023/ftiziopulmonologiya/5.pdf>. – Дата доступа: 02.04.2023.

# УРЕАЗНЫЙ ТЕСТ КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ МЕТОД ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ *HELICOBACTER PYLORI*-АССОЦИИРОВАННОГО ГАСТРИТА У ДЕТЕЙ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ БИОПТАТОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА

Масюк О.В.

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

**Актуальность.** За последние десятилетия распространенность случаев хронического гастрита заметно снизилась в высокоразвитых странах. Тем не менее, хронический гастрит по-прежнему остается одной из наиболее распространенных серьезных пандемических инфекций. Хронический гастрит представляет собой многоступенчатое, прогрессирующее и пожизненное воспаление. Диагноз «хронический гастрит» – это диагноз морфологический [2].

Начинается обычно в детском возрасте как простое хроническое мононуклеарное воспаление в сочетании с острым нейтрофильным воспалением различной степени. Гастрит прогрессирует ступенчато, в течение нескольких лет и десятилетий, до атрофического гастрита, который характеризуется потерей нормальных желез слизистой оболочки.

Хронический гастрит был известен и изучался с первых десятилетий 20-го века, но больше внимания ему стали уделять только с 1982 года, после открытия *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). *H. pylori* является грамотрицательной подвижной спиралевидной бактерией, которая паразитирует в складках слизистой оболочки желудка. Эта бактерия является причиной гастрита в подавляющем большинстве случаев, за возможным исключением гастрита аутоиммунного генеза. Основным резервуаром инфекции являются *H. Pylori* – положительные люди, а внутрисемейные контакты между членами семьи являются наиболее важным путем передачи инфекции, особенно в раннем возрасте. *H. pylori* инфекция в детском возрасте является основной причиной хронического гастрита, микробное происхождение которого является ключом к пониманию нестандартной эпидемиологии и течения заболевания. Инфицирование пациента *H. pylori* может быть обнаружено путем инвазивных и неинвазивных диагностических исследований. [1] Инвазивные методы включают исследование биоптата слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта гистологическими и культуральными методами, или быстрым уреазным тестом, однако, неоднородное распространение бактерии в тканях часто может приводить к ложноотрицательному результату. К неинвазивным методам диагностики можно отнести иммунологические методы исследования сыворотки пациента на наличие специфических антител и дыхательный уреазный тест с применением радиоактивно меченой мочевины. Иммуноферментный анализ на выявление специфических антител IgA, IgM, IgG является минимально инвазивным, быстрым, высокочувствительным и информативным методом диагностики *H. pylori* инфекции. Выявление IgG антител является стандартным методом исследования эпидемиологии

инфекции. Тест используется для скрининга бессимптомных лиц из семей пациентов с заболеваниями, связанными с инфекцией *H. pylori*.

**Цель.** Проанализировать данные патогистологических исследований биоптатов слизистой оболочки желудка и выявить количество детей с морфологически подтверждённым диагнозом хронический гастрит, оценить положительные результаты уреазного теста при проведении эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС) в исследуемой группе пациентов.

**Материалы и методы исследования.** Проанализированы 185 медицинских карт стационарных пациентов формы 003/у, находившихся на обследовании и лечении в учреждении здравоохранения «Гродненская областная детская клиническая больница» с диагнозом хронический гастрит. В исследование включен научно-теоретический и сравнительный анализ медицинской литературы.

**Результаты и обсуждение.** За 2021 год на основе данных, полученных при патогистологическом исследовании биоптатов слизистой оболочки желудка, диагноз хронический гастрит был выставлен 185 детям. Из них 108 (58,4%) человек – лица женского пола, а 77 (41,6%) – мужского. Хронический гастрит, ассоциированный с *H. pylori*, наблюдался у 84 (45,4%) из всех обследованных детей.

По возрасту установления диагноза дети распределились следующим образом: с 4-6 лет – 11 детей (5,5%), с 7-9 лет – 26 (14%), с 10-13 лет – 61 человек (33%), с 14-17 лет – 88 (47,5%).

**Выводы.** По данным, полученным после проведенных исследований, хронический гастрит чаще всего наблюдался у детей в возрасте от 14 до 17 лет. Выявление преимущественно хронического гастрита, не индуцированного *H. pylori* у 101 пациента (54,6%) свидетельствует либо об аутоиммунном процессе заболевания, либо о недостаточной и/или сомнительной диагностике. Быстрый и лёгкий в проведении уреазный тест часто бывает ложноотрицательным, так как *H. pylori* распространяется в тканях неоднородно, поэтому рекомендуется дополнительно использовать другие неинвазивные методы диагностики *H. pylori*.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Шило, В. В. Краткий справочник лабораторных исследований ИООО «Синэво» / В. В. Шило, О. В. Небыльцова. – Минск : Смэлток, 2016. – С. 459-460.
2. Детские болезни : пособие для студентов педиатрического факультета / Н. С. Парамонова [и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2021. – Ч. 2. – С. 29.

# СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ «L-АРГИНИН-NO» И ПЕРЕКИСНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ДЕТЕЙ

Парфёнова И.В.

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

**Актуальность.** Проблема внебольничной пневмонии у детей и подростков до настоящего времени не утратила своей актуальности ввиду своей распространенности и высокой летальности. Внебольничная пневмония (ВП) относится к заболеваниям респираторного тракта, которые сопровождаются воспалительной реакцией и интенсификацией свободно-радикальных процессов, приводящих к накоплению конечных и промежуточных продуктов метаболизма с одновременным напряжением и последующим угнетением различных звеньев антиоксидантной защиты, что приводит к развитию оксидативного стресса [1, 2].

**Цель.** Изучить состояние системы «L-аргинин-NO» и перекисных процессов при различных формах внебольничной пневмонии у детей.

**Материалы и методы исследования.** Под наблюдением находилось 100 пациентов с различными формами внебольничной пневмонии, в возрасте от 10 до 17 лет, которые составили основную группу. Мальчиков было – 43, девочек – 57. Контрольную группу составили здоровые дети, в количестве 30 человек.

Состояние системы «L-аргинин-NO» оценивали по содержанию оксида азота (NO) в плазме крови спектрофотометрическим методом, с использованием кадмия и реактива Грисса при длине волны 540 нм [3].

При исследовании была проведена оценка состояния прооксидантно-антиоксидантной системы, которую определяли по содержанию диеновых конъюгатов и активности каталазы в эритроцитах крови.

Уровень первичных продуктов – диеновых конъюгатов (ДК) в эритроцитах оценивали по интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока в области спектра 232–234 нм, характерного для конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов с помощью спектрофотометра «СФ-46» [4, 5].

Содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах изучали по модифицированному методу J. Sedlak и R. Lindsay [5]. В основе метода лежит реакция взаимодействия SH-групп глутатиона с 5,5'-дитиобис (2-нитробензойной кислотой), способной поглощать свет при длине волны 412 нм. По результатам реакции с ДТНБ чаще всего судят о концентрации восстановленного глутатиона.

Активность каталазы регистрировали по реакции с молибденовокислым аммонием, имеющего максимальное светопоглощение при длине волны 410 нм на спектрофотометре «Solar» PV1251C [6].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета «Statistica 10.0». Вычислялось Me (Q25-Q75), где Me –

медиана показателя; (Q25-Q75) – интерквартильный размах показателя. Достоверность различия между группами пациентов считались при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** У обследованных пациентов были диагностированы следующие виды ВП: очаговая – у 40 (40%) пациентов, сегментарная – у 53 (53%) и долевая – у 7 (7%) детей.

Концентрация оксида азота изменялась по мере распространенности и тяжести воспалительного процесса в легочной ткани при ВП. Установлено, что при долевой пневмонии уровень NO увеличивается в 2,33 раза ( $p < 0,05$ ), в то время как при сегментарной – в 1,82 раза и очаговой – в 1,22 раза ( $p < 0,05$ ).

Уровень оксида азота в плазме крови пациентов с ВП может служить маркером выраженности воспалительного процесса в легочной ткани. Гиперпродукция оксида азота у детей с ВП связана с микробной активацией индуцибельной NO-синтазы, под действием которой синтезируются большое количество оксида азота, в несколько раз превышающие его концентрацию в плазме крови в норме.

При ВП наблюдается увеличение активности процессов перекисного окисления липидов. Наиболее высокая активность перекисных процессов наблюдается при долевой пневмонии, а менее выраженные при очаговой инфильтрации легочной ткани.

У пациентов с пневмонией по сравнению с группой здоровых детей концентрация ДК в эритроцитах увеличивается, что связано с распространенностью инфильтративного процесса в легочной ткани. Наибольшее увеличение отмечается у детей при долевой пневмонии – в 2,1 раза ( $p < 0,05$ ), при сегментарной – в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ) и наименьшее изменения при очаговой – в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ).

По мере распространенности воспалительного процесса в легких происходит значительное снижение уровня факторов антиоксидантной защиты.

Снижение активности каталазы в эритроцитах по сравнению с группой здоровых детей наиболее значимо отмечалось при долевой – на 60,4% ( $p < 0,05$ ) и сегментарной пневмонии – 55,9% ( $p < 0,05$ ), а также и при очаговой пневмонии – на 14,7%. ( $p < 0,05$ ).

Выраженные изменения уровня восстановленного глутатиона наблюдали при сегментарной и долевой пневмонии в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ), при очаговой инфильтрации легких – в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ).

Низкая активность факторов антиоксидантной защиты на фоне интенсивности процессов перекисного окисления липидов свидетельствует о развитии окислительного стресса у детей с внебольничной пневмонией, что свидетельствует о наличии NO-зависимых механизмов в поддержания прооксидантно-антиоксидантного состояния при внебольничной пневмонии у детей.

**Заключение.** Внебольничная пневмония у детей сопровождается развитием окислительного стресса, выраженность которого увеличивается в зависимости от распространенности воспалительного процесса и тяжести состояния пациентов. Выявленное увеличение содержания оксида азота свидетельствует о нарушении в системе «L-аргинин-NO» у детей с

внебольничной пневмонией и способствует возникновению дисбаланса прооксидантно-антиоксидантного состояния в организме. Полученные результаты необходимо учитывать при проведении патогенетического лечения данной категории детей, которые должны быть направлены на устранение нарушений при данной патологии.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Соодаева, С. К. Нитрозивный и оксидативный стресс при заболеваниях органов дыхания / С. К. Соодаева, И. А. Климанов, Л. Ю. Никитина // Пульмонология. – 2017. – Т. 27, № 2. – С. 262–273.
2. Роль окислительного стресса в патогенезе социально значимых заболеваний человека и пути его медикаментозной коррекции / Ю. В. Олефир [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа 2021. Т. 16, № 4. 450-455.
3. Зинчук, В.В. Прооксидантно-антиоксидантное состояние организма при введении липополисахарида в условиях коррекции сродства гемоглобина к кислороду и L-аргинин-NO-системы / В.В. Зинчук // Бюлл. эксп. биол. и мед. – 2001. – Т.131, №1. – С. 39-42.
4. Костюк, В. А. Спектрофотометрическое определение диеновых конъюгатов / В. А. Костюк, А. И. Потапович, Е. Ф. Лунец // Вопросы медицинской химии. – 1984. – №4. – С. 125–127.
5. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В.С. Камышников. – 2-е изд. – Мн.: Беларусь, 2002. – Т. 1. – 465 с.
6. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

### **АМИНОКИСЛОТНЫЙ ФОНД ПЛАЗМЫ КРОВИ МУЖЧИН С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ПОТРЕБЛЕНИЯ АЛКОГОЛЯ Разводовский Ю.Е.<sup>1</sup>, Смирнов В.Ю.<sup>2</sup>, Дорошенко Е.М.<sup>2</sup>, Климович И.И.<sup>2</sup>, Шуриберко А.В.<sup>1</sup>, Бадун Е.Г.<sup>1</sup>, Казинец Е.О.<sup>1</sup>, Переверзев В.А.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ГП «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси»,  
г. Гродно;

<sup>2</sup>УО «Гродненский государственный медицинский университет», г. Гродно

<sup>3</sup>УО «Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Беларусь

**Актуальность.** Концентрация свободных аминокислот в плазме крови является одним из наиболее важных показателей промежуточного обмена [3]. Она отражает баланс между поступлением аминокислот в кровь из пищи и тканей в результате расщепления белков и попаданием аминокислот из крови в ткани, где они используются для синтеза белков, а также поступлением и расходом аминокислот в реакциях промежуточного обмена [3]. Хроническая алкогольная интоксикация сопровождается аминокислотным

дисбалансом в плазме крови, который обусловлен недостаточным поступлением с пищей, ухудшением всасывания незаменимых аминокислот, а также нарушением функции печени [4]. Характер аминокислотного дисбаланса при хронической алкогольной интоксикации зависит от целого ряда факторов, включая тяжесть и длительность дефицита пищевых белков, а также степень выраженности алкогольного поражения печени [4]. Наиболее часто отмечаются сдвиги в уровне аминокислот с разветвленной углеводородной цепью, ароматических аминокислот, аланина, метионина, и  $\alpha$ -аминомасляной кислоты [5]. Несмотря на то, что состояние фонда аминокислот плазмы крови при различных режимах экспериментальной алкоголизации достаточно хорошо изучено [1,4], в литературе отсутствуют сведения относительно содержания аминокислот в плазме крови людей с различным уровнем потребления алкоголя.

**Цель.** Изучить особенности фонда аминокислот и их производных плазмы крови людей с различным уровнем потребления алкоголя.

**Материалы и методы исследования.** Определена концентрация аминокислот и их производных в 136 образцах крови мужчин в возрасте 15-65 лет. Кровь была получена из лаборатории медицинского консультативного центра, куда она поступила для рутинного биохимического анализа. Анализ аминокислот и их дериватов проводился на хроматографе Agilent 1100 методом обращенно-фазной хроматографии с предколоночной дериватизацией о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой в Na-боратном буфере [8]. Стратификация по уровню потребления алкоголя проводилась с использованием концентрации прямого биохимического маркера злоупотребления алкоголем фосфатидилэтанола. Определение концентрации фосфатидилэтанола осуществляли с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии – тандемной масс-спектрометрии (ВЭЖХ – МС) [7]. Дискриминация по уровню потребления алкоголя осуществлялась согласно следующим пороговым уровням концентрации фосфатидилэтанола: абстиненты (практически не употребляющие алкоголь)  $<0,05$  мкмоль/л (36,26 нмоль/мл); умеренно пьющие: 36,27–217,54 нмоль/мл; злоупотребляющие алкоголем: злоупотребляющие  $>0,3$  мкмоль/л (217,55 нмоль/мл). Статистическая обработка данных производилась с помощью программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США).

**Результаты и обсуждение.** Установлено, что в плазме крови злоупотребляющих алкоголем мужчин содержание глутаминовой кислоты выше, в то время как уровень глутаминна ниже по сравнению с абстинентами. Кроме того, в плазме крови злоупотребляющих алкоголем мужчин отмечен более низкий уровень таурина по сравнению с умеренно пьющими. Анализ корреляционных связей показал наличие сильной корреляции между содержанием метионина и таурина у абстинентов, которая исчезала у умеренно пьющих и злоупотребляющих алкоголем. Также у абстинентов обнаружена сильная положительная связь между содержанием фенилаланина и тирозина, которая сохранялась у умеренно пьющих, однако исчезала у злоупотребляющих алкоголем. В группе злоупотребляющих алкоголем

существует сильная положительная связь между содержанием фосфатидилэтанола и альфа-аминомасляной кислоты. В группе абстинентов также имела место отрицательная корреляция между фосфатидилэтанолом и фенилаланином, которая исчезала в группах умеренно пьющих и злоупотребляющих алкоголем.

Повышение уровня глутаминовой кислоты в плазме крови злоупотребляющих алкоголем согласуется с результатами предыдущих исследований. В частности, было установлено, что экспериментальная алкогольная интоксикация в течение двух недель приводила к увеличению содержания в плазме крови глутамата [6]. Повышенный уровень этой аминокислоты также был обнаружен в плазме крови лиц, страдающих алкогольной зависимостью [2]. Снижение уровня глутамин в плазме крови злоупотребляющих алкоголем согласуется с результатами исследования, в котором было показано снижение содержания данной аминокислоты у пациентов, страдающих алкогольной зависимостью [2]. Ранее было установлено, что уровень таурина в плазме крови растет на фоне экспериментальной форсированной алкоголизации [5], а также у пациентов, страдающих алкогольной зависимостью [4]. Повышение уровня таурина в плазме крови злоупотребляющих алкоголем, наряду с исчезновением корреляции между таурином и метионином, может свидетельствовать о нарушении обмена серосодержащих аминокислот. Нарушение корреляции между фенилаланином и тирозином в плазме крови злоупотребляющих алкоголем может быть следствием нарушения метаболизма ароматических аминокислот в печени.

**Выводы.** Результаты исследования выявили нарушения аминокислотного фонда плазмы крови, зависящие от уровня потребления алкоголя. Изменения в содержании аминокислот плазмы крови мужчин, злоупотребляющих алкоголем, могут быть следствием нарушения обмена серосодержащих и ароматических аминокислот. Анализ корреляционных связей между фосфатидилэтанолом и отдельными аминокислотами может быть использован с целью повышения специфичности данного биохимического маркера злоупотребления алкоголем.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Изменения пула свободных аминокислот в плазме крови и скелетных мышцах крыс при прерывистой алкогольной интоксикации. / В. В. Лелевич, Ю. А. Тарасов, С. В. Лелевич, В. Ю. Смирнов // Журнал Гродненского медицинского университета. – 2012. – №2. – С. 24–26.

2. Козловский, А. В. Нарушения обмена аминокислот при алкоголизме. / А. В. Козловский, Ю. Е. Разводовский, С. Ю. Островский // Международная научная конференция, посвященная 40-летию Гродненского государственного медицинского института, 7–8 окт. 1998 г., Гродно : сб. материалов. – Гродно, 1998. – Ч. 2. – С. 37.

3. Нефёдов, Л. И. Аминокислоты и их производные в патогенезе и лечении поражений печени. / Л. И. Нефёдов // Весці АН Беларусі. Сер. хім. навук. – 1997. – № 2. – С. 39–48.
4. Островский, Ю. М., Островский, С. Ю. Аминокислоты в патогенезе, диагностике и лечении алкоголизма. – Минск : Навука і тэхніка, 1995. – 280 с.
5. Разводовский, Ю. Е. Аминокислоты плазмы крови как потенциальные биохимические маркеры алкоголизма. / Ю. Е. Разводовский // Академический журнал Западной Сибири. – 2022. – Т. 18, № 2. – С. 7–12.
6. Шейбак, В. М. Обмен свободных аминокислот и КоА при алкогольной интоксикации – Гродно, 1998. – 152 с.
7. Шуриберко, А. В. Метод определения фосфатидилэтанола в крови. / А. В. Шуриберко, Ю. Е. Разводовский // Академический журнал Западной Сибири. – 2022. – Т. 18, № 4. – С. 36–42.
8. Эффекты аминокислотных композиций на аминокислотный фонд плазмы крови при субхронической алкогольной интоксикации. / Ю. Е. Разводовский, В. Ю. Смирнов, А. А. Островский, И. Н. Семененя // Новости медико-биологических наук. – 2020. – Т. 20, № 2. – С. 97–101.

## **ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ МАКРОЭЛЕМЕНТАМИ ДЕТЕЙ ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА**

**Ровбуть Т.И., Онегин Е.Е., Скакун В.И.**

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

**Актуальность.** Отличительная особенность минерального обмена у детей состоит в том, что процессы поступления в организм макро- и микроэлементов и их выведение не уравновешены между собой. Рост и развитие ребёнка требуют интенсивного поступления минеральных веществ [1, 2, 3]. Данные о содержании химических элементов в различные периоды жизни представляют большой интерес. В процессе роста и развития органы и ткани способны избирательно концентрировать определённые микроэлементы [2, 5]. Установлено, что к моменту рождения увеличивается содержание меди, цинка, кремния, алюминия в сером и белом веществе головного мозга, в печени – меди (в 16 раз), железа (в два раза). Это возраст микроэлементного благополучия – концентрация многих микроэлементов во много раз выше по сравнению с другими периодами жизни ребёнка [2, 3, 4]. Особый интерес представляет способность кумулировать и выделять макро- и микроэлементы у детей в зависимости от возраста и пола ребенка. Оценка содержания макроэлементов в организме детей позволяет разработать индивидуальную программу метаболической коррекции элементозного статуса и тем самым проводить своевременную профилактику хронической заболеваемости.

**Цель исследования** – оценить уровень содержания в волосах кальция (Ca), фосфора (P), серы (S) и магния (Mg) у детей младшего дошкольного возраста, в зависимости от пола.

**Материал и методы исследования.** В осенний период 2022 года проведено комплексное клиническое обследование 60 практически здоровых детей в возрасте от 1 года до 4 лет, посещающих детские дошкольные учреждения г. Гродно. Средний возраст составил  $3,31 \pm 1,69$  года. Мальчиков в группе было 29, девочек - 31.

Для исследования обеспеченности детей макроэлементами нами использовался такой биосубстрат, как волосы. Волосы позволяют изучить статус тех макроэлементов, которые вовлечены в процессы хранения (депонирования) и аккумуляции (концентрирования) химических элементов и отражают их концентрацию и метаболизм во внутренней среде организма. Преимущество исследования волос по сравнению с использованием других биосубстратов (кровь, моча) определяется тем, что этот метод исследования относится к неинвазивным методам. Уровень химических элементов в волосах не подвергается суточным колебаниям, связанным с текущим поступлением макроэлементов с пищей и водой, что наблюдается в крови и моче. Их содержание в волосах отражает ретроспективно их потребление в прошлом, соизмеримое со скоростью роста и длиной волос, что позволяет дать характеристику общего элементного статуса организма, формирующегося в течение значительного временного промежутка (месяцы, годы). Доказана достоверная взаимосвязь между концентрацией макроэлементов в волосах и содержанием в плазме крови и моче [3, 5].

Уровень Ca, P, S и Mg в волосах детей оценивали методом атомно-эмиссионной спектроскопии с возбуждением излучения в индуктивно-связанной аргоновой плазме на масс-спектрометре Elan 9000, «Perkin Elmer», США. Статистический анализ результатов исследования проводили с помощью программного пакета Microsoft Excel XP (Microsoft Corp., США).

При высокой точности результатов спектрометрических методов исследования волос до настоящего времени остается актуальной проблема их оценки в силу отсутствия единых общепринятых нормативов элементного состава данного биосубстрата [2, 5]. Рядом авторов показано, что содержание химических элементов в волосах детей, проживающих в различных регионах, значительно отличается по составу, отклоняясь в разы от условных референтных величин. В связи с этим, для оценки полученных данных мы отдали предпочтение использованию медианы вместо среднего значения со стандартным отклонением. Эта информация дает количественную характеристику сравниваемых показателей преимущественно в диапазоне типичных значений, отражая изменения в конкретной группе исследуемых образцов.

**Результаты и обсуждение.** Полученные данные содержания химических элементов в волосах у обследованных детей в зависимости от пола представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Содержание макроэлементов в волосах у детей 1-4 лет, в зависимости от пола, мкг/г

Макроэлемент	Медиана (мкг/г)		
	Все (n=60)	Девочки (n=31)	Мальчики (n=29)
Mg	11,905	12,295	11,364
P	121,391	104,548	123,992
S	7,640	7,116	8,872
Ca	786,862	788,080	785,644

Медиана уровня магния в волосах у девочек выше, чем у мальчиков и незначительно выше медианы в группе в целом, но это превышение, выраженное в относительных цифрах, колеблется незначительно. Содержание фосфора и серы в волосах мальчиков выше, чем у девочек и выше показателей медианы в группе в целом. Показатели медианы по уровню кальция примерно одинаковые как в группе мальчиков, так и в группе девочек. Таким образом, девочки в отличие от мальчиков имеют более высокое содержание в волосах магния и более низкое содержание фосфора и серы.

**Выводы.** У детей в возрасте от 1 до 4 лет, проживающих в западных регионах Беларуси, установлены половые отличия обеспеченности Mg, P и S, определяемые их содержанием в волосах.

Отличительной особенностью девочек является более высокий уровень магния и более низкий уровень фосфора и серы.

По уровню кальция половых отличий содержания в волосах установлено не было.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абдырахманова, А. Т. Исследование возможности применения результатов химического анализа волос в медицине и экологии с учетом особенностей биогеохимических провинций / А. Т. Абдырахманова. – Томск, 2021. – 65 с.
2. Метод гигиенической оценки баланса химических элементов у детей / Е. О. Гузик, Е. А. Гресь, А. Г. Романюк [и др.] // Инструкция к применению. – Минск, 2012. – 18 с.
3. Хоменко, О.И. Минеральные вещества и здоровье человека / О. И. Хоменко, А. Е. Хоменко. - М. Обзор. - 2018. - 187 с.
4. Analysis of Hair Trace Elements in Children with Autism Spectrum Disorders and Communication Disorders / A. Skalny [et al.] // Biol Trace Elem Res. – 2017. – V.177. – P.215-223.
5. Evaluation of calcium and magnesium in scalp hair samples of population consuming different drinking water: risk of kidney stone / A.H. Panhwar, T.G. Kazi, H.I. Afridi [et al.] // Biological Trace Element Research. – 2013. – Vol. 156. – No. 1/3. – P. 67–73.

## РЕТИНОПАТИЯ ПУРЧЕРА ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ

Солодовникова Н.Г.,<sup>1</sup> Ильина С.Н.,<sup>1</sup> Хаткевич О.В.,<sup>1</sup>

Семянович Т.В.,<sup>2</sup> Голуб Е.И.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>УО «Гродненский государственный медицинский университет»,

<sup>2</sup>УЗ «Гродненская университетская клиника»,

<sup>3</sup>УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи»,

г. Гродно, Республика Беларусь

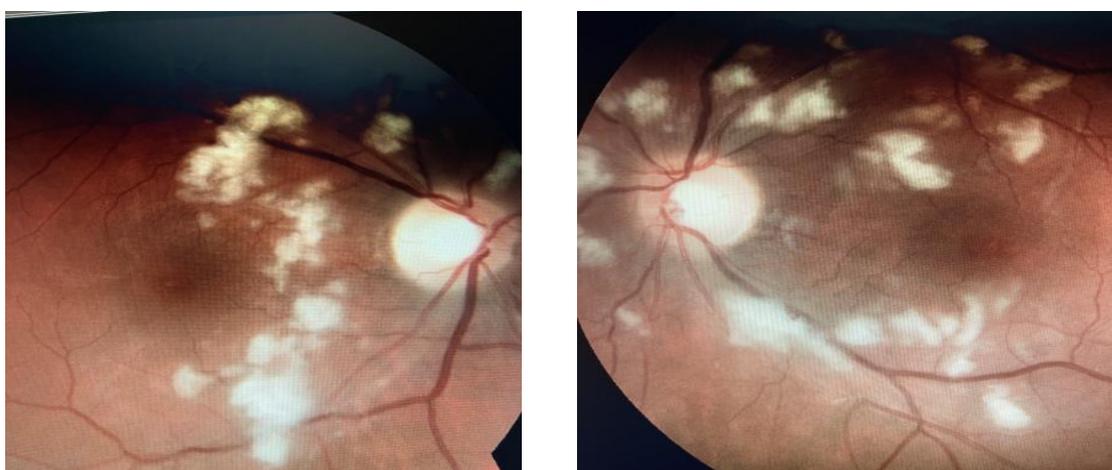
**Актуальность.** За последние десятилетия увеличилось количество дорожно-транспортных происшествий с тяжелыми повреждениями, число случаев патологий, связанных с приемом алкоголя, наркотических препаратов, которые сопровождаются поражением желудочно-кишечного тракта. Данные состояния могут сопровождаться развитием ретинопатии Пурчера (РП), для которой характерно двустороннее поражение сетчатки с ухудшением зрительных функций. РП встречается редко, и в настоящее время отсутствует доказанное эффективное патогенетическое лечение. Патогенез заболевания до конца не изучен. Одной из теорий развития РП является эмболическая. Природа эмбола зависит от триггерного заболевания. Острый панкреатит, сепсис активируют систему комплемента с формированием лейкоцитарных агрегантов и последующей лейкоэмболизацией на фоне нарушения биохимических процессов. В итоге возникает артериальная окклюзия, которая приводит к инфаркту микроциркуляторного русла сетчатки [1, 2]. Пятна Пурчера и ватообразные очаги – это результат окклюзии препапиллярных артериол с развитием микрососудистого инфаркта слоя нервных волокон сетчатки.

**Цель.** Оценить изменения на сетчатке при остром панкреатите.

**Материал и методы исследования.** Представлен клинический случай развития ретинопатии Пурчера у молодой женщины на фоне острого панкреатита с характерными биохимическими нарушениями крови. Комплексное офтальмологическое обследование включало стандартное обследование со сбором жалоб и анамнеза заболевания, визометрию, фоторегистрацию глазного дна на ретинальной фундус-камере, ОКТ с использованием оптического когерентного томографа «SOCT Corneicus». На томограммах оценивали состояние сетчатки.

**Результаты и их обсуждение.** Пациентка С., 23 года, поступила в реанимационное отделение УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» с диагнозом К86.1 Хронический рецидивирующий панкреатит, обострение. В биохимическом анализе отмечается значительное повышение ферментов и глюкозы, характерное для острого панкреатита: амилаза 353 Ед/л, липаза 1521 Ед/л, глюкоза 8,0 ммоль/л, аспаратаминотрансфераза 76 Ед/л, аланинаминотрансфераза 32 Ед/л. В дальнейшем отмечалось повышение амилазы до 2945 Ед/л. Другие показатели в пределах нормальных значений. В общем анализе крови: лейкоциты 14,8 x 10<sup>9</sup>/л, эритроциты 4,14 x 10<sup>12</sup>/л, гемоглобин 125 г/л, тромбоциты 488 x 10<sup>9</sup>/л, лимфоциты 18%, моноциты 8%, СОЭ 35 мм/ч. В анамнезе у пациентки имеется миопия слабой степени, по поводу которой использует очковую и контактную коррекцию. Через 2 часа с момента

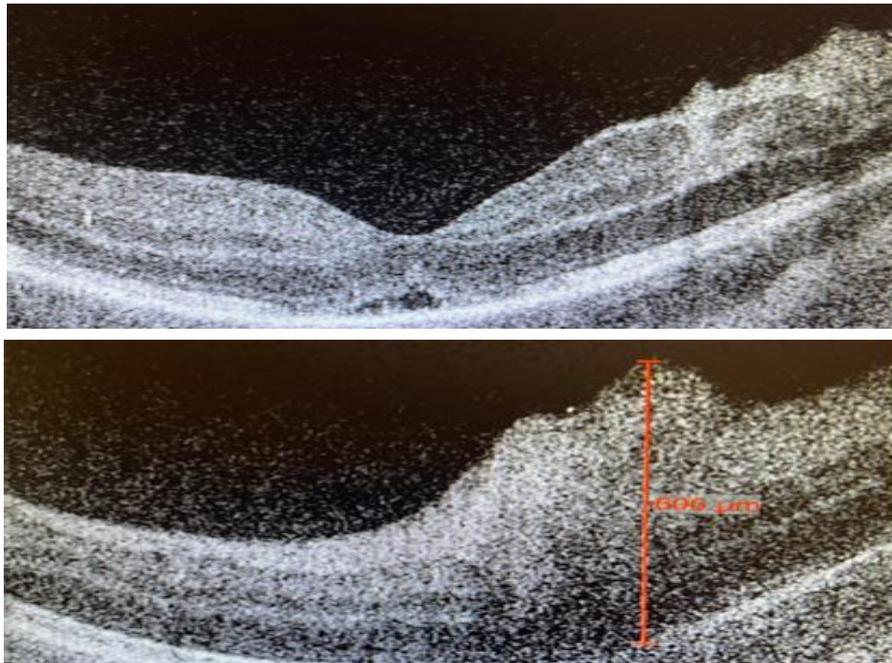
поступления в стационар появились жалобы на ухудшение зрения обоих глаз. Пациентка осмотрена офтальмологом стационара, была выявлена ретинопатия обоих глаз. Доставлена на консультацию в УЗ «Гродненская университетская клиника». В процессе обследования: коррегированная острота зрения обоих глаз 0,3. Пневмотонометрия 18/19. Биомикроскопия: глаза спокойные, оптические среды прозрачные. Произведена фоторегистрация глазного дна, выявлена патология сетчатки и зрительного нерва. На глазном дне обоих глаз определяются: ДЗН – бледно-розовые, границы несколько ступеваны, сосудистая воронка без изменений. Вены расширены, полнокровны. Артерии обычного калибра. В макулярной и парамаккулярной зонах, перипапиллярно обширные зоны ишемии, масса белых ватообразных ретинальных экссудатов. По ходу верхне-височной аркады имеются геморрагии. Макулярный рефлекс сглажен за счет отека (рис. 1).



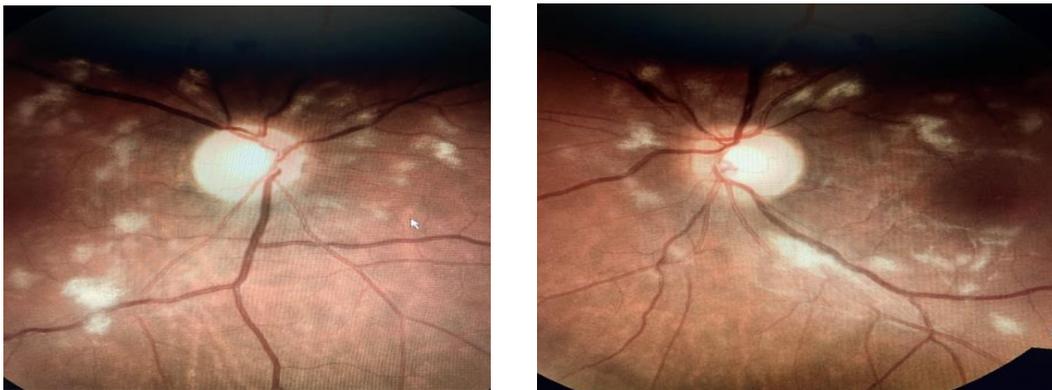
**Рисунок 1. – Глазное дно правого и левого глаза пациентки при поступлении в стационар**

На основании данных фоторегистрации картины глазного дна выставлен офтальмологический диагноз Ретинопатия Пурчера на фоне острого панкреатита. Дополнительно для подтверждения клинического диагноза выполнена оптическая когерентная томография сетчатки обоих глаз (рис. 2). По результатам оптической когерентной томографии сетчатки выявлено утолщение слоев сетчатки, локальная отслойка нейрорепителия в обоих глазах.

К лечению основного заболевания добавлены парабульбарные инъекции глюкокортикоидов, инфузионной терапии с антиоксидантами, сосудистыми и нейропротекторными препаратами. На фоне проводимой терапии через 7 дней отмечалась положительная динамика с повышением корригируемой остроты зрения до 0,5/0,7. Количество очагов и их интенсивность значительно уменьшились (рис. 3). Рекомендовано продолжить проводимую терапию.



**Рисунок 2. – На томограммах в обоих глазах утолщение слоев сетчатки, локальная отслойка нейроэпителия**



**Рисунок 3. – Глазное дно правого и левого глаза пациентки на фоне проводимой терапии через 7 дней**

**Выводы.** При двустороннем и безболезненном процессе, сопровождающимся резким снижением зрения у пациентов с острым панкреатитом, необходимо помнить о возможном развитии ретинопатии Пурчера. Данное состояние является достаточно редким, поэтому необходимо напомнить практическим докторам, что появление ватообразных очагов на сетчатке и вокруг диска зрительного нерва требует неотложных мероприятий и назначения терапии в ранние сроки с целью сохранения зрительных функций пациента.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Miguel, A. Purtscher and Purtscher-Like retinopathies: What do we know? / A. Miguel // Insights in Ophthalmology. – 2017. – Vol. 113, N 1. – P. 1-4.

2. Systematic review of Purtscher's and Purtscher-Like retinopathies / A. I. M. Miguel, [et al] // Eye (Lond). – 2013. – Vol. 27, N 1. – P. 1-13. doi:10.1038/уну.2012.222.

## КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ДЕТЕЙ С КОВИДНЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ

Сорокопыт З.В.,<sup>1</sup> Рачковская И.Е.<sup>2</sup>, Сергеюк Э.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>УО «Гродненский государственный медицинский университет»,

<sup>2</sup>УЗ «Гродненская областная детская клиническая больница»,

г. Гродно, Республика Беларусь

**Актуальность.** Основными клиническими симптомами при инфекциях, ассоциированных с COVID-19, являются лихорадка (41,5-60%) и кашель (38-65%). Слабость, миалгии, боль в горле, заложенность носа, гиперемия ротоглотки встречаются гораздо реже. У детей чаще, чем у взрослых, наблюдаются желудочно-кишечные симптомы: боли и дискомфорт в животе, тошнота, рвота, диарея [1-4]. Лихорадка, как правило, непродолжительная, в большинстве случаев не более 3-х дней [1]. Более 94% больных детей имеют асимптоматическое, легкое или среднетяжелое течение болезни. У большинства из них хороший прогноз, выздоровление наступает в течение 1-2 недель [1-4]. При присоединении поражения легких и развитии пневмонии наблюдается усиление кашля, одышка, цианоз, гипоксемия, снижение сатурации. Плевральный выпот встречается редко. В части случаев обращает на себя внимание обнаружение рентгенологических признаков пневмонии при отсутствии симптомов инфекции [1, 2, 4]. Потребность в интенсивной терапии и искусственной вентиляции легких возникает чаще у подростков и детей с тяжелой сопутствующей патологией [2].

Рентгенография грудной клетки малоинформативна [1-3]. Всем пациентам с подозрением или установленным диагнозом коронавирусной инфекции необходимо как можно раньше провести КТ грудной клетки, при котором выявляют моно- или билатеральные, моно- или мультифокальные, периферические, чаще субплевральные, характерные изменения легочной ткани в виде «матового стекла» или «часовых стекол», без признаков плеврального выпота и внутригрудной лимфаденопатии. Изменения на КТ у детей менее выражены, чем у взрослых, но могут сохраняться длительно даже при получении двух отрицательных тестов ПЦР на SARS-CoV-2 [1-4]. Ключевым методом диагностики является идентификация возбудителя в средах организма [1, 3].

**Цель:** анализ клинических и лабораторно-инструментальных показателей у пациентов детского возраста с пневмониями, ассоциированными с COVID-19.

**Материалы и методы исследования.** Работа проводилась на базе пульмонологического отделения Гродненской областной детской клинической больницы путем ретроспективного анализа 90 карт (ф. 003у–07) пациентов детского возраста от 12 до 16 лет. Критерием включения в исследование была

верифицированная с помощью компьютерной томографии пневмония. Всем детям было проведено клиническое и лабораторное обследование согласно клиническим протоколам. Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью пакета прикладных программ «STATISTICA 10.0». Распределение большинства величин отличалось от нормального, данные представлены в виде Me (25%; 75%). Статистический анализ выполнен с использованием теста Краскела-Уоллиса. Критическим уровнем статистической значимости считали  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Всем пациентам была подтверждена этиологии заболевания (коронавирусная инфекция COVID-19) методом полимеразной цепной реакции назофарингеального мазка (ПЦР НФМ). В зависимости от уровня поражения легких они были распределены в две репрезентативные группы: первую (I) составили 54 (60%) ребенка с интерстициальным, вторую (II) – 36 (20%) – с сегментарным процессом в легких. Детей из Гродно было незначительно больше, чем из районов Гродненской области – 47 (52%) и 43 (48%),  $p > 0,05$ . Заболевшие мальчики госпитализировались чаще – 62 (70%), чем девочки – 28 (30%),  $p < 0,05$  с аналогичным распределением в группах. Пациенты обеих групп были сопоставимы по возрасту. Полученные результаты согласуются с литературными данными о возрастной структуре госпитализированных пациентов.

При анализе объема поражения легких установлено, что в абсолютном большинстве – 30 (83%) из 36 изучаемых случаев заболевания II группы диагностировалась полисегментарная пневмония: двусторонняя у 15, правосторонняя у 9 и левосторонняя у 12 детей. У 54 пациентов с интерстициальными изменениями (I группа) на КТ легких описаны изменения по типу «матового стекла» и «дерева в почках».

Из лабораторных показателей при COVID-19-ассоциированных пневмониях исследователи обращают внимание на повышение числа нейтрофилов, рост лактатдегидрогеназы (ЛДГ), ферритина, С-реактивного белка и D-димера. Мы сравнили некоторые лабораторные показатели (общий и биохимический анализ крови) у пациентов анализируемых групп. Полученные данные представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Биохимические показатели крови у пациентов анализируемых групп

Биохимические показатели	I группа n=54	II группа n=36	p
СРБ IU/ml	6,9 (3,4; 21,9)	18,7 (5,1; 69,6)	$p < 0,05$
Фибриноген г/л	4,22 (3,21; 5,78)	4,89 (3,55; 7,6)	$p > 0,05$
Прокальцитонин нг/мл	0,1 (0,05; 1,58)	0,06 (0,05; 0,18)	$p > 0,05$
D-димер нг/мл	425,14 (174,4; 850,7)	261,0 (103,77; 502,5)	$p < 0,05$

Заболевание во всех анализируемых случаях протекало с положительной клинической, лабораторной и рентгенологической динамикой и закончилось выздоровлением. Мы сравнили некоторые показатели гемограммы у детей обеих групп и выявили достоверное снижение лейкоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов и СОЭ (таблица 2).

Таблица 2 – Показатели гемограммы у пациентов анализируемых групп в динамике

Показатели гемограммы	1 исследование		2 исследование		P
	I группа n=54	II группа n=36	I группа n=54	II группа n=36	
Лейкоциты	8,6 (5,91; 17,5)	10,9 (4,3;11,6)	6,2 (5,4; 8,0)	6,9 (5,5; 11,1)	<0,05
Тромбоциты ×10 <sup>9</sup> /л	234,4 (154,7; 435,6)	249,7 (145,7; 339,3)	303,1 (178,2; 435,6)	286,4 (191,7; 427,6)	>0,05
Палочкоядерные нейтрофилы %	4,5 (2,5; 14,0)	3,0 (3,0; 5,0)	1,0 (1,0; 1,0)	1,0 (1,0; 1,0)	<0,05
Сегментоядерные нейтрофилы %	53,5 (38,5; 65,5)	52,0 (48,0; 62,0)	40,0 (27,0; 48,0)	36,0 (31,0; 41,0)	<0,05
СОЭ мм/час	20,5 (8,5; 35,5)	19,0 (5,0; 31,0)	10,3 (7,0; 20,0)	11,5 (8,0; 20,0)	<0,05

Количество тромбоцитов было снижено лишь у 15 (17%) пациентов: 10 из II и 5 из I группы. В процессе наблюдения количество тромбоцитов менялось как в сторону повышения, так и снижения. Эти изменения согласуются с литературными данными: значительная тромбоцитопения, имеющая место при ковидных пневмониях у взрослых, не типична для детского возраста. Также статистически значимые позитивные различия установлены в процессе наблюдения с уровнем СРБ: I группа (28,7 (5,1; 69,6)) и 1,75 (0,5; 11,93)), p<0,05 и II группа (12,5 (2,2; 46,1) и 4,33 (1,2; 9,1)), p<0,05.

#### **Выводы.**

1. Среди госпитализированных пациентов имели место гендерные различия с преобладанием лиц мужского пола – 62 (70%) над женским – 28 (30%), p <0,05 с аналогичным распределением в группах.

2. В абсолютном большинстве – 30 (83%) из 36 изучаемых случаев заболевания II группы диагностировалась полисегментарная пневмония: двусторонняя у 15, правосторонняя у 9 и левосторонняя у 12 детей.

3. У детей с интерстициальной пневмонией на РКТ легких изменения были по типу «матового стекла» и «дерева в почках».

4. У пациентов с интерстициальным поражением легких были выше показатели СРБ и D-димера.

5. Заболевание во всех анализируемых случаях протекало с положительной клинической, лабораторной и рентгенологической динамикой и закончилось выздоровлением.

6. Статистически значимые различия на протяжении наблюдения установлены по количеству СРБ, лейкоцитов и СОЭ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Мазанкова, Л. Н. Течение коронавирусной пневмонии у подростка из очага инфекции / Л. Н. Мазанкова [и др.] // *Детские инфекции*. – 2020. – № 19 (3). – С. 68-72.
2. Brodin, P. Why is COVID-19 so mild in children? / P. Brodin // *Acta Paediatrica*. – 2020. – N. 109 (6). – P. 1082-1083.
3. Lu, X. SARS-CoV-2 Infection in Children / X. Lu [et al.] // *N. Engl. J. Med.* [Internet]. – 2020. – DOI: 10.1056/NEJMc2005073.
4. Tagarro, A. Screening and severity of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in children in Madrid, Spain / A. Tagarro [et al.] // *JAMA pediatrics*. – 2020. – DOI: 10.1001 / Jamapediatrics. – 2020. 1346.

## ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРЕДИКТОРЫ РЕЦИДИВА У ПАЦИЕНТОВ С АДЕНОКАРЦИНОМОЙ ЛЕГКОГО (I-II СТАДИИ)

Таганович А.Д.<sup>1</sup>, Ковганко Н.Н.<sup>1</sup>, Колб А.В.<sup>1</sup>, Принькова Т.Ю.<sup>1</sup>,  
Хотько Е.А.<sup>1</sup>, Готько О.В.<sup>2</sup>, Царик А.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск;

<sup>2</sup>ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»,  
аг. Лесной, Минская область, Республика Беларусь

Рак легкого является ведущей причиной в структуре смертности от онкологических заболеваний у мужчин [1]. У женщин он занимает второе место. В большинстве случаев (80%-85%) это немелкоклеточный рак легкого (НМКРЛ), который на основании гистологического исследования чаще всего является аденокарциномой (АК) (половина всех случаев первично диагностированного рака легкого) [2].

Даже на ранних стадиях 5-летний барьер выживаемости преодолевают только 60-70% пациентов с I стадией НМКРЛ и 35-40% - со II стадией (по классификации TNM). Основой лечения таких пациентов (стадии I-IIIa) служит анатомическая резекция опухоли в ходе хирургического вмешательства. Пациентам как правило, выполняется операция в объеме R0, что предполагает полное удаление опухолевой ткани. Тем не менее, в ходе послеоперационного наблюдения у 20% пациентов даже при I стадии диагностируется рецидив [3]. Он обусловлен наличием скрытых метастазов или оставшихся опухолевых клеток после резекции.

Алгоритм мониторинга пациентов с НМКРЛ включает проведение врачебного осмотра каждые 3 месяца в течение первых двух лет после операции [4]. Согласно ему, в случае удовлетворительного самочувствия пациента компьютерная томография (КТ) проводится через 6 месяцев и через год после проведенного лечения. По сути, это сроки выявления раннего рецидива.

Между тем, рецидив может сформироваться и до 6 месяцев или в период 6 месяцев – 1 год после операции. То есть, имеется необходимость поиска предикторов, способных служить важным дополнением проводимого

мониторинга, чтобы выявлять или предсказывать рецидив опухоли у каждого конкретного пациента после оперативного лечения как можно раньше.

Проведенные нами ранее исследования позволили предложить 3 показателя в крови, измеряя дооперационный уровень которых возможно прогнозировать высокую или низкую безрецидивную выживаемость пациентов с немелкоклеточным раком легкого [5]. В их число вошли фрагмент 19 цитокератина CYFRA 21-1, плотность расположения рецептора CXCR1 на гранулоцитах (CXCR1, MFI, гранулоциты) и доля лимфоцитов в общей популяции этих клеток в крови, снабженных рецептором CXCR2 (CXCR2, %, лимфоциты). Лигандами для этих рецепторов являются цитокины, которые принимают участие в формировании опухоли. Было показано, что комбинированное их определение в составе сформированного регрессионного уравнения имеет преимущество в качестве прогностического фактора по сравнению с каждым из показателей в отдельности. Эти находки послужили основанием для изучения вышеназванных показателей для мониторинга рецидива опухоли в течение 1 года после хирургического лечения.

**Целью** настоящей работы явилось изучить возможность использования до- и послеоперационного уровня CYFRA 21-1, интенсивности флуоресценции (MFI) рецептора CXCR1 в гранулоцитах (CXCR1, MFI, гранулоциты); доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, в общей популяции лимфоцитов крови, (CXCR2, %, лимфоциты), а также их комбинированной модели для предсказания рецидива после резекции опухоли у пациентов с I-II стадиями АК.

**Материалы и методы.** В исследовании участвовало 28 пациентов (19 мужчин и 9 женщин) с впервые диагностированной аденокарциномой легкого I -11 и 17 - II стадии. У всех была проведена хирургическая резекция опухоли (объем оперативного вмешательства – R0). Уровень показателей измеряли до начала лечения и через 3 недели, 3 и 6 месяцев после операции соответственно на автоматическом анализаторе (CYFRA 21-1) и проточном цитометре (рецепторы).

**Результаты и обсуждение.** Уровень всех определяемых показателей, будучи повышенным до операции, через 3 недели после операции резко снижается. Данные, полученные в ходе мониторинга уровня определяемых показателей, показывают, что у всех пациентов с отсутствием рецидива медианы значений через 3 и 6 месяцев после лечения существенно не изменяются по сравнению с уровнем через 3 недели. В то же время, у всех пациентов с развившимся рецидивом уровень анализируемых показателей через 3 и 6 месяцев после проведенного лечения увеличивался. Разница через 6 месяцев по сравнению с уровнем показателя через 3 месяца и через 3 месяца по сравнению с уровнем показателя через 3 недели статистически достоверна. По мере увеличения срока наблюдения, уровень показателей увеличивается, при этом чем выше вероятность развития рецидива, тем выше рост. Примечательно, что это увеличение предшествует обнаружению рецидива с помощью компьютерной томографии.

Проведение ROC-анализа, построение графиков Каплана-Майера, моделей пропорциональных рисков Кокса показали, что по результатам

измерения разницы уровня всех определяемых показателей в период 3 недели - 3 месяца, 3 - 6 месяцев, 3 недели - 6 месяцев после операции и последующего ее использования для расчета регрессионного уравнения комбинированной модели можно использовать для прогнозирования вероятности рецидива.

Совокупность полученных данных позволяет прийти к следующему заключению:

1. Уровень CYFRA 21-1, CXCR1, MFI в гранулоцитах и CXCR2, % в лимфоцитах крови имеют высокую информативность в определении вероятности послеоперационного рецидива с ДЭ от 66,3% до 76,9%.

2. Вероятность рецидива по результатам измерения разницы уровня показателей через 3 недели и через 3 месяца, через 3 и 6 месяцев после операции и последующего расчета регрессионного уравнения комбинированной модели позволяет предсказать с ДЭ 80,5% (ДЧ – 83,2%, ДС – 77,5% при ПЗ 0,047) и 83,4% соответственно (ДЧ – 82,6%, ДС 89,3% при ПЗ 0,096).

3. ДЭ использования комбинированной модели для разницы уровня CYFRA 21-1, CXCR1, MFI в гранулоцитах, CXCR2, % в лимфоцитах крови пациента, измеренного через 3 недели и через 6 месяцев после резекции опухоли, составляет 88,3% (ДЧ – 89,2%, ДС - 87,5% при ПЗ 0,141). Это значит, что если результат больше 0,141, то в 84,9% случаев у пациента действительно высокая вероятность рецидива опухоли, в то время как при значении уравнения  $\leq 0,141$  у 91,7% пациентов будет правильно предсказано отсутствие рецидива.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Рак в Беларуси: цифры и факты. Анализ данных Белорусского канцер-регистра за 2011—2020 гг. А. Е. Океанов [и др.] / под редакцией С. Л. Полякова. - Минск: Национальная библиотека Беларуси; 2022. - 442 с.

2. Clark, S.B. Non Small Cell Lung Cancer. 2020 / S.B. Clark, S. Alsubait/ - StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.

3. Persistently high serum carcinoembryonic antigen levels after surgery indicate poor prognosis in patients with stage I non-small-cell lung cancer. / C. Y. Wang, M.S. [et al] //J Surg Res. 2010. – Vol. 163, № 2. – P. e45-50.

4. Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований. Клинический протокол (под ред. О. Г. Суконко, С. А. Красного). – Минск: «Профессиональные издания», 2019. – 613 с.

5. Прогнозирование риска опухолевой прогрессии у пациентов с ранними стадиями аденокарциномы и плоскоклеточного рака лёгкого на основе лабораторных показателей / А. Д. Таганович, [и соавт.] //Биомедицинская химия. - 2021. – Т. 67, Вып. 6. – С. 507-517.

# ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫЕ МАРКЕРЫ В ДООПЕРАЦИОННОЙ ОЦЕНКЕ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО I-IIIВ СТАДИЙ

Таганович А.Д.<sup>1</sup>, Ковганко Н.Н.<sup>1</sup>, Турута Я.Д.<sup>1</sup>, Струневский В.А.<sup>1</sup>,  
Герасименко А.Г.<sup>1</sup>, Готько О.В.<sup>2</sup>, Царик А.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск;

<sup>2</sup>ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»,  
аг. Лесной, Минская область, Республика Беларусь

Аденокарцинома (АК) является основным подтипом немелкоклеточного рака легкого [1]. У большинства пациентов заболевание обнаруживается только в поздних стадиях, когда опухолевые проявления получают системное распространение и эффективность проводимого лечения невелика. Поэтому актуальной является проблема выявления АК на ранних стадиях, когда лечение чаще всего заключается в хирургическом удалении опухоли (I-II стадии) или сочетанном использовании хирургического лечения с химиотерапией (III-IIIВ стадии).

Для выявления заболевания в ранних стадиях, когда клиническая симптоматика еще отсутствует, самым приемлемым служит проведение скрининговых исследований. Многообещающим диагностическим инструментом служат циркулирующие опухолевые антигены и другие участники метаболизма опухолевых клеток [2]. К ним, в частности, относятся CYFRA 21-1 (фрагмент цитокератина 19), SCC (антиген плоскоклеточного рака), СЕА (раковый эмбриональный антиген), NSE (нейрон-специфическая енолаза) и ProGRP (прогастрин-высвобождающий пептид). При различных гистологических подтипах рака легкого их концентрация в окружающей опухоль ткани и в крови, по данным различных исследователей, зависит от выраженности заболевания и дескрипторов опухоли [3-5]. Следует отметить, что наблюдавшиеся изменения были установлены для поздних (III-IV) стадий. Сведения об однозначности изменения этих показателей при ранних (I-II) стадиях рака легкого, тем более – АК, отсутствовали.

Поэтому целью настоящего исследования была оценка уровня вышеперечисленных биомаркеров при АК и выяснение целесообразности использования выявленных отклонений от нормы в диагностике этого заболевания.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования служила кровь 93 (70 мужчин и 23 женщины) пациентов с АК I-IIIВ стадий при поступлении их в ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» в период 2021-2022 гг. Средний возраст пациентов составил 57±21 лет. В качестве группы сравнения обследовано 25 человек без проявлений заболевания в возрасте 53 ±17 лет. Определение концентрации CYFRA 21-1, SCC, СЕА, NSE и ProGRP в сыворотке крови осуществляли методом иммунохемилюминесцентного анализа (ИХЛА) с помощью наборов реагентов на ИХЛА-анализаторе Cobas e411 (Roche Diagnostics, США).

**Результаты.** Наиболее информативным был уровень CYFRA 21-1, который демонстрировал рост при множественном сравнении здоровых людей и пациентов с I,II и III стадиями (табл. 1). Значения остальных онкомаркеров или не изменялись по сравнению со здоровыми людьми (SCC, CEA), или же демонстрировали рост, но только на III стадии АК (NSE, ProGRP).

Таблица 1 – Уровень маркеров у здоровых людей и пациентов с АК

Показатель	Здоровые	I и II стадии	IIIА и IIIВ стадии
CYFRA, нг/мл	1,49 [1,23; 2,09]	2,49 [1,66; 2,89] <sup>1</sup>	3,54 [2,58; 7,82] <sup>1,2</sup>
SCC, нг/мл	1,24 [0,86; 1,61]	1,29 [0,88; 1,82]	1,95 [1,87; 1,92]
CEA, нг/мл	2,48 [1,41; 3,50]	2,73 [1,55; 4,97]	2,45 [2,06; 4,39]
NSE, нг/мл	11,19 [9,00; 13,56]	13,39 [11,88; 18,14]	16,87 [16,04; 22,74] <sup>1</sup>
ProGRP, пг/мл	31,56 [24,43; 39,28]	40,93 [29,64; 56,05] <sup>1</sup>	47,41 [29,14; 73,25] <sup>1</sup>

Примечание: здесь и далее 1 - статистическая значимость различий по сравнению со здоровыми людьми; 2 - статистическая значимость различий между группами пациентов.

У пациентов с размером опухоли более 5 см (Т3,4) по сравнению с пациентами с меньшим размером опухоли (Т1,2) только уровень CYFRA 21-1 и NSE продемонстрировал существенную разницу (табл. 2). Вместе с тем, для NSE отсутствовала разница его у пациентов с Т 1,2 по сравнению со здоровыми людьми.

У пациентов с АК и наличием регионарных метастазов лишь концентрация CYFRA 21-1 была достоверно выше, чем у пациентов без метастазов. Концентрация NSE в сыворотке крови пациентов с АК и наличием регионарных метастазов отличалась аналогичным образом от пациентов без метастазов. При этом, разница у пациентов без метастазов и здоровых людей не наблюдалась.

Концентрация SCC и CEA в сыворотке крови пациентов с АК не отличалась ни в зависимости от распространенности опухолевого процесса, ни от здоровых людей. Уровень ProGRP статистически достоверно был выше у пациентов с АК по сравнению со здоровыми людьми, но не отличался в зависимости от размера опухоли и наличия/отсутствия регионарных метастазов.

Только концентрация CYFRA 21-1 была существенно более высокой у пациентов с низкой степенью дифференцировки опухолевых клеток (Grade 3), чем с высокой степенью дифференцировки (Grade 1-2). Этот показатель является наиболее перспективным для определения его в скрининговых исследованиях.

Таблица 2 – Уровень маркеров у пациентов с АК в зависимости от размера опухоли, регионарных метастазов и степени дифференцировка опухолевых клеток

Уровень маркеров в зависимости от размера опухоли (T)		
Показатель	T1,2 (до 5 см)	T3,4 (5 см и более)
CYFRA, нг/мл	2,51 [1,80; 2,96] <sup>1</sup>	4,51 [2,30; 9,38] <sup>1,2</sup>
SCC, нг/мл	1,28 [0,88; 1,83]	0,99 [0,88; 1,79]
CEA, нг/мл	2,45 [1,54; 4,65]	4,13 [2,56; 7,33]
NSE, нг/мл	13,48 [11,87; 17,00]	19,54 [16,97; 29,04] <sup>1,2</sup>
ProGRP, пг/мл	41,16 [27,72; 56,68] <sup>1</sup>	41,75 [29,58; 67,61] <sup>1</sup>
Уровень маркеров в зависимости от наличия регионарных метастазов (N)		
Показатель	N0 (нет)	N1,2 (есть)
CYFRA, нг/мл	2,42 [1,59; 3,08] <sup>1</sup>	4,82 [2,36; 8,56] <sup>1,2</sup>
SCC, нг/мл	1,17 [0,87; 1,61]	1,21 [0,88; 1,92]
CEA, нг/мл	2,67 [1,48; 4,66]	2,85 [2,19; 5,32]
NSE, нг/мл	13,39 [11,88; 17,62]	16,87 [13,59; 20,67] <sup>1,2</sup>
ProGRP, пг/мл	43,21 [32,37; 53,23] <sup>1</sup>	40,19 [28,52; 60,37] <sup>1</sup>
Уровень маркеров в зависимости от дифференцировки клеток опухоли (Grade)		
Показатель	Grade 1,2	Grade 3
CYFRA, нг/мл	2,51 [1,54; 3,38] <sup>1</sup>	4,75 [2,36; 8,08] <sup>1,2</sup>
SCC, нг/мл	0,99 [0,87; 1,36]	1,41 [1,01; 2,12]
CEA, нг/мл	2,39 [1,56; 4,63]	3,12 [2,28; 6,01]
NSE, нг/мл	13,48 [11,95; 17,58]	16,07 [12,65; 19,17]
ProGRP, пг/мл	40,70 [30,28; 48,22] <sup>1</sup>	41,25 [27,51; 60,63] <sup>1</sup>

### Выводы:

1. Выраженность увеличения концентрации CYFRA 21-1 в сыворотке крови пациентов с I-III стадиями АК усиливается по мере роста опухоли, появления регионарных метастазов и снижения степени дифференцировки клеток опухоли.

2. Уровень онкомаркеров SCC, NSE, CEA и ProGRP не имеет четких отличий у пациентов с I-III стадиями АК, равно как и зависимости от степени дифференцировки опухолевых клеток.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 / J. Ferlay, [et.al] // Int. J. Cancer. 2015. – Vol. 136, № 5. – E359-386.

2. Usefulness of serum tumor markers, including progastrin-releasing peptide, in patients with lung cancer: correlation with histology / R. Molina, [et.al] // Tumour

Biol. – 2009. – Vol. 30, N 3. – P. 121-129. doi: 10.1159/000224628. Epub 2009 Jun 9.

3. Greenberg, A.K. Biomarkers for lung cancer: clinical uses / A. K. Greenberg, M. S. Lee // Curr. Opin. Pulm. Med. - 2007. – Vol. 13. – P. 249-255.

4. Рыков, И. В. Значение циркулирующих опухолевых маркеров при раке легкого в клинической практике / И. В. Рыков // Злокачеств. опух. 2020. – Т.10, № 2. – С. 31-35.

5. The value of combined detection of CEA, CYFRA21-1, SCC-Ag, and pro-GRP in the differential diagnosis of lung cancer./ J. Li, [et al] //Transl. Cancer Res. - 2021. – Vol 10, № 4. – P. 1900-1906.

### **ПРОГНОЗИРОВАНИЕ БЕЗРЕЦИДИВНОЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ ПАЦИЕНТОВ С ОПЕРАБЕЛЬНЫМИ IIIА И IIIВ СТАДИЯМИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО**

**Таганович А.Д.<sup>1</sup>, Ковганко Н.Н.<sup>1</sup>, Броницкий С.К.<sup>1</sup>, Шумельчик В.В.<sup>1</sup>, Готько О.В.<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>УО «Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск;

<sup>2</sup>ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н.Александрова», аг. Лесной, Минская область, Республика Беларусь

Высокая смертность от рака легкого обусловлена его выявлением у пациента на поздних стадиях [1]. В структуре заболеваемости раком легкого немелкоклеточному раку легкого (НМКРЛ) принадлежит около 80%. При этом около третьей части всех первично выявленных случаев НМКРЛ приходится на пациентов с III стадией [2,3]. К данной стадии НМКРЛ относится 11 вариантов опухоли, которые различаются своим размером (T1-4), наличием инвазии в окружающие структуры средостения, характером поражения медиастинальных лимфоузлов (N0-3) и отсутствием отдаленных метастазов (M0).

Многообразие вариантов опухоли предполагает разные показания для лечения. При отсутствии метастазов в контрлатеральном легком (стадии IIIА и IIIВ) пациентам проводится хирургическое удаление опухоли. Помимо оперативного вмешательства лечение дополняют проведением неоадьювантной и/или адьювантной химиотерапии, причем последняя может сочетаться с радиотерапией [4].

Хирургическое удаление опухоли является наиболее эффективным способом лечения рака. Однако и после проведенного хирургического лечения у части пациентов может развиваться рецидив. Наибольшая вероятность рецидива возникает в первый год после проведенного лечения. Прогнозирование рецидива представляет собой актуальную задачу, поскольку позволяет повысить выживаемость пациентов после удаления опухоли. Для этого используют как характеристики опухоли (T,N,M и Grade) до начала лечения, так и индивидуальные параметры пациента: возраст, пол, статус

курения и др. [2-4]. Другим направлением в прогнозировании рецидива является поиск биохимических и молекулярно-генетических предикторов [1].

Ранее нами установлено, что комплексное использование концентрации онкомаркера CYFRA 21-1 в сыворотке крови в сочетании с содержанием биомаркеров воспалительного процесса – рецепторов хемокинов CXCR1,2 в клетках крови, имеют диагностическое значение для пациентов с НМКРЛ. Показано, что существует связь этих показателей с характеристиками опухолевого процесса, установлена диагностическая эффективность их определения при этом заболевании, которая в ряде случаев превысила таковую для классических маркеров [5].

**Целью** настоящего исследования было определить возможность использования уровня указанных выше биомаркеров в прогнозе рецидива НМКРЛ у пациентов с операбельными IIIA и IIIB стадиями этого заболевания.

**Материалы и методы.** Для обоснования групп риска рецидива опухоли у пациентов с IIIA и IIIB стадиями НМКРЛ вначале было предпринято ретроспективное исследование, в котором использовалась информация из базы данных Белорусского канцер-регистра. У 1187 пациентов (ретроспективная группа), у которых в период с 01.01.2015 по 31.12.2019 впервые был диагностирован НМКРЛ IIIA и IIIB стадии, анализировалась длительность безрецидивного периода после проведенного лечения по результатам наблюдения в течение одного года. Средний возраст пациентов составил  $63 \pm 23$  года. Исследование уровня специфических маркеров, хемокинов и их рецепторов проводили у 89 пациентов (исследуемая группа), поступивших в стационар ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова» в период с 01.01.2020 по 31.12.2021 гг., у которых впервые диагностирован НМКРЛ III стадии. Средний возраст пациентов составил  $58 \pm 23,5$  лет.

Кровь из локтевой вены собирали натощак в вакутайнер с ЭДТА-К2. Определение концентрации антигена CYFRA 21-1 (фрагмента цитокератина-19), концентрации биомаркера плоскоклеточного рака SCC (подфракция ингибитора сериновой протеазы TA-4) в сыворотке крови проводили на автоматическом анализаторе Cobas e411 (Roche Diagnostics GmbH, Германия), использующем принцип электрохемилюминесценции. Концентрацию рецепторов CXCR1 и CXCR2 в клетках лейкоцитарного ряда и плотность их расположения в мембране клетки определяли, используя проточный цитофлуориметр Navios (Beckman Coulter, США).

**Результаты.** По данным ретроспективного анализа на основе графического метода Каплана-Майера определены группы низкого (T1N2M0, T3N1M0, T2N2M0, T4N0M0, T3N2M0) и высокого (T1N3M0, T2N3M0, T3N3M0, T4N1M0, T4N2M0, T4N3M0) риска рецидива опухоли. У пациентов исследуемой группы с высоким риском по сравнению с низким больше был уровень CYFRA 21-1, относительное содержание рецептора CXCR1 в лимфоцитах и относительное содержание рецептора CXCR2 в моноцитах ( $p < 0,05$ ). Определение диагностических характеристик указанных показателей

выявило недостаточно высокий уровень их интегральной диагностической эффективности (табл. 1).

На следующем этапе исследования проводился логистический регрессионный анализ значений каждого из вышеназванных показателей. По результатам построено уравнение, расчет которого позволяет прогнозировать риск рецидива опухоли (1):

$$Y = \frac{\exp(-4,506 + 0,135 * X1 + 1,259 * X2 + 0,178 * X3)}{1 + \exp(-4,506 + 0,135 * X1 + 1,259 * X2 + 0,178 * X3)} \quad (1),$$

где X1 – содержание антигена CYFRA 21-1 в сыворотке крови; X2 – доля лимфоцитов, экспрессирующих рецептор CXCR1 (%); X3 – доля моноцитов, экспрессирующих рецептор CXCR2 (%); Y – результат регрессионного уравнения.

Диагностическая эффективность прогноза вероятности риска рецидива после проведенного лечения при использовании логистического уравнения значительно увеличилась - до 82,0%. При этом чувствительность составила 80,9%, специфичность – 83,3%. Как видно, все эти показатели оказались гораздо выше, чем при использовании каждого из них с аналогичной прогностической целью в отдельности (табл. 1).

Таблица 1. Диагностические характеристики показателей пациентов для индивидуализации риска возникновения рецидива опухоли после проведенного лечения

Параметр	ПЗ	ДЧ	ДС	ПЦПР	ПЦОР	ДЭ
CYFRA 21-1, нг/мл	>4,83	78,7	64,3	71,2	73,0	71,9
CXCR1 лимфоциты, %	>2,12	74,5	71,4	74,5	71,4	73,0
CXCR2 моноциты, %	>2,0	68,1	73,8	74,4	67,4	70,8
Комбинация (Y)	>0,519	80,9	83,3	84,4	79,6	82,0

Примечание: ПЗ – пороговое значение, ДЧ - диагностическая чувствительность, ДС - диагностическая специфичность, ПЦПР – прогностическая ценность положительного результата, ПЦОР – прогностическая ценность отрицательного результата, ДЭ – диагностическая эффективность.

**Заключение.** Риск рецидива опухоли у пациентов с операбельными IIIA и IIIB стадиями НМКРЛ в течение года после проведенного лечения может быть определен на основании измерения перед началом лечения концентрации CYFRA 21-1 в сыворотке крови, а в цельной крови - лимфоцитов и моноцитов, снабженных рецепторами CXCR1 и CXCR2.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Siegel, R.L. Cancer statistics, 2019 / R.L. Siegel, K.D. Miller, A. Jemal // CA Cancer J. Clin. – 2019. – Vol. 69, № 1. – P. 7-34.

2. Blackstock, A.W. Definitive chemoradiation for the treatment of locally advanced non small-cell lung cancer / A.W. Blackstock, R. Govindan // J. Clin. Oncol. – 2007. – Vol. 25, № 26. – P. 4146-4152.

3. Govindan, R. Locally advanced non-small cell lung cancer: the past, present, and future / R. Govindan, J. Bogart, E.E. Vokes // J. Thorac. Oncol. – 2008. – Vol. 3, № 8. P. 917-928.

4. Рак легкого. - Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований. Клинический протокол под ред. Суконко О. Г., Красного С. А. – Минск, «Профессиональные издания». – 2019. – С. 197-213.

5. Прогнозирование риска опухолевой прогрессии у пациентов с ранними стадиями аденокарциномы и плоскоклеточного рака легкого на основе лабораторных показателей / А. Д. Таганович, [и соавт.] // Биомедицинская химия. – 2021. – Т.67, Вып.6. – С. 507-517.

## **ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

**Халецкая Д. А., Дубовик В.Ю.**

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

**Актуальность.** Аутоиммунные антитела формируются в организме в случае возникновения аутоиммунных нарушений, то есть патологических реакций собственной иммунной системы человека на собственные же компоненты тканей. Аутоантитела могут быть направлены против фрагментов молекулы ДНК, фосфолипидов и т. д.

Аутоиммунные заболевания развивается в тех случаях, когда в организме появляются антитела, которые способны взаимодействовать с собственными антигенами и тем самым вызывать гибель клетки и ткани несущие эти антигены. Возникший хронический процесс, приводит к тому, что отдельные клетки, ткани будут подвергаться долговременному повреждению.

В качестве аутоантигенов могут быть различные соединения нашего организма – белки, липиды, нуклеиновые кислоты, сахара, стероиды. Обнаружение и клиническое исследование в крови различных аутоантител имеет важное диагностическое значение для подтверждения аутоиммунных заболеваний, а также контролю за лечением и прогнозированию дальнейшего прогрессирования.

**Цель.** Проанализировать положительные результаты исследования крови на маркёры аутоиммунных заболеваний методом ИФА на анализаторе Maglumi для ранней диагностики аутоиммунных патологий и прогнозирования риска дальнейшей манифестации заболевания в отдалённом периоде, учитывая клинические проявления на момент обследования.

**Материалы и методы.** Были изучены статистические данные лабораторных исследований, выполненных методом ИФА на анализаторе

Maglumi за период с 2022 по 2023 год. В своей работе использовали информационные и аналитические методы.

**Результаты исследований.** По данным лаборатории учреждения здравоохранения «Гродненская областная детская клиническая больница» за данный период времени обследование на маркёры аутоиммунных патологий было проведено 89 пациентам. В качестве метода детекции в анализаторе MAGLUMI применяется прямая иммунохемилюминесценция с использованием парамагнитных частиц.

По результатам исследования: у 38 детей в возрасте от 5 до 17 лет были выявлены значительные отклонения от нормы. У 17 из них отмечалось повышение уровня анти-ds-DNA (N меньше 30), у 27 – повышение уровня ANA (N меньше 40), у 15 – повышение показателей anti-CCP (N меньше 17), и у 8 пациентов – повышение уровня ENA (N меньше 40).

Антитела к ядерным антигенам (ANA) – это гетерогенная группа аутоантител, направленных против компонентов собственных ядер. Они выявляются в крови пациентов с разнообразными аутоиммунными заболеваниями, такими как системные заболевания соединительной ткани, аутоиммунный панкреатит и первичный билиарный цирроз, а также с некоторыми злокачественными новообразованиями. Исследование ANA используется в качестве скрининга аутоиммунных заболеваний у пациента с клиническими признаками аутоиммунного процесса (длительная лихорадка неясного генеза, суставной синдром, кожные высыпания, слабость и др.). Следует отметить, что отрицательный результат исследования ANA не исключает наличия аутоиммунного заболевания. ANA выявляются у 3-5% здоровых людей.

Антитела к экстрагируемому ядерному антигену (ENA-скрин) – это гетерогенная группа аутоантител, взаимодействующих с различными белками, относящимися к рибонуклеопротеинам. При обследовании пациентов с ревматоидным артритом, системной красной волчанкой и другими системными заболеваниями соединительной ткани были обнаружены антитела к ядерным рибонуклеопротеинам, что впоследствии дало название всей группе антител. Затем удалось выявить антитела и к цитоплазматическим рибонуклеопротеинам, но название, однако, осталось прежнее. ENA-скрин – это исследование, позволяющее выявить в сыворотке крови какие-либо антитела к цитоплазматическим и ядерным антигенам. Антитела к экстрагируемому ядерному антигену являются клинико-лабораторным маркером различных системных заболеваний соединительной ткани и используются для их диагностики и контроля за их лечением.

Специфичность исследования ENA-скрина несколько уступает специфичности теста на антитела из группы ENA с помощью метода иммуноблота. Это имеет особое значение при обследовании пациентов с подозрением на СКВ и смешанное заболевание соединительной ткани. По этой причине при положительном результате ENA-скрина проводят дополнительный, подтверждающий анализ – иммуноблот.

Антитела, реактивные по отношению к ds-DNA (нативной двуцепочечной ДНК), распознает в основном, эпитопы в дезоксирибозном острове двойной спирали и, таким образом, взаимодействию как с двуцепочечной, так и одноцепочечной ДНК. Данные антитела обнаруживаются не только у пациентов с системной красной волчанкой (70-95%), но также ассоциированные с целым рядом других аутоиммунных заболеваний.

Антитела к циклическому цитрулиновому пептиду (anti-ccp) имеют высокую специфичность более 95% и чувствительность 80% для ревматоидного артрита. Многочисленные исследования показали, что существует тесная взаимосвязь между HLA-DR4 и положительным результатом anti-ccp. Цитрулиновые антигены присутствуют в воспаленной синовиальной оболочке. Anti-ccp антитела вырабатывается локально в синовиальной оболочке, а плазмциты, секретирующие эти антитела, выделяются от пациентов с ревматоидным артритом.

Рибосомальный белок Р специфичен для системной красной волчанки, антитела IgG к гистонам обнаруживаются в 30-70% случаев у пациентов с острой волчанкой и у 15-50% пациентов с ревматоидным артритом.

**Выводы.** Системные заболевания соединительной ткани – это группа различно протекающих заболеваний, которые характеризуются повреждением элементов соединительной ткани под действием хронических воспалительных процессов. Основа дифференциальной диагностики аутоиммунных заболеваний – клиническая симптоматика, однако часто, особенно в начальном периоде, она разнообразна и зачастую неспецифична. Таким образом, определение аутоантител является очень важной возможностью для распознавания системных заболеваний соединительной ткани на ранних этапах, необходимо для подтверждения диагноза или исключения заболевания.

При подозрении на системное заболевание соединительной ткани в качестве первичного исследования необходимо определить в сыворотке пациента наличие антиядерных антител класса IgG (или антинуклеарных антител, S-ANA IgG).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Мельников, В. Л. Аутоиммунные заболевания / В. Л. Мельников, Н. Н. Митрофанова. – М. : Медицина, 2015. – С. 29-35.
2. Москалев, А. В. Аутоиммунные заболевания, диагностика и лечение / А. В. Москалев, А. С. Рудой. – М. : Медицина, 2020. – С. 100-105.

## ПОИСК МАРКЕРОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РИСКА РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

Хотько Е.А., Таганович А.Д., Шабает Г.В., Кадушкин А.Г.

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»,*

*г. Минск, Республика Беларусь*

**Актуальность.** Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является глобальной проблемой общественного здравоохранения. Предыдущие исследования генетической ассоциации с развитием заболевания выявили несколько локусов в генах интерлейкинов, которые участвуют в патогенезе ХОБЛ. Однако вовлеченность ряда интерлейкинов в развитие патологического процесса обусловлена не только их избыточным или недостаточным синтезом, но и самими причинами, приводящими к аномальной экспрессии белков. Среди таких причин выделяют изменения в структуре генов тех молекул, которые отвечают за регуляцию транскрипции и наработку иРНК интерлейкинов. В частности, к таким молекулам относятся рецепторы стероидных гормонов, например, эстрогеновый рецептор  $\alpha$  (ESR- $\alpha$ ).

Ген эстрогенового рецептора 1 (ESR1) локализован в 6 хромосоме и имеет восемь экзонов. Ряд исследователей предполагают, что однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП) в области первого интрона ESR1, включая замену Т/С на уровне  $-397$  п.н. (PvuII), изменяют биологические функции рецептора ESR- $\alpha$  [1]. Возможный механизм, характерный для данного полиморфизма, включает как изменение структуры сайтов связывания факторов транскрипции, так и усиление альтернативного сплайсинга иРНК ESR1[2].

**Цель.** Данное исследование направлено на оценку взаимосвязи между локусом PvuII гена ESR1 и вероятностью развития хронической обструктивной болезни легких.

**Материалы и методы исследования.** В ходе работы были использованы инструментальные, лабораторные и статистические методы исследования. Объектом исследования являлись 95 пациентов с установленным диагнозом «хроническая обструктивная болезнь легких», а также 95 клинически здоровых лиц, которые составили группу контроля. При формировании опытной и контрольной групп были использованы ряд критериев включения и исключения. Так, в опытную группу вошли пациенты, которые не имели других бронхолегочных заболеваний, смогли выполнить дыхательный маневр при проведении спирометрии и имели установленный диагноз ХОБЛ. Из контрольной группы были исключены лица с нормальным уровнем ОФВ1 и нормальной величиной отношения ОФВ1/ФЖЕЛ, которые не имели заболеваний бронхолегочной системы, в том числе, инфекционных, острых воспалительных заболеваний и других хронических патологий. Все участники исследования были проинформированы об этапах проводимого исследования и предварительно дали письменное согласие на участие.

В качестве материала для исследования была использована ДНК, выделенная из клеток венозной крови. Выделение генетического материала

проводили с помощью коммерческого набора NucleoSpin Blood (производство Германия) согласно методике, рекомендованной производителем. Образцы ДНК хранились при минус 20°C в виде аликвот. Во избежание повреждений ДНК не допускалось размораживание аликвот более трех раз.

Для поиска однонуклеотидных замен использовали TaqMan-зонды, отжиг которых проводили в ходе полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Олигонуклеотидные зонды, меченые различными флюорофорами позволяли одновременно детектировать как мутантную, так и дикую аллели.

Для статистической обработки результатов ПЦР использовали классические непараметрические методы. При этом анализ данных проводили с помощью пакета программ SPSS 23.0, Microsoft Excel и онлайн программы «Ген-эксперт». Для оценки репрезентативности сформированных контрольной и опытной групп использовали уравнение Харди-Вайнберга («Ген-эксперт», Microsoft Excel). При этом высчитывали критерия  $\chi^2$  и уровень статистической значимости  $>0,05$ . Отсутствие значимых различий между исследуемой группой и популяционным распределением генотипов свидетельствовало репрезентативности выборки. Для сравнение контрольной и опытной групп рассчитывали  $\chi^2$ , показатель отношения шансов (ОШ), 95%-ный доверительный интервал (ДИ). Полученные различия считали значимыми при уровне  $p < 0,05$  в случае, если ДИ не включал 1.

**Результаты и обсуждение.** На первом этапе было проведено сравнение наблюдаемых и ожидаемых частот встречаемости генотипов полиморфизма RvuII гена ESR1. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты оценки репрезентативности исследуемых выборок

Генотипы	Здоровые лица	HWE	$\chi^2$	p
C/C	7,4%	4,6%	0,044	0,834 ( $>0,05$ )
C/T	28,4%	33,9%		
T/T	64,2%	61,5%		
Генотипы	Пациенты с ХОБЛ	HWE	$\chi^2$	p
C/C	13,7%	13,2%	2,44	0,118 ( $>0,05$ )
C/T	45,3%	46,2%		
T/T	41,0%	40,5%		

На следующем этапе был проведен сравнительный анализ частот генотипов полиморфизма RvuII гена ESR1 в обследуемой выборке с частотами в группе здоровых лиц. Также была определена рисковая значимость этого полиморфного локуса как генетического маркера для оценки предрасположенности к ХОБЛ.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что среди лиц, страдающих ХОБЛ, 41,0% являются носителями T, в то время как среди

здоровых лиц аллель Т встречается с частотой 64,2% случаев ( $\chi^2=10,2$ ,  $p=0,001$ ). При этом определено, что носительство генотипа с двумя аллелями Т (ТТ) снижает вероятность развития ХОБЛ в 2,6 раза по сравнению с гомозиготным носительством генотипа СС (ОШ=0,19, 95%ДИ=0,05–0,7) (таблица 2).

Таблица 2 – Результаты сравнения частоты встречаемости генотипов полиморфного локуса RvuII гена ESR1 в группе пациентов с ХОБЛ и здоровых лиц

Носительство генотипа	Пациенты с ХОБЛ, % (n)	Здоровые лица, % (n)	$\chi^2$	p	ОШ	95% ДИ
С/С, С/Т	59,0 (56)	35,8 (34)	10,2	0,002	2,58	1,43-4,63
Т/Т	41,0 (39)	64,2 (61)			0,19	0,05-0,7

**Выводы.** Носительство генотипа ТТ полиморфного варианта RvuII гена эстрогенового рецептора 1-го типа ассоциировано с пониженной вероятностью возникновения ХОБЛ в 2,6 раза, в то время как носительство генотипов, содержащих аллель С, наоборот, повышает риск развития этой патологии. Таким образом, полиморфизм RvuII гена ESR1 может быть использован в качестве генетического маркера для оценки предрасположенности к хронической обструктивной болезни легких.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Association of estrogen receptor 1 (ESR1) gene (rs2234693) polymorphism, ESR1 promoter methylation status, and serum heavy metals concentration, with breast cancer: A study on Iranian women population / P. Mirzaeyan, [et al.] // Meta Gene. – 2020. – Vol. 26, №100802. – P.1–6.
2. Estrogen Receptor 1 Gene (ESR1) rs2234693 Polymorphism and Breast Cancer Risk in Saudi Women / R. J. A-Amri, [et al.] // Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. – 2020. – Vol. 21, №11. – P. 8516–8525.

#### ПАТОГЕНЕЗ ГИПОАЛЬБУМИНЕМИИ И МЕТОДЫ ЕЕ КОРРЕКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С СЕПСИСОМ И СЕПТИЧЕСКИМ ШОКОМ

Якубцевич Р.Э.<sup>1</sup>, Белявский Н.В.<sup>1</sup>, Калашникова Е. А.<sup>1</sup>, Кузьмич А.А.<sup>1</sup>,  
Сак Е.Ю.<sup>1</sup>, Кашиц П.Ф.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>УО «Гродненский государственный медицинский университет», г. Гродно,  
<sup>2</sup>УЗ «Лидская центральная районная больница», г. Лида, Республика Беларусь

**Актуальность.** Сепсис – один из наиболее распространенных клинических синдромов в отделении анестезиологии и реанимации с высоким риском летального исхода. Помимо иммунологических нарушений, снижения эффективности тканевой микроциркуляции и развития органной дисфункции, у

септических пациентов часто встречается понижение уровня альбумина, которое может быть использовано в качестве маркера тяжести заболевания и позволяет оценить риск летального исхода [1]. В связи с этим, нам представляется важным изучить факторы, влияющие на уровень альбумина у пациентов с сепсисом и выявить наиболее эффективные методы коррекции гипоальбуминемии.

**Цель.** Выявить факторы, способствующие гипоальбуминемии у пациентов с сепсисом; установить влияние недостатка альбумина на течение сепсиса и определить наиболее эффективные методы коррекции гипоальбуминемии.

**Материалы и методы исследования.** Анализ 19 литературных источников за последние 10 лет.

**Результаты и обсуждение.** В ходе патогенеза сепсиса, в результате массивного выброса провоспалительных медиаторов, таких как интерлейкин-6 (IL-6), интерлейкин-1 (IL-1) и фактор некроза опухоли (TNF $\alpha$ ), развивается нарушение микроциркуляции и повышение проницаемости сосудов, активируются катаболические процессы, ингибируется синтез альбумина в печени, происходит повышение транскапиллярного выхода альбумина из крови в межтканевое пространство и возникает гипоальбуминемия [2].

Развитие дисфункции отдельных органов в результате септического процесса также вносит свой вклад в развитие гипоальбуминемии. В основе поражения сердца и формирования его дисфункции лежит непосредственное действие микроорганизмов и развитие системной воспалительной реакции. Основными клиническими проявлениями сердечной дисфункции считаются левожелудочковая и/или правожелудочковая недостаточность, неадекватный сердечный выброс и развитие аритмий [3]. Сепсис-индуцированная дисфункция левого желудочка, в первую очередь, проявляется застоем крови в малом круге кровообращения, повышением гидростатического давления в легочных капиллярах и, соответственно, увеличению транскапиллярного выхода альбумина в межтканевое пространство легких [4]. Гипопротеинемия и снижение онкотического давления плазмы, возникшее вследствие сепсиса и левожелудочковой недостаточности, приводит к развитию и прогрессированию острого респираторного дистресс-синдрома с последующим развитием отека легких, что увеличивает вероятность летального исхода у таких пациентов [5]. Сепсис-индуцированная дисфункция правого желудочка, характеризуется повышением венозного давления в большом круге кровообращения, что сопровождается выходом жидкости и альбумина в межклеточное пространство и проявляется развитием отёков [6]. При правожелудочковой недостаточности в следствии развития венозного стаза в печени происходит снижение чувствительности к гормонам стресса, что снижает скорость синтеза альбумина и глюкозы. Застой крови в венах желудочно-кишечного тракта приводит к развитию синдрома мальабсорбции, что является причиной недостаточного поступления нутриентов в организм и, следовательно, недостатку субстратов для синтеза альбумина [7].

Реализация патогенеза сепсиса, а именно образование токсических продуктов в результате острой воспалительной реакции, вызывает повреждение почечных клубочков и приводит к формированию нефротического синдрома. Вследствие образовавшейся гломерулопатии происходит потеря альбумина с мочой [8]. Гипоальбуминемия, вызванная нефротическим синдромом и сепсисом, может быть независимым фактором риска развития острого повреждения почек у пациентов в ОАР. У пациентов, у которых развилось ОПП, с каждым снижением сывороточного альбумина на 10 г/л смертность увеличивалась на 147% [9].

Важными факторами в патогенезе гипоальбуминемии являются также некоторые методы интенсивной терапии сепсиса. Например, пациентам с развитием полиорганной дисфункции часто требуется проведение экстракорпорального очищения крови (ЭОК). При применении таких методов ЭОК, как плазмаферез или вено-венозная гемодиализация с использованием high-cut-off мембран неизбежны потери аминокислот и альбумина [10]. Экстракорпоральная гемосорбция, также широко применяемая при сепсисе, способна снижать концентрации незаменимых аминокислот в плазме у пациентов с сепсисом, что также может приводить к развитию гипоальбуминемии [11].

Учитывая взаимосвязь тяжести септического процесса и органной дисфункции с гипоальбуминемией, можно предположить, что уровень альбумина будет коррелировать с риском летального исхода. В исследовании Saucedo-Monrepo [и др.] изучались пациенты с сепсисом абдоминального происхождения, которые были госпитализированы в отделение интенсивной терапии. При статистическом анализе данных, было выявлено, что у людей в группе со сниженной концентрацией альбумина в крови, риск смерти в 23 раза больше, чем у группы пациентов с нормальным уровнем альбумина. Так же было выявлено, что гипоальбуминемия в сочетании с высокими баллами по шкалам APACHE и SOFA, представляют собой надежный параметр для прогнозирования смертности в первые 48 часов после поступления в отделение интенсивной терапии [1]. В других исследованиях также было выявлено, что при сочетании гипоальбуминемии с гипогликемией у пациентов с сепсисом смертность увеличивается, в сравнении с другими гипогликемическими состояниями. В совокупности, факторы, включающие депрессию глюконеогенеза, нарушение синтеза и транскапиллярную потерю альбумина, обуславливают быстрое истощение организма и его витальных функций [12].

Низкий уровень альбумина в плазме увеличивает вероятность неблагоприятного исхода и при отсутствии септического процесса. При изучении влияния микроальбуминурии и гипоальбуминемии на смертность у пациентов ОАР выявлено, что падение уровня альбумина ниже 25 г/л достоверно коррелирует с вероятностью летального исхода [13]. По данным другого исследования, наличие гипоальбуминемии до оперативных вмешательств является фактором риска возникновения послеоперационных септических осложнений и увеличения продолжительности пребывания пациента в стационаре [14].

Одним из способов коррекции гипоальбуминемии является инфузия альбумина, однако литературные данные в отношении данного метода достаточно противоречивы. По результатам исследования 4190 пациентов с сепсисом, в котором изучалась эффективность использования инфузий альбумина, выявлено, что смертность на фоне применения альбумина по сравнению с кристаллоидными растворами (NaCl 0,9%, раствор Рингера) существенно не отличалась между группами. Кроме того, при использовании альбумина в сравнении с другими коллоидными растворами также не выявлено существенных различий в частоте летального исхода [15]. Исследование эффективности инфузии альбумина при гипоальбуминемии у детей в критическом состоянии также не продемонстрировало снижения летальности в сравнении с контрольной группой [16].

Другим способом коррекции гипоальбуминемии является назначение пациенту дополнительной нутритивной поддержки в виде аминокислот. В исследовании John J. Skillman [и др.] было выявлено, что скорость синтеза альбумина увеличивалась у послеоперационных пациентов, получавших инфузии заменимых и незаменимых аминокислот [17]. Важную роль в повышении эффективности синтеза альбумина играет количество получаемых калорий и ранняя активизация пациента [18]. Применение инфузии аминокислот также целесообразно при проведении ЭОК у пациентов с сепсисом и позволяет компенсировать потери аминокислот и предотвратить развитие гипоальбуминемии [19].

**Выводы.** Патологические процессы, вызывающие гипоальбуминемиию и возникающие при сепсисе, включают в себя три основных звена: снижение поступления аминокислот в организм (синдром мальабсорбции); замедление процессов синтеза альбумина; повышение катаболизма тканевых белков и нарушение распределения их в организме. Реализация патогенеза сепсиса, сепсис-индуцированные сердечная недостаточность и нефротический синдром, применение методов ЭОК являются факторами, которые усугубляют тяжесть гипоальбуминемии. Независимо от причины, низкий уровень альбумина имеет важную прогностическую ценность в отношении тяжести течения сепсиса и представляет собой эффективный предиктор смертности. Внутривенное введение человеческого альбумина для коррекции гипоальбуминемии у пациентов с сепсисом не оказывает значительного эффекта в сравнении с другими инфузионными средами, в то время как поддержание адекватного баланса аминокислот с помощью дополнительной нутритивной поддержки может быть более перспективным в коррекции уровня альбумина.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Saucedo-Moreno, E. M. Hypoalbuminemia as a predictor of mortality in abdominal sepsis. / E. M. Saucedo-Moreno, E. Fernández-Rivera, J. A. Ricárdez-García. // *Cir Cir.* – 2020. – Vol. 88, №4. – P.481-484.
2. Wiedermann, C. J. Hypoalbuminemia as Surrogate and Culprit of Infections. / C. J. Wiedermann // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22, №9. – P.449.

3. Soeters, P. B. Hypoalbuminemia: Pathogenesis and Clinical Significance. / P. B. Soeters [et al.] // *Enteral Nutr.* – 2019. – Vol. 43, №2. – P. 181-193.
4. Щеголев, А.И. Патология сердца при сепсисе / А. И. Щеголев, У. Н. Туманова, О.Д. Мишнёв // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* – 2019. – № 9. – С. 56-61
5. Mendes, R. S. Fluids in ARDS: more pros than cons. / R. S. Mendes [et al.] // *Intensive Care Med Exp.* – 2020. – Vol. 8, № 32.
6. Arques, S. Serum albumin and cardiovascular diseases: A comprehensive review of the literature. / S. Arques // *Ann Cardiol Angeiol.* – 2018. – Vol. 67, № 2. – P. 82-90
7. Martin, L. The septic heart: current understanding of molecular mechanisms and clinical implications. / L. Martin [et al.] // *Chest.* – 2019. – Vol. 155. № 2. – P. 427–437.
8. Meena, J. Current Perspectives in Management of Edema in Nephrotic Syndrome. / J. Meena, A. Bagga // *The Indian Journal of Pediatrics* – 2020. – Vol. 87, №8. – P. 633-640.
9. Wiedermann, C. J. Hypoalbuminemia and the Risk of Acute Kidney Injury in Sepsis. / C. J. Wiedermann // *Crit Care Med.* – 2019. – Vol.47, №4. – P. 377-378
10. Ankawi, G. Extracorporeal techniques for the treatment of critically ill patients with sepsis beyond conventional blood purification therapy: the promises and the pitfalls / G. Ankawi, M. Neri et al. // *Crit Care.* – 2018. - Vol. 22, № 1. – P. 262.
11. Якубцевич, Р. Э. Динамика уровней незаменимых аминокислот в плазме крови пациентов с сепсисом на фоне применения методов экстракорпоральной детоксикации. / Р. Э. Якубцевич [и др.] // *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук.* – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 64-69.
12. Furukawa, M. Sepsis patients with complication of hypoglycemia and hypoalbuminemia are an early and easy identification of high mortality risk. / M. Furukawa [et al.] // *Intern Emerg Med.* – 2019. – Vol.14, №4. – P.539-548
13. Nour, M, Role of Microalbuminuria and Hypoalbuminemia as Outcome Predictors in Critically Ill Patients. / M. Nour [et al.] // *Crit Care Res Pract.* – 2021. – Vol. 66, № 7. – P. 642.
14. Ghoneima, A. S. High risk of septic complications following surgery for Crohn's disease in patients with preoperative anaemia, hypoalbuminemia and high CRP / A. S. Ghoneima [et al.] // *Int J Colorectal Dis.* – 2019. – Vol. 34, № 12. – P. 2185-2188.
15. Patel, A. Randomised trials of human albumin for adults with sepsis: systematic review and meta-analysis with trial sequential analysis of all-cause mortality. / A. Patel [et al.] // *BMJ* – 2014. – Vol. 34, № 9. – P. 561.
16. Tiwari, L. K. Hypoalbuminemia in critically sick children. / L.K. Tiwari [et al.] // *Indian J Crit Care Med.* – 2014. – Vol. 18, № 9. – P. 565-569.
17. Skillman, J. J. Improved albumin synthesis in postoperative patients by amino acid infusion. / J. J. Skillman [et al.] // *N Engl J Med.* – 1976. – Vol. 295, № 19. – P. 1037-1040.

18. Wada, Y. Potential Role of Amino Acid/Protein Nutrition and Exercise in Serum Albumin Redox State. / Y. Wada, Y. Takeda, M. Kuwahata // *Nutrients*. – 2017. – Vol. 10, №1. – P. 17

19. Unverdi, S. The effectiveness of oral essential aminoacids and aminoacids containing dialysate in peritoneal dialysis. / S. Unverdi [et al.] // *Ren Fail.* – 2014. – Vol. 36, № 9. – P. 1416-1419.

## **БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ ПРОТЕИНУРИИ**

**Ярец Ю.И.**

*ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Республика Беларусь*

**Актуальность.** Важным диагностическим показателем является уровень протеинурии, для оценки которого рекомендуются турбидиметрические (с реактивом хлоридом бензетония) и колориметрические (с пираголлоловым красным) методы [3]. Однако в клинко-диагностических лабораториях распространенным остается метод с сульфосалициловой кислотой (ССК), несмотря на его недостаточную точность в выявлении протеинурии [2]. Для дифференциальной диагностики типов протеинурии используется метод электрофореза. Отдельные специфические белки в моче (альбумин, трансферрин, цистатин С,  $\beta$ -2-микроглобулин) также имеют диагностическую информативность в качестве биомаркеров уровня повреждения нефрона [1].

**Цель:** проанализировать результаты различных методов оценки протеинурии.

**Материал и методы исследования.** Объектом исследования были образцы мочи 60 пациентов с протеинурией. Среди пациентов 33 человека (55%) имели почечную патологию: хроническая болезнь почек (ХБП), в том числе пациенты после трансплантации почки, хронический гломерулонефрит, пиелонефрит и т.д.; 6 (10%) – сахарный диабет (СД); 16 (26,7%) – болезни крови: множественная миелома (ММ), миелодиспластический синдром, острый и хронический лейкоз и т.д.; 5 (8,3%) – болезни сердца. У пациентов в суточной пробе мочи определяли уровень белка с использованием хлорида бензетония. Также в моче оценивали уровень альбумина, цистатина С, бета-2-микроглобулина. Исследования выполняли на биохимическом анализаторе Architect c8000 (Abbott Laboratories, США) с использованием оригинальных реагентов. Параллельно уровень протеинурии оценивали с помощью другого турбидиметрического метода с ССК, детекцию результатов проводили с помощью спектрофотометра Solar PV 1251С (Беларусь). Для выполнения электрофореза использовали агарозный гель SAS-3 UP 60 (Helena Laboratories, Великобритания), оборудование SAS-3/SAS-4 (Helena Bioscience Europe). Фракции белков мочи представляли в относительных значениях (%), расчет проводили по отношению к концентрации общего белка. Оценивали уровень альбумина,  $\alpha$ 1- и  $\alpha$ 2-глобулинов,  $\beta$ 1- и  $\beta$ 2-глобулина,  $\gamma$ -глобулинов.

**Результаты и обсуждение.** Уровень общего белка в моче у пациентов составлял 1,31 (0,74; 2,35) г/л, максимальными были значения 19,8 г/л и 16,12 г/л у пациентов с ХБП, хроническим гломерулонефритом. Результаты параллельного определения белка с помощью метода с ССК существенно различались и составляли 0,46 (0,34; 0,52) г/л, максимально: 4,95 и 3,74 г/л. Причинами расхождения результатов считают различия в составе калибратора, который для метода с ССК на 100% состоит из альбумина, а в методе с бензетонием хлоридом – на 70% из альбумина и на 30% из глобулинов [2].

В результате электрофореза у 14 пациентов (23,3%) в моче преобладал альбумин, что определяло селективную гломерулярную протеинурию [6]. Гломерулярная протеинурия регистрировалась у пациентов с СД, болезнями крови, кроме ММ, а также при хроническом гломерулонефрите и ХБП. У 34 пациентов (56,7%) уровень альбумина составлял менее 50%. Более половины белкового спектра было представлено глобулинами (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты электрофоретического исследования белков мочи

Показатель	Клубочковая протеинурия (n=14)	Смешанная протеинурия (n=34)	Канальцевая протеинурия (n=7)	Протеинурия «переполнения» (n=5)
Протеинурия, г/л	0,75 (0,61; 0,99)	2,1 (1,6; 5,3)	0,9 (0,7; 1,2)	1,9 (1,6; 2,0)
Альбумин, %	66,8 (62,0; 72,0)	44,0 (31,7; 47,8)	11,5 (9,8; 17,7)	27,4 (19,3; 21,8)
α1-глобулины, %	2,4 (1,8; 3,2)	5,6 (3,7; 8,8)	6,5 (3,4; 8,1)	1,9 (0,9; 2,7)
α2-глобулины, %	3,2 (2,4; 3,9)	7,5 (4,7; 10,1)	11,6 (4,0; 14,9)	4,0 (1,9; 6,0)
β1-глобулины, %	3,4 (2,5; 5,3)	8,9 (5,9; 10,9)	9,5 (6,6; 11,2)	4,9 (3,3; 5,0)
β2-глобулины, %	9,6 (4,9; 11,9)	16,0 (9,8; 19,5)	11,6 (6,6; 27,5)	6,0 (5,2; 7,4)
γ-глобулины, %	13,8 (11,1; 16,5)	19,7 (15,4; 29,2)	48,8 (22,1; 63,0)	63,8 (57,1; 73,1)

Присутствие всех фракций белка определяет смешанную протеинурию, которая характеризуется присутствием альбумина и глобулинов [6]. Уровень общего белка в этой подгруппе был выше, чем при клубочковой протеинурии и составлял 2,1 (1,6; 5,3) г/л. Смешанная протеинурия выявлялась при ХБП и других болезнях почек, онкогематологических заболеваниях, СД. У 7 пациентов (11,7%) вклад альбумина в белковый спектр мочи был минимальным, большинство белков приходилось на глобулины (таблица 1). Низкое содержание альбумина является признаком канальцевой протеинурии, когда в моче преобладают белки, не реабсорбирующиеся в проксимальных

канальцах. Этот тип протеинурии был обнаружен у пациентов с ХБП и с лейкозами.

Выделяют протеинурию «переполнения», которая относится к группе преренальных и обусловлена наличием «малых» белков, в частности, легких цепей иммуноглобулинов (белка Бенс-Джонса). На электрофореграмме этот парапротеин выявляется в виде дополнительного пика, локализация которого может варьировать от  $\alpha$ 1- до  $\gamma$ -фракции. Протеинурия, обусловленная белком Бенс-Джонса, выявлялась только у пациентов с ММ (n=5, 8,3%). Для этой подгруппы пациентов определение количества и типа парапротеина как в сыворотке, так и в моче является обязательным этапом диагностики и мониторинга [5]. Преобладающей белковой фракцией в подгруппе пациентов с ММ были  $\gamma$ -глобулины (таблица 1), в области которых образовывался компактный градиент, занимающий от 21% до 62% от общего белка в моче.

Определение специфических белков показало широкий разброс результатов. Уровень альбумина в моче составлял 0,43 (0,17; 1,90) г/л, с максимальными значениями 5,0–12,0 г/л, и был сопоставим с результатами электрофоретического исследования. Значения цистатина С в моче были 0,34 (0,07; 2,05) мг/л, максимально: 10,0–14,95 мг/л. Обнаружение значимых количеств цистатина С в моче рассматривают как маркер нарушенной реабсорбции и тубулярной протеинурии. В норме содержание цистатина С в моче составляет не более 0,05 мг/л. При гломерулярных заболеваниях его концентрация увеличивается до  $0,106 \pm 0,033$  мг/л, при тубулярных – до 4,31 и более [7]. Другим маркером тубулярной протеинурии является  $\beta$ 2-микроглобулин; его увеличение в моче более 0,32 мг/л указывает на вовлечение в патологический процесс канальцев почек. Доказано, что  $\beta$ 2-микроглобулин является более точным показателем снижения функции почек, чем уровень креатинина, особенно в «серой зоне» [4]. У обследованных пациентов уровень  $\beta$ 2-микроглобулин составил 1,10 (0,25; 14,8) мг/л, в некоторых случаях концентрация превышала 96,05 мг/л; у 20% (n=12) пациентов значения  $\beta$ 2-микроглобулина в моче были меньше 0,30 мг/л. В данном исследовании не проводился анализ уровней специфических белков в моче в зависимости от клинических и других лабораторных особенностей патологического процесса. Однако, учитывая перспективность указанных биомаркеров, изучение их клинико-диагностического значения будет целью дальнейших исследований.

**Выводы.** Уровень общего белка, определенного с ССК, несопоставим со значениями, полученными методом с бензетонием хлоридом, что обосновывает пересмотр существующей практики определения протеинурии в лабораториях. Определение качественного состава белков мочи с помощью электрофореза обеспечивает оценку уровня и степени дисфункции нефрона. Дополнительный анализ специфических белков в моче в динамике заболевания позволит выявлять группы риска по развитию и прогрессированию патологических состояний, протекающих с повреждением почек.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Богданова, Е. О. Протеины мочи и фибробластические изменения компартментов почки при иммунных гломерулопатиях / Е. О. Богданова, О. В. Галкина, И. М. Зубина, В. А. Добронравов // Нефрология. – 2017. – Т. 21, № 6. – С. 54–59.
2. Ким, Ю. В. Что мы измеряем в моче сульфосалициловым методом? / Ю. В. Ким, О. Е. Потехин, М. И. Токар, А. Н. Шибанов // Лабораторная медицина. – 2003. – № 6. – С. 94–98.
3. Клинические рекомендации. Хроническая болезнь почек (ХБП). 2021. [Электронный ресурс] – Режим доступа: [https://rusnephrology.org/wp-content/uploads/2020/12/CKD\\_final.pdf](https://rusnephrology.org/wp-content/uploads/2020/12/CKD_final.pdf). – Дата доступа: 02.05.2022.
4. Муркамилов, И. Т. Бета-2-микроглобулин как биомаркер при хронической болезни почек / И. Т. Муркамилов, К. А. Айтбаев, Ж. А. Муркамилова [и др.] // The scientific heritage. – 2021. – №59. – С. 45–55.
5. Рехтина, И. Г. Определение парампротеина при плазмоклеточных опухолях / И. Г. Рехтина, Л. П. Менделеева, Н. П. Соболева [и др.] // Терапевтический архив. – 2022. – Т. 94, № 1. – С. 135–144.
6. Levinson, S. S. Urine protein electrophoresis and immunofixation. Electrophoresis supplement one another in characterizing proteinuria / S. S. Levinson // Annals of clinical and laboratory science. – 2000. – Vol. 30, no. 1. – P. 79–84.
7. Shlipak, M. G. Cystatin C: research priorities targeted to clinical decision making / M. G. Shlipak // Am L Kidney Dis. – 2008. – Vol. 51. – P. 358–361.

### Секция 3.

## ***СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ПРЕПОДАВАНИЯ ОБЩЕЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ В ВУЗАХ***

### **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОБУЧАЮЩИХ ВИДЕО YOUTUBE-КАНАЛА «РИСУЕМ БИОХИМИЮ» В ОБРАЗОВАТЕЛЬНОМ ПРОЦЕССЕ**

**Громько М.В., Мышковец Н.С., Коваль А.Н., Никитина И.А.**

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

**Актуальность.** Потребности современного образовательного процесса неразрывно связаны с техническим прогрессом и быстрым развитием информационных технологий. Для повышения мотивации студентов, получения высоких результатов в учебном процессе и улучшения качества образования в целом необходимо применение современных методов и форм обучения [3]. Одним из таких методов является использование обучающих видео во время проведения практических занятий или в процессе самостоятельной подготовки студентов. Подобный формат способствует вовлечению в образовательный процесс, позволяет удерживать внимание и стимулирует интерес к изучаемой дисциплине. Видео упрощает подачу учебного материала, даёт возможность облегчить восприятие сложной информации [2, 4], являясь способом демонстрации механизмов и процессов, которые невозможно продемонстрировать в реальных условиях, что является особенно актуальным для преподавания дисциплины «Биологическая химия». Основная задача обучающих видео, которые размещаются на YouTube-канале «Рисуем биохимию» – сделать изучение дисциплины более мотивированным, более интересным и наглядным [5].

YouTube канал «Рисуем биохимию» был создан в феврале 2021 года с целью улучшения знаний студентов по наиболее сложным темам предстоящего итогового занятия. На данный момент опубликовано 53 видео, которые для удобства поиска размещены в плейлистах согласно темам разделов.

При разработке роликов учебного назначения следует учитывать ряд эффектов, которые могут усилить положительное впечатление, производимое на студентов. Прежде всего, это эффект мнемонического запоминания, который помогает легко запоминать и воспроизводить учебный материал (видео «Классификация ферментов. Шпаргалка», «Транскрипция» и др). Следующий эффект узнавания: на кадрах ролика студенты видят известных ученых, сделавших фундаментальные открытия в биохимии, преподавателей и студентов, объясняющих учебный материал. Все это усиливает интерес к теме и предмету в целом (видео «Метаболизм хиломикрона», «Инсулин и глюкагон», «Как запомнить инозитол-3-фосфатный путь», «Как регулируется запас жира. Фильм» и др.). Немаловажным компонентом в обучении, усиливающим запоминание учебного материала, является игровой момент

(видео «Игра в дыхательную цепь», «Моделируем синтез белка» и др.). Среди других педагогических слагаемых успешной разработки учебных видеороликов можно отметить эффект эстетического воздействия: психологический феномен, отмечающий распространение положительного эстетического воздействия красивых моделей, людей, пейзажей и т.д. (видео «Считаем энергетический баланс правильно. АМФ»).

**Цель.** Оценить возможное влияние используемых студентами ГомГМУ источников получения информации, в том числе YouTube-канала «Рисуем биохимию», при изучении дисциплины «Биологическая химия».

**Материалы и методы исследования.** Для реализации поставленных целей исследования студентам лечебного факультета Гомельского государственного медицинского университета было предложено анонимное анкетирование по вопросам «Откуда Вы предпочитаете получать учебный материал» и «Как часто вы смотрите обучающие видео на YouTube» [1]. С целью анализа просмотров было использована аналитика YouTube-канала «Рисуем биохимию».

**Результаты и обсуждение.** Всего в анкетировании приняло участие 102 человека из которых хорошо успевающие – 63,7% и удовлетворительно – 36,3%. Анализ анкетирования показал (таблица 1), что студенты предпочитают получать учебный материал из методической разработки, размещённой на платформе ЭУМК (85% и 86%), интернет как источник учебного материала назвали 54% удовлетворительно успевающих студентов, тогда как хорошо успевающие студенты помимо интернета (38%) пользуются учебниками (39%).

Таблица 1. – Предпочитаемый источник учебного материала, %

Успеваемость	из учебника	из лекции	из методической разработки	из интернета
Хорошая	39	31	85	38
Удовлетворительная	19	32	86	54

Анализ анкетных данных (таблица 2) показывает, что примерно четверть студентов постоянно просматривают видео на канале и более половины делают это периодически. Также необходимо отметить, что 26 % студентов с хорошей и 35 % с удовлетворительной успеваемостью используют обучающие видео при трудностях с пониманием изучаемой темы.

Таблица 2. – Частота просмотра обучающих видео на YouTube-канале «Рисуем биохимию», %

Успеваемость	постоянно	периодически	редко	не смотрю	когда не могу понять тему
Хорошая	28	54	2	2	26
Удовлетворительная	24	54	3	-	35

Оценка успеваемости студентов, отраженная в ежегодных отчетах о результатах экзамена по дисциплине «Биологическая химия», показала повышение качественной успеваемости (оценки 7-10) в 2021/22 на 16 % по сравнению 2019/20 учебным годом.

Аналитика YouTube канала показала топ 3 регионов по просмотрам: 51,1% Россия (Москва, Санкт-Петербург, Екатеринбург), 19,3% Беларусь (Гомель), 3% Казахстан (Караганда, Алматы, Астана). Возраст зрителя 18-24 - 86,8%, 25-34 - 9,3%. Источником трафика являются: поиск на YouTube (33,9%), рекомендуемые видео (13,0%), страницы плейлистов (10,8%) и др. Средняя продолжительность просмотров (по убыванию): Алматы и Караганда (Казахстан), Гомель (Беларусь), Нижний Новгород, Москва, Санкт-Петербург (Россия). Согласно аналитике канала, можно предположить, что посетителями и зрителями канала «Рисуем биохимию» являются студенты нашего ВУЗа. Согласно диаграмме просмотров, именно студенты г. Гомеля создают пик просмотров перед итоговыми занятиями.

### **Выводы**

Применение видеоматериалов, размещенных на YouTube канале «Рисуем биохимию», способствует улучшению показателей качественной успеваемости на занятиях по биологической химии.

Данный ресурс востребован у студентов с удовлетворительной успеваемостью, что можно объяснить удобным форматом представления учебного материала, особенно в период сессии и подготовки к итоговым занятиям.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Громько, М. В. Анализ организации учебно-познавательной деятельности студентов второго курса медицинского вуза / М. В. Громько, 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. Дедов, С. Г. Обучающие видеоролики в системе современного образования / С. Г. Дедов // Актуальные исследования. - 2021. – Т. 69, № 42. - С. 74-76.

3. Опыт вовлечения студентов в изучение мировых научных достижений в области биохимии / О. С. Логвинович, [и соавт.]. - Актуальные проблемы медицины : Сборник научных статей Республиканской научно-практической конференции с международным участием: в 5 томах, Гомель, 21–22 ноября 2019 года. – Гомель: Учреждение образования "Гомельский государственный медицинский университет", 2019. – Т. 1. – С. 21-23.

4. Пакшина, Н. А. Возможности применения видеороликов в учебном процессе / Н. А. Пакшина, М. А. Емельянов // Приволжский научный вестник. 2014. – Т. 40, № 12-3. – С. 140-143.

5. Рисуем Биохимию [Электронный ресурс] / Режим доступа: <https://www.youtube.com/@user-rq7iw7rd8s>. – Дата доступа: 07.04.2023.

## ЛЕКЦИЯ КАК ФОРМА УЧЕБНОГО ПРОЦЕССА

*Леднёва И.О.*

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

В современном вузе лекция является основной формой обучения. Ее целью является формирование основы для последующего усвоения студентами учебного материала. В настоящее время ведутся дискуссии о целесообразности чтения лекций. Выдвигаются такие доводы в пользу отмены лекций как хорошее обеспечение студентов учебно-методической литературой, доступность мультимедийных презентаций лекций на платформе Moodle. Высказываются мнения, что лекция снижает интерес к самостоятельным занятиям, приучает к пассивному восприятию чужих мнений, тормозит самостоятельное мышление слушателей. В этих аргументах есть определенная доля истины. Однако опыт обучения в высшей школе свидетельствует о том, что отказ от лекций как формы учебного процесса снижает научный уровень подготовки студентов, нарушает системность их работы в течение семестра.

Назначение современной лекции в учебном процессе состоит не в том, чтобы предоставить всю информацию по изучаемой дисциплине. Лекция должна давать систематизированные основы научных знаний по дисциплине, раскрывать состояние и перспективы ее развития, концентрировать внимание обучающихся на наиболее сложных и ключевых вопросах, стимулировать их активную познавательную деятельность, способствовать формированию творческого мышления. Все другие формы учебных занятий – семинары, лабораторные занятия, консультации, зачеты и экзамены – связаны с лекцией, опираются на ее фундаментальные положения и выводы [1].

Основными функциями вузовской лекции выступают познавательная (обучающая), развивающая, воспитательная и организующая. По своей структуре лекции могут отличаться одна от другой. Все зависит от содержания и характера излагаемого материала.

Учебная лекция имеет свою структуру. Она должна иметь три части: первая – вступление, вторая – изложение и третья – заключение. Все эти составные части должны быть логически взаимосвязаны. Во вступлении (введении) лектор объявляет студентам тему, план и цель лекции и ее актуальность. Задача вступления – заинтересовать аудиторию, настроить ее на изучение темы. Введение должно быть кратким и целенаправленным. Изложение является основной частью лекции. В этой части раскрывается основное содержание темы, приводятся доказательства и примеры, даются научные выводы. Приводимые формулировки и определения должны быть четкими и насыщенными глубоким содержанием. Каждый учебный вопрос необходимо заканчивать краткими выводами, которые подводят обучающихся

к следующему вопросу лекции. В заключении обобщаются раскрываемые в лекции основные идеи, логически завершая её как единое целое. Поэтому при составлении плана проведения лекции необходимо учитывать всё, что заложено в её составных частях: вступлении, изложении и заключении. Вводные, установочные, заключительные лекции по структуре и содержанию имеют свои особенности. После каждой лекции необходимо провести ее анализ. Преподаватель чувствует, как она воспринималась слушателями, в каких местах были шероховатости, где студенты были невнимательны, какие примеры вызывали наибольший интерес, где примеров не хватало или они были не совсем удачными. Все эти замечания необходимо записать и использовать в дальнейшей работе при обновлении содержания лекции.

Конспектирование лекций студентами уходит в прошлое, поэтому надо искать новый формат чтения лекций. В современном информационном поле лекции классифицируются по различным признакам: по целям; по содержанию; по решаемым дидактическим задачам; по вариантам подачи лекционного материала; по форме обучения; по форме организации [2].

Так, лекция-визуализация возникла как результат поиска реализации принципа наглядности. Она представляет собой визуальную форму подачи лекционного материала с использованием мультимедийных средств. Чтение такой лекции сопровождается развернутым или кратким комментированием просматриваемых визуальных материалов (слайдов, фотографий, схем, таблиц, графиков). В такой лекции важны визуальная логика, ритм подачи материала, четкое планирование времени, разнообразие визуальных средств. Лекция-беседа, или «диалог с аудиторией», предполагает непосредственный контакт с аудиторией путем постановки вопросов. Во время такой беседы диагностируется уровень знаний студентов по той или иной теме, разделу, вопросу, в соответствии с которым и читается лекция. Лекция-консультация проводится накануне экзамена в виде вопросов-ответов и вопросов-ответов-обсуждения. В последнее время появились новые формы подачи лекционного материала: лекция-консультация, лекция-пресс-конференция, лекция вдвоем, лекция-беседа и др. Однако наиболее оптимальной формой on-line лекции для размещения на платформе Moodle является лекция-визуализация, которая позволяет представить значительное количество учебного материала. Лекция off-line является более компактной и ограничена временными рамками. При ее чтении в аудитории целесообразно использовать элементы диалога для активизации познавательной деятельности студентов.

К самой лекции предъявляют определенные требования, которые лежат в основе критериев оценки качества лекции. Прежде всего, это научность, информативность, доказательность, и аргументированность, тщательный подход к ее построению и отбору учебного материала; постоянное и систематическое обновление материала, пополнение его новейшими достижениями науки и практики [3]. Кроме научного содержания большое значение следует придавать доходчивости лекции, восприятию и усвоению материала слушателями, поскольку, в конечном счете, в этом и состоит главная цель лекционного этапа обучения. В связи с этим важными средствами лектора

являются выразительная речь, простота, ясность и последовательность изложения, точность и конкретность формулировок. В лекции должны присутствовать вопросы для размышления, факты и их научные доказательства, убедительные примеры. Она должна быть четко структурирована с логической раскрываемостью последовательно излагаемых вопросов. Важное значение имеет приемлемый темп изложения учебного материала, интонационное выделение главных мыслей и положений. Всем вновь вводимым терминам и названиям должны быть даны четкие разъяснения. Восприятие информации студентами будет так же зависеть от качества иллюстративного материала. Размер шрифта, объем текста на слайде, акценты на терминах и основных положениях, оптимальное количество рисунков, графиков и других иллюстраций – все это имеет значение.

Умение читать лекции – это искусство. Лектор должен не только хорошо знать свою дисциплину, но и быть оратором. Недопустимо скучное зачитывание слайдов лектором. Изложение темы должно проходить на эмоциональном уровне, способном активизировать мышление студентов. Залог успешной и продуктивной лекции – постоянное владение вниманием аудитории и поддержания интереса слушателей от начала и до конца лекции, мастерство и стиль общения преподавателя со студентами. В ходе лекции между лектором и аудиторией должны складываться партнерские и уважительные отношения. Мобилизовать внимание студентов, особенно во второй половине лекции, помогают «освежающие отступления», яркие, образные сравнения, уместные шутки.

Стоит отметить, что эффективность лекции определяется не только мастерством лектора. Студенты также должны проявлять настроенность на работу, прилагать усилия для овладения учебным материалом, отвечать на вопросы. Некоторые студенты не всегда готовы трудиться на лекции, воспринимать, осмысливать и запоминать информацию, и рассматривают этот вид учебной деятельности как время для отдыха.

Таким образом, лекция по-прежнему остается как ведущим методом обучения, так и ведущей формой организации учебного процесса в вузе, т. к. обеспечивает произвольное запоминание, подсказывает направление самостоятельной работы, является школой научного мышления. Несомненно, будет происходить ее дальнейшая трансформация, будут появляться новые ее формы. Однако ни один электронный ресурс не заменит «живого» общения преподавателя со студентами.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бордовская, Н. В. Педагогика: учеб. пособие /Н. В. Бордовская, А. А. Реан. – СПб.: Питер, 2008. – 304 с.
2. Пионова, Р. С. Педагогика высшей школы / Р. С. Пионова. – Минск: Універсітэцкае, 2001. – 250 с.
3. Мешков, Н.И. Педагогика высшей школы : учебно-методическое пособие/ Н.И. Мешков, Н.Е. Садовников. - Саранск: Мордовский гос. ун-т им. Н.П. Огарева, 2010. - 80 с.

# ПРЕПОДАВАНИЕ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ В ГРОДНЕНСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ МЕДИЦИНСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ

Лелевич С.В.

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

**Актуальность.** Клиническая биохимия – клинико-диагностическая дисциплина, которая занимается оценкой биохимических параметров в биологических материалах с целью диагностики патологических состояний, а также осуществляет контроль за их течением с позиций биохимии. Клиническая биохимия является важнейшим разделом клинической лабораторной диагностики наряду с лабораторной гематологией, иммунологией, клинической серологией и микробиологией, клинической токсикологией и др. Данная дисциплина располагает специфическим набором диагностического оборудования, использует множество диагностических методов и позволяет врачу-клиницисту оценить диагностически и прогностически значимые нарушения биохимических процессов в организме. Эта область клинической лабораторной диагностики достаточно бурно развивается. Современная клиническая биохимия позволяет существенно облегчить квалифицированную и обоснованную постановку диагноза, выбор лечения и оценку прогноза при многих заболеваниях [1].

Клинико-биохимические исследования выполняются практически всем пациентам. Их применяют главным образом для подтверждения или уточнения диагноза, характеристики формы, тяжести течения и определения прогноза болезни, выбора этиологической и патогенетической терапии, контроля за результатами лечения, а также для обнаружения патологии при скрининговых исследованиях.

В зависимости от клинических задач биохимические исследования могут выполняться однократно и многократно (в динамике), а также в процессе проведения функциональных или фармакологических тестов со стимуляцией или торможением этапов исследуемого обмена веществ, клеточных или гуморальных реакций либо других функций, выраженность или качество которых отражается в параметрах определяемого лабораторного показателя.

Биохимические технологии регулярно обогащаются новыми методами исследований. Повышение их чувствительности и специфичности способствует расширению объектов биохимического анализа. Широкое внедрение современных биохимических анализаторов позволяет проводить комплексный анализ с использованием небольшого объема биологической пробы и в более короткие сроки [1].

**Цель.** Охарактеризовать особенности преподавания клинической биохимии в учреждении образования «Гродненский государственный медицинский университет».

**Материалы и методы исследования.** Описательные.

**Результаты и их обсуждение.** Клиническая биохимия – учебная дисциплина, содержащая систематизированные научные знания об изменениях химического состава биологических жидкостей организма человека при различных заболеваниях и методах выявления этих изменений с целью диагностики, прогноза и коррекции лечения.

Преподавание клинической биохимии в Гродненском государственном медицинском университете осуществляется студентам специальности 1-79 01 04 «Медико-диагностическое дело» на кафедре клинической лабораторной диагностики и иммунологии в течение четвертого года обучения.

Целью преподавания учебной дисциплины «Клиническая биохимия» является приобретение студентами научных знаний о механизмах и характере изменений химического состава биологических жидкостей организма человека при патологических состояниях, формирование у них практических навыков выполнения биохимических методов исследования и интерпретации полученных результатов.

Задачи изучения данной учебной дисциплины состоят в приобретении студентами академических компетенций, основу которых составляет способность к самостоятельному поиску учебно-информационных ресурсов, овладению способами приобретения и осмысления знания: основных методов, применяемых для биохимических исследований в клинико-диагностических лабораториях; патохимических процессов, лежащих в основе изменения биохимических параметров при патологических состояниях; современных биохимических диагностических технологий.

Преподавание и успешное изучение учебной дисциплины «Клиническая биохимия» осуществляется на базе приобретенных студентом знаний и умений по разделам следующих учебных дисциплин: общая химия – буферные системы. Способы приготовления растворов с заданной концентрацией. Объемные методы анализа. Методы определения pH растворов; биоорганическая химия – структура важнейших органических соединений, входящих в состав органов и тканей организма человека. Строение и функции липидов, углеводов, пептидов, белков, нуклеиновых кислот, стероидов и алкалоидов; аналитическая химия – методы качественного и количественного анализа, применяемые в медико-биологических исследованиях. Расчет концентраций веществ при приготовлении растворов. Выбор методов аналитического анализа в соответствии с поставленной аналитической задачей; биологическая химия – строение и метаболизм углеводов, липидов, белков, нуклеиновых кислот, витаминов, гормонов, минеральных веществ и их регуляция в норме и при патологии. Молекулярные механизмы развития основных патологических процессов, биохимические основы предупреждения и лечения заболеваний. Основные механизмы регуляции процессов жизнедеятельности. Методы биохимических исследований.

В результате освоения учебной дисциплины «Клиническая биохимия» студент должен знать: организацию и принципы выполнения основных методов количественного анализа биологических материалов, принципы автоматизации; технологию определения концентрации отдельных субстратов, активности

ферментов, содержания гормонов в биологическом материале; уметь: выбирать оптимальный аналитический метод исследования; выполнять методики определения концентрации или активности отдельных аналитов в биологическом материале согласно номенклатуре методов, рекомендуемых Министерством здравоохранения Республики Беларусь; оценивать результаты биохимических исследований (клинико-лабораторное заключение); организовывать и проводить контроль качества биохимических исследований; владеть: рутинными методами клинической биохимии.

Практические занятия по клинической биохимии структурированы с учетом проведения теоретической и практической части. Студентам четвертого курса медико-диагностического факультета преподаются клинико-биохимические аспекты белкового, углеводного и липидного обменов, обсуждаются вопросы применения методов клинической биохимии в диагностике наследственных и онкологических заболеваний, оценке водно-электролитного и минерального обмена, а также КОС, рассматриваются аспекты энзимодиагностики, лабораторной оценки обмена железа и билирубина, а также гормонального обмена и гемостаза. Практическая часть занятий проводится с использованием фотометрической и другой лабораторной техники, а также готовых наборов реагентов. Используя различные режимы измерения оптической плотности исследуемых растворов, студенты отрабатывают навыки выполнения определения различных аналитов в биологических материалах (кровь, моча).

Закрепление теоретических знаний по клинической биохимии, приобретаемых студентами на практических занятиях и лекциях, выполняется на врачебно-диагностической производственной практике после четвертого курса обучения.

Всего на изучение учебной дисциплины «Клиническая биохимия» отводится 256 академических часов, из них 170 часов – аудиторных. Распределение аудиторных часов по видам занятий: лекций – 26 часов, лабораторных – 144 часа. Форма получения высшего образования очная. Формы текущей аттестации: зачет (7 семестр) и экзамен (8 семестр).

**Выводы.** Клиническая биохимия является важной субдисциплиной клинической лабораторной диагностики. Учитывая востребованность в современной медицине клинико-биохимических исследований, преподавание клинической биохимии студентам-диагностам является важным и неотъемлемым элементом в образовательном процессе по данной специальности.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич, С. В. Клиническая биохимия / С. В. Лелевич. – Санкт-Петербург : ЛАНЬ, 2018. – 303 с.

# **МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ПРЕПОДАВАНИЯ РАЗДЕЛА «БИОХИМИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ» В ДИСЦИПЛИНЕ «БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ» НА МЕДИКО-ПСИХОЛОГИЧЕСКОМ ФАКУЛЬТЕТЕ**

**Маглыш С.С., Лелевич В.В.**

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,*

*г. Гродно, Республика Беларусь*

Социальная ситуация в современном мировом сообществе характеризуется все большим обострением межгосударственных, внутригосударственных и межличностных отношений. Возникающие конфликтные ситуации порождают социально-психологическую напряженность на разных уровнях организации современного общества. Психологическая нагрузка на жителей всех континентов еще больше увеличилась после объявления ВОЗ в марте 2020 г. о наличии пандемии, вызванной коронавирусом COVID–19. Все это несет серьезную угрозу психическому здоровью людей, независимо от их социального статуса, расовой и национальной принадлежности и существенно повышает потребность в высококвалифицированных психологах, психотерапевтах, психиатрах. В Республике Беларусь подготовка специалистов такого профиля проводится на медико-психологическом факультете УО «Гродненский государственный медицинский университет». На данный момент это единственный вуз в нашей стране, который осуществляет подготовку студентов по специальности 1–79 01 05 «Медико-психологическое дело» с присвоением квалификации врач-психиатр-нарколог, врач-психотерапевт, врач-невролог после прохождения интернатуры.

Дисциплину «Биологическая химия» студенты медико-психологического факультета изучают на втором курсе обучения. Базой для успешного освоения теоретической части данной дисциплины являются знания, полученные студентами ранее по таким учебным дисциплинам как медицинская биология и общая генетика, цитология, гистология, эмбриология, общая и биоорганическая химия.

Основой для преподавания дисциплины «Биологическая химия» на медико-психологическом факультете является учебная программа, составленная на базе типовой учебной программы для специальности 1–79 01 05 «Медико-психологическое дело» (составители: зав. кафедрой биологической химии ГрГМУ Лелевич В.В., доцент данной кафедры Маглыш С.С.).

Согласно данной программе на изучение дисциплины «Биологическая химия» по специальности 1–79 01 05 «Медико-психологическое дело» отводится 251 час (148 аудиторных часов, из них 56 лекционных часов и 92 часа лабораторных занятий). Формой аттестации в 3-ем семестре является зачет, а в 4-ом семестре – экзамен.

При преподавании дисциплины «Биологическая химия» сотрудники кафедры используют различные методы обучения: лекции, лабораторные

занятия, тестирование, элементы проблемного обучения в виде решения ситуационных задач и заданий, консультации, научно-исследовательскую работу в студенческом научном обществе при кафедре.

При изучении дисциплины «Биологическая химия» у студентов медицинских специальностей формируются базовые знания и умения, необходимые для последующего усвоения таких учебных дисциплин, как «Фармакология», «Патологическая физиология» и ряда специальных дисциплин.

Однако специальность 1–79 01 05 «Медико-психологическое дело» отличается от других специальностей медицинского профиля, поскольку будущим врачам придется преимущественно лечить не соматические, а психоневрологические патологии пациентов, причиной которых могут быть биохимические нарушения в нервной системе. Поэтому данная дисциплина должна формировать у студентов не только базовый уровень биохимических знаний, но и вносить вклад в развитие у них творческого профессионального мышления. Именно особенность будущей профессии должна найти свое отражение в рамках изучения биологической химии при подготовке специалистов данного профиля.

Отличительной особенностью учебной программы по дисциплине «Биологическая химия» для студентов по специальности 1–79 01 05 «Медико-психологическое дело» от аналогичных программ для других медицинских специальностей является включение в нее дополнительного раздела «Биохимия нервной системы». Поскольку в базовых учебниках по биохимии информации для усвоения в полном объеме данного раздела недостаточно, то на кафедре было разработано учебное пособие «Нейрохимия», которое соответствует учебной программе [2]. Это пособие значительно расширяет теоретические представления студентов о строении и функционировании нервной системы в норме и при патологиях.

Для методического обеспечения учебного процесса по разделу «Биохимия нервной системы» на лабораторных занятиях в практикум, разработанный сотрудниками кафедры [1], включены работы по определению биохимических показателей в спинномозговой жидкости. В этих работах также содержатся вопросы по теоретической и практической части каждой темы данного раздела. В конце практикума отдельным структурным компонентом приводится «Словарь основных терминов нейрохимии». Такая структура практикума позволяет студентам иметь у себя всю необходимую информацию для подготовки к лабораторным занятиям по разделу «Биохимия нервной системы».

После завершения изучения данного раздела биологической химии проводится тестирование и контрольное занятие для определения уровня усвоения материала. Однако, как показывают результаты контроля знаний, у студентов имеются трудности в запоминании количественных характеристик химического состава нервной ткани, в понимании особенностей метаболизма и функционирования нервной системы. Существенную помощь в активизации усвоения этих знаний, на наш взгляд, может оказать внедрение ситуационных

задач в учебный процесс по изучению раздела «Биохимия нервной системы». На кафедре имеется большой положительный опыт использования ситуационных задач и заданий в учебном процессе, а также разработано учебное пособие «Биологическая химия: сборник задач и заданий» [3]. В нем даны примеры решения ситуационных задач и выполнения заданий, содержатся комплексы задач и заданий для самостоятельной работы по другим разделам дисциплины. В настоящее время авторы данного пособия разрабатывают комплекс ситуационных задач и заданий по разделу «Биохимия нервной системы», который после апробации войдет в сборник при его переиздании. Мы считаем, что применение ситуационных задач и заданий в учебном процессе при изучении раздела «Биохимия нервной системы» позволит повысить уровень практико-ориентированной подготовки студентов и реализовать компетентностный подход в образовании на медико-психологическом факультете.

Таким образом, методическое обеспечение преподавания раздела «Биохимия нервной системы» при изучении дисциплины «Биологическая химия», созданное на нашей кафедре, поможет будущим специалистам медико-психологического профиля получить не только фундаментальные биохимические знания, но и приобрести специальные знания для понимания биохимических основ возникновения, развития, последствий и лечения патологий нервной системы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Лелевич, В. В. Биологическая химия: практикум для студентов, обучающихся по специальности 1-79 01 05 «Медико-психологическое дело» / В. В. Лелевич, С. С. Маглыш. – Гродно: ГрГМУ, 2022. – 164 с.
2. Лелевич, В. В. Нейрохимия: учебное пособие / В. В. Лелевич. – Гродно: ГрГМУ, 2021. – 260 с.
3. Маглыш, С. С. Биологическая химия: сборник задач и заданий / С. С. Маглыш, В. В. Лелевич. – Минск: Выш. шк., 2019. – 204 с.

## ПЕРВЫЙ ОПЫТ ПРОВЕДЕНИЯ ОБЪЕКТИВНОГО СТРУКТУРИРОВАННОГО ЭКЗАМЕНА ПО КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ

**Новикова И.А., Зубкова Ж.В., Прокопович С.С., Макеева К.С.**

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

**Актуальность.** Важнейшей задачей преподавания клинических дисциплин в современных условиях является повышение практической направленности обучения с целью развития самостоятельного творческого мышления и профессиональной медицинской направленности знаний. Задача подготовки специалистов, готовых к самостоятельной работе в клинико-диагностических лабораториях, требует неформальных подходов к организации

методического обеспечения учебного процесса и итоговой оценки знаний студентов. В отличие от подготовки врачей-лечебников возможность формирования навыков практической работы и их оценки с помощью симуляционных технологий по клинической лабораторной диагностике в значительной степени ограничена.

Необходимые умения и навыки, предусмотренные образовательным стандартом по специальности «Медико-диагностическое дело», отрабатываются у студентов на практических занятиях по клинической биохимии и во время прохождения производственной практики на клинических базах университета. Контроль качества овладения практическими навыками осуществляется при проведении зачета, который, как правило, занимает большое количество времени и включает значительный субъективный фактор. В этом аспекте применение подходов объективного структурированного клинического экзамена (ОСКЭ) повышает эффективность контроля в связи с наличием точных критериев оценивания.

**Цель.** Оценить результаты первого опыта применения ОСКЭ для контроля практических навыков по клинической биохимии.

**Материал и методы исследования.** Оценка практических навыков студентов в формате ОСКЭ реализована на кафедре клинической лабораторной диагностики, аллергологии и иммунологии УО «Гомельский государственный медицинский университет» при проведении итоговой аттестации по дисциплине «Клиническая биохимия». Такая форма оценки клинических компетенций для выпускников медико-диагностического факультета в Республике Беларусь ранее не проводилась.

Экзамен сдавали 90 студентов 5 курса медико-диагностического факультета, обучающихся по профилю субординатуры «Клиническая лабораторная диагностика» (33 человека); по профилю субординатуры «Инструментальная диагностика» (57 человек).

Для проведения аттестации практических навыков в форме ОСКЭ была создана станция «Внутрилабораторный контроль качества лабораторных исследований». Станция оснащена методическими материалами: оценочный лист (чек-лист) практического навыка; задание для студента, включающего контрольный материал, паспорт контрольного материала; бланк для заполнения экзаменуемым; информация для экзаменатора и экзаменуемого. Материально-техническое оснащение станции представлено персональным компьютером (ноутбук) с предустановленной программой Excel.

**Результаты и их обсуждение.** Накануне экзамена со студентами проводилась консультация. Студенты получили примерный перечень практических навыков, выносимых на аттестацию.

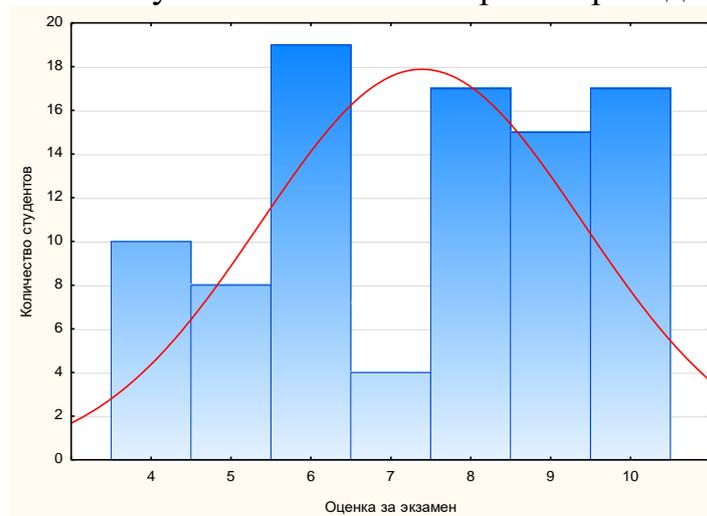
Время прохождения станции составляло 5 мин с учетом времени переходов. Экзамен включал 3 этапа. Первый этап заключался в оценке качества контрольного материала и принятии решения о целесообразности замены контрольного образца. Оценка проводилась по трем параметрам: визуальные характеристики и срок годности контрольного материала, а также соответствие данных исследования контрольного материала целевым

значениям лота. На втором этапе проводилось построение контрольной карты в программе Excel. Третий этап включал оценку контрольной карты и принятие решения о возможности дальнейшего проведению лабораторного анализа. На этом этапе студентом заполнялся бланк, в котором отмечалось наличие, вид ошибки и меры, которые необходимо принять в данной ситуации (результаты лабораторного исследования сомнительные, необходимо установить источник ошибки; анализ вышел из-под контроля, результаты не могут выдаваться в клинические отделения; результаты исследования контрольного материала достоверны, предупредительные и контрольные критерии не установлены). Следует подчеркнуть, что выбор станции на этапе проектирования экзамена был произведен не случайно. Умение организовать и выполнить внутренний контроль качества лабораторных исследований является важнейшим компонентом в будущей работе врача лабораторной медицины.

Оценка владения практическим навыком проводилась экзаменатором с использованием оценочного листа (чек-листа) в соответствии с указанными критериями выполнения и начисления баллов за выполнение манипуляции. Начисление баллов проводилось по 7 позициям с использованием бинарной шкалы оценки – выполнил в полном объеме/не выполнил. При начислении баллов учитывалась важность овладения данным навыком.

По результатам экзамена средний балл экзаменуемых составил 7,3. Распределение оценок представлено на рисунке.

По результатам экзамена был проведен дебрифинг с разбором ошибок, допущенных экзаменуемыми при выполнении предлагаемого задания, регистрацией возникших у студентов затруднений, а также их замечаний и пожеланий. Большинство студентов (82%) отметили свое отношение к данной форме проведения экзамена как положительное. При этом они подчеркнули, что такая форма аттестации максимально приближает к реальной клинической ситуации (57% опрошенных), мобилизует к быстрому принятию решений (70%), устраняет элемент субъективизма со стороны преподавателя (39%).



**Рисунок – Анализ результатов ОСКЭ**

Со студентами, получившими более низкие баллы (6 баллов и ниже – 41%), был проведен дебрифинг с индивидуальным разбором ошибок. При этом

выяснилось, что наибольшие затруднения у экзаменуемых вызвал третий этап экзамена, связанный с непосредственной оценкой контрольной карты: выявлением ошибки и принятием решения по дальнейшим действиям. Это послужило важным сигналом для преподавателей в плане совершенствования дальнейшей работы

**Выводы.** Анализируя первый опыт проведения аттестации студентов по клинической биохимии в формате ОСКЭ, следует отметить высокий уровень удовлетворенности как студентов, так и экзаменаторов такой формой контроля клинической компетентности. Расширение спектра тестируемых практических навыков, их применение не только для итоговой, но и для текущей аттестации обеспечит более полное овладение предусмотренными образовательным стандартом компетенциями. В сочетании с оценкой теоретических знаний такой подход позволит добиться более высокого уровня подготовки будущих врачей и степени их готовности к самостоятельной практической деятельности.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Балкизов, З. З. Объективный структурированный клинический экзамен. Руководство / З. З. Балкизов, Т. В. Семенова // Мед. образование и проф. Развитие. – 2016. - № 3. – С. 27-63.
2. Объективный структурированный клинический экзамен как инструмент аккредитации медицинских специалистов / Алексеева А. Ю., [и соавт.] // Симуляционные технологии. – 2018. - №1. – С.15-53.
3. Потапов М. П. Роль симуляционных образовательных технологий в обучении врачей // Высшее образование в России. - 2019. - Т. 28. № 8-9. - С. 138–148. DOI: <https://doi.org/10.31992/0869-3617-2019-28-8-9-138-148>

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭЛЕКТРОННОГО РЕСУРСА «БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ АПОПТОЗА» ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ УПРАВЛЯЕМОЙ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ ПО ДИСЦИПЛИНЕ «ПРОТЕОМИКА»

**Халецкая Е.И.**

*УО «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы»,  
г. Гродно, Республика Беларусь*

**Актуальность.** В современном мире все хотят большего комфорта и удобства как в жизни, так и в учёбе. Поэтому теперь к каждой печатной книге или учебнику имеется электронный аналог. Электронные книги и пособия в наше время становятся всё более актуальными. Такой популярностью они пользуются благодаря большим списком преимуществ, но самое главное качество электронных ресурсов – это их компактность и удобство в использовании.

**Цель.** Главной целью данной работы является облегчение управляемой самостоятельной работы для студентов при изучении апоптоза и создание

электронного ресурса «Биологическая роль апоптоза» на основе теоретических сведений по данной теме.

**Материалы и методы исследования.** Электронные образовательные ресурсы (ЭОР) – это представленные в цифровом формате материалы, фотографии, видеофрагменты, звукозаписи, текстовые документы и другие виды учебных материалов, которые необходимы для организации учебной деятельности. Данные ресурсы чаще всего используются для самостоятельного изучения определенного материала учащимся как школы, так и университета. [1, с. 128].

Для повышения качественного выполнения управляемой самостоятельно работы у студентов по курсу «Протеомика» был создан электронный ресурс «Биологическая роль апоптоза». При создании ресурса была использована учебная и научная литература. Электронный ресурс по теме «Биологическая роль апоптоза» был создан на платформе программы Flip PDF Professional 2.4.9.29. Программа обладает множеством разнообразных свойств:

1. Добавление текста, медиафайлов, линий, ссылок, звуковых файлов;
2. Имеется множество вариантов публикации, то есть непосредственно в Интернете, на различных мобильных устройствах, на компьютере и в виде HTML-файлов;
3. Эта программа доступна как для Windows, так и для Mac;
4. Установка пароля для электронной книги;
5. Возможность добавить кнопку на странице для открытия ссылок, проигрывания медиафайлов;
6. Изменение порядка, добавление, удаление и сортировка страниц в окне «Редактирование Страниц»;
7. Экспорт проектов для будущего использования;
8. Возможность переворота и прокрутки страниц, увеличение или уменьшение их масштаба;
9. Использование кнопок «Предыдущая», «Следующая», «В начало», «В конец»;
10. Включение и выключение звука страниц;
11. Изменение или добавление стиля электронного ресурса;
12. Добавление звука при перевороте страниц электронного ресурса;
13. Возможность переключения просмотра для компьютера и мобильного телефона;
14. Изменение фона программы;
15. Добавление водяных знаков;
16. Возможность создания цифровой библиотеки, в которой можно просматривать имеющиеся проекты, хранить их или редактировать через некоторое время;
17. Добавление одностраничного или же двухстраничного просмотра проекта;
18. Возможность размещать ссылку на электронную книгу через такие соцсети как: Facebook, Twitter, Google, Yahoo, и т.д.

**Результаты и обсуждения.** Электронный ресурс состоит из 4 теоретических разделов: «История открытия апоптоза», «Молекулярный механизм апоптоза», «Биологическая роль апоптоза» и «Феноптоз и его биологическая роль». В каждом разделе представлены ключевые понятия и основная информация по теме:

1) В разделе «История открытия апоптоза» приводится информация об основных этапах изучения запрограммированной клеточной смерти, о признаках отличия апоптоза от некроза.

2) В разделе «Молекулярный механизм апоптоза» описаны фазы апоптоза и его регуляция.

3) Раздел «Биологическая роль апоптоза» содержит описание многообразных биологических функций апоптоза и примеры патологий, вызванных усилением или ослаблением апоптоза.

4) В разделе «Феноптоз и его биологическая роль» приведена информация о разнообразных примерах запрограммированной смерти организмов. Феноптоз – это запрограммированная смерть организма, который из-за дефектов, накопившихся с возрастом, может приносить вред популяции [2, с. 7].

Электронный ресурс обладает такими составляющими, как наличие текста, медиафайлов, ссылок, при клике на которых можно перейти к списку литературы и т. д. Для преподавателя такая форма самостоятельной работы у учащегося позволяет реализовать на практике инновационные методы обучения, а также помогает повысить информатизацию образования и интерес к своему предмету. Использование электронного ресурса «Биологическая роль апоптоза» имеет ряд таких положительных качеств, как:

1) улучшения усвоения материала за счет возможности многократного повторения теоретического материала, который включает в себя электронный ресурс;

2) повышение уровня заинтересованности учащегося к изучаемому предмету;

3) получение дополнительных знаний, которые не озвучиваются на занятиях и не находятся в учебниках;

4) повышение мотивации учащегося к получению нового материала;

5) индивидуализация процесса обучения, так как учащийся самостоятельно прорабатывает нужный ему дополнительный материал;

6) повышение качества обучения и оптимизации учебного процесса, так как изучение материала благодаря электронному ресурсу позволяет запомнить большее количество материала за меньший промежуток времени.

**Выводы.** Был проведен анализ современной научной и учебной литературы об апоптозе, его биологических функциях и роли в организме, переработанная информация была представлена в адаптированной для учебного процесса форме и создан электронный ресурс по теме «Биологическая роль апоптоза». Ресурс был выполнен на основе программы Flip PDF и состоит из 26 страниц, несущих смысловую нагрузку. Все представленные в пособии рисунки и схемы, наглядно дополняют теоретическую информацию, делают её проще в

понимании и усвоении. Данный ресурс позволяет не только изучить данную тему с нуля, но и углубить и дополнить уже известный материал для студента.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Куценко, С. М. Электронные образовательные ресурсы как инструмент обучения / С. М. Куценко, В. В. Косулин // Вестник Казанского государственного энергетического университета. – 2017. – № 4(36). – С. 127-134.
2. Скулачев, В.П. Старение организма – частный случай фенотоза / В. П. Скулачев / Соросовский образовательный журнал. 2001. Т.7. № 10. С. 7-11.

Научное издание

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ  
ОБЩЕЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ – 2023**

*Материалы республиканской  
научно-практической конференции*

26 мая 2023 года

Ответственный за выпуск С. Б. Вольф

Компьютерная верстка С. В. Петрушиной, А. А. Хартанович  
Корректурa А. Г. Виницкая

Подписано в печать 17.06.2023  
Тираж 9 экз. Заказ 91.

Издатель и полиграфическое исполнение  
Учреждение образования  
«Гродненский государственный медицинский университет»  
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013. Ул. Горького, 80, 230009, Гродно

ISBN 978-985-595-812-4

