

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Рязанский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра биологической химии с курсом КЛД ФДПО

**БИОХИМИЧЕСКИЕ НАУЧНЫЕ ЧТЕНИЯ
ПАМЯТИ АКАДЕМИКА РАН
Е.А. СТРОЕВА**

**Сборник материалов Всероссийской
научно-практической конференции
с международным участием**

Рязань, 26-27 января 2022 г.

Рязань, 2022

УДК 577.1
ББК 28.072
С232

Редакционная коллегия:

Матвеева И.В. – кандидат медицинских наук, доцент

Абаленихина Ю.В. – кандидат биологических наук, доцент

Марсянова Ю.А. – ассистент

С232 Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева: сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Рязань, 26-27 января 2022 г.) / ред. кол.: И.В. Матвеева, Ю.В. Абаленихина, Ю.А. Марсянова; ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. – Рязань, 2022. – 270 с.

ISBN 978-5-8423-0217-8

В сборник материалов собраны тезисы докладов, представленных на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева». Материалы посвящены актуальным вопросам применения биохимических методов в клинической и экспериментальной медицине, вопросам высшего образования, представлены результаты фундаментальных исследований.

Сборник рекомендован к изданию решением
Научно-планового совета ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России
от 10.02.2022, протокол №6

УДК 577.1
ББК 28.072

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ И ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ БИОМЕДХИМИЯ

POU6F1 TRANSCRIPTION FACTOR MEDIATES CRH-DEPENDENT PLASTICITY IN THE BRAIN

M.Y. Kochukov, C.K. McClard, I. Herman, Z. Liu, A. Eblimit, Y. Moayedi,
J. Ortiz-Guzman, D. Colchado, B. Pekarek, S. Panneerselvam, G. Mardon,
B.R.Arenkiel

Baylor College of Medicine. Jan and Dan Duncan Neurological Research
Institute at Texas Children's Hospital, Houston, USA

Understanding mechanisms of plasticity in the adult brain is helpful for devising strategies to understand and treat neurological disorders. The mouse olfactory bulb (OB) features continued, activity-dependent integration of adult-born neurons, providing a robust model to examine mechanisms of continued cell integration and synaptogenesis [1, 2]. We previously reported that activity-dependent corticotropin-releasing hormone (CRH) signaling by local interneurons, residing within the external plexiform layer, shapes continual refinement of OB circuitry [3]. This effect is mediated via activation of the CRH receptor 1 (CRHR1), which is developmentally regulated during adult-born granule cell (GC) interneuron maturation. CRHR1 is a GS-protein-coupled receptor that activates CREB-dependent transcription in the presence of CRH.

In the present study, we investigated gene expression changes downstream of CRHR1 activity in OB GCs. To identify candidate target genes, we performed a microarray screen using animal models of CRHR1 knock out [4] and gain-of-function by expressing genetically modified variants of the CRHR1 receptor [3]. We found that CRHR1 activation was associated with expression of the brain-specific Homeobox-containing transcription factor POU Class 6 Homeobox 1 (POU6f1), a member of the POU factor family of transcription factors, which regulate expression of developmental genes in the nervous system [5]. To verify the relationship of CRHR1 activity to POU6f1 in the OB, we performed RNA in situ hybridization and found lower POU6f1 expression in GC layer of CRHR1 knock out animals. Consistent with these data, in vitro luciferase reporter assays showed regulation of POU6f1 expression by CRHR1 activation.

We next sought to reveal the relationship between POU6f1 and CRHR1 expression in intact brain tissue. We used a CRISPR-based gene-targeting strategy to generate a novel mouse line that harbors a multimeric hemagglutinin tag at the C-terminal end of POU6f1 (POU6f1HA/HA). We then crossed the POU6f1HA/HA mouse line with a CRHR1-EGFP reporter mouse line and

stained OB sections obtained for HA antigen. Colocalization analysis showed that about 50 % of CRHR1-positive cells are POU6f1::HA-positive suggesting that CRHR1 activation in vivo may drive expression of POU6f1 in a large subset of CRHR1-expressing GCs. To determine whether expression of POU6f1 is associated with a specific developmental stage, we co-stained GCs for POU6f1::HA and NeuN, a marker for mature neurons and found that POU6f1 expression is likely correlates with maturity in neurons. This is consistent with the notion that POU6f1 influences later aspects of maturation and suggests that POU6f1 expression would affect the synaptic integration of adult-born GCs.

To determine the effects of altered POU6f1 expression on synaptic connectivity we generated models of loss- and gain-of-POU6f1-function using CRHR1-Cre transgenic mice [3] to target CRHR1 expressing neurons for POU6f1 knock-out or overexpression, respectively. For loss-of-function studies, we crossed CRHR1-Cre transgenic mice to a novel POU6f1 conditional knock out ready (POU6f1floxed Exon2-11) mouse line to generate CRHR1-Cre; POU6f1 Δ Exon2-11/ Δ Exon2-11 knock out animals, harboring a recombined floxed POU6f1 allele excised of exons 2–11, including the DNA-binding domain, in CRHR1 expressed cells. For gain-of-function studies, CRHR1-Cre animal OBs were stereotaxically injected with adeno associated virus carrying a Cre-dependent copy of POU6f1 cDNA fused to a GFP marker.

To assess the synaptic integration of neurons, we performed whole-cell voltage-clamp recordings of miniature excitatory postsynaptic currents (mEPSCs) from labeled CRHR1 positive GCs in acute brain slices obtained from POU6f1 loss-of-function, control, and gain-of-function groups. The mEPSC frequency reflects the number of newly formed synaptic contacts as the adult born neuron matures, thus providing a robust tool to study activity dependent GC plasticity [6]. Neurons that lacked POU6f1 showed a decreased frequency of mEPSC suggesting that POU6f1 is required for CRHR1 expressing neurons to establish the normal repertoire of excitatory connections. Morphology analysis showed that the level of POU6f1 expression correlates with the apical dendrite lengths and formation of dendritic branches, further supporting the role of POU6f1 as a transcriptional regulator that can influence dendrite specification and is required to establish a normal complement of excitatory synapses onto GCs.

Overall, the data herein present the first evidence that a specific transcription program can be initiated downstream of activity-dependent local peptide signaling to the end effect of functional circuit refinement in the adult brain.

Reference:

1. Lois C., Alvarez-Buylla A. (1994) Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science* 264:1145–1148.
2. Lledo P-M., Valley M. (2016) Adult olfactory bulb neurogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 8:a018945.

3. Garcia I., Quast K.B., Huang L., Herman A.M., Selever J., Deussing J.M., Justice N.J., Arenkiel B.R. (2014) Local CRH signaling promotes synaptogenesis and circuit integration of adult-born neurons. *Dev Cell* 30:645–659.

4. Smith G.W., Aubry J.M., Dellu F., Contarino A., Bilezikjian L.M., Gold L.H., Chen R., Marchuk Y., Hauser C., Bentley C.A., Sawchenko P.E., Koob G.F., Vale W., Lee K.F. (1998) Corticotropin releasing factor receptor 1-deficient mice display decreased anxiety, impaired stress response, and aberrant neuroendocrine development. *Neuron* 20:1093–1102.

5. Latchman D.S. (1999) POU family transcription factors in the nervous system. *J Cell Physiol* 179:126–133.

6. Breton-Provencher, V., Coté, D., and Saghatelian, A. (2014). Activity of the principal cells of the olfactory bulb promotes a structural dynamic on the distal dendrites of immature adult-born granule cells via activation of NMDA receptors. *J. Neurosci.* 34, 1748–1759.

РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА NRF-2 В РЕГУЛЯЦИИ P-ГЛИКОПРОТЕИНА В УСЛОВИЯХ ЭНДОГЕННОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Ю.В.Абаленихина¹, П.Д.Ерохина¹, А.В.Щулькин¹, Е.Н.Якушева¹,
М.Ю.Пшенникова², О.Б.Кравченко²

¹ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, ²ГБУ РО «ГКБСМП», г.Рязань,
Российская Федерация

Актуальность. Р-гликопротеин (Pgp, ABCB1-белок, MDR1) относится к суперсемейству ABC-транспортёров и является мембранным АТФ-зависимым эффлюксным белком с молекулярной массой 170 кДа [1]. На данный момент известно, что Pgp обеспечивает механизмы резистентности опухолей к химиотерапии [2], участвует в транспорте эндогенных и экзогенных веществ, фармакокинетике лекарственных препаратов [1], а также защищает забарьерные органы [1]. В связи с тем, что Pgp выполняет ряд функций как при патологических (болезнь Альцгеймера, Паркинсона, эпилепсия, карцинома, саркома, лимфома), так и при физиологических состояниях вопрос регуляции белка-транспортёра является актуальным.

В настоящее время известны несколько механизмов регуляции Pgp – это изменение экспрессии гена MDR1 и его полиморфизм, стабилизация мРНК гена MDR1, изменение активности синтезированного белка-транспортёра и изменение свойств цитоплазматических мембран [3]. При развитии эндогенного окислительного стресса (ОС) за счет подавления активности антиоксидантных ферментов, в первую очередь происходит запуск внутриклеточных транскрипционных факторов. Так в условиях ОС

отмечается активация редокс-чувствительного транскрипционного фактора Nrf2 (NF-E2-related factor 2) [4], который защищает клетку от воздействия свободных радикалов и может вносить существенный вклад в регуляцию активности Pgr.

Материалы и методы. Исследование выполнено на линии клеток аденокарциномы ободочной кишки человека (Caco-2) (ЦКП «Коллекция культур клеток позвоночных», Санкт-Петербург, Россия). Эндогенный окислительный стресс моделировали добавлением в культуральную среду ингибитора синтеза глутатиона - DL-бутионинсульфоксима (BCO, «Sigma-Aldrich», США) в конечных концентрациях 1; 5; 10, 50, 100 и 500 мкМ и инкубацией в течение 24 и 72 ч. Смену среды проводили каждые 24 ч. На каждый эксперимент было выполнено по 3 повторения. Анализ содержания небелковых SH-групп в лизате клеток проводили по методу Элмана с 5,5'-дитиобис(2-нитро)-бензоатом (DTNB) в неденатурирующих условиях [5]. Концентрацию карбонильных производных окисленных аминокислотных остатков белков определяли по реакции с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов, которые регистрировали при длине волны 375 нм [6].

Количество Pgr и Nrf2 определяли методом гетерогенного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов. Светопоглощение измеряли при 450 нм. Фотометрические измерения проводились на спектрофотометре для планшетов StatFax 2100 («Awareness Technology», США). Количество белка в пробах анализировали методом Бредфорда.

Полученные результаты анализировали с помощью программ «StatSoft Statistica 13.0» и Microsoft Excel. Результаты представлены в виде $M \pm SD$. Парные сравнения выполняли с помощью критерия Ньюмена-Кейлса, корреляционный анализ проводили с помощью критерия Пирсона. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. При воздействии BCO в течение 24 и 72 ч и концентрации 1 и 5 мкМ уровень небелковых SH-групп не изменялся, однако при концентрациях BCO 10; 50; 100; 500 мкМ отмечалось снижение уровня небелковых SH-групп на 41,6 и 33,3%; 58,3 и 50,0%; 66,7 и 58,3%; 55,8 и 57,5% соответственно.

Степень развития ОС оценивали по уровню карбонильных производных белков. Инкубация клеток линии Caco-2 с BCO в концентрациях 10; 50; 100 и 500 мкМ в течение 24 и 72 ч приводила к увеличению уровня карбонильных производных белков на 15,5 и 36,6%; 19,8 и 37,6%; 21,2 и 63,1%; 150,0 и 69,1% соответственно. Полученные результаты свидетельствуют о развитии ОС, так как отмечается истощение антиоксидантных систем (за счет снижения уровня глутатиона) и увеличивается уровень продуктов взаимодействия активных форм кислорода с белками (карбонильных производных белков).

В условиях эндогенного окислительного стресса отмечалось увеличение количества Nrf2. При воздействии БСО в течение 24 ч количество Nrf2 возрастало при концентрации 10 мкМ на 157,8%, 50 мкМ – на 146,7%, 100 мкМ – на 164,4% соответственно. Воздействие БСО в течение 72 ч привело к увеличению количества Nrf2 при концентрации ингибитора 50 мкМ на 195,7%, 100 мкМ – на 210,8%.

Количество Pgp при воздействии БСО в течение 24 ч возрастало при концентрациях 10; 50 и 100 мкМ на 71,6%; 51,6 и 25,4% соответственно. При воздействии БСО в течение 72 ч и концентрациях 1-100 мкМ количество Pgp не изменялось, а при 500 мкМ снижалось на 35,6%.

Анализ полученных результатов выявил, что концентрация Pgp в лизате клеток Сасо-2 прямо пропорционально коррелировала количеством Nrf2 в экспериментах с БСО при сроке инкубации 24 ч и при концентрации 1-500 мкМ.

Вывод. При развитии эндогенного окислительного стресса, индуцированного DL-бутионинсульфоксимом, происходит увеличение количества белка-транспортера Р-гликопротеина и положительно коррелирует с количеством транскрипционного фактора Nrf2. Полученные результаты указывают на регуляторную роль Nrf2 в отношении Р-гликопротеина.

Список литературы:

1. Якушева Е.Н., Титов Д.С., Правкин С.К. Локализация, модели функционирования и физиологические функции гликопротеина-Р. Успехифизиол. наук. 2017. 48 (4). 70–87.
2. Dyson J., Foll F.L., Magal P., Noussair A., Pasquier J. Direct and indirect P-glycoprotein transfers in MCF7 breast cancer cells. J. Theor Biol. 2019. 14 (461). 239-253.
3. Якушева Е.Н., Черных И.В., Щулькин А.В., Попова Н.М. Гликопротеин-Р: структура, физиологическая роль и молекулярные механизмы модуляции функциональной активности. Успехифизиол. наук. 2014. 45. (4). 89-98.
4. Wen Zh., Liu W., Li X., Chen W., Liu J., Wen Zh., Liu Zh. A Protective Role of the NRF2-Keap1 Pathway in Maintaining Intestinal Barrier Function, Oxid. Med. Cell Longev., 2019, e1759149/
5. Ellman L.G. Tissue sulfhydryl groups, Arch. Biochem. Biophys., 1959. 82. 70-77.
6. Weber D., Davies M.J., Grunea T. Determination of protein carbonyls in plasma, cell extracts, tissue homogenates, isolated proteins: Focus on sample preparation and derivatization conditions, Redox Biol., 2015. 5. 367–380.

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДИЗРАПТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ МЕТАЛЛОВ НА СОСТОЯНИЕ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ НА ПРИМЕРЕ РЕЦЕПТОРОВ К ЭСТРОГЕНАМ

Т.В. Боева

ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава РФ, г.Оренбург, Российская Федерация

Актуальность. В последние годы во всем мире наблюдается рост заболеваний эндокринной системы. По данным ВОЗ, за последние 30 лет заболеваемость ожирением возросла в 2 раза, сахарным диабетом - в 4 раза. Кроме того, по данным Министерства Здравоохранения Российской Федерации за последние 10 лет выявлен рост заболеваемости эндокринной патологией на 39% [2,3].

С 90-х годов прошлого века в научной литературе появились работы, посвященные изучению влияния на здоровье химических веществ, названных эндокринными дизрапторами, вызывающих заболевания эндокринной системы, патогенетически связанных с репродуктивной и сердечно-сосудистой, иммунной и нервной системами, с развитием гормон-зависимых опухолей [1].

Согласно определению Всемирной организации здравоохранения / Международной программы химической безопасности (ВОЗ /МПХБ 2002 г) эндокринный дизраптор – это экзогенное вещество или несколько веществ, которые изменяют функцию эндокринной системы и, следовательно, вызывает неблагоприятные последствия для здоровья интактного организма, его потомства или (суб) популяций. Потенциальным эндокринным дизраптором является экзогенное вещество или несколько веществ, обладающих свойствами, которые, как можно ожидать, приведут к эндокринным нарушениям в интактном организме, его потомстве или (суб) популяциях» [7].

В литературе имеются сведения, что многие ксенобиотики в окружающей среде способны связываться с клеточными рецепторами эстрогена, а затем имитировать действие физиологических эстрогенов.

На сегодняшний день это, в основном, соединения органического происхождения, в частности в их строении присутствуют фенольные или углеводородные кольцевые структуры различной сложности. Недавние сообщения о способности некоторых ионов металлов также связываться с эстрогеновыми рецепторами и вызывать ответные реакции *in vitro* и *in vivo* привели к осознанию того, что агонистами этих рецепторов также могут быть вещества неорганической природы, и такие ксеноэстрогены были названы металлоэстрогенами [4,8].

Цель исследования – определить молекулярно-биологические механизмы дизрапторного действия металлов на состояние эндокринной системы на примере рецепторов к эстрогенам.

Материалы и методы. Обзор отечественной и зарубежной литературы.

Результаты и обсуждение. Молекулярная основа действия эстрогенов начинается с взаимодействия лиганда с внутриклеточными рецепторами, которые являются факторами транскрипции «цинковых пальцев». ДНК-связывающий домен (ДСД) эстрогенового рецептора (ЭР) состоит из двух цинковых пальцев, каждый образован боковыми цепями двух пар остатков цистеина, координированных с одним атомом цинка. В цитоплазме клетки эстроген связывается с лиганд-связывающим доменом (ЛСД) димеров ЭР, и лиганд-рецепторный комплекс затем связывается через цинковые пальцы с конкретными нуклеотидными последовательностями в ДНК, названными элементами ответа на эстроген (ЭОЭ). Ранние эксперименты с использованием аффинной хроматографии показали, что ЭР может связываться с некоторыми металлами, прикрепленными к матрице колонки, особенно Zn (II), Ni (II), Co (II) и Cu (II), но не Fe (II) или Cd (II). Дальнейшие исследования показали, что некоторые металлы могут заменять цинк в цинковых пальцах ЭР и тем самым изменяют способность ДСД для привязки к ЭОЭ [9].

Было показано, что кроме соединения с ДСД, металлы способны связываться с ЛСД ЭРа и блокировать присоединение 17β-эстрадиола к этому домену. Кадмий блокирует связывание [³H]-эстрадиола с ЭРа и специфически взаимодействует с ЛСД. Хром Cr (II), кобальт, медь, свинец, ртуть, никель, олово и ванадаты могут полностью вытеснить [³H]-эстрадиол из ЭРа так же, как и арсениты и селениты. Исследования связывания с использованием радиоактивно меченных металлов показали, что ⁵⁷Co и ⁶³Ni могут связываться с рекомбинантным ЭРа с константами равновесной диссоциации 3×10^{-9} М и 2×10^{-9} М соответственно, которые не отличаются от диапазона констант диссоциации [³H]-17β-эстрадиола из ЭРа. В последнее время было показано, что алюминий в виде хлорида алюминия или хлоргидрата алюминия вытесняет [³H]-эстрадиол из цитозольного ЭРа человека MCF7 клетки рака груди [4,6,10,11,12].

При прикреплении к эстрадиолу ионы металлов (палладий и платина), как было обнаружено, увеличивают относительную аффинность связывания лиганда с рецепторами клеток MCF7, и авторы отметили, что «для катионного комплекса это беспрецедентно более высокая аффинность связывания с ЭР, чем для его безметаллового лиганда» [5]. Однако, помимо блокирования связывания 17β-эстрадиола с ER, присутствующих в цитозоле, эти металлоэстрогены также могут вызывать эффекты агонистов эстрогеновых рецепторов в целых клетках. Добавление металлоэстрогенов, само по себе, может привести к понижению регуляции уровня ЭР, повышенной экспрессии генов, регулируемых эстрогенами, и усилению пролиферации клеток, рост которых зависит от эстрогенов. Влияние на экспрессию генов металлоэстрогенами может блокироваться антиэстрогенами, подразумевая, что механизмы были ЭР-опосредованы»

[4,6,10,11,12]. Интересно, что металлоэстрогены, по-видимому, не мешают действию 17 β -эстрадиола на экспрессию генов и деление клетки, и наоборот, в некоторых случаях усиливают агонистическое действие 17 β -эстрадиола. Медь и кобальт усиливают пролиферацию MCF7 клетки рака груди человека в присутствии 17 β -эстрадиола. Кадмий, хром, медь, кобальт, свинец, никель, ртуть, олово, ванадат и алюминий, вводимые в присутствии 17 β -эстрадиола, могут увеличивать экспрессию специфических генов до более высоких уровней, чем при использовании только эстрадиола [4,6].

Выводы. Таким образом, к катионам и анионам металлов, обладающих свойствами эндокринных дизрапторов, относятся алюминий, цинк, арсениды, барий, кадмий, хром (II), кобальт, медь, свинец, ртуть, никель, селениды, олово, ванадаты, палладий и платина. Однако необходимо продолжить изучение дизрапторных свойств металлоэстрогенов.

Список литературы:

1. Исаев Л.И. Воздействие на организм человека опасных и вредных экологических факторов. Метрологические аспекты: В 2-х томах / под ред. Л.И. Исаева. – М.: ПАИМС, 1997. – 512 с.

2. Изменение липидного обмена у населения, проживающего в зонах воздействия мест складирования отходов горно-обогатительного производства, содержащих свинец, кадмий и мышьяк / К.П. Лужецкий, О.Ю. Устинова, И.Е. Штина, С.А. Вековшина, Ю.А. Ивашова, М.Ю. Цинкер // Медицина труда и промышленная экология. – 2016. – № 8. – С. 32-37.

3. Лужецкий, К.П. Нарушение физического развития у детей, проживающих в условиях низкоуровневого загрязнения атмосферного воздуха и питьевой воды металлами на примере Пермского края. / К.П. Лужецкий, О.Ю. Устинова, А.Ю. Вандышева, С.А. Вековшина // Гигиена и санитария. – 2017. – Т. 96. – № 1. – С. 70-75.

4. Darbre PD. Metalloestrogens: an emerging class of inorganic xenoestrogens with potential to add to the oestrogenic burden of the human breast. *J Appl Toxicol* 2006;26:191–7.

5. Jackson A, Davis J, Pither RJ, Rodger A, Hannon MJ. 2001. Estrogen-derived steroidal metal complexes: agents for cellular delivery of metal centers to estrogen receptor-positive cells. *Inorg. Chem.* 40: 3964–3973.

6. Martin MB, Voeller HJ, Gelmann EP, Lu J, Stoica EG, Hebert EJ, Reiter R, Singh B, Danielsen M, Pentecost E, Stoica A. 2002. Role of cadmium in the regulation of AR gene expression and activity. *Endocrinology* 143: 263 – 275.

7. Overview Report II: An overview of current scientific knowledge on the life cycles, environmental exposures, and environmental effects of select endocrine disrupting chemicals (EDCs) and potential EDCs as for July 2017.

8. Philippa D. Darbre. Endocrine Disruption and Human Health (Second Edition), 2022, Pages 3-29.

9. Predki PF, Sarkar B. 1992. Effect of replacement of 'zinc finger' zinc on estrogen receptor DNA interactions. J. Biol. Chem. 267: 5842–5846.

10. Stoica A, Katzenellenbogen BS, Martin MB. 2000a. Activation of estrogen receptor- α by the heavy metal cadmium. Mol. Endocrinol. 14: 545–553.

11. Stoica A, Pentecost E, Martin MB. 2000b. Effects of arsenite on estrogen receptor- α expression and activity in MCF-7 breast cancer cells. Endocrinology 141: 3595–3602.

ВЛИЯНИЕ РАЗНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ СОПРОТИВЛЕНИЙ НА ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ

Ю.Ю.Бяловский, И.С. Ракитина

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. В течение последних 20 лет кафедра патофизиологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России занимается вопросами изучения механизмов адаптации к увеличенному сопротивлению дыханию [1]. Актуальность этой проблемы особенно обнажилась в последние два года, когда человечество столкнулось с проблемой Ковид-19. Для защиты и профилактики данной инфекции используются дыхательные маски и респираторы. Какое действие оказывают эти средства защиты дыхания на организм человека? Этот вопрос с особой силой поднимается в последнее время, ибо число людей, регулярно использующих маски, исчисляется десятками миллионов человек.

Цель. Изучение изменений показателей крови при использовании дополнительных респираторных сопротивлений.

Материалы и методы. В настоящем исследовании приняли участие 18 испытуемых, практически здоровых, мужского и женского пола, средний возраст которых составлял 20,7 лет. В качестве дополнительного респираторного сопротивления использовались инспираторные резистивные нагрузки разной интенсивности. Для дозирования нагрузок применяли оригинальное устройство, закрепленное патентом на изобретение [2]. В тонкостенную трубку вставлялся патрубок, соединенный с помощью эластического шланга с источником сжатого воздуха. В качестве эластического элемента, пережимающего сечение трубки, использовали резиновую трубку, края которой герметически соединяли с дыхательной маской. Для управления величиной подаваемых резистивных нагрузок использовали баллон-нагнетатель и манометр. Измерение показателей внешнего дыхания осуществляли с помощью спирометра и капнографа. Нами использовались дополнительные

респираторные сопротивления (ДРС) величиной 11, 28,54 и 76 см.вод.ст./л/с. Выбор этих значений ДРС был не случаен, т.к. отражает критические зоны резистивной изовентиляторной перестройки дыхания. С целью биологической стандартизации раздражителя абсолютные значения сопротивлений преобразовывались в относительные. Для этого применялись относительные градации ДРС: 40,60,70 и 80%P_{тmax}, где P_{тmax} – максимальное внутриротовое давление, возникающее во время выполнения маневра Мюллера (вдох при полном перекрытии рта и носа). ДРС действовало на протяжении 5 минут, но если возникало ощущение тяжелой одышки, испытуемые могли остановить резистивную нагрузку, нажав специальную кнопку.

Для определения биохимических показателей крови использовался биохимический анализатор PP-901 фирмы «Labsystems», со стандартными наборами реактивов «BeringerMannheim» и «Lahema». Содержание серотонина, адреналина и норадреналина в крови измерялось флюориметрическим методом. Интенсивность окислительных процессов оценивали по уровням ключевых метаболитов перекисного окисления липидов (ПОЛ): уровню гидроперекисей крови, концентрации малонового диальдегида, содержанию свободных жирных кислот. Оценка антиокислительной системы (АОС) базировалась на измерении каталазной активности и общей антиокислительной активности. Иммунологический статус определялся оценкой популяционного состава лимфоцитов (использовались моноклональные антитела с расчетом иммунорегуляторного индекса). Иммуноглобулины классов А, G, М измерялись турбидиметрическим методом. Кровь из кубитальной вены бралась для анализа до и после применения ДРС.

Результаты. С целью изучения механизмов стресса, возникающих при адаптации к увеличенному сопротивлению дыханию, мы изучали изменения биогенных аминов в условиях срочной адаптации. Измеряемые уровни катехоламинов пропорционально нарастали с увеличением градации ДРС (чем больше нагрузка, тем больше концентрация катехоламинов), правда нелинейно – на 40% P_{тmax} рост почти не улавливается, а на 60% -он существенен и достигает максимума (p<0,01). Казалось бы, действует физиологический закон силы. Однако, концентрация серотонина (стресс-лимитирующий амин) парадоксальным образом существенно увеличивалась на ДРС 40% P_{тmax} и снижалась на 60% P_{тmax} (p<0,05). Таким образом, разные по интенсивности ДРС формируют различные механизмы стресса.

Эта закономерность отчетливо проявилась на примере анализа таких стресс-маркеров как ПОЛ-АОС. Величина ДРС 40%P_{тmax} формировала механизмы активации АОС, в виде статистически достоверного роста общей антиокислительной активности плазмы и повышения уровня каталазы (среднее значение которых на данной градации резистивной нагрузки составило 115% от исходного уровня, p<0,05). Используемая

градиция ДРС интенсивностью 60% P_{тmax} демонстрировала достоверное снижение антиокислительной активности плазмы и падение уровня каталаз примерно до уровня 90% от исходного значения, что характеризует торможение АОС. Подобное соотношение ПОЛ-АОС свидетельствует о том, что, ДРС 40% P_{тmax} запускает преимущественно антиокислительные механизмы, а 60% – окислительные.

Антагонистический характер реализации указанных величин ДРС (40 и 60% P_{тmax}) хорошо виден на примере гемостатических параметров. Действие ДРС величиной 40% P_{тmax} запускает механизмы противосвертывающей и фибринолитической систем, что проявляется повышением содержания гепарина, увеличением времени рекальцификации плазмы, ростом концентрации продуктов деградации фибрина, повышением концентрации антитромбина-3, увеличением суммарной фибринолитической активности, повышением содержания активаторов плазмينا и снижением концентрации растворимого фибрина (p<0,05). Напротив, аэродинамическая нагрузка интенсивностью 60% P_{тmax} запускала механизмы гемостаза и торможения механизмов антигемостаза. Данный факт подтверждался торможением активности антитромбина-3, уменьшением времени рекальцификации плазмы, уменьшением концентрации гепарина, снижением концентрации продуктов деградации фибрина, снижением концентрации антиплазмينا, падением суммарной фибринолитической активности и ростом содержания растворимого фибрина (p<0,05).

Резистивная дыхательная нагрузка 40% P_{тmax} включала механизмы иммуносупрессии. Это касалось снижения количества лейкоцитов, В-субпопуляции лимфоцитов (CD20+) и Т-субпопуляции лимфоцитов (CD3+). Отмечена диссоциация динамики фракций Т-лимфоцитов: хелперы (CD4+) снижались, а супрессоры (CD8+), возрастали (p<0,05). Кроме того, на данной величине ДРС отмечено падение иммунорегуляторного индекса CD4+/CD8+ (p<0,01). Что касается действия ДРС величиной 60% P_{тmax}, наблюдались альтернативные изменения показателей иммунитета: достоверное увеличение числа лейкоцитов, рост основных субпопуляций лимфоцитов (CD3+ и CD20+), повышение хелперной фракции (CD4+) и уменьшение супрессорной фракции (CD8+) Т лимфоцитов (p<0,05). Указанные изменения сопровождались достоверным увеличением иммунорегуляторного индекса (CD4+/CD8+, p<0,01).

Выводы.

1. Действие дополнительного респираторного сопротивления величиной 40% P_{тmax} запускает преимущественно стресс-лимитирующие механизмы; включение резистивной дыхательной нагрузки величиной 60% P_{тmax} включает стресс-реализующие механизмы.

2. Резистивная дыхательная нагрузка величиной 40% P_{тmax} запускает механизмы антиокислительных систем, увеличивает активность

противосвертывающих и фибринолитических механизмов и тормозит механизмы клеточного иммунитета.

3. Дополнительное респираторное сопротивление величиной 60% P_{тп}тах снижает активность антиокислительных систем, тормозит противосвертывающую и фибринолитическую системы и активирует механизмы клеточного иммунитета.

Список литературы:

1. Бяловский Ю.Ю., Булатецкий С.В. Физиологические механизмы резистивного дыхания человека. 2018; 412. - ISBN 978-5-6041754-4-6.

2. Патент РФ на изобретение № 2071790. Оpubл. 20.01.97.Бюл. №34.Бяловский Ю.Ю., Абросимов В.Н.Пневматический дозатор внешнего сопротивления дыханию

ВКЛАД MAO-B В КАРБОНИЛИРОВАНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ БЕЛКОВ IN VITRO

П.К. Винель

ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, г.Челябинск, Российская Федерация

Актуальность. Окислительная модификация белков (ОМБ) в условиях дисбаланса между про- и антиоксидантными системами, является одной из ведущих причин вторичной митохондриальной дисфункции лежащей в основе развития целого ряда патологических состояний [1,3].

Моноаминоксидаза (MAO, КФ 1.4.3.4), являясь продуцентом реакционноспособных соединений: альдегидов, пероксида, аммиака, считается одним из ключевых прооксидантных ферментов, локализованных на внешней мембране митохондрий. Описано две формы фермента- MAO-A и MAO-B, отличающиеся субстратной специфичностью и чувствительностью к ингибиторам [2]. При этом, известно, что в головном мозге человека 60% всей MAO-активности приходится на MAO-B и с возрастом вклад этой изоформы в обмен нейромедиаторов только увеличивается [5, 7].

Несмотря на многократно подтвержденный вклад MAO в формирование окислительного стресса в ЦНС, в литературе практически отсутствуют данные о механизмах MAO-зависимой окислительной модификации митохондриальных белков.

Цель. Оценить участие MAO-B в окислительной модификации митохондриальных белков in vitro.

Материалы и методы. В работе использованы лабораторные крысы линии Wistar. Животных забивали путем декапитации, извлекали головной мозг, отсекая мозжечок, промывали 100 мМ калий-фосфатным буфером

pH=7.6 замораживали при -80°C до проведения анализа. Митохондрии из мозга выделяли методом Castillo [6]. Активность MAO-Б определяли по детекции аммиака с использованием субстрата бензиламина гидрохлорида [2]. Определение карбонильных производных белков производили по реакции с 2,4-ДНФГ [4]. Для накопления продуктов ферментативной реакции и индукции ОМБ митохондриальные препараты, содержащие 2,5 мг/мл белка, инкубировались в течение 1 и 3 часов при 37°C на водяной бане-шейкере. Реакционная смесь (1,2 мл) содержала 1000 мкл митохондриальных препаратов и 200 мкл бензиламина (0,16 M). Одновременно, в аналогичных условиях, ставились контрольные образцы (субстрат вносился после остановки ферментативной реакции) и холостые пробы (субстрат заменялся эквивалентным количеством буферного раствора). Из инкубационной смеси параллельно отбирали 500 мкл для определения активности MAO ($n=5$), и 500 мкл для определения уровней продуктов ОМБ ($n=5$). Статистический анализ данных проводили с помощью пакета прикладных программ STATISICA-8. Данные обработаны методами описательной статистики и представлены в виде медианы (Me) и диапазона между «нижним» (LQ, 25 процентиль) и «верхним» (UQ, 75 процентиль) квартилями). Статистическую значимость отличий опыта от контроля оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни для независимых выборок. Проверка статистических гипотез выполнялась при критическом уровне значимости $p=0,05$.

Результаты. Изменение спектра карбонильных производных в митохондриальных препаратах после индукции ферментативной реакции добавлением бензиламина отражает условные этапы развития окислительного стресса. После 1 часа инкубации корреляционные взаимосвязи между уровнями продуктов ОМБ и активностью MAO-Б отсутствовали, при этом наблюдалось увеличение степени повреждения аминокислотных остатков нейтрального характера на 6% в опытных образцах по сравнению с контролем ($p=0,04$) на фоне статистически значимого различия между общим количеством карбонильных производных белков ($p=0,04$). Через 3 часа инкубации, с увеличением количества продуктов ферментативной реакции отмечали снижение ферментативной активности в два раза с 2,6 нмоль/мин/мг белка до 1,3 нмоль/мин/мг белка. Уровень общих карбонильных производных (альдегидных и кетонных) был достоверно выше на 12% ($p=0,01$) по сравнению с контролем, также за счет производных ОМБ нейтрального характера. При этом, выявлены корреляционные взаимосвязи между уровнями продуктов ОМБ и активностью MAO-Б, подтвержденные наличием прямой зависимости между активностью MAO-Б и содержанием кетон-динитрофенилгидразонов ($r_s=0,9$, $p=0,037$) и обратной между активностью MAO-Б и уровнем альдегид-динитрофенилгидразонов ($r_s=-0,9$, $p=0,037$). Такое перераспределение между альдегидными и кетонными соединениями характерно для второго этапа окислительного стресса, при

котором начинают преобладать вторичные производные карбониллов – кетоны, характеризующие процесс агрегации белков [4].

Выводы. Сопоставляя полученные данные можно сделать вывод, что MAO-B, за счет генерации реакционноспособных соединений оказывает влияние на уровень карбонильных производных окисленных митохондриальных белков *in vitro* с преимущественным накоплением производных карбониллов нейтрального характера, что позволяет предположить вовлечение в процесс окислительной модификации нейтральных участков белковых молекул, интегрированных в фосфолипидный бислой. Изучение путей реализации MAO-зависимой окислительной деструкции митохондриальных белков требует дальнейших исследований, предусматривающих использование специфических ингибиторов MAO в условиях индукции окислительного стресса *in vivo* и *in vitro*.

Список литературы:

1. Бельских Э. С., Звягина В. И., Урясьев О. М. Современные представления о патогенезе и подходах к коррекции митохондриальной дисфункции //Наука молодых – *Eruditio Juvenium*. 2016. №. 1.104-112.

2. Горкин В. З. Аминооксидазы и их значение в медицине. — М.: Медицина, 1986

3. Синицкий А. И., Кочкина О. Т., Гробовой С. И. Влияние 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина на функциональное состояние митохондрий печени крыс *in vitro* //Химико-фармацевтический журнал. 2021. Т. 55. №. 1. 8-12.

4. Фомина М. А., Абаленихина Ю. В. Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях: методические рекомендации, РИО РязГМУ, Рязань. 2014. 22-47.

5. Mousseau D., В Baker G. Recent developments in the regulation of monoamine oxidase form and function: is the current model restricting our understanding of the breadth of contribution of monoamine oxidase to brain dysfunction? *Current Topics in Medicinal Chemistry*.2012. 12.20. 2163-2176.

6. Castillo J., et al. LED fluorescence spectroscopy for direct determination of monoamine oxidase B inactivation. *Analytical biochemistry* 343.2 (2005): 293-298.

7. Tipton K.F., Davey G., Motherway M. Monoamine oxidase assays. *Curr Protoc Toxicol*. 2006. Chapter 4: Unit4.21. 1–43.

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА РЕСВЕРАТРОЛА И КАРНИТИНА НА ТРАНСКРИПТОМ ПЕЧЕНИ КРЫС С ИНДУЦИРОВАННЫМ РАЦИОНОМ ОЖИРЕНИЕМ

И.В. Гмошинский, Н.В. Трусов, В.А. Шипелин

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», г.Москва, Российская Федерация

Актуальность. Применение специализированных пищевых продуктов и БАД к пище – источников минорных биологически-активных веществ (БАВ) рассматривается в настоящее время как перспективное направление в диетотерапии ожирения, метаболического синдрома, сахарного диабета 2-го типа, атеросклероза [1]. Поскольку разные БАВ (витамины и витаминоподобные вещества, полифенольные соединения и другие) воздействуют на различные звенья метаболизма при ожирении, вызывает интерес использование специализированной пищевой продукции, обогащенной комплексами БАВ, в целях повышения эффективности диетотерапии. Так, например, L-карнитин (L-Кар), отвечающий за транспорт жирных кислот в митохондрии, способен снижать уровни свободных жирных кислот в тканях, за счет чего оказывается воздействие на экспрессию генов системы рецепторов PPAR- α, γ , что выражается в повышении интенсивности катаболических процессов [2]. Полифенольное соединение транс-ресвератрол (Рес) является синергистом и индуктором ферментов семейства сиртуинов, благодаря чему осуществляет регуляцию экспрессии критически значимых генов, ответственных за протекание иммунных реакций и воспаление в жировой ткани [3]. В настоящее время в России зарегистрировано более семи комплексных БАД и другой специализированной пищевой продукции, содержащих одновременно L-Кар и Рес. Однако их действие в комплексе на липидный и углеводно-энергетический обмен при ожирении исследовано недостаточно.

Цель. Целью работы явилось изучение влияния комплексной БАД к пище – источника Рес и L-Кар на полный профиль экспрессии РНК (транскриптом) в печени крыс в норме и при ожирении, вызванном потреблением избыточного по энергетической ценности рациона.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на самцах крыс Wistar с исходной массой тела 180 г, из питомника Филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России. Работу с животными выполняли в соответствии с международными рекомендациями [4]. Животные были разделены на 6 групп по 6 особей. Крысы групп с 1-й по 3-ю получали в течение 63 суток контрольный сбалансированный полусинтетический контрольный рацион (КР) по AIN93M, а с группы 4-й по 6-ю – высокоуглеводно-высокожировой рацион (ВУВЖР) с 30% жира по массе сухих веществ и заменой питьевой воды на

20% раствор фруктозы. Дополнительно к этому, крысы групп 2 и 5 получали в виде добавки к рациону по 25 мг Рес и 300 мг 1-Кар (комплексная БАД РК в низкой дозе, далее – РКн), а животные групп 3 и 6 – по 50 и 600 мг соответственно (высокая доза БАД, РКв). После выведения крыс из эксперимента путем декапитации под эфирной анестезией отбирали ткань печени, из которой выделяли общую РНК с использованием реактивов набора Agilent Total RNA Isolation Mini Kit. Экспрессию РНК оценивали на ДНК-микрочипе SurePrint G3 Rat Gene Expression v2 8x60K Microarray Kit по протоколу Agilent One-Color Microarray-Based Gene Expression Analysis Low Input Quick Amp Labeling, version 6.8. (Agilent Technologies, США). На трех микрочипах были проанализированы 24 образца РНК по 4 из каждой группы, отобранные случайным образом. Величину дифференциальной экспрессии (ДЭ) выражали в виде двоичного логарифма изменения флуоресценции (\log_2FC) по сравнению с группами, 1 и 4, принимаемыми за группы сравнения, или по сравнению с внутренними контролями микрочипа (Spike-In). Данные о ДЭ загружали в среду «R» и проводили биоинформатический анализ с квантильной нормализацией и дальнейшим анализом в пакете limma. Для выявления метаболических путей с использованием международного ресурса Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) и их визуализации применяли пакеты AnnotationDbi, org.Rn.db, pathview, gage, gageData. Достоверность изменения экспрессии оценивали с использованием Т-теста с множественной коррекцией Benjamini–Hochberg. Дополнительно выполняли расчет коэффициентов корреляции между величинами ДЭ по Пирсону (r) и их достоверности (α).

Результаты. ДЭ в размере не менее чем 1,41-кратного изменения количества РНК ($|\log_2FC| > 0,5$) выявлена для 757 генов (2,4 % от общего количества на чипе) у крыс, получавших ВУВЖР по сравнению с КР. Потребление РКн в составе КР вызывало ответ ДЭ у 296 генов (1,0 %), а РКв - 303 генов (1,0 %). При потреблении в составе ВУВЖР РКн вызывала ответ ДЭ у 243 генов (0,79 %), а РКв у 179 (0,58 %). Только два гена - *Asns* и *RT1-CE10* ответили на обе дозы РК при обоих типах рациона. Величины ДЭ генов, совместно ответивших на РКн и РКв, достоверно положительно коррелировали ($r = 0,893$ и $0,939$; $\alpha < 0,001$ для двух доз РК соответственно). Корреляция между ДЭ генов, ответивших на потребление ВУВЖР и на РК в составе ВУВЖР была достоверной и отрицательной ($r = -0,798$; $\alpha < 0,001$ и $r = -0,514$; $\alpha < 0,01$ для РКн и РКв соответственно), что указывает на компенсирующее действие РК на профиль генной экспрессии, нарушенный при ожирении. Для ДЭ генов на фоне потребления КР подобной закономерности не отмечалось. По данным биоинформатического анализа 4 метаболических пути: rno00982 (Drug metabolism - cytochrome P450), rno00980 (Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450); rno00830 (Retinol metabolism) и rno00140 (Steroid hormone biosynthesis) ответили совместно на все применявшиеся

диетические воздействия. Метаболический путь rno03320 (PPAR signaling pathway) изменился у крыс, получавших КР, при обеих дозах РК, а у получавших ВУВЖР - только с РКв. Ответ rno04976 (Bile secretion) наблюдался только с РКв на обоих рационах, rno00591 (Linoleic acid metabolism) - с обеими дозами РК у крыс, получавших КР, и только с РКн - у получавших ВУВЖР, rno00590 (Arachidonic acid metabolism) - только с РКн в составе КР.

Выводы.

1. В результате потребления крысами комплексной БАД, содержащей Рес и l-Кар, развиваются изменения в профиле экспрессии генов в клетках печени, которые с позиции разнообразия затронутых генов оказываются существенно менее значительными, чем вызываемые ожирением, как таковым.

2. Знак ДЭ множества числа генов, играющих определенную и значимую роль в адипогенезе, липидном и углеводно-энергетическом обмене, контроле массы тела и воспалении, обращается в результате потребления комплексной БАД, если она потребляется животными на фоне развившегося диет-индуцированного ожирения, что указывает на компенсирующий эффект.

3. Ключевые звенья метаболизма, отвечающие за действие комплексной БАД, сосредоточены в метаболических путях обмена стероидов, ксенобиотиков и ретиноидов, включая активность ферментов системы цитохрома Р-450 и конъюгирующих энзимов печени. Дополнительную роль в эффектах комплексной БАД играет, по-видимому, её способность модулировать процессы липидного обмена, в частности, окислительной трансформации ПНЖК и синтеза эйкозаноидов.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского Научного фонда № 17-16-01043 (2017-2020 гг).

Список литературы:

1. Тутельян В.А., Киселёва Т.Л., Кочеткова А.А., Смирнова Е.А., Киселёва М.А., Саркисян В.А. Перспективные источники фитонутриентов для специализированных пищевых продуктов с модифицированным углеводным профилем: опыт традиционной медицины. *Вопр. питания.* 2016. 84(4). 46–60.

2. Panchal S.K., Poudyal H., Ward L.C., Waanders J., Brown L. Modulation of tissue fatty acids by L-carnitine attenuates metabolic syndrome in diet-induced obese rats. *Food Funct.* 2015. 6(8). 2496–2506.

3. Ma S., Feng J., Zhang R., Chen J., Han D., Li X., et al. SIRT1 activation by resveratrol alleviates cardiac dysfunction via mitochondrial regulation in diabetic cardiomyopathy mice. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017. 2017. 4602715.

4. Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes adopted on September 22, 2010.

БИВАЛЕНТНЫЕ ДНКЗИМЫ ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОГО РАСЩЕПЛЕНИЯ ЦЕЛЕВЫХ РНК

М.В. Дубовиченко, Д.М. Колпашиков

Университет ИТМО, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Актуальность. Нокадаун генов (он же сайленсинг генов) – перспективный метод лечения заболеваний путем уменьшения экспрессии болезнетворных генов через таргетное расщепление их мРНК. В настоящее время этот метод приобрел большую популярность в исследованиях, направленных на лечение генетических, неврологических и онкологических заболеваний [1]. Представителями такого метода являются терапевтические нуклеиновые кислоты (далее, НК), такие как малые интерферирующие РНК (миРНК), антисмысловые олигонуклеотиды (АСО) и ДНКзимы. В современных исследованиях НК демонстрируют эффективное ингибирование генов-мишеней [2]. Однако у НК есть общий недостаток в виде низкого сродства к сложной вторичной структуре РНК [1, 3]. Современные решения этой проблемы включают компьютерный скрининг сайтов РНК-мишеней, а также структурные и химические модификации НК [1]. Однако, компьютерное предсказывание сайтов РНК-мишеней не могут полностью гарантировать эффективной ассоциации НК с РНК, а структурные и химические модификации требуют сложной оптимизации и могут быть дорогими в использовании [1, 3]. В нашей работе мы использовали ДНКзимы 10-23 – синтетические, каталитически активные НК, расщепляющие комплементарные РНК на сайте между гуанином и урацилом (G-U) без участия нуклеаз клетки [4]. На основе ДНКзимов мы разработали их структурные бивалентные модификации, состоящие из двух ассоциированных друг с другом ДНКзимов, расщепляющих одну РНК в двух разных сайтах (Рис. 1А-1Г). Мы полагаем, что эффект кооперативного действия у бивалентных ДНКзимов будет повышать сродство НК с целевой РНК [5].

Цель. Целью работы является разработка бивалентных ДНКзимов (далее BDD), способных связываться со сложными участками РНК-мишени и расщеплять её эффективнее, чем моновалентные ДНКзимы 10-23 (далее, Dz).

Материалы и методы. В работе мы использовали короткие фрагменты РНК, и РНК-расщепляющие НК Dz и BDD. Последовательности коротких РНК-мишеней EIF3C-60 и STR-58 (Рис. 1Д, 1Е) повторяют участки мРНК, существующих в природе: гена EIF3C и плазмидной кассеты рKNG101 соответственно. Dz и BDD создавались

индивидуально к каждой РНК-мишени. Было разработано три модификации BDD, каждая из которых отличалась по способу ассоциаций РНК-расщепляющих субъединиц S1 и S2 друг с другом (Рис. 1А-1Г). Структура, термодинамическая стабильность и комплементарность последовательностей РНК и ДНК цепей оценивались с использованием приложений mFold и NUPACK. Заказ олигонуклеотидов проводился в компании ДНК-синтез (Москва, Россия).

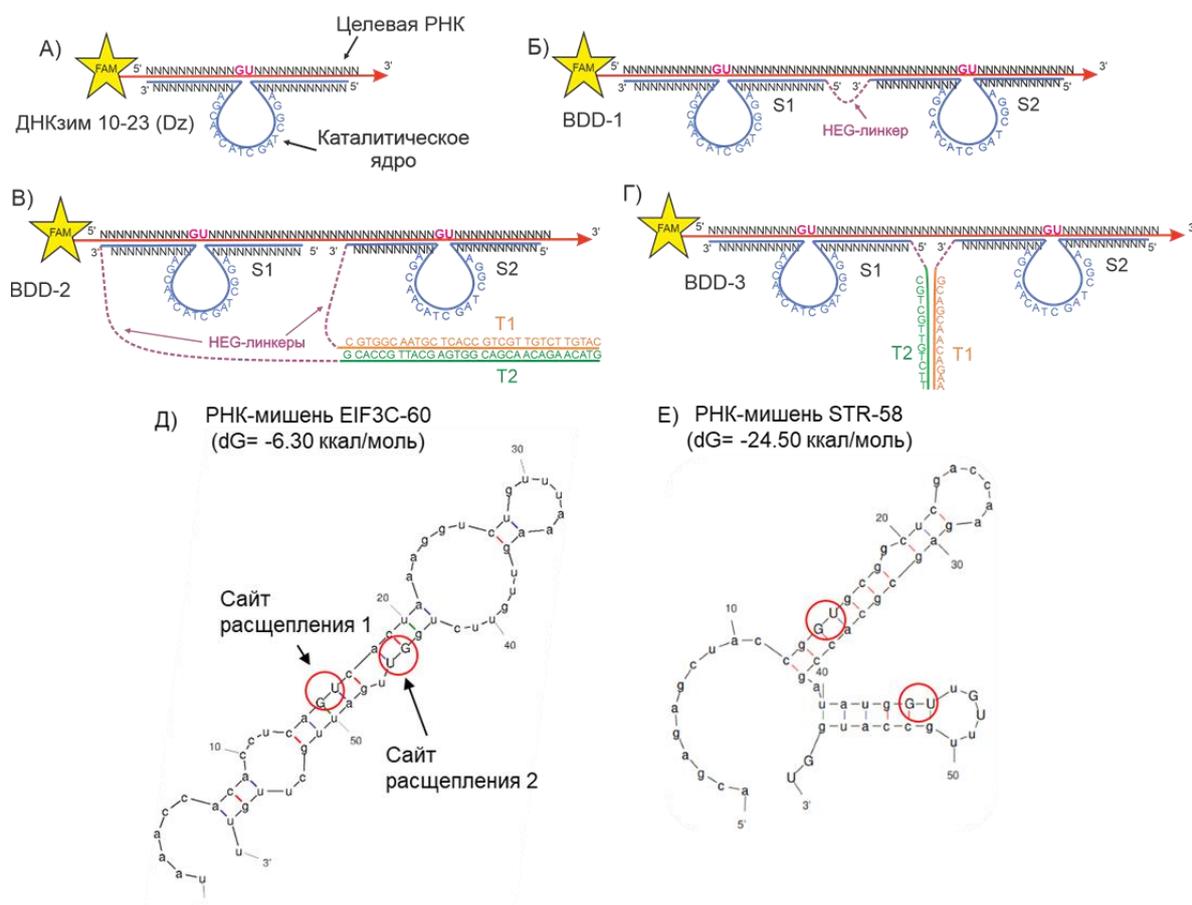


Рисунок 1. Дизайн РНК-мишеней и НК: А – ДНКзим 10-23 (Dz); Б – BDD-1; В – BDD-2; Г – BDD-3; Д – РНК EIF3C-60; Е – РНК STR-58

Эксперименты с расщеплением РНК проводились в условиях одного оборота (single-turnover) и множественных оборотов (multiple-turnover). В условиях одного оборота НК расщепляли РНК-мишени при соотношении концентраций 2:1, в условиях множественных оборотов - 1:10 и 1:100. Для инкубации РНК-мишеней с НК использовался околофизический буфер (50 mM KCl, 150 mM HEPES, 15 mM NaCl, 2 mM MgCl₂). Для остановки расщепления использовался стоп-буфер, содержащий мочевины (8M мочевины, 2M ТВЕ-буфер).

Визуализация результатов расщепления РНК проводилась с использованием электрофореза в денатурирующем полиакриламидном геле (1x ТВЕ, 20% АА:ВА 29:1, 7M мочевины). Фрагменты расщепленной РНК в геле проявлялись с помощью устройства для документирования

гелей ChemiDoc (BIORAD, США). Расчет эффективности расщепления проводился в приложении Image Lab.

Результаты. Мы сравнили каталитическую активность между BDD и Dz с двумя РНК-мишенями с разной стабильностью: менее стабильной является EIF3С-60 ($dG = -6,30$ ккал/моль), а более стабильной - STR-58 ($dG = -23,60$ ккал/моль) (рис. 1Д, 1Е). В условиях одного оборота BDD и Dz с РНК-мишенью EIF3С-60 лучшие образцы BDD-1 и BDD-3 продемонстрировали увеличение расщепления по сравнению с Dz в 2,7 раза и 2 раза, а с РНК-мишенью STR-58 - в 18,8 раз и 15,5 раз. В условиях множественных оборотов ни один BDD, нацеленный на EIF3С-60, не показал увеличения расщепления: Dz превзошел в 1,2 раза лучший BDD (BDD-2) по расщеплению РНК. С другой стороны, BDD-1 и BDD-3, нацеленные на РНК-мишень STR-58, показали значительное увеличение расщепления в 12,7 раз и 5 раз по сравнению с Dz.

Выводы. Полученные данные демонстрируют, что бивалентные ДНКзимы (BDD) расщепляют высокостабильную РНК-мишень эффективнее, чем моновалентные ДНКзимы 10-23 (Dz). Однако, BDD не демонстрируют того же преимущества при расщеплении низкостабильной РНК. Для подтверждения гипотезы мы планируем в дальнейшей работе провести исследование эффективности бивалентных ДНКзимов как в расщеплении еще более структурированных (стабильных) РНК-мишеней, так и полноразмерной РНК внутри клеток.

Список литературы:

1. Levin A.A. Treating Disease at the RNA Level with Oligonucleotides // *N. Engl. J. Med.* 2019. 380(1). P. 57–70.
2. Bennett C.F. Therapeutic antisense oligonucleotides are coming of age // *Annu. Rev. Med.* 2019. 70. P. 307–321.
3. Nedorezova D.D. et al. Towards DNA Nanomachines for Cancer Treatment: Achieving Selective and Efficient Cleavage of Folded RNA // *Angew. Chemie - Int. Ed.* 2019. 58(14). P. 4654–4658.
4. Morrison D., Rothenbroker M., Li Y. DNazymes: Selected for Applications // *Small Methods.* 2018. 2 (3). P. 1700319.
5. Böhmer V.I. et al. Multivalent Probes in Molecular Imaging: Reality or Future? // *Trends Mol. Med.* Elsevier Ltd, 2021. 27 (4). P. 379–393.

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЦИСТЕИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ L-КАРНИТИНА В ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТКАХ КРЫС

Н.В. Ененков, А.И. Судаков, Е.А. Судакова.

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Окисление белков является важной частью протеолиза, которое осуществляется тканевыми протеиназами, катепсинами. Модифицированные белки, отчасти, становятся более чувствительными к действию протеиназ. В результате чего, данные белки подвергаются деградации, образуящиеся из них конечные продукты – аминокислоты, служат в клетке дополнительным субстратом для построения эндогенных белков. С другой стороны, повреждение белковых молекул свободными радикалами может приводить к образованию токсичных агрегатов. Такие агрегаты могут быть устойчивы к действию тканевых гидролаз, что может приводить к структурно-функциональным нарушениям и даже к апоптозу [1].

Важно отметить, что наряду с основной функцией – протеолиза белков, еще одной значимой функцией катепсинов представляется их участие в иммунном ответе. Это осуществляется путем лизосомального переваривания микроорганизмов и вирусных частиц. Этот этап является неотъемлемой частью формирования иммунного ответа [2].

В литературе имеются данные об участии L-карнитина в окислительной модификации протеинов [3]. Однако не до конца изучено биохимическое взаимодействие между лизосомальным протеолизом и окислительной модификацией белков, что послужило началом настоящего исследования.

Цель. Изучение влияния L-карнитина на исходную активность катепсинов В, L и окислительную модификацию белков тимоцитов крыс *in vitro*.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 24 суспензиях тимоцитов крыс-самцов линии Wistar. Животных наркотизировали. Внутримышечно им вводили смесь «Золетил 100» и «Ксиланит» в дозировке 6 мг/кг. После обескровливания крыс тимус забирали, помещали в холодную питательную среду RPMI 1640 в соотношении объемов 1/10 и гомогенизировали биоматериал вручную. Образцы оставляли на ледяной бане для оседания клеточных агрегатов в течение 1 часа. Взвесь одиночных клеток центрифугировали 10 минут при 100g. Ресуспендировали клеточный осадок в среде RPMI 1640 с добавлением 2 мг/мл стрептомицина, L-карнитин в концентрации 0,5 мМ и 5 мМ, в зависимости от экспериментальной группы. Инкубировали клетки 24 часа при 37°C. После этого, осаждали клетки центрифугированием 10 минут при 100g. Ресуспендировали тимоциты в 0,25 М сахарозе. Оценку

жизнеспособности клеток проводили до и после инкубации пробирочным методом в камере Горяева.

Активность катепсинов изучалась спектрофлуориметрическим методом (Barrett & Kirschke, 1981) [4]. Результаты выражали в нмоль 7-амидо-4-метилумарина (АМС)/с*г белка.

Окислительную модификацию белков в клетках крыс проводили по методу R.L. Levine в модификации Е.Е. Дубининой [5]. Полученные показатели соотносились на мг белка. Белок измеряли по методу Лоури, коммерческим набором.

Результаты анализировали программой «StatSoft Statistica 13.0», представляли в виде Me(Q1;Q3). Для статистической оценки использовали непараметрический критерий Mann-Whitney (U-test). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. В настоящем исследовании выявлено изменение исходной активности лизосомальных катепсинов и общей окислительной модификации белков тимоцитов крыс под влиянием L-карнитина.

Так, в суспензии клеток инкубированных с 0,5 мМ L-карнитином (n=8) выявлено достоверно значимое увеличение активности катепсина В, что составило 9,23 [6,46; 12,54] ($p=0,0001$) относительно контрольных значений 0,008 [0,003; 0,012]. В тимоцитах инкубированных с 5 мМ L-карнитином (n=8), так же выявлено достоверное увеличение активности фермента 0,05 [0,04; 0,05] ($p=0,001$) против контроля. Однако, инкубация клеток с 0,5 мМ L-карнитином продемонстрировала увеличение активности катепсина В в большей степени, чем с 5 мМ L-карнитином. Активность катепсина L так же достоверно значимо растет при инкубации тимоцитов с исследуемым субстратом. Под действием L-карнитина в концентрации 0,5 мМ активность катепсина L составила 89,27 [84,41; 92,78] ($p=0,0009$) против контрольных значений 0,010 [0,006; 0,018]. При концентрации L-карнитина 5мМ данный показатель составил 0,16 [0,13; 0,19] ($p=0,0009$) против контроля. Увеличение исходной активности катепсина L при действии 0,5 мМ карнитина на тимоциты, наблюдается в большей степени, чем при действии 5 мМ. Эти результаты совпадают с данными полученными для катепсина В.

В данном эксперименте установлено, что при увеличении активности лизосомальных катепсинов, под действием L-карнитина, происходит снижение окислительной модификации белков в тимоцитах. 0,5 мМ L-карнитин снижает показатели окислительной модификации белков на 77,59% ($p=0,014$), 5 мМ L-карнитин снижает на 84,83% ($p=0,013$), относительно контрольных значений.

Выводы.

1. В эксперименте *in vitro* выявлено, что L-карнитин увеличивает активность лизосомальных катепсинов В и L в тимоцитах.

2. В эксперименте *in vitro* установлено, что L-карнитин снижает окислительную модификацию белков в клетках тимуса.

Список литературы:

1. Абаленихина Ю.В., Фомина М.А. Окислительной модификации белков и активность катепсина Н тимоцитов крыс в условиях *in vitro* модулирования синтеза оксида азота (II) // Казанский меж.ж.2014
2. Киреева И.В. Влияние гамавита на активность катепсина D в перитонеальных макрофагах мышей / И.В. Киреева, Т.Н. Тимофеева, Т.Н. Степанова // Евразийское Научное Объединение.–2020.– № 5-3(63).–С. 246-247
3. Арапова А.И., Фомина М.А. Изучение влияния L-карнитина на изменение активности катепсинов B, L, H и окислительной модификации белков мышечных органов крыс // Рос. мед.-биол. вестн. им. акад. И.В.Павлова 2016.
4. Barrett A.J., Kirschke H. Cathepsin B, cathepsin H, cathepsin L //Methods in Enzymol. — 1981. — Vol. 80. — P. 535–561.
5. Дубинина Е.Е., Бурмистров О.С., Ходов Д.А., Поротов И.Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения // Вопр. мед. химии. — 1995. — Т. 41, №1. — С. 24–26

ОЦЕНКА ПАРАМЕТРОВ ЖЕЛЕЗО-ИНДУЦИРОВАННОЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СИНДРОМЕ ОТМЕНЫ ЭТАНОЛА В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ СТРУКТУРНОГО АНАЛОГА ОКИСЛЕННОГО ГЛУТАТИОНА

Е.С. Ефременко

ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г.Омск, Российская Федерация

Актуальность. Психические и поведенческие расстройства, связанные со злоупотреблением алкоголем, занимают одно из ведущих мест в структуре наркологической патологии. Существенное значение имеют медицинские последствия алкоголизма. Ввиду значительных метаболических сдвигов, возникающих в результате превращения этанола в организме и носящих хронический характер, происходит нарушение функций всех органов и систем.

Помимо медицинского аспекта, заболевание носит выраженный социальный характер, обусловленный потерей трудоспособности в достаточно молодом возрасте.

Важнейшей точкой развития алкогольной зависимости является алкогольный абстинентный синдром. Его наличие свидетельствует о полностью сформированной физической зависимости от алкоголя. Терапевтические воздействия в данный период крайне важны и должны быть комплексными, направленными на все звенья патогенеза алкоголизма. Значимым звеном развития нарушений считается

окислительный стресс. Устранение его метаболических последствий – одна из задач лечения алкогольной зависимости.

В связи с вышеизложенной информацией, целью исследования явилось изучение параметров железо-индуцированной хемилюминесценции гомогенатов печени алкоголизированных животных в условиях применения аналога окисленного глутатиона для формирования представлений об эффективности лекарства в рамках антиоксидантной защиты организма.

Материалы и методы. В целях формирования синдрома отмены этанола животным интрагастрально вводили 25% раствор этанола в дозе 8 г/кг в сутки в течение 4 дней и 4 г/кг/сут на 5 сутки (группа А). Контрольной группе животных вводили эквивалентное количество воды по аналогичной схеме [3]. Для оценки воздействия препарата «Глутоксим» на показатели хемилюминесценции в период реакции отмены этанола была сформирована группа животных, которым внутримышечно вводили «Глутоксим» в дозе 1 мг/кг/сут в период развития реакции отмены. Выведение животных из эксперимента проводилось через одни сутки (группа А1+Г) после заключительного введения алкоголя.

При проведении железо-индуцированной хемилюминесценции после добавления ионов двухвалентного железа регистрировали быструю и медленную вспышки свечения, оценивали длительность латентного периода и величину светосуммы. Значения параметров указывали в условных единицах.

В качестве основных характеристик описательной статистики применяли медиану, нижний и верхний квантили. Оценку статистической значимости различий проводили с использованием непараметрических критериев: Манна-Уитни (U) для независимых выборок и Вилкоксона (W) для связанных выборок [2].

Результаты. В ходе проведенного исследования было установлено, что длительность латентного периода железо-индуцированной хемилюминесценции в группе А была меньше на 29,9% ($pU=0,038$) по сравнению с данными группы интактных животных.

Применение структурного аналога окисленного глутатиона в период формирования физической зависимости от алкоголя выразалось в том, что уменьшения длительности латентного периода не возникало, и в группе А1+Г параметры хемилюминесценции в первые сутки экспериментального синдрома отмены этанола статистически не отличались от значений контрольной группы.

Принято считать, что поддержание продукции свободнорадикальных субстанций на низком физиологическом уровне – неотъемлемое условие нормального функционирования клеток организма. Алкоголь-индуцированный окислительный стресс существенным образом меняет внутриклеточную метаболическую ситуацию.

Гиперпродукция свободных радикалов в условиях формирования алкогольной зависимости обусловлена: а) функционированием микросомальной этанолюксилирующей системы; б) ферментативным процессом перехода уксусного альдегида в ацетат, ускоряемым ксантиоксидазой и сопряженным с генерацией супероксидного аниона и пероксида водорода; в) участием альдегидоксидазы в трансформации ацетальдегида с одновременным образованием супероксидного анион-радикала [6]; г) формированием 1-гидроксиэтильного радикала [5].

С данными обстоятельствами сопряжен ряд неблагоприятных метаболических последствий, заключающихся в: а) увеличении продукции уксусного альдегида; б) повышении устойчивости пациента к влиянию алкоголя; в) усилении процесса липопероксидации [4].

Исследуемое лекарственное средство относится к классу метаболических средств, группе тиопозитинов. Указанные вещества вызывают модификацию интрацеллюлярных тиолзависимых реакций. Показано, что за счет воздействия на тиоловый обмен и окислительный процессы в клетке препарат способен оказать цитопротекторное действие [1].

Считается, что ключевым моментом в формировании фармакологических эффектов изучаемого вещества может быть его биотрансформация в результате действия естественного, эндогенного фермента – глутатионредуктазы. Это связано с тем, что лекарственное вещество структурно похоже на глутатион в окисленной форме. Рециклирование окисленного глутатиона сопровождается образованием его восстановленной формы, которая и проявляет антиоксидантные свойства.

Кроме того, известно, что в исходном, окисленном состоянии содержащийся в препарате глутатион, определяет возможность увеличения активности глутатион-зависимых ферментов антиокислительной системы.

В настоящем исследовании отмечается, что в первые сутки выработки экспериментального синдрома отмены этилового алкоголя при использовании «Глутоксима» не происходит уменьшения длительности латентного периода железо-индуцированной хемилюминесценции. Данное обстоятельство позволяет говорить о возможности восстановления устойчивости клеток к свободнорадикальным процессам и нормализации антиоксидантного потенциала ткани печени.

Выводы. Определенные положительные изменения характера хемилюминесценции, происходящие в условиях применения препарата, предполагают вероятность его использования в комплексной терапии алкогольного абстинентного состояния в аспекте коррекции нарушений тиол-дисульфидного обмена.

Список литературы:

1. Кожемякин Л.А., Кетлинская О.С., Романова С.Ю. Новые возможности в терапии вирусных гепатитов // Лечащий врач. – 2001. – № 1. – С. 34.
2. Платонов А.Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы / А.Е. Платонов. – М.: Издательство РАМН, 2000. – 52 с.
3. Успенский А.Е. Степень анальгезии как показатель выраженности синдрома отмены этанола в эксперименте / А.Е. Успенский, В.П. Нужный, А.Х. Абдрашитов // Мед. биол. пробл. алкоголизма: материалы Всесоюз. научн. конф. – Воронеж, 1987. – С. 85-89.
4. Cederbaum A., Wu D., Mari M., Bai J. CYP2E1-dependent toxicity and oxidative stress in HepG2 cells // Free Radic. Biol. Med. – 2001. – Vol. 31. – P. 1539-1543.
5. Dupont I., Bodenez P., Berthou F. Cytochrome P-450 2E1 activity and oxidative stress in alcoholic patients // Alcohol and Alcoholism. – 2000. – Vol. 35. №. 1. – P. 98-103.
6. Terao M., Kurosaki M., Saltini G. Cloning of the cDNAs coding for two novel molybdo-flavoproteins showing high similarity with aldehyde oxidase and xanthine oxidoreductase // J. Biol. Chem. – 2000. – Vol. 275, №. 39. – P. 30690-30700.

ПЕРОКСИНИТРИТ КАК СИГНАЛЬНАЯ МОЛЕКУЛА И ЦИТОТОКСИЧЕСКИЙ АГЕНТ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА СОСУДИСТЫЙ ЭНДОТЕЛИЙ IN VITRO

А.С. Захаров, Н.В. Короткова, Н.Д. Мжаванадзе, А.В. Щулькин

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Пероксинитрит – одна из активных форм азота и кислорода, продукт взаимодействия оксида азота (II) с пероксидом водорода. В человеческом организме он наиболее активно вырабатывается в эндотелии сосудов из-за высокой активности NO-синтазы, производящей оксид азота (II) для регуляции тонуса гладкомышечных клеток.

В норме количество активных форм азота и кислорода контролируется антиоксидантной системой, поэтому они выполняют для клеток лишь роль сигнальных молекул [1, 2]. При патологии баланс между оксидантами и антиоксидантами смещается в сторону образования окислителей, возникает оксидативный стресс.

Цель. Изучить влияние различных концентраций пероксинитрита на жизнедеятельность эндотелиоцитов пупочной вены человека in vitro.

Материалы и методы. Синтезированные нами из пероксида водорода и нитрита натрия растворы пероксинитрита были исследованы на наличие примесей соответствующих веществ. Остаточное количество перекиси было оценено йодтитриметрическим методом, нитрита натрия – колориметрически с реактивом Грисса.

В качестве экспериментальной культуры была выбрана первичная линия эндотелиоцитов пупочной вены человека HUVEC (Human umbilical vein endothelial cells). Их получали в соответствии с информированным согласием от доноров и культивировали в условиях лаборатории клеточных технологий РязГМУ.

Цитотоксичность различных концентраций пероксинитрита оценивали методом МТТ-теста на активность митохондриальных оксидоредуктаз. Эндотелиоциты пересаживали на 96-ти луночный планшет и культивировали в течение 24 ч. Затем после смены среды добавляли рабочие растворы пероксинитрита в физиологическом растворе и инкубировали в течение 30 минут. В контрольные лунки после смены среды добавляли только физиологический раствор. Далее добавляли МТТ-реактив и культивировали клетки в течение ещё 1 ч. Активность митохондриальных оксидоредуктаз оценивали фотокolorиметрически по оптической плотности получаемых растворов в лунках.

Миграционную и пролиферативную активность эндотелиоцитов изучали методом скретч-теста. Клетки пересаживали на 6-ти луночный планшет и культивировали до достижения монослоя. Затем на монослой наконечником пипетки наносили царапины (скарификационные повреждения) и оценивали скорость их застывания в течение 12-ти и 24-х часов.

Определение уровня синтеза эндотелий-специфичных белков CD31 (cluster of differentiation 31, platelet/endothelial cell adhesion molecule 1) и PAI (plasminogen activator inhibitor) проводили при помощи анализа вестерн-блот на кафедре фармакологии с курсом фармации ФДПО РязГМУ.

Статистический анализ полученных результатов проводили в программе SPSS Statistics 23. Проверка выборки на нормальность осуществлялась по критерию Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Ненормальные выборки сравнивались по критерию Мнн-Уитни, при необходимости применялась поправка Бонферрони и критерий Краскела-Уоллиса.

Результаты. Были синтезированы растворы пероксинитрита с концентрациями 70 мМ, 51,5 мМ и 38 мМ. Для экспериментов был отобран раствор 70 мМ, количество примесей в котором составило 1,05 мМ нитрита натрия и 0,48 М пероксида водорода. С целью наиболее подробного изучения влияния малых количеств пероксинитрита на эндотелиоциты нами был составлен ряд концентраций рабочих растворов: 0,0025 мМ, 0,0075 мМ, 0,01 мМ, 0,1 мМ, 1 мМ.

По результатам МТТ-теста, показано увеличение метаболической активности эндотелиоцитов при концентрации пероксинитрита 0,0025 мМ, 0,0075 мМ и 0,01 мМ (наиболее сильное при 0,0075 мМ), концентрации 0,1 мМ и 1 мМ не вызывали статистически достоверного изменения метаболической активности. Для скрэтч-тест были отобраны концентрации пероксинитрита 0,075 мМ (как наиболее сильно стимулировавшая метаболизм эндотелиоцитов), 0,1 мМ и 1 мМ (как существенно не изменившие метаболическую активность).

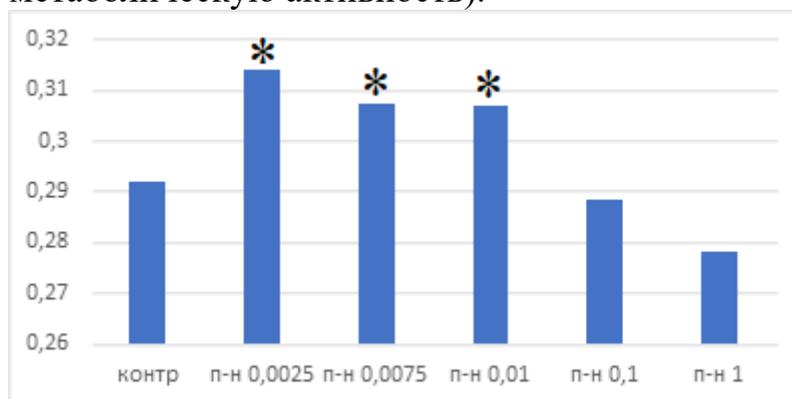


Рисунок 1. Значения оптических плотностей лунок по результатам МТТ-теста; * - статистически значимые отличия от контрольной группы ($p < 0,05$)

По результатам скрэтч-теста, 0,0075 мМ и 0,1 мМ пероксинитрит вызывает снижение миграционной активности эндотелиоцитов как за 12, так и за 24 ч. 1 мМ пероксинитрит вызывает снижение миграции эндотелиоцитов в первые 12 ч, однако данный эффект полностью нивелируется к 24 ч. Для вестерн-блот анализа с антителами к белкам CD31 (cluster of differentiation 31) и PAI-1 (plasminogen activator inhibitor -1) были отобраны концентрации пероксинитрита 0,0075 мМ (т.к. он усиливает метаболизм эндотелиоцитов и снижает его миграционную активность) и 1 мМ (т.к. не влияет существенно ни на метаболизм, ни на миграционную активность эндотелиоцитов в течение 24-х ч).

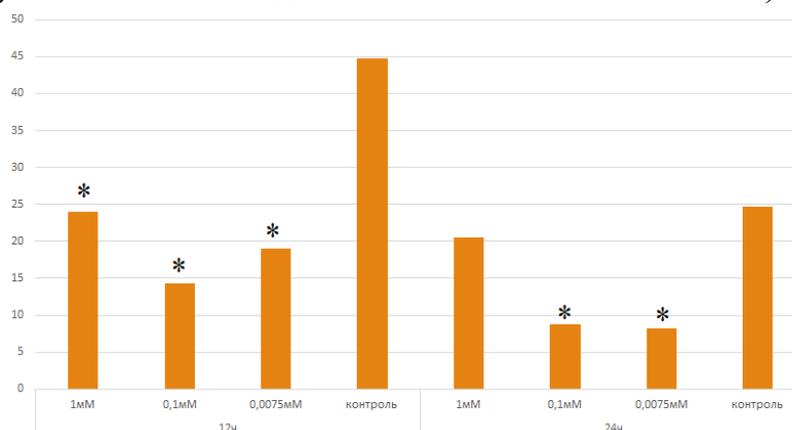


Рисунок 2. Скорость застывания скарификационного повреждения, мм/ч; *- статистически значимые отличия от контроля ($p < 0,05$)

По результатам вестерн-блот анализа было выявлено, что количество белка CD31 в исследуемом материале было статистически значимо больше контрольного при концентрациях пероксинитрита 0,0075 мМ и 1 мМ (наивысшее при концентрации 0,0075 мМ), статистически значимо меньше контрольного – при концентрации 10 мМ. Количество PAI было больше контрольного при концентрациях 0,0075 мМ и 1 мМ (наивысшее при 1 мМ), статистически значимо меньше контрольного – при 10 мМ.

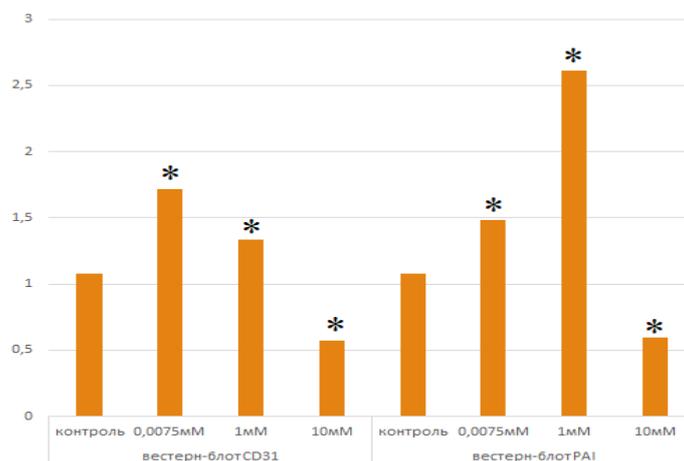


Рисунок 3. Результаты анализа вестерн-блот; * - статистически значимые отличия от контроля ($p < 0,05$)

Выводы. Пероксинитрит при воздействии на эндотелий может проявлять свойства как сигнальной молекулы, так и цитотоксического агента в зависимости от концентрации.

Список литературы:

1. Kameritsch P, Singer M, Nuernbergk C et al. The mitochondrial thioredoxin reductase system (TrxR2) in vascular endothelium controls peroxynitrite levels and tissue integrity. Proc Natl Acad Sci USA 2021; 118(7): e1921828118. DOI: 10.1073/pnas.1921828118.
2. Oyewole AO, Birch-Machin MA. Mitochondria-targeted antioxidants. FASEB J 2015; 29(12): 4766-71. DOI: 10.1096/fj.15-275404.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО L-АРГИНИНА НА УРОВЕНЬ КАРБЕНИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ МИТОХОНДРИЙ ГОЛОВКИ И ХВОСТА ЭПИДИДИМИСА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

В.И.Звягина, Э.С.Бельских, Ю.А.Марсянова, С.Р.Ахмедова

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. В предыдущих работах нами было установлено, что как накопление гомоцистеина, так и применение неселективного ингибитора синтаз оксида азота (II) – L-NAME, сопровождалось снижением концентрации метаболитов NO (II) не только в сыворотке крови, но и в митохондриальной фракции гомогенатов тканей легких и сердца крыс [1-5]. При этом индуцированный системный дефицит синтеза NO (II) был ассоциирован с окислительным повреждением белков митохондрий и развитием вторичной митохондриальной дисфункции в различных тканях у крыс [1-5]. Установлено, что L-аргинин характеризуется выраженной антиоксидантной активностью, которая проявляется даже в условиях первичной митохондриальной дисфункции [4, 6] и способен снижать выраженность дефицита синтеза NO (II) и окислительного стресса обусловленного гомоцистеином [7, 8]. Сообщается, что эпидидимальная дисфункция, связанная с нарушением формирования микроокружения для сперматозоидов, может являться существенным фактором мужского бесплодия, который, тем не менее, остается еще малоизученным как потенциальная точка приложения антиоксидантной терапии [8, 9]. Поэтому изучение маркеров окислительного стресса и содержания карнитина в различных отделах эпидидимиса при экспериментальной гипергомоцистеинемии позволит оценить роль L-аргинина для реализации адаптивных реакций митохондрий [10].

Цель. Изучить влияние L-аргинина в условиях гипергомоцистеинемии на процессы биосинтеза NO (II), показатели окислительной модификации белков и уровень карнитина в митохондриях эпидидимиса крыс.

Материалы и методы. Исследование выполнено на крысах-самцах линии Wistar. Животные содержались в стандартных условиях вивария, для кормления они получали сухой корм “Чара” (“Ассортимент-Агро”, Россия), содержащий 0,7% метионина-цистина в пересчёте на сухое вещество, все витамины группы B, в том числе B6 – 28 мг/кг, B9 – 64 мг/кг, B12 – 0,13 мг/кг.

Экспериментальные животные были поделены на 3 группы. 1-я группа (n=8) – животные, которым моделировалась тяжёлая форма гипергомоцистеинемии (>100 мкмоль/л) [11]. Животным 2-й группы (n=8) на фоне гипергомоцистеинемии (аналогично группе 1), начиная с 11-го дня

и по 21-й день осуществляли внутрижелудочное введение раствора L-аргинина (Sigma, США) на 0,9% NaCl в дозе 500 мг/кг ежедневно в промежутке между введением суспензии метионина [11]. Крысы 3-ей группы (n=8) по аналогичной схеме получали суспензионную основу, в состав которой входили: вода, твин-80 (ЗАО “Вектон”, Россия) и крахмал (ЗАО “Вектон”). Поилки для этих животных наполняли обычной питьевой водой.

Выведение животных из эксперимента осуществлялось путём обескровливания пересечением брюшной аорты. Немедленно после обескровливания извлекали эпидидимис, промывали его в среде, содержащей 0,25 М сахарозу, 0,001 М ЭДТА и 0,05 М трис-буфер, pH 7,4. Митохондриальную фракцию выделяли путем дифференциального центрифугирования. К части суспензии митохондрий добавляли тритон X-100 для разрушения мембран. Все описанные выше процедуры проводили при температуре не выше 4°C. В дальнейшем для анализа использовали:

- сыворотку крови, в которой определяли концентрацию общего гомоцистеина и метаболитов NO;

- митохондриальную фракцию с разрушенными мембранами, где оценивали ОМБ, концентрацию метаболитов NO(II) (NO_x), карнитин;

Концентрацию общего гомоцистеина определяли иммуноферментным анализом с помощью коммерческого набора («Axis Shield», Великобритания), содержание белка – методом Лоури с помощью набора реактивов («Экосервис», Россия), суммарный уровень нитратов и нитритов – метаболитов NO (II), – методом в модификации Метельской В.А. и Гумановой Н.Г. [12].

Уровень карбонилирования белков (окислительной модификации белков, ОМБ) оценивали методом Levine в модификации [13]. Анализ количества карбонильных производных проводили посредством расчёта площади под кривой абсорбции света, разбивая её на прямоугольные трапеции. Общее количество продуктов ОМБ определяли по суммарной площади под кривой (СП ОМБ) [13]. Концентрацию карнитина в митохондриях и цитоплазме тканей эпидидимиса крыс определяли по методу Wan L. и Hubbard R.W. (1998) [14].

Статистическую обработку результатов проводили с помощью GraphPad Prism 9.0 (Graphpad Software, США). Соответствие выборок нормальному распределению проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Распределение отличалось от нормального, в связи с чем, для выявления различий между независимыми группами использовали критерий Краскела-Уоллиса и критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони для множественных сравнений или критерий Манна-Уитни при сравнении 2 групп. Уровень отличий рассматривался как статистически значимый при вероятности нулевой гипотезы об отсутствии различий (p) <0,05.

Результаты. В соответствии с результатами, приведенными в таблице 1, экспериментальная модель ГГЦ характеризовалась развитием тяжелой формы ГГЦ со статистически значимым снижением уровня метаболитов NO (II) и общего карнитина по сравнению с группой животных, получавших только суспензионную основу.

Как следует из таблицы 2, экспериментальная ГГЦ характеризовалась развитием окислительного стресса в митохондриях головки эпидидимиса, что отражалось в приросте уровня карбонильных производных белков, а также статистически значимым снижением уровня метаболитов NO (II) и общего карнитина в митохондриях.

Таблица 1. Исследуемые показатели сыворотки крови

Группы	Гомоцистеин, $\mu\text{mol/l}$			NOx, $\mu\text{mol/l}$			Общий карнитин, $\mu\text{mol/l}$		
	ГГЦ	ГГЦ+Арг	Твин	ГГЦ	ГГЦ+Арг	Твин	ГГЦ	ГГЦ+Арг	Твин
Медина	291.65*,***	72.95**	5.80	39.10*,***	95.80**	53.35	221.55***	239.20**	1414.05
Q1	277.38	47.33	5.58	36.83	89.28	43.63	181.13	222.25	1308.55
Q3	334.40	110.83	6.80	41.18	101.75	55.70	266.28	308.08	1610.98

Примечание: ГГЦ – группа 1, ГГЦ+Арг – группа 2, Твин – группа 3. * - статистически значимые различия группы 1 и 2, ** статистически значимые различия групп 2 и 3, *** статистически значимые различия групп 1 и 3.

Назначение экзогенного L-аргинина способствовало снижению выраженности гипергомоцистеинемии.

Таблица 2. Исследуемые показатели митохондрий головки эпидидимиса

Группы	NOx, $\mu\text{mol/l}$			Общий карнитин, $\mu\text{mol/l}$			СП ОМБ, е.о.п./мг белка		
	ГГЦ	ГГЦ+Арг	Твин	ГГЦ	ГГЦ+Арг	Твин	ГГЦ	ГГЦ+Арг	Твин
Медина	31.11*,***	56.87**	42.10	24.9*,***	31.74**	89.61	13.52*,***	5.58	3.57
Q1	27.08	52.81	38.04	23.44	26.43	86.91	11.33	3.52	3.24
Q3	32.13	65.75	48.61	26.0	38.53	102.24	15.52	6.06	5.67

Примечание: ГГЦ – группа 1, ГГЦ+Арг – группа 2, Твин – группа 3. * - статистически значимые различия группы 1 и 2, ** статистически значимые различия групп 2 и 3, *** статистически значимые различия групп 1 и 3.

При этом в митохондриях наблюдалось уменьшение уровня карбонильных производных белков, и статистически значимое увеличение уровня карнитина и метаболитов NO (II), что подтверждало наличие антиоксидантного эффекта L-аргинина в условиях экспериментальной ГГЦ, связанной с метиониновой нагрузкой.

Выводы. L-аргинин уменьшает степень выраженности гипергомоцистеинемии, вызванной длительным введением метионина в высокой дозе.

L-аргинин также проявляет выраженные антиоксидантные свойства, препятствуя развитию окислительного стресса в головке придатка яичка, вызванного повышенной концентрацией гомоцистеина.

Работа подготовлена в рамках гранта Президента РФ № МК-4805.2022.3 «Возможные механизмы регуляции метаболизма метионина и гомоцистеина L-карнитином и L-аргинином»

Список литературы:

1. Звягина ВИ, Бельских ЭС, Урясьев ОМ, Медведев ДВ, Киселева ВА, Твердова Л.В. (2018) Влияние карнитина хлорида на митохондрии сердца крыс при моделировании гипергомоцистеинемии. Медицинский Вестник Северного Кавказа, 13(1), 78-81. DOI:10.14300/mnnc.2018.13022

2. Медведев Д.В., Звягина В.И., Урясьев О.М., Бельских Э.С., Булатецкий С.В., Рябков А.Н. (2017) Метаболические изменения в митохондриях лёгких при экспериментальной гипергомоцистеинемии у крыс. Биомедицинская химия 63(3): 248–254. <https://doi.org/10.18097/PBMC20176303248>

3. Карнитина хлорид снижает степень выраженности экспериментальной гипергомоцистеинемии и способствует утилизации лактата эпидидимиса крыс Zvyagina V.I., Beslkikh E.S., Biomeditsinskaya Khimiya, 2021, 67(4), стр. 338–346. DOI:10.18097/PBMC20216704338

4. Zvyagina, V.I., Belskikh, E.S. Carnitine Chloride Reduces the Severity of Experimental Hyperhomocysteinemia and Promotes Lactate Utilization by the Mitochondrial Fraction of the Rat Epididymis. Biochem. Moscow Suppl. Ser. B 2021;15, 326–336. doi: 10.1134/S1990750821040119

5. Звягина ВИ, Бельских ЭС, Медведев ДВ, Головач НА. Изучение функционального состояния митохондрий придатка яичка крыс в условиях изменения синтеза оксида азота (II). Казанский медицинский журнал. 2015;96(5):814-818. doi: 10.17750/КМЖ2015-814

6. Воздействие донора оксида азота (II) L-аргинина на активность митохондриальных оксидоредуктаз и окислительные процессы в ткани сердца крыс в условиях дефицита оксида азота / В. И. Звягина, Д. В. Медведев, Э. С. Бельских, Д. В. Фрольцов // Фундаментальные исследования. 2013. – № 8-5. – С. 1087-1091.

7. West S.G., Likos-Krick A., Brown P., Mariotti F. Oral L-arginine improves hemodynamic responses to stress and reduces plasma homocysteine in hypercholesterolemic men. J Nutr. 2005 Feb;135(2):212-7. doi: 10.1093/jn/135.2.212.10.3390/nu13020534

8. Lee S.J., Park S.H., Chung J.F., Choi W., Huh H.K. Homocysteine-induced peripheral microcirculation dysfunction in zebrafish and its attenuation by L-arginine. Oncotarget. 2017 Apr 4;8(35):58264-58271. doi: 10.18632/oncotarget.16811.

9. Elbashir S., Magdi Y., Rashed A., Henkel R., Agarwal A. (2021) Epididymal contribution to male infertility: An overlooked problem. *Andrologia* 53:1–14. <https://doi.org/10.1111/and.13721>

10. Park Y.-J., Pang M.-G. (2021) Mitochondrial Functionality in Male Fertility: From Spermatogenesis to Fertilization. *Antioxidants* 10:98. <https://doi.org/10.3390/antiox10010098>

11. Медведев Д.В., Звягина В.И., Фомина М.А. (2014) Способ моделирования тяжелой формы гипергомоцистеинемии у крыс. *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова* 22(4): 42–46. <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ2014442-46>

12. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. (2005) Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови. *Клиническая лабораторная диагностика* 6:15-18.

13. Фомина М.А., Абаленихина Ю.В. (2018) Окислительная модификация белков тканей при изменении синтеза оксида азота. М.: Изд-во ГЭОТАР-Медиа.

14. Wan L., Hubbard R.W. (1998) Determination of free and total carnitine with a random-access chemistry analyser. *Clin. Chemistry*. 44(4), 810-816.

КАРБОНИЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ЛИПОПРОТЕИДОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ КАК КЛЮЧЕВОЙ ФАКТОР ПОВРЕЖДЕНИЯ СТЕНКИ СОСУДОВ ПРИ АТЕРОГЕНЕЗЕ И ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ

В.З.Ланкин, А.К.Тихазе, В.Я.Косач, М.К.Осяева

ФГБУ «НМИЦ кардиологии» МЗ РФ, г.Москва, Российская Федерация

Предположение о том, что свободнорадикальные процессы могут играть важную роль в патогенезе атеросклероза впервые было высказано в конце 50-х годов прошлого века [1], тем не менее, только спустя два десятилетия нам удалось обнаружить существенное увеличение содержания первичных продуктов свободнорадикального окисления – липогидропероксидов (ЛООН), преимущественно 13-гидропероксилинолеата [2-4] в крови и атеросклеротически поврежденной стенке сосудов больных атеросклерозом. Кроме того, у больных атеросклерозом было найдено снижение активности утилизирующего ЛООН фермента – эритроцитарной Se-содержащей глутатионпероксидазы (GSH-Px), причем в атеросклеротически поврежденной стенке сосудов также наблюдали уменьшение активности GSH-Px и Cu,Zn-супероксиддисмутазы (Cu,Zn-SOD), прогрессирующее с нарастанием степени повреждения [3, 4]. На основании полученных результатов мы высказали представление о нарушении сбалансированности между

образованием и утилизацией продуктов свободнорадикального окисления в тканях при атеросклерозе [см. обзоры 3, 4 и 5, 6]. Было обнаружено, что химическая модификация частиц липопротеидов низкой плотности (ЛНП) плазмы крови ацетальдегидом делает ЛНП более «атерогенными» [7], т.е. способными к связыванию scavenger-рецептором и накоплению в макрофагах стенки сосудов [7]. Известно, что свободнорадикальное окисление липидов протекает двухстадийно: сначала образуются первичные продукты свободнорадикального окисления – нестойкие LOOH, которые подвергаются дальнейшей окислительной деструкции с образованием вторичных продуктов – низкомолекулярных дикарбониллов [3, 4]. Таким образом, окислительный стресс при атерогенезе, характеризующийся резким увеличением LOOH в тканях, неизбежно должен переходить в карбонильный стресс, сопровождающийся накоплением таких карбонильных продуктов, как гидрокси-ноненали и малоновый диальдегид (МДА) [3, 4]. Альдегидные группы дикарбониллов способны легко реагировать с концевыми аминогруппами белков, образуя внутри- и межмолекулярные сшивки в их молекулах [8]. Модифицированные дикарбонилами частицы ЛНП, взаимодействуя со scavenger-рецепторами макрофагов стенки сосудов, эффективно захватываются этими клетками и накапливаются в их липидных вакуолях [9]. Вследствие этого, макрофаги превращаются в так называемые «пенистые клетки», которые образуют зоны липоидоза – первичные предатеросклеротические повреждения стенки сосудов [3, 4]. Нами было установлено, что не «окисленные» ЛНП (содержащие LOOH-производные фосфолипидов в наружном слое частицы), а исключительно дикарбонил-модифицированные ЛНП связываются со scavenger-рецепторами макрофагов [9]. Более того, в репрезентативных эпидемиологических исследованиях было выявлено, что в наиболее богатые холестерином частицы ЛНП являются дикарбонил-модифицированными [10], причем имеются данные, что модификация ЛНП может быть генетически детерминирована [11]. Молекулы Cu,Zn-SOD и GSH-Px, подобно апопротеину В-100 ЛНП, подвергаются модификации при накоплении МДА в процессе карбонильного стресса при атерогенезе [12, 13], что сопровождается ингибированием их активности вследствие конформационных изменений структуры активного центра [14]. Следовательно, развитие окислительного и последующего карбонильного стресса при атерогенезе приводит к образованию дикарбонил-модифицированных ЛНП, которые являются ключевым фактором, вызывающим предатерогенные повреждения стенки сосудов и последующее формирование атеросклеротических бляшек [3,4]. Известно, что сахарный диабет является фактором риска атеросклероза, причем наличие диабета способствует прогрессированию атерогенеза и большая часть больных диабетом погибает от сосудистых инцидентов [4]. К сожалению, доступная литература не содержит убедительных объяснений

причины этих феноменов. Сахарный диабет, характеризуется развитием не окислительного, а карбонильного стресса [15], при котором накапливается не МДА, а дикарбонилы, образующиеся при окислительных превращениях глюкозы – такие как глиоксаль и метилглиоксаль [15, 16]. Глиоксаль образуется в процессе глиоксилирования при автоокислении глюкозы и других шестиатомных углеводов, тогда как метилглиоксаль синтезируется в процессе гликолиза при ферментативном окислении глюкозы с образованием триозофосфатов [15, 16]. Тем не менее, метилглиоксаль может образовываться и неферментативно при атаке производных глюкозы пероксильными свободными радикалами [17]. При соокислении ЛНП в присутствии глюкозы в концентрациях, характерных для уровней в крови больных сахарным диабетом 2 типа, происходит резкое возрастание скорости свободнорадикального окисления ЛНП с генерированием супероксидного анион-радикала [16, 18]. Супероксидный радикал может генерироваться также в процессе реакции Майяра при взаимодействии метилглиоксаля с концевыми амино-группами апопротеина В-100 ЛНП [17, 19]. Таким образом, при диабетогенезе, в отличие от атерогенеза, первоначально возникает карбонильный стресс (накопление низкомолекулярных дикарбониллов), а окислительный стресс имеет вторичное происхождение и индуцируется на более поздних стадиях активными формами кислорода, генерируемыми вследствие описанных выше реакций. Нами было показано, что у больных сахарным диабетом 2 типа наблюдается увеличение карбонильной модификации ЛНП и резкое падение активности эритроцитарных Cu,Zn-SOD и GSH-Px [20,21]. Наличие повышенного уровня LOOH-содержащих [15, 16] и МДА-модифицированных ЛНП [21] в крови больных сахарным диабетом 2 типа может свидетельствовать о том, что при атерогенезе действительно происходит вторичная индукция окислительного стресса [21]. Значительное увеличение уровней глиоксаля и метилглиоксаля в крови больных сахарным диабетом 2 [4, 15] может вызывать модификацию ЛНП, которая опознается scavenger-рецепторами макрофагов и, тем самым, может индуцировать накопление ЛНП в стенке сосудов с последующим развитием липоидозных повреждений [15, 16]. На основании этих данных мы высказали гипотезу о едином молекулярном механизме повреждения стенки сосудов при атеросклерозе и сахарном диабете, который состоит в увеличении химической модификации апопротеинов ЛНП, вызванной дикарбонилами, накапливающимися в процессе свободнорадикального окисления липидов при атеросклерозе или автоокисления молекул глюкозы при сахарном диабете [18]. Эта гипотеза удовлетворительно объясняет причины стимуляции атерогенеза при диабете, а также тот факт, что наличие диабета может увеличивать риск возникновения атеросклероза [18]. Как выяснилось в последние годы, окислительно модифицированные ЛНП (вероятно, дикарбонил-модифицированные ЛНП) играют важную роль в возникновении дисфункции эндотелия [22].

Scavenger-рецептор эндотелиоцитов LOX-1 связывается с окислительно модифицированными ЛНП, вызывая экспрессию NADPH-оксидазы, которая генерирует супероксидный анион-радикал, вызывая повреждение эндотелиальных клеток [23]. Следовательно, начальные стадии дисфункции эндотелия сосудов – процесса, играющего ведущую роль в атерогенезе и диабетогенезе, напрямую зависят от образования окислительно модифицированных (вероятнее всего – дикарбонил-модифицированных) ЛНП. В конечном итоге, супероксид-зависимое повреждение эндотелиоцитов провоцирует стимуляцию апоптоза и гибель эндотелиальных клеток [22, 23], что, в свою очередь, очевидно, облегчает проникновение модифицированных ЛНП в стенку сосудов, вызывая ее повреждение при атеросклерозе и сахарном диабете. Следует отметить, что ферментная антиоксидантная система эндотелиоцитов, в основном, представлена особым классом энзимов – пероксиредоксинами [24], которые, в соответствии с нашими данными, подобно Cu,Zn-SOD и GSH-Px [14, 20, 21], весьма чувствительны к ингибирующему действию низкомолекулярных дикарбониллов, накапливающихся при карбонильном стрессе [25]. Очевидно, что подавление активности пероксиредоксинов ослабляет антирадикальную защиту эндотелиальных клеток, способствуя повреждению эндотелия, приводящему к его дисфункции. Приведенные данные позволяют полагать, что образование модифицированных ЛНП является ключевым фактором атерогенеза и дисфункции эндотелия – процессов, играющих ведущую роль в атерогенезе и диабетогенезе. На поверхности эндотелия сосудов присутствует сложная многокомпонентная система, называемая гликокаликсом, повреждение которой рассматривается в качестве наиболее раннего повреждения стенки сосудов [26]. Установлено, что гиперпродукция активных форм кислорода при ишемии/реперфузии может вызывать деструкцию эндотелиального гликокаликса [27]. Таким образом, интенсификация свободнорадикальных процессов при атерогенезе и диабетогенезе, провоцируя окислительную модификацию ЛНП, кроме того может запускать и другие молекулярные механизмы атеросклеротического повреждения стенки сосудов.

Исходя из вышеизложенного, для подавления окисления ЛНП логично использовать антиоксиданты, причем в клинических исследованиях были попытки применения безопасных природных антиоксидантов, в частности альфа-токоферола (витамин E) [28]. Причины отсутствия успехов в подобных исследованиях были подробно проанализированы нами [28] и вкратце сводятся к следующему:

1) выбор антиоксиданта был неудачен: использованная лекарственная (стабильная) форма витамина E представляет собой эфиры альфа-токоферола, которые не обладают антиоксидантной активностью [28];

2) витамин E, также как другие жирорастворимые витамины, локализован в гидрофобном ядре частиц ЛНП, что затрудняет

возможность его участия в защите фосфолипидов наружного слоя от перекисного окисления [28];

3) эффективную защиту ЛНП от окисления осуществляет фенольная форма коэнзима Q, причем в организме существует аскорбат-зависимая система биорегенерации окисленного коэнзима Q [28];

4) использование высоких доз антиоксидантов в указанных выше клинических исследованиях было неоправдано, поскольку, вследствие концентрационной инверсии антиоксидантное действие могло переходить в прооксидантное [29];

5) необходимо ингибирование не только (а, вероятно, и не столько) процесса образования первичных продуктов окисления ЛНП ((LOOH), сколько детоксикация вторичных продуктов – природных дикарбониллов, способных вызвать атерогенную модификацию ЛНП.

Следовательно, проблема медикаментозной коррекции окислительного и карбонильного стресса еще далека от кардинального решения и является актуальной задачей современной кардиологии.

Список литературы:

1. Harman D. J. Gerontol. 1956;11(3):298-300.
2. Ланкин В.З. и др. Кардиология. 1976;16(2):23-30.
3. Lankin V.Z., Tikhaze A.K. In: Free radicals, NO and inflammation, IOS Press, 2003; v.344, pp.218–231.
4. Lankin V.Z., Tikhaze A.K. Curr. Aging Sci. 2017;10(1):18-25.
5. Lankin V.Z. Excerpta Med., Int. Congr. Ser. 1992; 98:385-388.
6. Lankin V.Z. Free Radic. Biol. Med. 1994;16(1):8-9.
7. Goldstein J.L. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1979; 76(1):333-337.
8. Donato H. in: Age pigments, Elsevier, 1981; pp.63-81.
9. Lankin V.Z. et al., Mol. Cell. Biochem. 2012;365(1-2):93-98.
10. Lankin V.Z. et al., Mol. Cell. Biochem. 2011;355(1-2):187-191.
11. Khlebus E. et al., PLoS ONE 2019; 14(5):e0217620.
12. Lankin V.Z. et al., Biochemistry (Mosc) Suppl. B, 2012;6(1):81-86.
13. Тихазе А.К. и др., Кардиология 2020; 60(5):57-61.
14. Lankin V.Z. et al., Dokl. Biochem. Biophys. 2017; 475(1):287-290.
15. Lankin V.Z. et al., Biochemistry (Mosc.) 2007;72(10):1081-1090.
16. Lankin V.Z. et al., In: Handbook of Lipoprotein Res. 2010, Nova Sci. Publ., pp. 85-107.
17. Lankin V.Z. et al., J. Antioxidant Activity 2019; 1(4):34-45.
18. Lankin V.Z. et al., Mol. Cell. Biochem. 2014; 395(1-2):241–252.
19. Lankin V.Z. et al., In: Peroxides at the Beginning of the 3th Millennium, 2004; pp. 85-111.
20. Lankin V.Z. et al., J. Diabetes 2016; 8(3): 398-404.
21. Ланкин В.З. и др., Тер. архив 2018; 90(10):46-50.
22. Chistiakov D.A. et al., Cell. Physiol. Biochem. 2016; 38(5):1851-1859.
23. Galle J. et al., Kidney Int. 1999; 55(4):1450-1461.

24. Sharapov M.G. et al., Dokl.Biochem.Biophys. 2016; 471(1):410-412.
25. Lankin V.Z. et al., Dokl.Biochem. Biophys. 2019; 485(1):132-134.
26. Noble M.I.M. et al., QJM 2008; 101(7):513-518.
27. Seal J.B., Gewertz B.L. Ann Vasc Surg 2005; 19:572-584.
28. Ланкин В.З. и др. Кардиология 2004; 44(2):72-81.
29. Lankin V.Z. et al., Bull.Exper.Biol.Med. 1999; 128(3): 930-932.

ПРИМЕНЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ МЕЛАТОНИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КИСЛОРОД-ИНДУЦИРОВАННОЙ РЕТИНОПАТИИ У КРЫС

Л.А. Катаргина¹, Н.Б. Чеснокова¹, Н.А. Лозинская², О.В. Безнос¹, Н.А.
Осипова¹, А.Ю. Панова¹, А.М. Ефремов²

¹ФГБУ "НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца" Минздрава России,
г.Москва, Российская Федерация, ²ФГБОУ ВО "МГУ им. М.В.
Ломоносова", г.Москва, Российская Федерация

Актуальность. Мелатонин – естественный гормон, продуцируемый эпифизом, клетками сетчатки глаза и других тканей. В первую очередь он регулирует циркадные ритмы, в том числе в тканях глаза, но кроме того является мощным антиоксидантом как прямым (скавенджер), так и непрямым за счет активации экспрессии антиоксидантных ферментов и подавления прооксидантных [3]. Он также известен как иммуномодулятор и мощный противовоспалительный агент. Кроме того мелатонин эффективно подавляет экспрессию фактора, индуцируемого гипоксией (HIF) [5], снижает увеличенную вследствие гипоксии экспрессию эндотелиального фактора роста сосудов (VEGF) и уровень NO в сетчатке [4], регулируя таким образом ангиогенез.

Разнообразные свойства мелатонина делают его перспективным кандидатом на испытания в качестве средства лечения заболеваний глаз, сопровождающихся воспалением, окислительным стрессом и нарушениями ангиогенеза. Одно из таких заболеваний – ретинопатия недоношенных, основным проявлением которой является нарушение васкуляризации сетчатки, а пусковыми факторами этого нарушения – гипоксия и окислительный стресс.

Ранее нами было выполнено обширное скрининговое исследование синтетических аналогов мелатонина [2, 6]. Оценивалась их антиоксидантная активность и способность снижать внутриглазное давление у кроликов, которая могла служить опосредованным доказательством сродства этих веществ к рецепторам к мелатонину. На основании результатов исследования были отобраны 3 аналога мелатонина, которые были использованы в данной работе.

Цель работы: изучить влияние синтетических аналогов мелатонина

на факторы, регулирующие ангиогенез, в сетчатке при экспериментальной кислород-индуцированной ретинопатии у крыс.

Материал и методы. Работа выполнена на крысах линии Вистар. В качестве модели использовали модифицированную кислород-индуцированную ретинопатию недоношенных (КИРН) [1]. Контрольную группу составили крысята, находившиеся в условиях с нормальным содержанием кислорода.

Мелатонин (Sigma-Aldrich, США) и его аналоги вводили ежедневно в течение 14 дней интраперитонеально по 0,1 мг. Аналоги мелатонина с рабочими названиями К-096, К-148 и А1-3 были синтезированы на кафедре медицинской химии и тонкого органического синтеза МГУ им. М.В. Ломоносова.

Крысят выводили из эксперимента на 7, 14 и 21 сутки после рождения, энуклеировали глаза и выделяли сетчатки. Ткань гомогенизировали с помощью ультразвукового гомогенизатора UP50H (Hielscher, Германия), центрифугировали, супернатант замораживали и хранили при -70°C до исследования. В супернатанте определяли содержание HIF-1 α и VEGF-A методом ИФА (ELISA kit for hypoxia inducible factor 1 alpha, ELISA kit for VEGF A Cloud-Clone Corp, США) и концентрацию общего белка.

Результаты. Развитие КИРН вызывало сильное достоверное повышение уровня HIF-1 α в сетчатке. На 7 сутки при КИРН без лечения этот показатель превышал норму в 2 раза ($p < 0,01$), на 21 сутки – на 38% ($p < 0,01$). На фоне инъекций мелатонина и всех его аналогов концентрация HIF-1 α статистически не отличалась от нормальной. На 7 сутки аналоги вызывали большее снижение уровня HIF-1 α , чем мелатонин (Рис. 1).

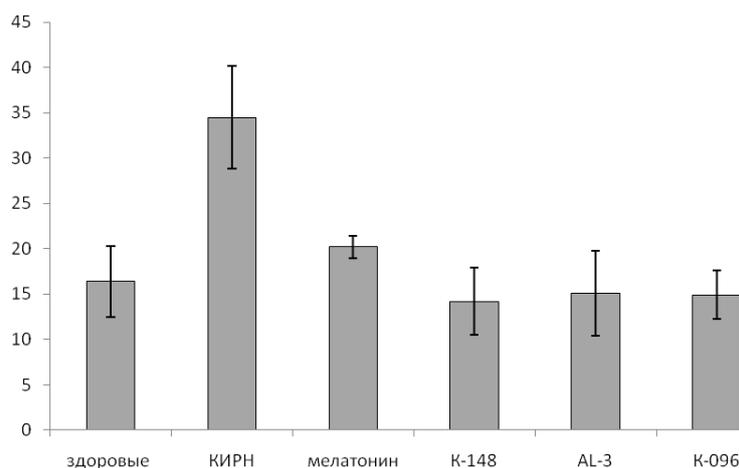


Рисунок 1. Концентрация HIF-1 α в гомогенатах сетчатки крыс при КИРН на 7 сутки после рождения (пг/мг белка)

Концентрация VEGF-A в сетчатке крысят с КИРН без лечения на 7 сутки оказалась в 1,5 раза выше, чем у здоровых ($p < 0,01$) (Рис. 2). В группе, получавшей мелатонин, этот показатель не отличался от нормы.

Под действием аналогов на 7 сутки концентрация VEGF-A снизилась до значений, статистически не отличающихся от нормальных ($p < 0,01$ по сравнению с КИРН без лечения).

Таким образом, инъекции мелатонина и его аналогов приводили к нормализации обоих оцениваемых показателей на 7 сутки после рождения.

Этот момент является критически важным в развитии ретинопатии недоношенных, так как именно тогда в сетчатке формируются аваскулярные зоны, которые позже провоцируют ее патологическую неоваскуляризацию.

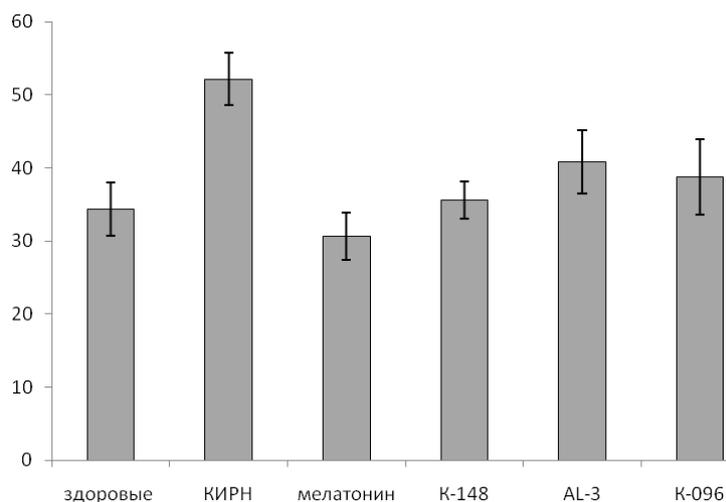


Рисунок 2. Концентрация VEGF-A в гомогенатах сетчатки крыс при КИРН на 7 сутки после рождения (пг/мг белка)

Выводы. Сделать однозначный вывод о сравнительной эффективности мелатонина и его аналогов при экспериментальной КИРН пока не представляется возможным, хотя очевидно, что аналоги не уступают мелатонину. По некоторым признакам аналоги AL-3 и K-096 можно считать более эффективными. Они снижают количество HIF-1 α и VEGF-A в сетчатке на 7 сутки после рождения, когда сформировавшиеся аваскулярные зоны стимулируют дальнейший патологический ангиогенез.

Список литературы:

1. Катаргина Л.А., Хорошилова-Маслова И.П., Майбогин А.М., Панова И.Г., Осипова Н.А. Патоморфологические особенности развития экспериментальной ретинопатии недоношенных. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2017; 3(2): 190-4.

2. Chesnokova N.B., Beznos O.V., Lozinskaya N.A., Volkova M.S., Zaryanova E.V., Zefirov N.S., Grigoryev A.V. Novel agonists of melatonin receptors as promising hypotensive and neuroprotective agents for therapy of glaucoma. *Biochemistry (Moscow) Suppl B: Biomedical Chemistry*. 2017;11(3):272-278.

3. Hardeland R., Pandi-Perumal S.R., Cardinali D.P. Melatonin. *Int J Biochem Cell Biol*. 2006;38(3):313-6.

4. Kaur C., Sivakumar V., Yong Z., Lu J., Foulds W.S., Ling E.A. Blood-Retinal Barrier Disruption and Ultrastructural Changes in the Hypoxic Retina in Adult Rats: the Beneficial Effect of Melatonin Administration. *J Pathol.* 2007; 212(4):429-39.

5. Kim K.J., Choi J.S., Kang I., Kim K.W., Jeong C.H., Jeong J.W. Melatonin Suppresses Tumor Progression by Reducing Angiogenesis Stimulated by HIF-1 in a Mouse Tumor Model. *J Pineal Res.* 2013;54(3):264-70.

6. Zaryanova E.V., Lozinskaya N.A., Beznos O.V., Volkova M.S., Chesnokova N.B., Zefirov N.S. Oxindole-based intraocular pressure reducing agents. *Bioorganic & Medical Chemistry Letters.* 2017; Issue 16:3787-3793.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕСТНОГО И СИСТЕМНОГО УРОВНЯ ТБК-АКТИВНЫХ ПРОДУКТОВ И КАРБОНИЛЬНЫХ ГРУПП ПРИ ТЕРМИЧЕСКИХ ОЖОГАХ РОГОВИЦЫ КРОЛИКОВ

А.В. Колесников, И.В. Кирсанова, Т.Д. Гришина

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Среди травматических повреждений органа зрения ожоги роговицы занимают третье место (8-13%) после проникающих ранений (30-50%) и контузии (34-37%) [1].

В патогенезе усугубления повреждения ткани при ожогах одним из ведущих процессов является окислительный стресс - процесс повреждения различных клеток и органов активными формами кислорода (АФК), возникающий при нарушении равновесия между АФК и нейтрализующих его антиоксидантов [2, 3].

Свободные радикалы — это любые молекулы, имеющие на внешней электронной орбитали неспаренный электрон [4]. Защиту клетки обеспечивают антиоксиданты, которые способны уменьшать интенсивность свободнорадикального окисления. В роговице человека в разных концентрациях содержится супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, каталаза, аскорбиновая кислота [5].

В последние годы уделяется большое внимание значению окислительного стресса в патогенезе ожоговой болезни глаз. Сразу после воздействия щелочи на ткань роговицы происходит усиление синтеза АФК, в результате образуется избыток свободных радикалов, который не компенсируется антиоксидантными ферментами [6]. В эпителии роговицы и крови происходит экспрессия маркеров перекисного окисления липидов и окислительного стресса, отсутствующие в интактной роговице. К ним относятся ТБК-активные продукты. Кроме того, происходит экспрессия нитротирозина и карбонильных соединений, приводящее к нитрозативному стрессу – образованию активных форм азота в концентрации, превышающей способность ткани их нейтрализовать.

Нитрозативный стресс приводит к нитрозированию и изменению структур и функций различных белков [2]. В дополнение к этому происходит снижение концентрации антиоксиданта альдегиддегидрогеназы и глутатионпероксидазы [7].

Показателем активности окислительного стресса в переднем отрезке глаза является антиоксидантная активность слезы. При ожогах роговицы на всех сроках наблюдения она остается сниженной, ее минимальные значения определяются на 7-14 сутки (период максимальных клинических проявлений воспаления) [6]. Что подтверждает целесообразность применения антиоксидантов при лечении ожогов роговицы.

Цель исследования – изучение влияния лактоферрина на уровень ТБК-активных продуктов и карбонильных групп при термических ожогах роговицы.

Материалы и методы. Проведение настоящего исследования было рассмотрено и одобрено Комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Экспериментальная работа выполнялась на обоих глазах 21 кролика-самца. Термический ожог моделировали под местной анестезией цилиндром, нагретым до 200°C. Непосредственно после термического воздействия всем кроликам проводили орошение роговицы и конъюнктивальной полости раствором натрия хлорида 0,9% комнатной температуры с последующей скарификацией струпа. Сразу после воспроизведения патологии наблюдали клиническую картину термического ожога роговицы 3 степени. Далее животные были разделены на 2 группы. Первая группа – контроль патологии – термический ожог роговицы на фоне плацебо-терапии 0,9% раствором хлорида натрия по 1 капле 4 раза в день. Вторая группа – экспериментальное лечение – инстилляцией лактоферрина (ЛФ) (раствор 2,5 мг/мл) по 1 капле 3 раза в день. В каждой группе на 1, 3, 5, 7, 14, 21 и 28 сутки проводили определение биохимических показателей после поражения. Забор крови производили из краевой ушной вены кроликов методом свободного падения капли на 1, 3, 5, 7, 14, 21, 28 сутки. В гомогенате роговицы и крови животных определяли: концентрацию тиобарбитуровой кислоты (ТБК) и карбонильных групп. Статистическую обработку результатов выполняли с помощью пакета Microsoft Excel.

Результаты. Исследование подтвердило активацию перекисного окисления липидов в роговице кролика с экспериментальным термическим ожогом. Происходило повышение концентрации карбонильных групп с 1 дня патологии, максимальные значения показателя определялись на третьи сутки. Нормализация концентрации карбонильных групп наблюдалась к 14 дню. В крови животных данный показатель с 1 суток, максимальные значения - на 5 сутки и превышали значения интактных животных.

В группе животных, получавших экспериментальное лечение ЛФ, концентрация карбонильных групп повышалась начиная с 3 дня,

максимальные значения определялись на 5 сутки. Нормализация показателя наблюдалась уже с 7 дня эксперимента. В крови наблюдали аналогичную картину. Использование ЛФ в сравнении с группой плацебо приводило к снижению концентрации карбонильных групп на всех сроках наблюдения.

Начиная с 1 суток в группе плацебо происходило повышение концентрации ТБК в гомогенате роговицы – с 1 дня патологии почти в 3 раза по сравнению с показателями у интактных животных. Максимальные значения показателя определялись на третьи сутки, а нормализация значений наблюдалась к 14 дню. В крови животных данный показатель начинал повышаться с 1 суток, максимальные значения регистрировались на 3 сутки.

В группе животных, получавших экспериментальное лечение ЛФ, концентрация ТБК повышалась начиная с 1 дня, максимальные значения - на 3 сутки. Затем значение показателя постепенно снижалось и не превосходило нормальные значения с 14 дня эксперимента. В крови показатель возрастал с 1 по 3 сутки, начиная с 5 суток показатель не превышал нормальные значения.

Использование ЛФ в сравнении с группой плацебо приводило к снижению концентрации ТБК в гомогенате роговицы на всех сроках наблюдения.

Выводы. Таким образом, термические ожоги роговицы сопровождаются местной и системной экспрессией ТБК активных продуктов и карбонильных групп. Местное применение лактоферрина приводит к снижению концентрации ТБК-активных продуктов и карбонильных групп на всех сроках наблюдения.

Список литературы:

1. <https://www.mediasphera.ru/issues/vestnik-oftalmologii/2018/4/10042465X2018041080>
2. Jensen S.J.K. Oxidative stress and free radicals // Journal of Molecular Structure: THEOCHEM. 2003. vol. 666-667. P. 387–392. doi: 10.1016/j.theochem.2003.08.037
3. Маркеры воспаления и окислительного стресса
4. Мерзляк М.Н. Активированный кислород и жизнедеятельность растений / М. Н. Мерзляк // Соросовский образовательный журнал. — 1999. — № 9. — С. 20–26.
5. <https://eyepress.ru/article.aspx?10093>
6. Kubota M., Shimmura S., Kubota S. et al. Hydrogen and N-acetyl-L-cysteine rescue oxidative stress-induced angiogenesis in a mouse corneal alkali-burn model. Investigative Ophthalmology and Visual Science. 2011; 52(1): 427–33. doi:10.1167/iovis.10-6167
7. Cejkova J, Trosan P, Cejka C. et al. Suppression of alkali-induced oxidative injury in the cornea by mesenchymal stem cells growing on nanofiber

scaffolds and transferred onto the damaged corneal surface. *Experimental Eye Research*. 2013; 116(2):312–23. doi: 10.1016/j.exer.2013.10.02

АНТИГЛИКИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ НИТРОКСИЛЬНОГО АНИОНА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ СИСТЕМАХ С МЕТИЛГЛИОКСАЛЕМ

О.В. Космачевская, Э.И. Насыбуллина, К.Б. Шумаев, А.Ф. Топунов

Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, г.Москва, Российская Федерация

Актуальность. Нитроксил (HNO) – продукт одноэлектронного восстановления и протонирования оксида азота (NO). При физиологических условиях нитроксил находится в равновесии с нитроксильным анионом (NO⁻). Нитроксил обладает высокой биологической активностью, перекрывающейся с действием NO или ONOO⁻. К настоящему времени доноры HNO/NO⁻ (соль Ангели, кислота Пилоти, цианамид и др.) хорошо себя зарекомендовали в лечении алкоголизма, сердечно-сосудистых заболеваний и рака [1]. Особенно перспективны эти соединения в качестве кардиопротекторных средств. Терапевтический потенциал HNO во многом определяются его прооксидантными и антиоксидантными свойствами.

Нами было показано, что HNO ингибирует продукцию органических свободных радикалов в реакции аминокислот с метилглиоксалем (реакция Майара, реакция неферментативного гликирования) [2]. Метилглиоксаль (MG) – одно из наиболее активных дикарбонильных соединений, реагирующее с амино-, гуанидиновыми и SH-группами биомолекул. Оно образуется во всех живых организмах, в том числе и в бактериях [3]. Поэтому его часто используют для моделирования карбонильного стресса в экспериментах *in vivo* и *in vitro*.

В различных модельных системах *in vitro* и *in vivo* было показано, что NO и его доноры могут ингибировать образование конечных продуктов гликирования (КПГ) [4, 5]. Однако, в литературе отсутствуют данные о влиянии нитроксила на процессы неферментативного гликирования и модификацию белков метилглиоксалем.

Цель. Изучить антигликирующее действие HNO/NO⁻ в модельных системах с пептидами и белками, а также в клетках *Escherichia coli*, культивируемых в условиях карбонильного стресса.

Материалы и методы. Накопление КПГ – дипептида карнозина (бета-аланил-L-гистидин) в реакции с MG регистрировали по изменению флуоресценции при $\lambda_{\text{возб}} = 334$ нм, и $\lambda_{\text{исп}} = 440$ нм. Эксперименты с бактериальными культурами проводили на клетках *E. coli* (штамм ТВ-1), которые высевали в жидкую питательную среду LB и культивировали на

термошейкере при 37°C. В начале логарифмической фазы роста вносили MG и/или соль Пилоти (Piloty's Acid), длительно высвобождающую HNO. Концентрацию клеток в культуре измеряли по величине оптической плотности при OD600. В белковом экстракте бактериальных клеток регистрировали автофлуоресценцию КПП при $\lambda_{\text{возб}} = 325$ нм, $\lambda_{\text{исп}} = 492$ нм. Цитотоксическое и цитопротекторное действие MG и HNO/NO- на бактерии оценивали по восстановлению МТТ цитоплазматическими дегидрогеназами в нерастворимый формазан, количество которого коррелирует с метаболической активностью клеток и способностью к делению. Количество формазанов определяли спектрофотометрически, используя коэффициент миллимолярной экстинкции $\epsilon_{560} = 7,2$ мМ-1см-1.

Результаты. В реакции карнозина с MG донор нитроксила соль Ангели (Angeli's salt) существенно замедлял образование КПП. Поскольку известно, что MG в различных модельных системах стимулирует продукцию супероксида и пероксинитрита, вполне вероятно, что антигликирующее действие HNO связано с его антиоксидантными свойствами. Также нельзя исключить, что КПП непосредственно взаимодействуют с оксидом азота с образованием нитро- и нитрозопроизводных, которые не претерпевают дальнейших превращений.

Известно, что бактерии могут испытывать карбонильный стресс в условиях резкого перехода на субстраты с высокой концентрацией углеводов или в стационарной фазе [3, 6]. В нашем исследовании карбонильный стресс индуцировали добавлением MG. В качестве донора нитроксила использовали кислоту Пилоти в концентрации, не ингибирующей рост бактерий. Учитывая тот факт, что биологический эффект нитроксила зависит от концентрации кислорода, в эксперименте использовали два типа культур: растущие в условиях нормальной аэрации (коэффициент заполнения колбы 0,17) и растущие в условиях с пониженной аэрацией (коэффициент заполнения колбы 0,34). Добавление MG приводило к полному подавлению роста низкоаэрируемых бактерий в период с 2 до 10 часов, в то время как в нормально аэрируемых культурах происходило замедление роста. Также было различно и влияние донора HNO на бактериальные культуры. В первом случае он проявлял цитопротекторное действие, во втором случае эффект был противоположным.

В низкоаэрируемых культурах уровень связанных с белками КПП практически в два раза превышал их уровень в нормально аэрируемых клетках. Это объясняется активацией гликолиза и связанной с этим повышенной продукцией MG. Метилглиоксаль в обоих типах культур усиливал процессы образования КПП ~ на 25%, в то время как нитроксила снижал ~ на 15%. Более выражено антигликирующее действие нитроксила было в присутствии MG. В низкоаэрируемых культурах HNO/NO- снижал содержание КПП до уровня контрольного варианта (без добавок).

Под действием MG жизнеспособность бактерий, оцениваемая по

МТТ-тесту, в обоих типах культур была снижена: на 40% в низкоаэрируемых и на 20% в нормально аэрируемых. Однако действие нитроксила на бактериальные культуры было разнонаправленным: цитопротекторное в первом случае и цитотоксическое во втором.

Цитопротекторное действие нитроксила может быть обусловлено снижением уровня ассоциированных с белками свободных радикалов и продуктов неферментативного гликирования, возникающих при взаимодействии аминокислотных остатков с MG. Цитотоксическое – образованием пероксинитрита в реакции с молекулярным кислородом.

Выводы. В экспериментальных системах с метилглиоксалем, моделирующих действие карбонильного стресса на пептиды, белки и бактериальные клетки, было показано, что нитроксильный анион снижает образование связанных с белками продуктов неферментативного гликирования. Полученные результаты могут найти применение при разработке новых фармакологических препаратов на основе доноров нитроксила.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 19-29-12052) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Список литературы:

1. DuMond J.F., King S.B. The Chemistry of Nitroxyl-Releasing Compounds. *Antioxid Redox Signal*. 2011. 14(9). 1637–1648.
2. Шумаев К.Б., Губкина С.А., Кумскова Е.М., Шепелькова Г.С., Рууге Э.К., Ланкин В.З. Механизм образования супероксидного радикала при взаимодействии L-лизина с дикарбонильными соединениями. *Биохимия*. 2009. 74(4). 568–574.
3. Космачевская О.В., Шумаев К.Б., Топунов А.Ф. Карбонильный стресс у бактерий: причины и последствия. *Успехи биологической химии*. 2015. 55. 49–82.
4. Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.B., Nasybullina E.I., Gubkina S.A., Topunov A.F. Interaction of S-nitrosoglutathione with methemoglobin under conditions of modeling carbonyl stress. *Hemoglobin*. 2013. 37(3). 205–218.
5. Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.B., Nasybullina E.I., Topunov A.F. Formation of nitri- and nitrosylhemoglobin in systems modeling the Maillard reaction. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2014. 52(1). 161–168.
6. Космачевская О.В., Топунов А.Ф. Образование гликированного рекомбинантного лепоглобина в клетках *Escherichia coli*. *Прикл. биохим. микробиол.* 2010. 46(3). 324–330.

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ СЕМЕННЫХ ПУЗЫРЬКОВ В УСЛОВИЯХ МОДУЛЯЦИИ СИНТЕЗА NO

Ю.А. Марсянова, В.И. Звягина

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Семенные пузырьки выполняют роль секреторного органа, обеспечивающего поддержание функции гамет после эякуляции. Основным компонентом секрета семенных пузырьков – фруктоза – является ценным источником энергии для обеспечения подвижности и поддержания жизнеспособности сперматозоидов. В свою очередь сами железы регулируются тестостероном и эстрадиолом. Немедицинское использование гормональных препаратов наравне с нарушениями гормонального фона могут служить причиной нереализованной фертильности у мужчин, опосредованной ухудшением микроокружения сперматозоидов во время эякуляции.

Имеются свидетельства, описывающие положительное влияние дефицита оксида азота на оплодотворяющую способность сперматозоидов мышей [5]. Стимуляция синтеза NO, приводящая к улучшению кровоснабжения органа, также может оказывать положительный эффект на функционирование органов репродуктивной системы: в различных исследованиях показана роль оксида азота в регуляции полового поведения, активации эрекции и сокращении семенных пузырьков. Однако на выработку тестостерона оксид азота влияет противоположно – синтез гормона усиливается при действии ингибиторов NOS [4].

Цель исследования: установить взаимосвязь между модуляцией синтеза оксида азота и регуляцией работы митохондрий семенных пузырьков.

Материалы и методы исследования. В эксперименте участвовали 3 группы крыс сток Wistar (n=8), массой тела 200-280 г. Работа с животными осуществлялась в соответствии с этическими нормами и правилами работы в виварии на базе РязГМУ им. И.П. Павлова. Животным были назначены препараты по следующей схеме: группа 1: контроль – 0,9% раствор NaCl; группа 2: раствор L-NAME [6]; группа 3: раствор l-аргинина [1]. Инъекции ставили внутривенно, один раз в день, в утренние часы. В последний день эксперимента под наркозом отбирали кровь, которую смешивали с антикоагулянтом. Семенные пузырьки опорожняли от секрета и выделяли фракцию митохондрий [2]. В митохондриях определяли количество метаболитов оксида азота по В.А. Метельской (2005) и активность АТФ-синтазы по скорости гидролиза АТФ; в секрете семенных пузырьков определяли количество фруктозы по реакции с резорцином; в перечисленных пробах определяли концентрацию общего белка по методу Лоури; в плазме крови определяли количество тестостерона и эстрадиола методом ИФА (АлкорБио, РФ). Статистическую обработку данных

проводили с помощью программ «MicrosoftExcel2013» и StatSoft STATISTICA 12, используя критерии Шапиро-Уилка, Манна-Уитни и Спирмена. Уровень различий считали статистически значимым при вероятности ошибки $p < 0,05$.

Результаты. Результаты лабораторного исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты лабораторного исследования некоторых показателей митохондрий семенных пузырьков, Me [Q1; Q3]

Показатели	Контроль	L-NAME	Аргинин
Колич. метаболитов NO	792 [703; 911]	437 [364; 526]*	650 [578; 713]*
Активность АТФ-синтазы	9,1 [6,3; 20,8]	7,7 [5,4; 9,8]	14,2 [10,6; 17,6]
Колич. фруктозы	7,6 [5,5; 9,6]	9,1 [8,1; 11]	2 [1,4; 2,7]*
Колич. тестостерона	19,7 [15; 28]	45,2 [17; 53]	4,2 [2; 7]*
Колич. эстрадиола	886 [849; 925]	877 [800; 890]	873 [806; 906]

Примечания: * - уровень значимости $p < 0,05$ при сравнении экспериментальной группы с группой контроля

Достоверное снижение количества оксида азота в митохондриальной фракции семенных пузырьков наблюдаются в обеих экспериментальных группах. В группе животных, получавших аргинин, снижается количество тестостерона в плазме крови и количество фруктозы в семенной жидкости. Количество эстрадиола в крови и активность АТФ-синтазы в митохондриях достоверных изменений не показали. Другими словами получается, что при получении животными аргинина резко изменяется соотношение эстрадиол/тестостерон. Корреляционная связь выявлена только между уровнем фруктозы и тестостерона ($r=0,77$, $p=0,00001$).

В литературе встречается указание на гонадостимулирующее действие оксида азота при временном интервале введения модуляторов синтеза NO 12 часов [3]. В нашем исследовании временной интервал составил 24 часа, что могло послужить причиной появления резко противоположного эффекта. А также показано, что снижение секреторной функции семенных пузырьков в больше степени зависит от уровня тестостерона, чем от уровня эстрадиола.

Вывод. Активность синтеза АТФ митохондриями семенных пузырьков не изменяется в условиях модуляции синтеза оксида азота ингибитором NOS или аргинином. Уровень эстрадиола также не зависит от изучаемых условий, а тестостерона снижается при курсовом применении аргинина. Содержание фруктозы в секрете семенных пузырьков коррелирует с количеством тестостерона в плазме крови.

Список литературы:

1. Арапова А. И. Аутокаталитические эффекты лизосомальных цистеиновых протеиназ гладкой мышцы аорты крыс / А. И. Арапова, М. А. Фомина // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2015. – № 4. – С. 27-32.
2. Марсянова Ю. А. Влияние сукцината на некоторые показатели биоэнергетического обмена в семенных пузырьках и эпидидимисе у самцов крыс в условиях хронической гипоксии / Ю. А. Марсянова, В. И. Звягина // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – Т. 24. – № 2. – С. 49-54. – DOI 10.29296/25877313-2021-02-08.
3. Correlation of nitric oxide (NO) activity and gonadal function in Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica* following temporal phase relation of serotonergic and dopaminergic oscillations <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432007001340>
4. Welch C., Watson M.E., Poth M., Hong T., Francis G.L. Evidence to suggest nitric oxide is an interstitial regulator of Leydig cell steroidogenesis *Metabolism*, 44 (1995), pp. 234-238
5. Ibukun P. O., Yinusa R., Adeyombo F. B., Nitric oxide synthase inhibition ameliorates nicotine-induced sperm function decline in male rats, *Asian Pacific Journal of Reproduction*. 2015.- V.4.- Issue 3. P.212-216. <https://doi.org/10.1016/j.apjr.2015.06.004>
6. Zun Yi Wang, Hakanson Rolf. Role of nitric oxide (NO) in ocular inflammation // *British Journal of Pharmacology* – 1995. – Vol. 116. – P. 244–245

**ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО
КАРБОНИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ ТКАНИ ЛЕГКИХ ПОД
ВОЗДЕЙСТВИЕМ ИЗОПРОПИЛАМИННОЙ СОЛИ ГЛИФОСАТА**

Д.И. Мирошникова¹, В.А. Кирюшин², Т.В. Моталова²

¹ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, г.Мытищи, Российская Федерация, ²ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. В течение нескольких десятилетий глифосат является одним из наиболее широко используемых гербицидов в мире [4,2], но вопрос о безопасности глифосата и его коммерческих составов до сих пор остается спорным.

Потенциальное влияние пестицидов на основе глифосата на процессы детоксикации в организме явились поводом для изучения нами показателей окислительного карбонилирования белков в легких лабораторных животных в условиях токсикологического эксперимента.

Цель. Провести оценку состояния окислительного карбонилирования белков в цитоплазматической и митохондриальной фракциях ткани легких под воздействием пестицида на основе изопропиламинной соли глифосата.

Материалы и методы. Материалом для исследования явились субклеточные фракции гомогенатов ткани легких, полученные от крыс линии Wistar в динамике многократного воздействия пестицида на основе изопропиламинной соли глифосата. Препарат вводили животным с помощью внутрижелудочного зонда в дозах 150 (группа Т2) и 300 мг/кг (группа Т1) в субхроническом опыте с выведением животных из эксперимента через 2 недели, 1 месяц, 3 месяца, и через 6 и 12 месяцев – в хроническом. Выраженность окислительного карбонилирования белков определяли по методу R.L. Levine в модификации Е.Е. Дубининой [5,1]. Для анализа результатов определения содержания карбонильных производных белков, выраженных в единицах оптической плотности (ед. опт. пл.) на 1 г белка, применяли способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков, ОМБ [3]. На основании значений площадей под кривой спектра поглощения карбонильных производных определяли их общее содержание (SO), содержание первичных маркеров — альдегидных форм ДНФГ (SA) и вторичных маркеров — кетонных форм ДНФГ (SK).

Результаты. В субклеточных фракциях ткани легких нами обнаружена тенденция к нарастанию производных белков в цитоплазматической фракции в обеих группах исследования с максимальными значениями на этапе «3 месяца». При этом их содержание явилось статистически незначимым по сравнению с контрольными показателями.

В митохондриальной фракции к сроку «3 месяца» наблюдается снижение показателя относительно первичного накопления на этапе «2 недели». Для этапа «1 месяц» характерно статистически значимое нарастание продуктов ОМБ относительно контроля при введении различных доз.

Оценка влияния изопропиламинной соли глифосата на окислительное карбонилирование белков в цитоплазматической фракции ткани легких лабораторных крыс показала, что в условиях субхронического эксперимента изменения в опытных группах по отношению к контрольным образцам не являются статистически значимыми на этапах «2 недели» и «3 месяца» (Табл. 1).

Как видно из таблицы 1, под воздействием глифосатсодержащего пестицида в дозе 300 мг/кг м.т. через месяц от начала эксперимента наблюдается достоверное повышение общего содержания продуктов ОМБ, преимущественно, за счет вторичных карбонильных производных белков, которые демонстрируют статистически значимое нарастание относительно группы контроля.

Таблица 1. Результаты комплексной оценки состояния окислительной модификации белков цитоплазматической фракции ткани легких в экспериментальных и контрольных группах субхронического эксперимента (Me [Q1; Q3], n=10)

Фракция	Срок исследования	Показатель, е.о.п./мг белка	Группа		
			Контроль	T1	T2
Цитоплазматическая	2 недели	S _О	6,36 [5,6;8,69]	6,94 [5,79;8,27]	6,19 [4,89;7,96]
		S _{АДНФГ}	4,69 [4,13;5,54]	5,07 [4,36;5,75]	4,59 [3,71;5,3]
		S _{КДНФГ}	1,65 [1,4;2,66]	1,86 [1,63;2,52]	1,66 [1,34;2,14]
	1 месяц	S _О	6,01 [5,43;7,58]	8 [6,67;8,36]*, #	6,88 [5,38;7,27]
		S _{АДНФГ}	4,6 [4,02;5,76]	5,7 [5,07;5,98] #	5,01 [3,71;5,13]
		S _{КДНФГ}	1,4 [1,23;1,72]	2,24 [1,88;2,38]*	1,76 [1,71;2,09]
	3 месяца	S _О	9,05 [8,69;10,19]	11,67[8,22;12,75]	9,3 [8,37;11,72]
		S _{АДНФГ}	6,63 [6,37;7,4]	7,76 [5,95;9,21]	6,46 [6,01;8,39]
		S _{КДНФГ}	2,48 [2,27;2,85]	3,44 [2,39;4,04]	2,94 [2,32;3,47]
Митохондриальная	2 нед	S _О	2,99 [2,44;3,36]	3 [2,92;3,53]	3,1 [2,78;3,33]
		S _{АДНФГ}	2,28 [1,75;2,49]	2,34 [2,14;2,64]	2,2 [1,97;2,36]
		S _{КДНФГ}	0,77 [0,59;0,8]	0,8 [0,76;0,9]	0,86 [0,81;0,93]
	1 мес	S _О	3,29 [3,18;3,61]	5,07 [4,48;5,49] *	4,69[4,01;5,58]*
		S _{АДНФГ}	2,2 [1,97;2,36]	3,79 [3,34;4,27]*	3,57 [3,14;4,2] *
		S _{КДНФГ}	1,02 [0,96;1,23]	1,2 [1,16;1,31]	1,1 [0,89;1,35]
	3 мес	S _О	3,86 [3,58;3,97]	3,96 [3,59;4,31]	3,39 [2,75;3,73]
		S _{АДНФГ}	2,76 [2,68;2,91]	2,97 [2,62;3,24]	2,45 [1,99;2,74]
		S _{КДНФГ}	1,06 [0,95;1,11]	0,98 [0,96;1,01]	0,93 [0,79;0,97]

Примечание. *, p1 – статистические значимые отличия от контрольной группы; #, p2 – статистически значимые отличия от группы исследования 2 (p < 0,05). S_О – общее содержание окислительно карбонилированных белков; S_{АДНФГ} – площадь под кривой спектров поглощения альдегид-динитрофенилгидразонов; S_{КДНФГ} – площадь под кривой спектров поглощения кето-динитрофенилгидразонов

Несмотря на продолжающуюся тенденцию к накоплению продуктов ОМБ, к трем месяцам эксперимента их повышение не имело статистической значимости относительно контроля и другой группы исследования.

Интересным является проявление окислительной модификации белков в митохондриальной фракции ткани легких. Статистически значимые изменения наблюдаются только на этапе «1 месяц» в двух группах сравнения относительно контрольных значений (Табл. 1). Прослеживается статистически значимое повышение общего содержания продуктов ОМБ относительно контроля, преимущественно, за счет накопления АДНФГ, что может свидетельствовать о возможной обратимости данного процесса и подтверждается отсутствием значимых изменений спустя 3 месяца от начала эксперимента.

Выводы. Установлено увеличение содержания карбонильных производных белков в цитоплазматической и митохондриальной фракциях ткани легких через 1 месяц ($p < 0,05$). В другие сроки (2 недели, 3 месяца, 6 и 12 месяцев), статистической значимости указанных показателей получено не было.

Список литературы:

1. Дубинина, Е.Е. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях / Е.Е. Дубинина, А.В. Пустыгина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Укр. біохім. журн. – 2008. – Т. 80, №6. – С.5-18.

2. Мирошникова, Д.И. Токсиколого-гигиеническая характеристика пестицидов на основе глифосата / Д.И. Мирошникова, Т.В. Моталова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Материалы ежегодной научной конференции Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова. – Рязань, 2016. – С. 313–6.

3. Патент 2524667 РФ, МКИ G01N33/52. Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях : №2013102618/15, 2013.01.21 : заявл. 2013.01.21 : опубл. 2014.07.27 / Фомина Мария Алексеевна (RU), Абаленихина Юлия Владимировна (RU), Фомина Наталья Васильевна (RU), Терентьев Александр Александрович (RU). – Текст (визуальный) : непосредственный.

4. Benbrook, C.M. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally / C.M. Benbrook. – Text : visual // Environ Sci Eur. – 2016. – Vol. 28, № 3. doi:10.1186/s12302-016-0070-0

5. Levine, R.L. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins / R.L. Levine. . – Text : visual // Methods Enzymol. – 1990. – Vol. 186. – P. 464–78.

ИНГИБИТОРЫ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ КОММУНИКАЦИИ БАКТЕРИЙ В КАЧЕСТВЕ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

А.В. Моисеева

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский университет), г.Москва, Российская Федерация

Актуальность. В настоящее время известно, что межклеточная коммуникация бактерий имеет множество приспособительных механизмов, в особенности явление «чувство кворума» (Quorum sensing). Его механизм играет огромную роль в формировании биопленок, которые являются формой существования микробных сообществ и обеспечивают устойчивость к антибактериальным препаратам. Именно поэтому, потенциально, Quorum sensing может стать причиной развития антибиотикорезистентности. Как известно, сейчас актуальность проблемы антибиотикорезистентности все больше возрастает.

Цель. 1) Выяснение роли межклеточной коммуникации бактерий в формировании биопленок; 2) Изучение ингибиторов межклеточной коммуникации бактерий и их потенциальной роли в качестве антибактериальных препаратов нового поколения.

Материалы и методы. В ходе работы осуществлялся поиск публикаций 2000-2020 гг. в базах данных PubMed, Scopus, Web of Science по запросам: “Quorum sensing”, “Quorum sensing AND inhibitors”, “Quorum sensing AND biofilm AND antibiotic”, “Quorum sensing AND bacteria” и др. Были включены оригинальные статьи, мета-анализы, систематические обзоры, соответствующие выбранной теме.

Результаты. Quorum sensing, или «чувство кворума», обозначает способность некоторых микроорганизмов к общению посредством специфических сигнальных молекул, необходимых для координации действий членов сообщества. Последнее достигается только при определенной плотности популяции, когда концентрация сигнальных молекул достигает порогового значения [1].

Особое значение для врачей имеет способность некоторых бактерий под контролем «чувства кворума» образовывать биопленки. Биопленки состоят из микробных клеток и внеклеточного матрикса, который содержит полисахариды, белки и ДНК. Популяция бактериальных клеток проходит ряд стадий, приводящих к формированию биопленки[2]. На последнем этапе формирования зрелой биопленки среди микробных клеток выделяется популяция клеток-персистеров, устойчивых к антибиотикам. Благодаря горизонтальному переносу генов в бактериальной популяции антибиотикорезистентность приобретают все клетки, входящие в состав зрелой биопленки. Как отмечалось ранее, в качестве одного из ключевых регуляторов биопленкообразования можно

выделить Quorum sensing.

Межклеточная коммуникация бактерий включает следующие этапы: 1) Продукция сигнальной молекулы; 2) Распространение этих молекул в бактериальной популяции и при достижении пороговой концентрации – связывание с рецепторами; 3) Ответная реакция на поступающий сигнал, выражающаяся в активации транскрипции определенных генов. Каждый из этапов межклеточной коммуникации бактерий можно прервать, подобрав соответствующие ингибиторы. В первом случае в качестве ингибитора может выступать соединение, влияющее на путь биосинтеза сигнальной молекулы (например, триклозан)[3]. Во втором случае можно подобрать фермент, который будет разрушать сигнальные молекулы в окружающей среде, что нарушит распространение «сигнала» между бактериями (например, с помощью, разных подклассов оксидоредуктаз и ацилаз)[4]. В третьем случае можно подобрать конкурентный ингибитор, который будет связываться со специфическим рецептором сигнальной молекулы (например, изменив химическую структуру молекулы индуктора). Вследствие прерывания межклеточной коммуникации бактерий нарушается процесс формирования биопленок. Это может быть одним из способов решения проблемы антибиотикорезистентности, которая в настоящее время очень распространена [5].

Выводы. В заключение хотелось бы отметить, что изучение механизма Quorum sensing в последнее время становится все более актуальным, так как обнаружено его влияние на формирование биопленок, а также антибиотикорезистентности. «Антикворумные препараты» в скором времени смогут стать полноценной заменой антибиотиков, так как они направлены на ингибирование передачи сигнала между бактериальными клетками. Причем это действие очень селективно и имеет минимальное количество побочных эффектов, в отличие от классических антибиотиков.

Список литературы:

1. Abisado RG, Benomar S, Klaus JR, Dandekar AA, Chandler JR. Bacterial Quorum Sensing and Microbial Community Interactions. *mBio*. 2018;9(3):e02331-17. doi:10.1128/mBio.02331-17
2. Carradori S, Di Giacomo N, Lobefalo M, Luisi G, Campestre C, Sisto F. Biofilm and Quorum Sensing inhibitors: the road so far. *Expert Opin Ther Pat*. 2020;30(12):917-930. doi:10.1080/13543776.2020.1830059
3. Fuentes-Gutiérrez A, Curiel-Quesada E, Correa-Basurto J, Martínez-Muñoz A, Reyes-Arellano A. N-Heterocycles Scaffolds as Quorum Sensing Inhibitors. Design, Synthesis, Biological and Docking Studies. *Int J Mol Sci*. 2020;21(24):E9512. doi:10.3390/ijms21249512
4. Defoirdt T. Quorum-Sensing Systems as Targets for Antivirulence Therapy. *Trends Microbiol*. 2018;26(4):313-328. doi:10.1016/j.tim.2017.10.005
5. Kumar M, Saxena M, Saxena AK, Nandi S. Recent Breakthroughs in

ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА — ПРОТЕКТОРЫ ГЕМОГЛОБИНА В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Э.И. Насыбуллина, О.В. Космачевская, К.Б. Шумаев, А.Ф. Топунов

Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, г. Москва, Российская Федерация

Актуальность. Динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) являются одной из физиологических форм оксида азота (NO) в организме и функционируют в качестве доноров NO и/или Fe-(NO)₂. В различных экспериментальных системах *invitro* и *invivo* было доказано, что NO может действовать как антиоксидант, вступая в реакцию с радикалами (O₂^{•-}, [•]OH, Tug[•], RS[•], [•]NO₂, ROO[•]). Метаболиты NO – ДНКЖ также проявляют антиоксидантные свойства. Низкомолекулярные и связанные с белками ДНКЖ перехватывают супероксидный анион-радикал [1]. ДНКЖ с глутатионовыми лигандами (GS-ДНКЖ) препятствуют окислительной модификации гемоглобина, вызванной пероксинитритом [2], а ДНКЖ, связанные с гемоглобином (Hb), защищают входящие в их состав тиоловые группы от окисления [3]. Кроме того, GS-ДНКЖ защищают эритроциты от индуцированного HOCI гемолиза [4].

Цель. Изучить протекторное действие ДНКЖ на окислительную модификацию гемоглобина пероксинитритом.

Материалы и методы. Деструкцию связанных с гемоглобином ДНКЖ (Hb-ДНКЖ) под действием пероксинитрита (ONOO⁻) изучали с помощью ЭПР-спектроскопии при комнатной температуре. Количественную оценку карбонильных производных гемоглобина производили по методу Фоминой и Абаленихиной [5]. Концентрацию гема определяли пиридингемохромовым методом. Свободные сульфгидрильные группы определяли с помощью тиол-специфичного реагента ThioGlo1. Состояние триптофановых и тирозиновых остатков в молекуле гемоглобина изучали с помощью флуоресцентной спектроскопии. Образование межсубъединичных сшивок и агрегатов белка регистрировали методом денатурирующего SDS-электрофореза в 12% ПААГ. ДНКЖ с фосфатными лигандами синтезировали по методу [5]. Для получения Hb-ДНКЖ к раствору Hb добавляли ДНКЖ с фосфатными лигандами в соотношении 1,8 комплексов на 1 тетрамер Hb. ONOO⁻

получали, быстро смешивая 0,6 М раствор NaNO_2 и 0,6 М раствор H_2O_2 в 0,7 МНСl.

Результаты. Нб-ДНКЖ количественно разрушались пероксинитритом. Кинетика этого процесса имела двухфазный характер. Первая фаза – быстрое разрушение Нб-ДНКЖ длилась 4-5 минут, что, вероятно, связано с взаимодействием комплексов с пероксинитритом и его реакционно-активными производными. При молярном соотношении Нб к ONOO^- 1 : 12 концентрация ДНКЖ снижалась на ~75%, а при соотношении 1 : 14,5 парамагнитные ДНКЖ почти полностью разрушались. В течение второй более медленной фазы скорость распада Нб-ДНКЖ в контрольном образце и в присутствии ONOO^- практически не отличалась. При этом ДНКЖ оказывали выраженное ингибирующее действие на образование карбонильных производных Нб. Они защищали белок в широком диапазоне концентраций ONOO^- от 0,38 до 4,20 мМ. При концентрации ONOO^- 1 мМ карбонильных производных Нб-ДНКЖ было на 60% меньше, чем в контрольном белке, не содержащем ДНКЖ.

Нб-ДНКЖ тормозили разрушение гемовой группы. В контроле доля разрушенного гема Нб находилась в прямой зависимости от концентрации окислителя. При концентрации ONOO^- 4,2 мМ разрушалось 50% гемов Нб, в то время как в Нб-ДНКЖ – только 25%.

Спектрофлуориметрическое исследование тирозиновых остатков Нб при действии ONOO^- показало, что интенсивность их флуоресценции в Нб и Нб-ДНКЖ возрастала при увеличении концентрации ONOO^- , что связано с образованием 3,3'-дитирозина. Однако, начиная с концентрации 1,6 мМ, флуоресценция Нб-ДНКЖ снижалась, вероятно, из-за образования 3-нитротирозина. Была изучена и зависимость интенсивности флуоресценции триптофана от концентрации ONOO^- . В Нб она дозозависимо уменьшалась, что свидетельствует об окислении остатков триптофана. В Нб-ДНКЖ при низких концентрациях окислителя флуоресценция незначительно возрастала и только начиная с концентрации ONOO^- 2,6 мМ снижалась относительно исходного уровня, что может быть обусловлено распадом ДНКЖ.

При взаимодействии ONOO^- с Нб происходило незначительное окисление реакционноспособных остатков цистеина ($\text{Cys93}\beta$). Уменьшение на ~10 % интенсивности флуоресценции тиольного аддукта с ThioGlo1 наблюдалось при 0,6 мМ ONOO^- . Дальнейшее увеличение концентрации ONOO^- не приводило к усилению окисления SH-групп Нб. Полученные результаты согласуются с имеющимися в литературе данными о том, что основной мишенью пероксинитритов Нб является гем, а не остатки $\text{Cys93}\beta$.

Связанные с белком ДНКЖ препятствовали образованию межбелковых связей. В контрольном варианте при всех концентрациях ONOO^- происходило дозозависимое образование димеров субъединиц Нб

и высокомолекулярных агрегатов. При концентрациях ONOO^- 2,6 и 4,2 мМ агрегация была настолько сильной, что белок даже не проникал в концентрирующий гель. Если SH-группы Hb были включены как лиганды в ДНКЖ, белок агрегировал только при концентрации ONOO^- 2,6 и 4,2 мМ и в меньшей степени, чем в контрольных образцах. При этом степень сшивания молекул Hb не зависела от наличия восстановителя – дитиотреитола, что исключает вклад дисульфидных связей в агрегацию белка.

Выводы. Связанные с гемоглобином ДНКЖ дозозависимо разрушаются под действием пероксинитрита, при этом они оказывают протекторное действие на гемоглобин. Это может быть связано с их способностью восстанавливать оксоферрильную форму гема и непосредственно перехватывать ONOO^- и свободные радикалы, возникающие при его гомолизе. Наличие у ДНКЖ антиоксидантных и антирадикальных свойств делает эти вещества перспективными фармакологическими агентами, повышающими устойчивость миокарда к ишемии в условиях искусственного кровообращения.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 19-29-12052) Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Список литературы:

1. Шумаев К.Б., Космачевская О.В., Грачев Д.И., Тимошин А.А., Топунов А.Ф., Ланкин В.З., Руге Э.К. Возможный механизм антиоксидантного действия динитрозильных комплексов железа. Биомедицинская химия. 2021. 67(2). 162–168.

2. Космачевская О.В., Насыбуллина Э.И., Шумаев К.Б., Чумикина Л.В., Арабова Л.И., Яглова Н.В., Обернихин С.С., Топунов А.Ф. Динитрозильные комплексы железа с глутатионовыми лигандами перехватывают пероксинитрит и защищают гемоглобин от окислительной модификации. Прикладная биохимия и микробиология. 2021. 57(4). 315–325.

3. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Timoshin A.A., Vanin A.F., Topunov A.F. Dinitrosyl iron complexes bound with haemoglobin as markers of oxidative stress. Methods in Enzymology. 2008. 436. 445–461.

4. Shumaev K.B., Gorudko I.V., Kosmachevskaya O.V., Grigoryeva D.V., Panasenko O.M., Vanin A.F., Topunov A.F., Terekhova M.S., Sokolov A.V., Cherenkevich S.N., Ruuge E.K. Protective effect of dinitrosyl iron complexes with glutathione in red blood cell lysis induced by hypochlorous acid. Oxid. Med. Cell. Longev. 2019. 2019. e2798154.

5. Фомина М.А., Абаленихина Ю.В. Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ В ИЗУЧЕНИИ МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ И СТРУКТУРЫ СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ

Д.М. Никулина

ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, г.Астрахань,
Российская Федерация

Актуальность. В биологии и медицине хорошо известны специфические взаимодействия белков, которые и определяют их функцию, через центр связывания с различными лигандами органической природы, в том числе с белками. Однако межбелковые взаимодействия с неочевидной функциональной значимостью изучены недостаточно. В первую очередь это касается поверхностных участков белков. Для изучения белок-белковых взаимодействий применяют методы визуализации этого феномена флюоресцентной микроскопией, конфокальной микроскопией, исследованием водных растворов белков методами статического и динамического светорассеяния. В настоящее время в этих целях все шире используют методы биоинформатического анализа и молекулярного моделирования структуры белков [1, 3, 4].

При изучении физико-химических свойств ассоциированных с беременностью белков сыворотки крови нами были выявлены нелогичные характеристики связанного с беременностью альфа₂-гликопротеина (СБАГ/ α ₂-РАГ) или pregnancyzoneprotein (PZP – в базе данных) при гель-хроматографии. Значительная часть его объема выходила вместе с альфа₂МГ (МГ), при том, что масса молекулы МГ более 700 кД, а СБАГ – менее 400 кД., что можно было объяснить только их межмолекулярными взаимодействиями.

Цель. Провести анализ структуры СБАГ и МГ с помощью биоинформационных программ для подтверждения их белок-белковых взаимодействий, обусловленных наличием на поверхности идентичных кластеров гидрофобных радикалов.

Материалы и методы. В качестве источника аминокислотных последовательностей белков использовали базы данных NCBI и PDB, для анализа аминокислотных последовательностей - программу Jalview с алгоритмом ClustalAlignment, для построения модели белка - веб-сервер I-Tasser и другие, формирования и изучения комплекса белков - веб-серверы Hex-Dock и сервер PDBePISA, для поиска идентичных гидрофобных кластеров и визуализации результатов - программу SwissPDBViewer.

Результаты.

Определили, что в МГ неполярных аминокислот (НПА) 46%, а в СБАГ – 39%. Относительное количество каждой из них в общей полипептидной цепи составило по убыванию в МГ: 32% (лей), 20% (вал), 14% (ала), 12% (гли), 11% (илей), 11% (про); в СБАГ: 24% (лей), 23% (вал), 16% (ала), 14% (гли), 14% (про), 9% (илей). В обоих белках совпадает по наименованию количественный ряд аминокислот. Максимальный % имеет лей, минимальный – у илей и про. В таблице показано содержание гидрофобных аминокислот в интерфейсе (области белок-белковых межмолекулярных взаимодействий) цепей изучаемых белков:

Цепи белков	Показатель	MG	PZP	MG+PZP
1 C(MG) +F(PZP)	Всего аминокислот	687	775	1462
	Гидрофобных аминок-т	342	401	743
2 A(MG) +E(PZP)	Всего аминокислот	330	374	704
	Гидрофобных аминок-т	148	176	324
3 D(MG) +F(PZP)	Всего аминокислот	185	228	413
	Гидрофобных аминок-т	76	112	188
4 D(MG) +E(PZP)	Всего аминокислот	168	200	368
	Гидрофобных аминок-т	84	91	175
5 B(MG) +E(PZP)	Всего аминокислот	129	148	277
	Гидрофобных аминок-т	60	82	142
6 C(MG) +E(PZP)	Всего аминокислот	207	261	468
	Гидрофобных аминок-т	105	115	220

Визуальный скрининг в программе SwissPDBViewer эволюционно стабильных трипептидов на поверхности трехмерной модели PZP, способных принимать участие в образовании надмолекулярного комплекса с MG, показал, что из 346 трипептидов поверхностными оказались 117.

На сервере HexDock получена модель комплекса MG и PZP, белки в котором наиболее сильно связаны между собой через цепи C(MG) и F(PZP), рис.1. В области взаимодействия между ними было найдено 49 кластеров идентичных гидрофобных аминокислот, сгруппированных по 2 и более, находящихся на расстоянии до 50 ангстрем друг от друга, достаточном для проявления Ван-дер-Ваальсового притяжения, ведущего к сближению молекул и гидрофобному взаимодействию. Расстояние в ангстремах между идентичными гидрофобными кластерами изучаемых белков позволяет сделать вывод, что межмолекулярное распознавание происходит на значительном расстоянии друг от друга и задолго до образования комплекса.

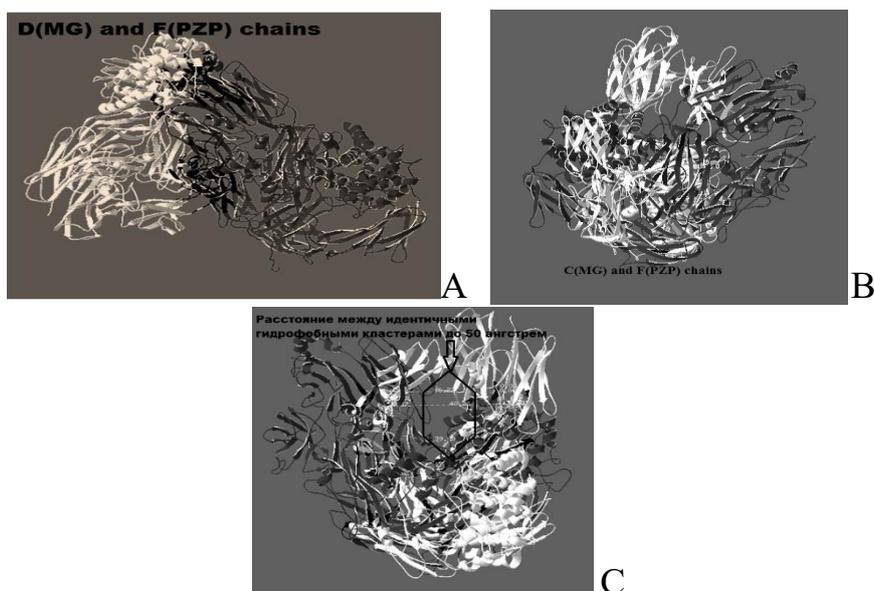


Рисунок 1. Комплексы цепей D(MG) и F(PZP) и C(MG) и F(PZP), А и В; расстояние между идентичными кластерами до 50 ангстрем, С.

В оценке результатов работы следует опираться на понимание эквивалентного соотношения молекул, способных к образованию комплексов. С учетом того, что МГ является постоянным компонентом белков сыворотки, комплекс МГ-СБАГ образуется только при патологических процессах, сопровождающихся заметным усилением синтеза СБАГ (воспаление, опухоль), и при развитии беременности. Остается открытым вопрос, зачем формируется этот белок-белковый комплекс.

Проведенное исследование межмолекулярных взаимодействий МГ и PZPinsiliko позволило сделать **выводы:**

1. Наличие большого количества в обоих белках неполярных аминокислот обеспечивает генетически детерминированное формирование надмолекулярного комплекса за счет гидрофобных радикалов на поверхности конформационных структур.

2. Подобное взаимодействия белков сыворотки крови, вероятно, необходимо для стабилизации функционирующей структуры белка и, в частности, центра связывания, а также возможного опосредованного участия каждого из них в реализации функции другого.

Список литературы:

1. Бойко А.В. Особенности молекулярной подвижности и межмолекулярного взаимодействия белков сыворотки крови в норме и при патологии. Канд. дисс. 2005

2. Никулина Д.М. Определение функции белков крови с учетом их межмолекулярных взаимодействий. Научные труды V Съезда физиологов СНГ, V Съезда биохимиков России - Acta naturae – спецвыпуск, том 2, 2016. С .101-102

3. Суплатов Д. А., Швядас В. К. Изучение функциональных и аллостерических сайтов в суперсемействах белков // Acta Naturae, 2015, 7(4), 39-52

4. Суплатов Д.А., Попова Н.Н., Копылов К.Е., Шегай М.В., Воеводин В.В., Швядас В.К. Гибридные вычислительные кластеры для изучения структуры, функции и регуляции белков. Суперкомпьютерные дни в России 2017 // Russian Supercomputing Days 2017 // ussianSCDays.org. 544-553

5. Nikulina D., Gavrilenko A. Is it possible that molecular interactions of the trophoblast-specific beta-glycoprotein could determine its function? 43rd Annual ISOBM Congress, Chicago, 2016

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ МЫШЕЧНЫХ БЕЛКОВ НА ЭТАПАХ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТОК C2C12

М.О. Порошина, Ю.В. Абаленихина, П.Д. Ерохина, А.В. Шулькин

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава РФ, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Миогенез – сложный процесс, происходящий в первую неделю развития эмбриона, представляющий собой образование морфофункциональных мышечных клеток из мононуклеарных миобластов путем их пролиферации и дифференцировки.

MRF (myogenic regulatory factors) – это группа белков, регулирующих миогенез, имеющих сходное строение и выполняющих роль транскрипционных активаторов. К ним относятся MyoD, Myf5, MRF4 и миогенин [2]. MRF входят в семейство bHLH-белков и действуют путём связывания в комплексе гетеродимеров с белками E-box (E12, E47-транскрипционные коактиваторы) в последовательности GANNTG [1].

Каждый белок, относящийся к MRF, в миогенезе имеет собственный тип экспрессии, но на некоторых этапах развития мышечной ткани их экспрессия и функции могут пересекаться. Так, например, MyoD и Myf5 запускают экспрессию генов миогенина и структурного белка миозина [3].

Понимание действия миогенных регуляторных факторов и изменений, происходящих на различных этапах миогенеза, позволит в дальнейшем изучить влияние различных веществ на дифференцировку мышечных клеток. Это будет способствовать направленной терапии нарушений деятельности мышечной ткани.

Цель. Изучение изменения уровня белков мышечной ткани на различных этапах дифференцировки.

Материалы и методы. Эксперимент был выполнен на клетках C2C12, которые культивировались при 37°C, с 5% содержанием CO₂ в инкубаторе на питательной среде DMEM с высоким содержанием глюкозы (4500 мг/л), с L-глутамином (4 мМ), 10% эмбриональной бычьей

сывороткой, а так же 100 ЕД/мл и 100 мкг/мл пенициллина и стрептомицина. После формирования монослоя клетки снимали с фласка добавлением раствора трипсин-ЭДТА, высевали в 6-луночные планшеты.

Для исследования были сформированы следующие группы:

1) клетки до дифференцировки – инкубация 7 дней с питательной средой, содержащей 10% эмбриональной бычьей сыворотки (n=3);

2) дифференцировка клеток – для появления дифференцировки клетки инкубировали 4 дня с дифференцировочной питательной средой, содержащей 2% лошадиной сыворотки (n=3);

3) миобласты – клетки инкубировали 7 дней в питательной среде с 2% лошадиной сывороткой (n=3).

Методом вестерн-блот определяли содержание миозина, MyoD, миогенина. Анализ результатов производили с помощью программ «StatSoft Statistical3.0». Для оценки статистической значимости различий использовали дисперсионный анализ, оценивали по критерию Ньюмена-Кейлса. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. Доказано, что клетки линии C2C12 являются моделью для изучения этапов миогенеза [4]. Они представляют собой клетки-сателлиты скелетной мышечной ткани мышей [5]. Исследуемая клеточная линия на питательной среде, содержащей 10% эмбриональную бычью сыворотку, пролиферировала в течении 3-4 дней. После образования однородного монослоя среда заменялась на дифференцировочную питательную среду с 2 % лошадиной сывороткой. В процессе дифференцировки клетки миобластов вытягивались и приобретали отростчатую, веретенообразную форму. После чего они соединялись и образовывали длинные миотрубы.

До дифференцировки наблюдалось отсутствие MyoD и миогенина. В клетках, которые инкубировали 4 дня на дифференцировочной питательной среде, отмечалось повышение количества MyoD на 48% ($p=0,02$) и миогенина на 28% ($p=0,017$) по сравнению с показателями клеток до дифференцировки. Содержание миозина на 4 день дифференцировки было выше, чем до дифференцировки. Известно, что MyoD запускает экспрессию генов миогенина и структурного белка миозина, поэтому их содержание на 4 день дифференцировки было выше, чем до дифференцировки.

В клетках, которые инкубировали 7 дней в дифференцировочной питательной среде, наблюдалось снижение содержания MyoD на 17% ($p=0,001$) и увеличение количества миогенина на 56% ($p=0,003$) по сравнению с показателями клеток на 4 день дифференцировки.

Выводы. Полученные результаты показывают, что содержание миозина увеличивается в процессе дифференцировки, при этом отмечается прямая зависимость от действия миогенных регуляторных факторов. Увеличение количества MyoD на 4 день дифференцировки и снижение на 7 день демонстрирует его участие в начальных этапах

миогенеза. Возрастание количества миогенина на 7 день дифференцировки может свидетельствовать об его участии в заключительных этапах дифференцировки, и возможном ингибировании MyoD.

Список литературы:

1. Копанцева Е. Е., Белявский А. В. Регуляторы скелетно-мышечного миогенеза. Журнал молекулярная биология. 2016. 50 (2). 195–222.
2. Burattini S., Ferri P. C2C12 myoblasts as a model to study skeletal muscle differentiation. European Journal of Histochemistry. 2004. 48(3). 223-234.
3. Dela Serna I.L., Ohkawa Y., Berkes C. A., D.A. Bergstrom, C.S. Dacwag, S.J. Tapscott, A.N. Imbalzano. MyoD targets chromatin remodeling complexes to the myogenin locus Prior to forming a stable DNA-Bound complex. Mol Cell Biol. 2005. 25(10). 3997-4009.
4. Yaffe D., Saxel O. Serial passaging and differentiation of myogenic cells isolated from dystrophic mouse muscle. Nature. 1977. 270. 725-727.
5. Yoshida S. Cell heterogeneity upon myogenic differentiation: down-regulation of MyoD and Myf-5 generates 'reserve cells. Journal of Cell Science. 1998. 111(6). 769-779.

БАЛАНС КАТИОНОВ КРОВИ, ТКАНЕЙ БРЮШНОЙ АОРТЫ, СЕРДЦА И ВЯЗКОСТЬ КРОВИ ЖИВОТНЫХ ПРИ ГИПЕРТЕНЗИИ

А.П.Пустовалов, Т.Г.Авачёва, О.А.Милованова, А.А. Кривушин

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава РФ, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. При гипертензивных состояниях наблюдаются отклонения функционирования как в кровеносных сосудах, так и в движущихся по ним крови. Следовательно, целесообразно при гипертензивных состояниях анализировать состояние кровеносных сосудов совместно с движущейся по ним кровью, а также оценивать изменения взаимоотношения сосудистой стенкой и крови. Актуальны, в частности, такие исследования и на биомембранном уровне [1, 2, 3, 4, 5].

Цель исследования. Биохимическими исследованиями оценить влияние питуитриновой гипертензии животных на ряд биофизических показателей крови, тканей брюшной аорты и сердца.

Материалы и методы. Нами оценивались следующие показатели: уровень ионов Na^+ , K^+ определяли методом пламенной фотометрии, а Mg^{2+} , Ca^{2+} биохимическими реакциями с помощью флуориметра. Капиллярным вискозиметром измеряли вязкость суспензии эритроцитов, крови и её плазмы. По активности Na, K-ATФазы вычисляли активный транспорт

ионов K^+ и Na^+ через биомембраны эритроцитов, оценивая биохимически уровень ортофосфата и белка в мембранах эритроцитов.

Эксперименты выполнены на 12 белых крысах массой 140-180 г по 6 животных в серии. Одна из них служила контролем. Питуитриновую гипертензию у крыс вызывали путём внутрибрюшинного введения питуитрина 6 животным в дозе 0,5 ЕД/кг 1 раз в день в течение 14 суток.

Результаты исследования. Результаты исследования представлены в таблицах 1-2. Содержание катионов Na^+ , Mg^{2+} , K^+ , Ca^{2+} у контрольных животных внутри и вне клеток, зависит от вида клетки, ткани, органа [2,3,4,5].

При питуитриновой гипертензии уровень исследованных электролитов в плазме крови снижался в небольшой степени. Соотношения Na/K и Ca/Mg практически не изменялись. В эритроцитах содержание одновалентных катионов повышалось, а двухвалентных - уменьшалось со снижением коэффициента K/Na и увеличением - Mg/Ca .

Активный транспорт ионов натрия и калия через биомембрану эритроцитов уменьшался, что не сопровождалось снижением в них уровня катионов K^+ . Следовательно, проницаемость мембраны эритроцитов для катионов калия снижалась в большей степени, чем активность Na,K -АТФазы (у контрольных - 509 ± 27 нмоль ортофосфата на 1 мг белка в час и при гипертензии - 383 ± 16).

В тканях брюшной аорты увеличивалась концентрация K^+ , а в тканях сердца – кальция и натрия. Величины коэффициентов Na/K и Ca/Mg в тканях сердца увеличивались, а в стенке брюшной аорты – уменьшались. Показан рост градиента ионов магния и калия при снижении градиента ионов в эритроцитах, в тканях брюшной аорты, плазме крови.

Регуляция процессов транспорта катионов через биомембраны, активности АТФаз может быть взаимосвязана с фазовыми переходами липидов в мембранах, которые, в свою очередь, могут индуцироваться изменением катионного состава биомембран.

Таблица 1. Уровень катионов плазмы крови, эритроцитов (в ммоль/л), тканей миокарда, стенки брюшной аорты (в ммоль/кг), (нормотензивные крысы – 1, питуитриновая гипертензия – 2)

Ионы		Плазма	Аорта	Сердце	Эритроциты
Na^+	1	135 ± 2	$99,8 \pm 5,4$	102 ± 4	$26,1 \pm 0,1$
	2	$111 \pm 4^{***}$	$94,1 \pm 7,5$	$142 \pm 8^{***}$	$42,3 \pm 0,8^{**}$
K^+	1	$4,52 \pm 0,12$	$17,3 \pm 1,4$	$31,8 \pm 2,5$	122 ± 3
	2	$4,02 \pm 0,06^{**}$	$31,8 \pm 1,0^{***}$	$29,6 \pm 1,4$	$145 \pm 5^{**}$
Ca^{2+}	1	$2,61 \pm 0,08$	$2,24 \pm 0,16$	$2,30 \pm 0,26$	$0,54 \pm 0,02$
	2	$2,18 \pm 0,08^{**}$	$2,25 \pm 0,07$	$3,11 \pm 0,22^*$	$0,36 \pm 0,02^{**}$
Mg^{2+}	1	$0,75 \pm 0,03$	$1,50 \pm 0,13$	$0,74 \pm 0,08$	$3,34 \pm 0,08$
	2	$0,57 \pm 0,02^{***}$	$1,68 \pm 0,07$	$0,58 \pm 0,03$	$3,02 \pm 0,11^*$

Na/K	1	29,9	5,77	3,21	K/Na	4,67
	2	27,6	2,95***	4,79*		3,42

Примечание: *, **, *** - статистически значимые различия экспериментальных данных в сравнении со значениями, полученными у нормотензивных животных соответственно при $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$.

Таблица 2. Вязкости (в мПа·с) крови, плазмы крови, суспензии эритроцитов и их мембран нормотензивных крыс – 1, при питуитриновой гипертензии – 2. ($M \pm m$)

	Кровь	Плазма	Эритроциты	Мембраны
1	4,52±0,7	1,56±0,2	3,59±0,4	0,97±0,1
2	5,36±0,05***	1,60±0,2	4,26±0,1***	0,92±0,1

Примечание: *, **, *** - статистически значимые различия экспериментальных данных в сравнении со значениями, полученными у нормотензивных животных соответственно при $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$.

Выводы.

1. Биохимическими исследованиями показано, что при гипертензии у белых крыс возникает дисбаланс ионов калия, натрия, магния, кальция в эритроцитах, плазме крови, в стенка брюшной аорты со снижением активности Na,K-АТФазы биомембран эритроцитов и с ростом вязкости крови без изменения величины гематокрита.

2. В эритроцитах уровень калия выше, чем натрия, а в сосудистой стенке – противоположное соотношение. Содержание катионов калия в миокарде выше, чем в кровеносном сосуде, а уровень калия в плазме крови почти на порядок ниже, чем в миокарде.

Список литературы:

1. Васильева, Е.М. Изменение активности ионтранспортирующих АТФаз у детей при неврологической патологии [Текст] / Е.М. Васильева [и др.] // Рос. мед. журн. - 2007. - №5.- С. 14-18.

2. Котов, К.С. Динамика концентрации Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , $(PO_4)^{2-}$, Fe^{3+} в ротовой жидкости пациентов с несъемными протезами из различных материалов [Текст] / К.С. Котов // Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. - 2008. - №3.- С. 129-135.

3. Кулешова, О.А. Мембранные эффекты кардила при гипоксии и облучении животных электромагнитными волнами [Текст] / О.А. Кулешова, А.П. Пустовалов // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П.А. Костычева.- 2017.- №1.- С. 29-34.

4. Кулешова, О.А. Мембранные эффекты фенигидина при облучении животных электромагнитными волнами и при гипоксии [Текст] / О.А. Кулешова, А.П. Пустовалов // Вестник Рязанского государственного

агротехнологического университета им. П.А. Костычева.- 2018.- №1.- С.3 6-42.

5. Panhwar, A.H. Distribution of potassium, calcium, magnesium and sodium levels in biological samples of Pakistani hypertensive patients and control subjects [Text] / A.H. Panhwar, T.G. Kazi, Hl Afridi at all // Clin. Lab.- 2014.- №Apr, 8 (2).- P. 132-137.

СПОСОБНОСТЬ ХИТИН-МЕЛАНИНОВОГО КОМПЛЕКСА РЕГУЛИРОВАТЬ ГОРМОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ГИПЕРТИРЕОИДНЫХ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ ТРУТНЕВОГО РАСПЛОДА

Е.А. Рязанова¹, Д.В. Митрофанов², А.С. Лизунова^{1,2}

¹ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань, Российская Федерация,

²ФГБНУ «ФНЦ пчеловодства», г. Рыбное, Российская Федерация

Актуальность. Хитин-меланиновый комплекс (ХМК), известный в качестве природного органического сорбента, обладает не только высокой адсорбционной способностью, но и различными видами функциональной активности, в частности, антиоксидантным, радиопротекторным, иммуностимулирующим, антибактериальным и противовирусным действием [1, 2, 3], что определяет области его практического применения как отдельного биологически активного продукта, так и в биотехнологии. Широкое использование ХМК в определенной степени ограничено доступностью сырья для его производства, в качестве которого в последнее время эффективно используют один из продуктов пчеловодства - пчелиный подмор [3, 5]. ХМК, полученный из медоносных пчел, сегодня является перспективным стабилизатором для сохранения биохимической активности лабильных компонентов другого продукта пчеловодства - гомогената трутневого расплода, действие которого на организм определяется его химическим составом, поэтому в значительной степени зависит от способа получения препаратов трутневого расплода. При этом следует учитывать возможность проявления собственной малоизученной биологической активности ХМК из подмора пчел, а также вероятность изменения регуляторных эффектов гомогената трутневого расплода, зависящих от гормонального статуса организма. Имеются данные о влиянии ХМК на некоторые показатели крови, чувствительные к действию гомогената трутневого расплода, адсорбированного на лактозо-глюкозной смеси, в условиях разного уровня иодтиронинов в организме экспериментальных крыс [6].

Цель. Изучить действие ХМК из подмора пчел на гормональный спектр сыворотки крови крыс в условиях экспериментального

восстановления функции щитовидной железы под влиянием гомогената трутневого расплода.

Материалы и методы. Исследование проведено на половозрелых крысах-самцах линии Wistar массой 160-240 г. Для моделирования гипертиреоза интактным крысам вводили L-тироксин в дозе 50 мкг/кг подкожнокурсом в 7 дней. Развитие гипертиреоза контролировали по содержанию иодтиронинов и тиреотропина в сыворотке крови. Для стабилизации гомогенатов трутневого расплода, полученных из личинок трутней методом прессования, использовали способ абсорбции на лактозо-глюкозной смеси добавлением ХМК, выделенного из подмора пчел, и без него. После отмены тироксина разным группам гипертиреоидных крыс течение 10 дней вводили гомогенаты трутневого расплода перорально в виде суспензии в дозе 10 мг/кг. Состав адсорбента без ХМК: 96% лактозы и 4% глюкозы, с ХМК: 91% лактозы, 4 % глюкозы и 5% ХМК. Каждой экспериментальной серии соответствует определенная контрольная группа. В сыворотке крови экспериментальных крыс определяли содержание тиреотропина (ТТГ), тироксина (T_4), трийодтиронина (T_3), паратирина, кальцитонина, тестостерона, ДГЭА-s (дегидроэпиандростерон – сульфат), ГСПГ (глобулин, связывающий половые гормоны) радиоиммунными методами с использованием стандартных тест-систем. Статистическая обработка полученных данных выполнена с использованием t-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони.

Результаты. При экспериментальном гипертиреозе, обусловленном курсовым введением тироксина в дозе 50 мкг/кг, содержание T_3 и T_4 в сыворотке крови крыс повышается в 2,4 и 2,5 раза ($p < 0,01$), соответственно, при уменьшении ТТГ на 27% ($p < 0,01$), показатели ДГЭА-s, ГСПГ остаются без изменений на фоне пониженного содержания тестостерона. При восстановлении функции щитовидной железы у гипертиреоидных крыс и действии трутневого расплода, абсорбированного на смеси лактозы и глюкозы, содержание тиреотропина и трийодтиронина соответствует контрольным показателям, уровень тироксина значительно снижается, но остается повышенным по сравнению с контрольной группой животных. Содержание тестостерона увеличивается выше контрольного уровня при контрольных значениях ДГЭА-s и ГСПГ. В аналогичных экспериментальных условиях использование ХМК в составе сорбента для стабилизации гомогената трутневого расплода вызывает повышение ТТГ на 80% ($p < 0,01$), T_3 – на 52% ($p < 0,05$), T_4 – на 34% ($p < 0,01$). Наблюдается значительное снижение уровня тестостерона при увеличении ДГЭА-s и неизменном ГСПГ. Содержание паратирина и кальцитонина не изменяются при гипертиреозе и последующем действии гомогената трутневого расплода независимо от состава сорбента.

Выводы. ХМК из подмора пчел, входящий в состав глюкозо-лактозного сорбента для стабилизации гомогената трутневого расплода,

вызывает существенные сдвиги в функционировании эндокринной системы организмов период восстановления гормональной активности гипертиреоидных крыс. Отмечается повышенная продукция тиреотропина, иодтиронинов, ДГЭА-s в сочетании с разнонаправленными колебаниями уровня тестостерона при отсутствии влияния на секрецию паратиринина, кальцитонина и содержание ГСПГ. Следует обратить особое внимание на одновременное повышение уровня ТТГ и иодтиронинов, а также на взаимосвязь тиреоидной и андрогенной функций. Полученные результаты имеют значение для характеристики биологических свойств ХМК из пчелинового подмора, его стимулирующее влияние на отдельные гормоны проявляется не только при моделировании гиперфункции щитовидной железы и ее последующем восстановлении, но и в условиях отсутствия эндокринных нарушений [4], что необходимо обязательно учитывать при его самостоятельном использовании, а также в биотехнологии продуктов пчеловодства и их лечебно-профилактическом применении.

Список литературы:

1. Бакулин А.В., Велешко И.Е., Румянцева Е.В., Левов А.Н., Бурмистрова Л.А. и др. Получение хитин-меланиновых комплексов из *Apis mellifera* и изучение возможности их использования в качестве сорбентов радионуклидов. Доклады РАСХН. 2011. 5. 48-51.

2. Куликов С.Н., Тюрин Ю.А., Ильина А.В., Левов А.Н., Лопатин С.А. и др. Антибактериальная активность хитозана и его производных. Труды БГУ. 2009. 4(1). 90-100.

3. Курченко В.П., Кукулянская Т.А., Азарко И.А., Зуева О.Ю. Физико-химические свойства хитин-меланинового и меланинопротеинового комплексов из подмора пчел. Прикладная биохимия и микробиология. 2006. Т.42(3). 374-378.

4. Митрофанов Д.В., Рязанова Е.А., Лизунова А.С. Изучение эндокринотропных свойств трутневого расплода. Вестник РГАТУ. 2020. 3 (47). 27-31.

5. Немцев С.В., Зуева О.Ю., Хисматуллин М.Р., Албулов А.И., Варламов В.П. Получение хитина и хитозана из медоносных пчел. Прикладная биохимия и микробиология. 2004. 40(1). 46-50.

6. Рязанова Е.А., Лизунова А.С. Влияние хитин-меланинового комплекса на биологическую активность гомогената трутневого расплода в зависимости от уровня иодтиронинов. Медицинская биохимия - от фундаментальных исследований к клинической практике. Традиции и перспективы: сб. тр. 2019. 116-118.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА НА ФРАКЦИОННЫЙ СОСТАВ КОЛЛАГЕНА В ТКАНЯХ КРЫС

Н.В.Савинова, С.Е.Переведенцева, О.В.Данилова

ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия»
Минздрава России, г.Ижевск, Российская Федерация

Актуальность. Стремительный ритм современной жизни, многочисленные нервно-психические нагрузки приводят к тому, что большую часть времени человек находится в состоянии стресса. В ответ на стрессорные воздействия происходит активация гипоталамо-гипофизарной и адренокортикальной системы организма, направленной на развитие адаптации [1]. Это приводит к изменению белкового, липидного и углеводного обменов и формированию морфофункциональных изменений в тканях [2].

Адаптация организма к экстремальным ситуациям по-разному отражается на функции и структурной перестройке каждого органа в соответствии с его ролью в общей системе жизнеобеспечения организма. При этом важную роль в развитии неспецифических защитных реакций играет соединительная ткань, являющаяся составной частью всех органов. Одним из условий формирования адаптивной реакции соединительной ткани на стрессоры является функциональное состояние основного белка межклеточного матрикса – коллагена.

В связи с вышесказанным **целью** работы явилось исследование фракционного состава коллагена в печени и костной ткани крыс при хроническом эмоциональном стрессе.

Материалы и методы: Исследования проводились на 60 белых беспородных крысах-самцах массой 180-230 гр. Эмоциональный стресс вызывали путем ежедневной 2-х часовой фиксации крыс на спине с помощью специальных приспособлений в течение 30 дней. Животных выводили из эксперимента путем декапитации под кратковременным эфирным наркозом на 30-й день эксперимента. Контрольная группа включала 20 крыс, получивших однократно подкожные инъекции по 0,5 мл 0,9% раствора натрия хлорида. При работе с животными руководствовались этическими нормами и рекомендациями, изложенными в Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986).

Об эффективности развития стресс-реакции судили по изменению концентрации в плазме крови крыс 11-оксикортикостероидов, которые определяли в плазме крови флюориметрическим методом [3].

Оценку состояния обмена коллагена в печени (правая боковая доля) и костной ткани (тело 2-го поясничного позвонка) проводили по содержанию суммарного коллагена и его фракций: нейтрально-растворимой, цитратрастворимой и нерастворимой [4].

Количество данных показателей в пробах определяли по концентрации гидроксипролина колориметрическим методом [5].

Сбалансированность метаболизма коллагена зависит от соотношения процессов биосинтеза и распада данного белка. Изучение фракционного состава коллагена позволяет судить о характере изменений в его обмене. Повышение уровня суммарного коллагена, а также нейтральносолеорастворимой и нерастворимой фракций указывает на преобладание процессов анаболизма, тогда как увеличение количества цитратрастворимой фракции коллагена свидетельствует об активности катаболических процессов.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета Statistica 6.1 фирмы StatSoft. Полученные данные представили в виде медиан и интерквартильных интервалов. Оценку значимости полученных результатов осуществляли с использованием непараметрического критерия (U) Манна-Уитни. Различия между показателями считали статистически значимыми при уровне достоверности $p < 0,05$.

Результаты исследования. Развитие хронического эмоционального стресса у экспериментальных животных приводило к увеличению концентрации 11-оксикортикостероидов в плазме крови на 141,92% ($p=0,000157$) по сравнению с данными контрольной группы (133,53 (120,34; 153,23) мкг/л).

Под влиянием стрессорных воздействий отмечалось изменение фракционного состава коллагена в печени у опытных крыс, свидетельствующее об ускорении, как процессов синтеза, так и распада изучаемого биополимера. Так, содержание суммарного коллагена в экспериментальной группе возрастало на 103,71 % ($p=0,000157$) по сравнению с изучаемым показателем контрольных крыс (23,97 (20,75; 25,4) ммоль/кг). Уровень нейтральносолеорастворимого коллагена у опытных животных превышал на 140,0% ($p=0,000157$) данные контрольной группы (0,20 (0,12; 0,24) ммоль/кг). Концентрация нерастворимого коллагена увеличивалась к 30 дню эксперимента на 106,65% ($p=0,000157$) в сравнении с контрольными значениями (22,55 (19,10; 25,20) ммоль/кг). Полученные результаты указывают на интенсификацию анаболических процессов в обмене коллагена печени в условиях длительного стресса. В то же время, увеличение количества цитратрастворимого коллагена у стрессуемых крыс на 60,0% ($p=0,000157$) по сравнению с контролем (0,25 (0,25; 0,28) ммоль/кг) говорит об увеличении скорости процессов распада коллагена. Вместе с тем, значительное увеличение суммарного коллагена в печени на фоне возросших показателей синтеза и распада коллагена, свидетельствует о превалировании процессов анаболизма.

В костной ткани экспериментальных животных отмечалось уменьшение содержания суммарного коллагена на 16,11% ($p=0,002827$) по сравнению с контролем (224,97 (209,72; 244,03) ммоль/кг). Кроме того, в

исследуемой ткани опытных крыс наблюдалось снижение концентрации как нейтрально-растворимой фракции – на 18,14% ($p=0,017258$) в сравнении с контрольными значениями (4,19 (3,81; 5,34) ммоль/кг), так и нерастворимой фракции – на 20,35% ($p=0,002497$) по сравнению с интактными животными (215,43 (190,65; 228,78) ммоль/кг). Количество цитратрастворимого коллагена не отличалось от данных контрольной группы. Следовательно, результаты изучения фракционного состава костного коллагена животных указывают на подавление анаболических процессов в условиях хронического эмоционального стресса.

Вывод. При развитии хронического эмоционального стресса в обмене коллагена исследуемых тканей крыс формировались разнонаправленные изменения. В метаболизме коллагена печени отмечалась интенсификация, как реакций синтеза, так и распада коллагена с преобладанием анаболических процессов. Тогда как в обмене костного коллагена превалировали катаболические процессы на фоне сниженной синтетической активности.

Список литературы:

1. Судаков К.В., Умрюхин П.Е. Системные основы эмоционального стресса. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 112с.
2. Фоменко С. Е., Кушнерова Н. Ф., Спрыгин В. Г., Момот, Т. В. Нарушение обменных процессов в печени крыс под действием стресса // Тихоокеанский медицинский журнал, 2013. № 2. С. 52.
3. Резников А.Г. Методы определения гормонов. Киев: Наукова думка, 1980. 399 с.
4. Прошина Л.Я., Приваленко М.Н. Исследование фракционного состава коллагена в ткани печени // Вопросы медицинской химии. 1982. №1. С. 115–9.
5. Шараев П.Н., Сахабутдинова Е.П., Лекомцева О.И., Кошикова С.В. Определение свободного и пептидосвязанного гидроксипролина в сыворотке крови // Клиническая лабораторная диагностика. 2009. №1. С. 7–9.

ВЛИЯНИЕ ПРОДУКТОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО И НИТРОЗАТИВНОГО СТРЕССА НА КОЛИЧЕСТВО КОНСТИТУТИВНОГО АНДРОСТАНОВОГО РЕЦЕПТОРА

А.А. Сеидкулиева, Ю.В. Абаленихина, Е.А. Судакова, А.В. Щулькин,
Е.Н. Якушева

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава Росси, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Ядерные рецепторы (ЯР) – это большое суперсемейство лиганд-активируемых факторов транскрипции клеток, которые ответственны за регуляцию экспрессии генов, тем самым

контролируя дифференцировку клеток, поддержание гомеостаза и метаболические процессы организма [1].

Одним из представителей ядерных рецепторов является конститутивный андростановый рецептор (CAR). До недавнего времени он рассматривался только в качестве ксеносенсоров, однако позже была выявлена его роль в регуляции метаболических процессов организма. CAR принимает участие в регуляции ряда физиологических процессов, таких как глюконеогенез, липогенез, синтез жирных кислот, биосинтез гема и обмен билирубина, биосинтез тиреоидных гормонов, стероидов, метаболизм желчных кислот [2].

Активные формы кислорода и азота (АФК/АФА) образуются в организме в результате физиологических процессов. Их избыточная продукция может привести к структурным и функциональным изменениям, вызывающим повреждение клеток. В норме данные эффекты компенсируются антиоксидантной системой. Нарушение емкости данной системы может привести к развитию окислительного (ОС) и нитрозативного стресса (НС).

АФК при взаимодействии с мембраной клетки способны запустить процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ), конечным продуктом которого является малоновыйдиальдегид (МДА). Наиболее выраженной специфичной модификацией в условиях действия АФА является нитрозилирование тирозина с образованием нитротирозина, который частично диссоциирует до фенолята, но основная его часть конденсируется до битирозина.

Цель. Оценить влияние продуктов МДА и битирозина на количество CAR.

Материалы и методы. Исследование проведено на линии клеток аденокарциномы ободочной кишки человека Caco-2. (ФГБУН «Институт цитологии» РАН, Санкт-Петербург).

Клетки высевали в 6-луночные планшеты и культивировали в течение 21 суток в Дульбекко модифицированной среде Игла при 37°C и 5% содержании CO₂. При данном сроке инкубации происходит их спонтанная дифференцировка в энтероцитоподобные клетки, экспрессирующие CAR.

В ходе эксперимента были сформированы следующие серии:

1) контрольная (n=3) – клетки, инкубируемые без добавления тестируемых веществ;

2) оценка влияния МДА на количество CAR (n=3 для каждой концентрации) – МДА добавляли в питательную среду в конечных концентрациях 10 мкМ, 100 мкМ и 150 мкМ;

3) оценка влияния битирозина на количество CAR (n=3 для каждой концентрации) – битирозин добавляли в питательную среду в конечных концентрациях 150 мкМ, 200 мкМ и 300 мкМ.

Клетки с тестируемыми веществами инкубировали в течение 72 ч.

После окончания экспозиции с тестируемыми веществами клетки снимали с лунок раствором трипсин-ЭДТА, трижды промывали раствором фосфатного буфера и лизировали в NP40 CellLysis Buffer Thermo с добавлением смеси ингибиторов протеиназ в течение 30 мин при +4°C и постоянном перемешивании. Полученный лизат центрифугировали при 13000 об/мин в течение 10 минут. Цитоплазматические белки подвергали электрофорезу в течение 90 минут при 100 В с использованием TGX Stain-FreeFastCastAcrylamideKit (“Bio-Rad”) в буферной системе Laemmli (“Bio-Rad”). Перед загрузкой образцы обрабатывали в соответствии с протоколом Bio-Rad, смешивали в соотношении 1:3 с буфером для образцов Laemmli, инкубировали 5 минут при температуре 70°C.

Количество CAR определяли методом вестерн-блот с использованием MB67 Monoclonal Antibody (Invitrogen) в концентрации 1:200. Визуализацию первичных антител осуществляли с использованием Rabbitanti-Mouse IgG (H+L) Secondary Antibody, HRP (Invitrogen) в разведении 1:4000. Белки визуализировали хемилюминесценцией с помощью ChemiDocXRS+ (Bio-Rad). Интенсивность полученных полос (бэндов) анализировали денситометрически с помощью программного обеспечения ImageLab (Bio-Rad). Количество CAR оценивали относительно белка домашнего хозяйства GAPDH.

Количество белка в пробах анализировали методом Брэдфорда.

Полученные результаты анализировали с помощью программы «Stat Soft Statistica 13.0». Для оценки статистической значимости различий использовали дисперсионный анализ (ANOVA), попарные сравнения выполняли с помощью критерия Ньюмена-Кейлса. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. Инкубирование клеток линии Caco-2 с МДА в концентрациях 10 мкМ и 100 мкМ приводило к повышению количества CAR на 22% ($p=0,0002$) и 21% ($p=0,0002$) соответственно, а в концентрации 150 мкМ статистически значимых различий по сравнению с показателями контроля не наблюдалось.

Инкубирование клеток с битиразином в концентрации 200 мкМ приводило к повышению количества CAR на 35% ($p=0,0002$), а в концентрациях 150 и 300 мкМ по сравнению с контролем статистически значимых изменений не наблюдалось.

Выводы. Таким образом, в ходе настоящего исследования было показано, что продукты окислительного и нитрозативного стресса влияют на количество CAR.

Список литературы:

1. Aranda A., Pascual A. Nuclear hormone receptors and gene expression // *Physiological Reviews*. 2001. Т. 81. № 3. С. 1269–1304.
2. [Blumberg B. [идр.]. SXR, a novel steroid and xenobiotic-sensing nuclear receptor // *Genes and Development*. 1998. № 20 (12). С. 3195–3205.]

3. Kumar R., Thompson E. B. The structure of the nuclear hormone receptors // *Steroids*. 1999. Т. 64. № 5. С. 310–319.

4. Mangelsdorf D. J., Evans R. M. The RXR heterodimers and orphan receptors // *Cell*. 1995. Т. 83. № 6. С. 841–850.

5. Tao Chen; Elizabeth M. Laurenzana et al. Proteasomal interaction as a critical activity modulator of the human constitutive androstane receptor *Biochem J*. 2014 February 15; 458(1): 95–107. doi:10.1042/BJ20130685.

6. Smutny, T., Hyrsova, L., Braeuning, A. et al. Transcriptional and post-transcriptional regulation of the pregnane X receptor: a rationale for interindividual variability in drug metabolism. *ArchToxicol* 95, 11–25 (2021). <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02916-x>

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ МЕТАЛЛОВ ПЕРЕМЕННОЙ ВАЛЕНТНОСТИ В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС

А.Д. Селин¹, Н.А. Терехина¹, Г.А. Терехин²

¹ФГБОУ ВО ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера Минздрава России, г.Пермь, Российская Федерация; ²ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, г.Пермь, Российская Федерация

Актуальность. В последней трети XX века возник и сформировался новый значимый фактор загрязнения окружающей среды – электромагнитное излучение (ЭМИ). Среди антропогенных источников ЭМИ особое место занимает мобильный телефон. В основе молекулярных механизмов развития патологических процессов при действии ЭМИ находится нарушение соотношения параметров антиоксидантной защиты, которое сопровождается интенсификацией образования свободных радикалов [7] и приводит к нарушению проницаемости клеточных мембран [4] и биологических барьеров [6]. Наиболее тяжелые повреждения мембран клеток возникают вследствие дисбаланса и неправильной компартментализации ионов металлов переменной валентности (железо, медь). На содержание в плазме крови железа и меди оказывают влияние многие факторы: вирусные и бактериальные инфекции, влияние бактериофага, алкогольная интоксикация, заболевания желудочно-кишечного тракта, беременность [1, 3].

Цель исследования – оценить влияние электромагнитного излучения дециметрового диапазона на содержание металлов переменной валентности в плазме крови крыс.

Материалы и методы. Объектом исследования была кровь 50 белых нелинейных крыс массой 185 ± 35 г. Животные содержались на стандартном рационе вивария, естественной смене светового режима, со

свободным доступом к пище и воде. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера» МЗ РФ. Животные были разделены на 4 группы: 1-я контрольная группа включала 20 интактных крыс, которые находились в помещении вивария и не подвергались воздействию ЭМИ. Животные со 2-ой по 4-ю группу ($n=30$) находились в другом помещении под влиянием электромагнитного поля (ЭМП) дециметрового диапазона: 2-я группа - 1 месяц, 3-я - 2 месяца, 4-я группа - 3 месяца. Для облучения животных была спроектирована экспериментальная модель [2]. ЭМП создавали с помощью мобильных устройств со следующими параметрами: экспозиция 170 минут в сутки, частота 1745 МГц, средняя плотность потока электромагнитной энергии - $67 \pm 5,0$ мкВт/см². Автодозвон производился с помощью программы «AutoRedial» в течение 30 секунд с интервалом 4 минуты. На протяжении эксперимента все животные находились в клетках из радиопрозрачного материала «Plexiglas» без дополнительного ограничения двигательной активности. По истечению срока облучения животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом путем декапитации. В плазме крови спектрофотометрически через 30, 60 и 90 дней определяли содержание двухвалентного железа (Fe^{2+}) с помощью набора реактивов «Вектор-Бест» и меди (Cu^{2+}) с помощью набора реактивов «Медь-Витал». Статистическую обработку результатов проводили с применением методов вариационной статистики в программах Statistica 10.0 (StatSoft, USA) и Microsoft Excel. Оценку достоверности проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента, данные представлены как $M \pm m$. Используемый уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты. В плазме крови интактных животных содержание железа составило $43,4 \pm 0,9$ мкмоль/л, меди – $55,8 \pm 2,1$ мкмоль/л. Воздействие ЭМИ в течение 1 месяца не привело к статистически значимым изменениям данных параметров в плазме крови крыс. Однако, достоверные различия в увеличении Cu^{2+} и снижении Fe^{2+} в плазме крови крыс были установлены уже через 2 месяца влияния ЭМИ (Рис. 1).

Расчет соотношения содержания Cu^{2+}/Fe^{2+} составил 1/1,3 в группе интактных животных, против 1/2,9 в опытной группе крыс, находящихся в условиях действия ЭМП в течение 3 месяцев. Нарушение соотношения ионов металлов переменной валентности Cu^{2+}/Fe^{2+} при длительном действии ЭМИ дециметрового диапазона может наблюдаться вследствие изменения содержания в плазме крови белка – антиоксиданта церулоплазмينا (ЦП), который участвует в метаболизме железа и меди. Ранее нами было установлено, что при длительном действии ЭМИ в течение 3 месяцев, происходит компенсаторное увеличение острофазного белка ЦП [2]. Вместе с тем, ЭМИ способно оказывать влияние на экспрессию гепсидина – главного гуморального регулятора гомеостаза железа в организме, синтез которого увеличивается при воспалении [5].

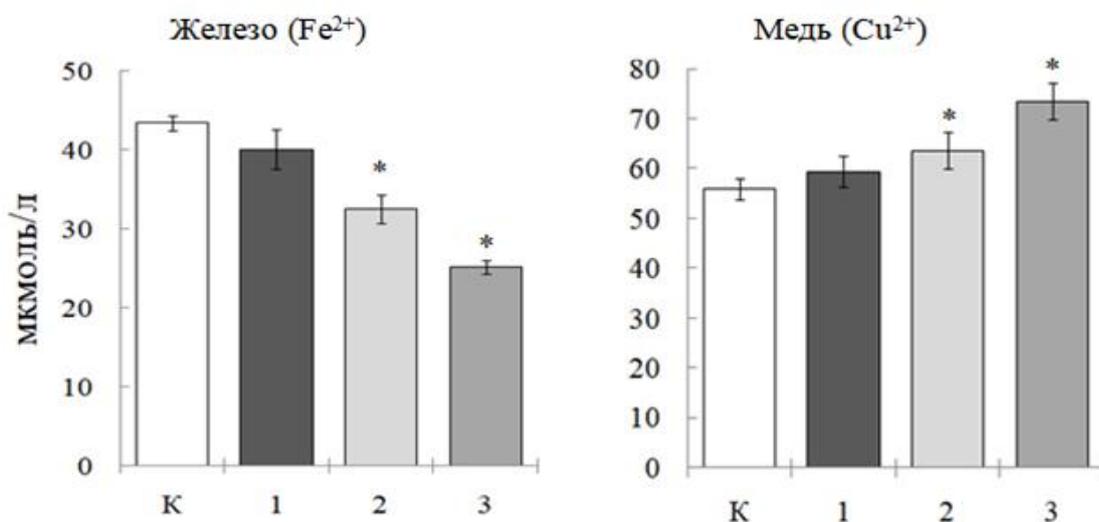


Рисунок 1. Содержание железа (Fe^{2+}) и меди (Cu^{2+}) в плазме крови крыс при электромагнитном облучении дециметрового диапазона. По оси абсцисс: К – контроль (интактные), 1 – ЭМИ (1 месяц), 2 – ЭМИ (2 месяца), 3 – ЭМИ (3 месяца). По оси ординат - содержание железа и меди в мкмоль/л. * $p < 0,05$

Выводы. Длительное воздействие ЭМИ дециметрового диапазона приводит к дисбалансу и нарушению соотношения ионов металлов переменной валентности (Cu^{2+}/Fe^{2+}) в плазме крови крыс. Увеличение меди и снижение железа в плазме крови животных при действии ЭМИ может быть обусловлено изменением содержания и/или нарушением структур белковых переносчиков, которые участвуют в регуляции гомеостаза металлов переменной валентности.

Список литературы:

1. Терехина Н.А., Падруль М.М., Макарова Е.Л. Влияние бактериофага на содержание железа и меди в сыворотке крови беременных с пиелонефритом. Клиническая лабораторная диагностика. 2008. №6. С. 23-24, 33-34.

2. Терехина Н.А., Селин А.Д., Терехин Г.А. Влияние электромагнитного излучения на показатели антиоксидантной защиты в эритроцитах и плазме крови крыс. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2021. Т. 65. № 3. С. 73-79.

3. Терехина Н.А., Жидко Е.В., Терехин Г.А., Орбиданс А.Г. Прогностическое значение определение содержания меди при заболеваниях гепатобилиарного тракта. Клиническая лабораторная диагностика. 2015. №9. С. 63.

4. Селин А.Д., Терехина Н.А., Терехин Г.А. Влияние электромагнитного излучения на проницаемость эритроцитарных мембран. Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. 2020. Т. 10. №4. С. 43-49.

5. Maleky N.F., Ebrahim R.H. Effects of exposure to electromagnetic field from mobile phone on serum hepcidin and iron status in male albino rats. *Electromagnetic Biology and Medicine*. 2019. 38(1). 66-73.

6. Sirav B., Seyhan N. Effects of GSM modulated radio-frequency electromagnetic radiation on permeability of blood–brain barrier in male & female rats. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 2016. 75. 123-127.

7. Yakymenko I., Tsybulin O., Sidorik E. et al. Oxidative mechanisms of biological activity of low-intensity radiofrequency radiation. *Electromagnetic Biology and Medicine*. 2016. 35(2). 186–202.

ВЛИЯНИЕ НИТРОЗОГЛУТАТИОНА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ БЕЛКА-ТРАНСПОРТЕРА ГЛИКОПРОТЕИНА-P

Е.А. Судакова, Ю.В. Абаленихина, А.А. Сеидкулиева, А.В. Щулькин

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. NO (оксид азота II) – сигнальная молекула, обладающая широким спектром физиологических эффектов. Показано, что NO участвует в синаптической передаче, нейрогенезе, вазодилатации, в развитии воспаления в повреждении клеток и т.д. [1].

В роли донаторов NO известно несколько классов соединений таких как, органические нитраты, соединения нитрозилированных металлов, диолатыдиазения (N-diazoniumdiolate — NONOate) и S-нитрозотиолы (S-nitrosothiol — RSNO). Представителем RSNO выступает S-нитрозоглутатион (GSNO), который является эндогенным донором NO[2].

Гликопротеин-P (Pgp, ABCB1) – АТФ-зависимый эффлюксный белок-транспортер, обеспечивающий выведение эндогенных и экзогенных веществ из клеток во внеклеточное пространство и биологические жидкости. Считается, что Pgp играет важную роль в развитии резистентности опухолей к химиотерапии и фармакокинетике лекарственных веществ [3].

Влияние GSNO на количество белка-транспортера Pgp на данный момент не изучено, что и послужило целью настоящего исследования.

Цель. Изучить влияние S-нитрозоглутатиона на количество белка-транспортера гликопротеина-P.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на линии клеток аденокарциномы ободочной кишки человека (Caco-2) (ЦКП "Коллекция культур клеток позвоночных", Санкт-Петербург). Клетки культивировали 21 день в 6-луночных планшетах (Corning). S-нитрозоглутатион (GSNO; Sigma-Aldrich) добавляли в культуральную среду в концентрациях 1, 10, 50, 100 и 500 мкМ и инкубировали в течение суток (24 ч). В группу контрольных клеток добавляли воду для инъекций в сопоставимом объеме. Каждый эксперимент выполнен в трех повторах.

В лизате клеток определяли: уровень метаболитов оксида азота (суммарная концентрация нитратов и нитритов – NOx) и пероксинитрита фотометрически, содержание битирозина – флюоресцентным методом. Относительное количество Pgp оценивали методом вестерн-блот с использованием первичных мышинных моноклональных антител (P-Glycoprotein Antibody MA5-13854; Invitrogen) в концентрации 1:200. Количество Pgp оценивали относительно содержания белка GAPDH и выражали в %. Белок анализировали по методу Бредфорда.

Полученные результаты анализировали с помощью дисперсионного анализа ANOVA и критерия Ньюмена-Кейлса («StatSoftStatistica 13.0»), статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$. Результаты представляли в виде среднего значения \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$).

Результаты. Уровень метаболитов оксида азота статистически значимодозозависимо возрастал во всех тестируемых концентрациях GSNO (от 1 мкМ до 500 мкМ). Максимальные значения уровня метаболитов оксида азота выявлены при концентрации GSNO 500 мкМ $17,0 \pm 0,2$ нмоль/мг белка ($p = 0,0002$) относительно контрольной группы клеток $10,7 \pm 0,3$ нмоль/мг белка.

Содержание битирозина в контроле составило $68,7 \pm 5,2$ нмоль/мг белка. При воздействии GSNO в концентрациях 10, 50, 100 и 500 мкМ уровень битирозина возрастал составил $81,3 \pm 4,4$ нмоль/мг белка ($p = 0,006$), $75,8 \pm 5,4$ нмоль/мг белка ($p = 0,003$), $77,1 \pm 4,3$ нмоль/мг белка ($p = 0,001$) и $92,7 \pm 2,1$ нмоль/мг белка ($p = 0,0002$) соответственно.

Уровень пероксинитрита при концентрациях GSNO 100 и 500 мкМ увеличивался до $13,0 \pm 1,0$ мкмоль/мг белка ($p = 0,01$) и $14,9 \pm 0,8$ мкмоль/мг белка ($p = 0,001$) по сравнению с контролем.

Полученные результаты свидетельствуют о развитии нитрозативного стресса при воздействии высоких концентраций GSNO.

Относительное количество Pgp при воздействии GSNO достоверно возрастало по сравнению с контролем. Так, при концентрации GSNO 10 мкМ данный показатель составил $143,7 \pm 21,17\%$ ($p = 0,01$), при концентрации 50 мкМ – $135,76 \pm 21,04\%$ ($p = 0,02$), при концентрации 100 мкМ – $123,74 \pm 10,88\%$ ($p = 0,045$). Однако при увеличении концентрации GSNO до 500 мкМ уровень белка-транспортера снижался до $44,36 \pm 10,79\%$ ($p = 0,002$) по сравнению с контролем.

Выводы. В данном эксперименте установлено, что S-нитрозоглутатион в концентрациях 10, 50, 100 мкМ повышает количество Pgp. Увеличение концентрации GSNO до 500 мкМ приводит к развитию нитрозативного стресса, что вызывает снижение количества белка-транспортера.

Список литературы:

1. Socco S., Bovee R.C., Palczewski M.B., Hickok J.R., Thomas D.D. Epigenetics: The third pillar of nitric oxide signaling // *Pharmacol Res.* 2017. N 121. P. 52-58. doi: 10.1016/j.phrs.2017.04.011
2. Recent advances in nitric oxide delivery for antimicrobial applications using polymer-based systems / Z. Sadrearhami, T.-K. Nguyen, R. Namivandi-Zangeneh[et al.] // *J. Mater. Chem. B.* – 2018. – 6. - P. 2945-2959.
3. Borst P., Schinkel A.H. P-glycoprotein ABCB1: a major player in drug handling by mammals // *J. Clin. Invest.* 2013. N 23, 4131–4133. doi: 10.1172/JCI70430

ГЕМОГЛОБИН – БЕЛОК ДЛЯ НАУКИ И ДЛЯ ЖИЗНИ

А.Ф. Топунов, О.В. Космачевская

ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт биохимии им. А.Н. Баха, г. Москва,
Российская Федерация

Актуальность. Взаимосвязь структуры и функции белков - одна из наиболее важных проблем в биохимии. Особенно интересны в этом отношении белки и широко распространенные в живой природе, и отличающиеся большим разнообразием структурной организации и функций. Белками, к которым в полной мере можно отнести эти качества, являются гемоглобины (Hb) [2, 6]. Мы в первую очередь будем рассматривать тетрамерный эритроцитарный Hb.

Цель. Целью является анализ множественных функций эритроцитарного Hb и их значимость для организма человека в норме и патологии.

Результаты. Гемоглобин наиболее известен как переносчик кислорода, однако его функции этим не ограничиваются. Известны следующие дополнительные (альтернативные) функции Hb: 1) каталитические, обусловленные гемовым (пероксидазная, нитритредуктазная, NO-диоксигеназная, монооксигеназная, алкилгидропероксидазная) и белковым (эстеразная, липоксигеназная) компонентами Hb; 2) участие в метаболизме оксида азота (NO); 3) образование мембраносвязанной формы Hb и ее роль в регуляции метаболизма эритроцитов; 4) физиологические функции продуктов катаболизма Hb (железа, СО, билирубина, пептидов) [3]. Внутри эритроцита Hb функционирует и как сигнальная молекула, в этом процессе может участвовать и мембраносвязанный Hb [1]. С помощью Hb осуществляется связь между различными метаболическими параметрами эритроцита: кислородными условиями, образованием АТФ, регуляцией рН, окислительно-восстановительным балансом и состоянием цитоскелета. Hb подвергается и различным посттрансляционным модификациям, одним

из важнейших здесь является гликирование, поскольку оно происходит при многих патологических процессах [5].

Полифункциональность Hb можно рассматривать как выражение принципа биохимической экономии. Белки, обладающие потенциалом выполнять ряд неосновных функций, способствуют расширению адаптационного ответа организма, что в конечном итоге имеет значение для выживаемости. Например, гемоглобин, деятельность которого не ограничивается строго транспортом кислорода, рассматривается как полифункциональная молекула.

Выводы. Демонстрируя многообразие функций белков, на примере Hb, мы подчеркиваем целесообразность рассмотрения свойств белков, проявляющихся, например, при изменении внешних условий. Только в этом случае мы сможем дать наиболее полное объяснение состояния организма *in vivo* с помощью данных, полученных в опытах *in vitro*. Анализ соотношения форм Hb в организме может служить основой и для разработки компьютерной экспертной диагностической системы [4], в том числе из-за того, что Hb в разных своих формах способен выполнять различный спектр функций.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 19-29-12052).

Список литературы:

1. Космачевская О.В., Насыбуллина Э.И., Блиндарь В.Н., Топунов А.Ф. Связывание эритроцитарного гемоглобина с мембраной как способ осуществления сигнально-регуляторной функции. Прикл. биохимия и микробиология. 2019. 55(2). 107–123.

2. Космачевская О.В., Топунов А.Ф. Гемоглобины – разнообразие структур и функций. Прикл. биохимия и микробиология. 2009. 45(6). 627-653.

3. Космачевская О.В., Топунов А.Ф. Альтернативные и дополнительные функции эритроцитарного гемоглобина. Биохимия. 2019. 84(1). 3–23.

4. Насыбуллина Э.И., Никитаев В.Г., Проничев А.Н., Блиндарь В.Н., Космачевская О.В., Топунов А.Ф. Экспертная система диагностики гемоглобинопатий с использованием данных о состоянии крови, эритроцитов и гемоглобина. Краткие сообщения по физике. 2015. 42(7). 22-27.

5. Kosmachevskaya O.V., Novikova N.N., Topunov A.F. Carbonyl stress in red blood cells and hemoglobin. Antioxidants. 2021. 10(2). e253. DOI: 10.3390/antiox10020253.

6. Vinogradov S.N., Moens L. Diversity of globin function: enzymatic, transport, storage, and sensing. *J. Biol. Chem.* 2008. 283(14). 8773–8777.

ВЛИЯНИЕ БЕЛКА-ТРАНСПОРТЕРА VSCRП НА ТРАНСПОРТ МЕТОТРЕКСАТА ЧЕРЕЗ БИЛИПИДНУЮ МЕМБРАНУ КЛЕТОК ЛИНИИ CACO-2

Ю.С. Транова, А.В. Шулькин, И.В. Черных, Е.Н. Якушева

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Изучение транспорта лекарственных средств *in vitro* проводится на клетках линии Caco-2 (клетки аденокарциномы ободочной кишки человека), которые проявляют морфологическое и функциональное сходство с кишечными (абсорбирующими) энтероцитами человека [3]. Белок устойчивости к раку молочной железы (VSCRП) – член подсемейства G-белков суперсемейства ABC-транспортёров. Данный белок экспрессируется в клетках плаценты, кишечника, мозга, печени, почек, надпочечников и яичниках [2, 4].

Метотрексат – противоопухолевое средство из группы антиметаболитов. Данный препарат применяют для лечения острого лимфобластного лейкоза, трофобластических опухолей, псориаза, ревматоидного артрита и др.

Цель. Изучить влияние VSCRП на транспорт метотрексата через билипидную мембрану клеток линии Caco-2.

Материалы и методы. Клетки линии Caco-2 культивировали в Дульбекко модифицированной среде Игла (DMEM) на полупроницаемой мембране лунок трансвелл-системы в течение 21 суток. Транспортные эксперименты проводили на 22 сутки, так как именно на данном сроке происходит их спонтанная дифференцировка в структуру, подобную кишечному эпителию [3]. Плотность межклеточных контактов и целостность монослоя оценивали по уровню трансэпителиального сопротивления (TEER), который должен быть выше 500 мОм • см² [5].

Для выполнения транспортных экспериментов питательную среду заменяли натранспортную среду, состоящую из раствора Хэнкса с 25 мкмоль/л Хепес и 1% диметилсульфоксида.

Оценивался транспорт метотрексата в концентрациях 1, 5, 10 и 50 мкМ. Забор проб производился в течение 3 часов. На следующем этапе оценивалось влияние ингибитора VSCRП – резерпина (50 мкМ) на транспорт метотрексата.

Концентрацию метотрексата в транспортной среде определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС). [1]

Результаты. Транспорт вещества как из камеры а в камеру b трансвелл-системы, так и обратно оценивали по формуле: $P_{app} = \frac{dQ}{dt} \times \frac{1}{A \times C_0}$, где P_{app} — коэффициент кажущейся проницаемости, dQ/dt — изменение концентрации вещества в камере реципиенте за время инкубации ($\text{мкмоль/л} \cdot \text{с} \cdot \text{см}^3$), A — площадь полупроницаемой мембраны лунки в трансвелл-системе, на которой культивируются клетки (см^2), C_0 — начальная концентрация субстрата в камере-доноре (мкмоль/л). Далее рассчитывали отношение коэффициентов кажущейся проницаемости: $P_{app} \text{ b-a}$ к $P_{app} \text{ a-b}$. При отношении коэффициентов более 2 можно говорить об участии белка-транспортера в транспорте.

Коэффициент кажущейся проницаемости b-аметотрексата в концентрации 5 мкМ составил $1,46 \cdot 10^{-6} \pm 5,77 \cdot 10^{-7}$ см/сек ($p=0,43$), коэффициент кажущейся проницаемости a-b метотрексата – $4,3491 \cdot 10^{-7} \pm 1,74 \cdot 10^{-6}$ см/сек ($p=0,21$), а их отношение – $3,38 \pm 0,91$. Полученное отношение коэффициентов составило более «2», что свидетельствует об транспорте вещества с участием BCRP.

Добавление в транспортную среду резерпина (ингибитора BCRP) в концентрации 50 мкМ приводило к отношению коэффициентов кажущейся проницаемости на 69,53%.

Выводы. Таким образом, в ходе настоящего исследования показано, что в транспорте метотрексата через билипидную мембрану клеток линии Caco-2 участвует белок устойчивости к раку молочной железы – BCRP.

Список литературы:

1. Мыльников П.Ю., Транова Ю., Щулькин А.В., Якушева Е.Н. Разработка и валидация методики количественного определения метотрексата в транспортной среде методом ВЭЖХ-МС/МС. Фармакокинетика и Фармакодинамика. 2021. (1). 45-51.
2. Doyle L.A., Yang W., Abruzzo L.V., Krogmann T., Gao Y., Rishi A.K., Ross D.D. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1998. 95(26). 15665–15670.
3. Hilgers A.R., Conradi R.A., Burton P.S. Caco-2 Cell Monolayers as a Model for Drug Transport Across the Intestinal Mucosa. Pharm Res. 1990. 7(9). 902-910.
4. Maliepaard, M.Scheffer, G.L., Faneyte, I.F., VanGastelen, M.A., Pijnenborg, A.C.L.M., Schinkel, A.H., VandeVijver, M.J., Scheper, R.J., Schellens, J.H.M. Subcellular localization and distribution of the breast cancer resistance protein transporter in normal human tissues. Cancer Res. 2001. 61(8).3458–3464.
5. rinivasan B., Kolli A.R., Esch M.B. TEER measurement techniques for in vitro barrier model systems. J Lab Autom. 2015. 20(2). 107-126.

ХАРАКТЕРИСТИКА СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ РАНЕВОГО ОТДЕЛЯЕМОГО В УСЛОВИЯХ МОДЕЛЬНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА ПО ФОРМИРОВАНИЮ ПОВРЕЖДЕНИЯ КОЖИ

А.А. Ходосевич, Е.С. Ефременко

ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г.Омск, Российская Федерация

Актуальность. Актуальность работы обусловлена развитием посттравматических нарушений целостности кожи при травмах различной этиологии. Формирование раны имеет фазовый характер динамики местных признаков и общих проявлений. Адаптивной реакцией при этом является миграция фагоцитирующих клеток в очаг повреждения для создания препятствий инфицированию раны за счет продукции свободных радикалов. С данной точки зрения, существенным моментом может быть оценка работы энзиматической составляющей антиоксидантной системы, в первую линию которой входит супероксиддисмутаза. Определение уровня активности энзима может быть использовано для патогенетического обоснования метаболической коррекции антиоксидантного статуса.

Цель исследования. Выяснить активность супероксиддисмутазы в раневом отделяемом при полнослойной, плоскостной ране кожи для формирования представлений о состоянии антиоксидантной защиты в регенераторную фазу воспалительной реакции.

Материалы и методы. В группе лабораторных животных (беспородные, белые крысы массой 120-180г, n=30) моделировали плоскостную, полнослойную рану кожи, удаляя кожный покров площадью 200мм².

Эффективность ферментативной части антиоксидантной защиты оценивали измерением активности супероксиддисмутазы в раневом отделяемом в первые и десятые сутки постановки эксперимента [3]. Применяли следующие параметры описательной статистики: медиану (Me), верхний (H) и нижний (L) квартили. Непараметрический критерий Вилкоксона (W) использовался для установления статистической значимости отличий в связанных выборках [2].

Результаты. При оценке активности супероксиддисмутазы раневого отделяемого на десятые сутки течения полнослойной, плоскостной раны кожи было установлено, что активность энзима существенно снижена по сравнению с уровнем активности, определенным с момента нанесения повреждения ($pW=0,046$) и составила 1,05 (0,50; 2,17) ед. акт.

Десятые сутки течения раневого процесса рассматриваются в аспекте сформированной стабильной регенераторной фазы. Общепринято, что важнейшим патогенетическим звеном воспалительного процесса является значительное увеличение интенсивности образования веществ свободнорадикальной природы. Результатом указанных молекулярных

событий считается развитие повреждений структуры носителей генетической информации, функциональных протеинов, сложных липидов и полиненасыщенных жирных кислот.

В условиях проведенного эксперимента представляется, что одним из главнейших факторов, ответственных за усиление продукции свободных радикалов, может быть каталитическая активность фермента НАДФН-оксидазы фагоцитирующих клеток. На основании литературных данных сложилось четкое представление о НАДФН-оксидазе, как о ферментативной системе, которая осуществляет восстановительную реакцию с участием молекулы кислорода в качестве субстрата до конечного продукта метаболизма – воды. В процессе происходит сопряженное образование супероксидного анион-радикала.

При воспалении роль супероксида заключается в: 1) усилении адгезии к поверхности эндотелия кровеносных сосудов клеток гранулоцитарного ряда; 2) стимуляции лимфоцитов к пролиферации; 3) участии в образовании хемотаксических факторов. Кроме того, микробицидная роль супероксидного анион-радикала может быть опосредована его решающим значением в генерации других активных форм кислорода.

Интенсификация свободнорадикальных реакций, установленная при формировании раны кожных покровов, может рассматриваться в качестве адаптивного процесса. В тоже время, превышение необходимого количества образующихся активных форм кислорода способно вызвать повреждение тканей, окружающих очаг воспаления [1].

Отмечается, что на активность супероксиддисмутазы существенное влияние оказывает обеспеченность субстратом – супероксидным анион-радикалом. Указывается информация, показывающая вовлеченность супероксидных радикалов в формирование уровня интенсивности функционирования супероксиддисмутазы. Так, показано, что блеомицин-обусловленная гипергенерация супероксидных форм вызывает повышение уровня активности супероксиддисмутазы.

Выявленное в проведенном нами исследовании снижение активности супероксиддисмутазы в раневом отделяемом на десятые сутки проведения эксперимента по формированию полнослойной, плоскостной раны кожи может иметь обусловленность в аспекте уменьшенного объема образования супероксидных анион-радикалов в регенераторную фазу воспалительного процесса. Очевидно, что указанный уровень не позволяет предположить увеличение активности супероксиддисмутазы за счет повышения содержания исходных веществ.

Можно предположить, что причиной указанных изменений может быть хемоаттрактантная недостаточность. Последствием данного события, в свою очередь, может явиться количественное снижение фагоцитирующих клеток, мигрирующих к участку повреждения кожного покрова, что представляет собой фактор, определяющий уменьшение

интенсивности функционирования НАДФН-оксидазы, обеспечивающей продукцию супероксида.

Также следует упомянуть наличие такого регуляторного аспекта работы НАДФН-оксидазного комплекса, как принцип «обратной связи». Суть данного принципа связана с тем, что формирование продукта реакции дисмутации – пероксида водорода – влечет за собой снижение активности фермента.

Наличие возможности регуляции активности супероксиддисмутазы через нуклеотидную последовательность в гене супероксиддисмутазы, которая представляет собой антиоксидант-респонсивный элемент, составляет еще один регуляторный аспект функционирования супероксиддисмутазы. Полагают, что пероксид водорода ответственен за формирование активного состояния антиоксидант-респонсивного элемента. В связи с этим, низкий уровень образования пероксида водорода может определять отсутствие активации антиоксидант-респонсивного элемента, что, в свою очередь, влечет за собой недостаточность функционирования супероксиддисмутазы.

Вывод. Таким образом, уменьшенная супероксиддисмутазная активность на десятые сутки течения полнослойной, плоскостной раны кожи может быть обусловлена: 1) низким содержанием субстрата реакции; 2) запуском в действие принципа «обратной связи»; 3) проблемами активизации антиоксидант-респонсивного элемента. Данные исследований свидетельствуют о недостаточности антиоксидантной защиты в регенераторную фазу воспалительной реакции и предполагают необходимость коррекции окислительного метаболизма при раневом процессе.

Список литературы:

1. Окислительный стресс. Антиоксиданты и прооксиданты. / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков, И.А. Бондарь, Н.Ф. Круговых, В.А. Труфакин. М.: Фирма «Слово», 2006. – 556с.
2. Платонов А.Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы / А.Е. Платонов. – М.: Издательство РАМН, 2000. – 52 с.
3. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы / Вопросы медицинской химии. 1998. Т. 45. № 3. С. 263.

ПРИМЕНЕНИЕ ГИДРОСОРБ ГЕЛЯ ПРИ РАНОЗАЖИВЛЕНИИ

Т.М. Черданцева, А.В. Федосеев, А.А. Качкуркина, М.С. Некрасова,
П.П. Бакланов, А.Ю. Мансур

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Изучение раневого процесса не утратило своей актуальности в современной фундаментальной медицине. Высокая частота встречаемости ран, высокий процент инфекционных осложнений обуславливает наличие множества групп препаратов для местного лечения ран. Одним из современных раневых покрытий являются гидрогели [1]. Они представляют собой трехмерные сети, образованные путем регулярного сшивания различных идентичных полимерных материалов, окруженные водной дисперсной средой [4]. «Гидросорб гель» является многокомпонентным прозрачным гелем, состоящим из карбоксиметилцеллюлозы, гидроксиэтилцеллюлозы, раствора Рингера и глицерина [2]. Наличие в составе полусинтетических гидрофильных полимеров обуславливает механическую прочность, хорошую биосовместимость и способность этих перевязок к удержанию воды на поверхности раны [3,5], что приводит к созданию оптимальной влажности и, как следствие, к ускорению ранозаживления. Глицерин увлажняет раневую поверхность, а раствор Рингера за счет электролитов тоже благоприятно влияет на процесс регенерации в ране [2].

Наличие вышеописанных компонентов в составе «Гидросорб геля» и послужило основой изучения нами этого препарата в процессе ранозаживления.

Целью нашего исследования явилось изучить ранозаживляющее действие «Гидросорб геля» в эксперименте на животных.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 18 морских свинок, массой тела +/- 350-400 г., содержащихся в условиях вивария в изолированных послеоперационных клетках на обычном пищевом рационе. Рана была смоделирована путем иссечения полнослойного участка кожи на спине под наркозом. В связи с поставленной целью, животные были разделены на две группы: 1 группа – контрольная – самостоятельное заживление раневого дефекта; 2 группа – опытная № 2 - заполнение раны гидросорб гелем. Забор материала для гистологического исследования осуществлялся путем иссечения участка прилежащего края раны скальпелем на 7, 15, 21 сутки эксперимента. Приготовленные парафиновые срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Проводили сравнительную оценку морфологических особенностей заживления ран (оценка степени восстановления эпителиального покрова, выраженности воспалительной инфильтрации, зрелости грануляционной ткани) у опытной и контрольной групп.

Результаты исследования. В гистологической картине раны на 7 сутки в опытной и контрольной группах признаков эпителизации отмечено не было. В контрольной группе отмечалась умеренная лейкоцитарная (преимущественно нейтрофильная) инфильтрация как глубоких, так и поверхностных участков раны. Соединительнотканые незрелые волокна имели смешанное направление, большое количество клеток фибробластического ряда, что говорит о формировании грануляционной ткани. В опытной группе отмечалась слабая лейкоцитарная инфильтрация преимущественно поверхностных слоёв раны. Грануляционная ткань имела признаки более зрелых волокон, клетки фибробластического ряда приобретали вытянутую форму.

На 15 сутки в контрольной группе отмечалась эпителизация раны, что характеризуется наплывом эпителия с краёв раны к её центру. В эпидермисе хорошо выражен базальный слой, шиповатый слой состоял из 2-4 рядов клеток, зернистый слой представлен единичными клетками. В остальных отделах раны наблюдалась выраженная грануляционная ткань с формированием пучков зрелых коллагеновых волокон, сохраняются расширенные лимфатические сосуды. В опытной группе наблюдалось более выраженное наплывание эпителия под слоем гидрогеля, толщина шиповатого слоя составляла 4-6 рядов клеток, единичные клетки в зернистом слое. Грануляционная ткань была хорошо сформирована, кровеносные и лимфатические сосуды выражены незначительно.

На 21 сутки в контрольной группе отмечалось увеличение толщины эпидермиса за счёт клеток шиповатого слоя, которых 6-8 рядов, не на всем протяжении 1-2 ряда зернистых клеток. Грануляционная ткань зрелая с остаточными признаками воспаления в виде слабой лейкоцитарной инфильтрации, полнокровными сосудами. В опытной группе на эти же сутки наблюдалась большая толщина эпителия, в шиповатом слое 8-10 рядов, зернистый слой не выражен. Грануляционная ткань также сформирована, отмечают единичные полнокровные сосуды в поверхностных слоях.

Выводы. Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что применение гидросорб геля оказывало положительный эффект на процесс ранозаживления, который проявлялся уменьшением выраженности воспалительной инфильтрации на 7 сутки и более активной эпителизацией раны на 15 и 21 сутки.

Список литературы:

1. Кузнецова Т. А., Беседнова Н. Н., Усов В. В., и др. Биосовместимые и биodeградируемые раневые покрытия на основе полисахаридов из морских водорослей (обзор литературы) // Вестник хирургии имени И. И. Грекова. 2020, Т. 179, №4. с. 109–115. DOI: 10.24884/0042-4625-2020-179-4-109-115.

2. Никитин В.Г. Инновационные средства местного лечения ран // Сахарный диабет. 2007. №3. С.69-73.

3. Alven S, Aderibigbe BA. Chitosan and Cellulose-Based Hydrogels for Wound Management. Int J Mol Sci. 2020;21(24):9656doi:10.3390/ijms21249656.

4. Rahman MS, Hasan MS, Nitai AS, et al. Recent Developments of Carboxymethyl Cellulose. Polymers (Basel). 2021;13(8):1345. doi:10.3390/polym13081345.

5. Tudoroiu EE, Dinu-Pîrvu CE, Albu Kaya MG, et al. An Overview of Cellulose Derivatives-Based Dressings for Wound-Healing Management. Pharmaceuticals (Basel). 2021;14(12):1215. doi:10.3390/ph14121215

ИССЛЕДОВАНИЕ СОГЛАСОВАННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ БИОХИМИЧЕСКИХ И ГИСТОХИМИЧЕСКИХ ТЕСТОВ НАДПОЧЕЧНИКОВ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ОГРАНИЧЕНИИ ПОДВИЖНОСТИ

И.П. Чернов, Т.М. Черданцева, Р.К. Воронина

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Неблагоприятное влияние гипокинезии на общую и иммунологическую резистентность организма в настоящее время не вызывает сомнений [1]. Однако развитие стресса задерживает на определенное время негативные последствия гипокинезии и отражается на состоянии гомеостаза [2]. Гормоны надпочечников являются основными соединениями, обеспечивающими развитие общего адаптационного синдрома. Однако к настоящему времени не все закономерности структурных изменений надпочечников при стрессах различной этиологии исследованы с позиций их соответствия с характером биохимических реакций этих органов [3].

Целью данного исследования было выявить степень согласованности изменений биохимических и гистологических показателей активности коры надпочечников и мозгового вещества этих органов в процессе двухмесячной гипокинезии у экспериментальных животных.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на беспородных растущих крысах-самцах, массой 140-150 г. Ограничение подвижности создавали помещением опытных крыс в индивидуальные клетки-пеналы, ограничивающие движения по всем направлениям. Взятие материала осуществляли при забое животных на 1, 3, 10, 20, 30, 45 и 60 сутки. Содержание 11-ОКС определяли по методике Ю.А. Панкова, И.Я. Усватовой [4]. Содержание липидов в коре надпочечников определяли

люминесцентно-микроскопическим методом Берга. Также выявляли активность структур коры на щелочную фосфатазу по методу Гомори. Состояние мозгового вещества надпочечников оценивали путем подсчета содержания А-, Н-клеток у опытных и контрольных животных, а также реакции этих структур на катехоламины [5]. и кислую фосфатазу по Гомори. В коре надпочечников выявляли количество очагов микронекрозов в различных слоях. При забое крыс измеряли также массу надпочечников. Результаты подсчетов и других количественных измерений обрабатывали методами вариационной статистики [6].

Результаты. Прямое определение содержания 11-ОКС в плазме крови обнаружило статистически значимое увеличение исследуемых гормонов в первые 10 суток опыта с максимальным ростом в первые трое суток наблюдения (14,8 мкг % в опыте и 6,3 мкг % в контроле).

К 20 суткам опыта показатели 11-ОКС у экспериментальных и контрольных животных не имели достоверных различий. Такое же соотношение гормонов в опыте и контроле наблюдали и на 30 сутки эксперимента. К 45 суткам ограничения подвижности содержание исследуемых гормонов в крови опытных животных было ниже контроля (6,5 и 7,6 мкг % соответственно). На заключительном этапе (60 сутки опыта) содержание корковых гормонов надпочечников еще более снижалось до 4,7 мкг % против 7,3 мкг % у контрольных крыс.

Показатели абсолютной и относительной массы надпочечников у экспериментальных крыс прямо коррелировали с колебаниями содержания их гормонов. Максимальный прирост массы надпочечников отмечали на 3 сутки опыта, а снижение на 60 сутки.

Гистохимические показатели состояния коры надпочечников оценивались нами по содержанию липидов (рис.1), активности реакции на щелочную фосфатазу (рис.2) и сукцинатдегидрогеназу.

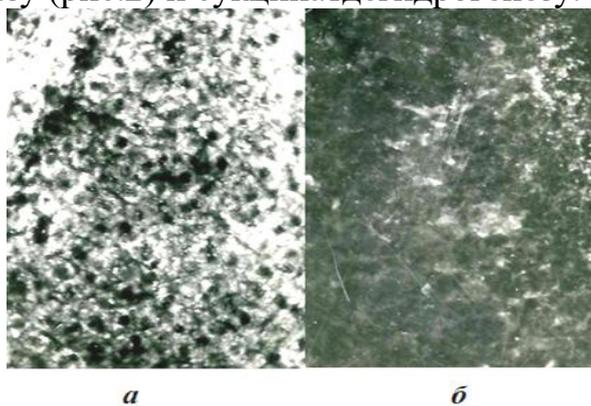


Рисунок 1. Люминесценция липидов в коре надпочечников крыс: а – исходный уровень, б – 3 сутки обездвиживания животных

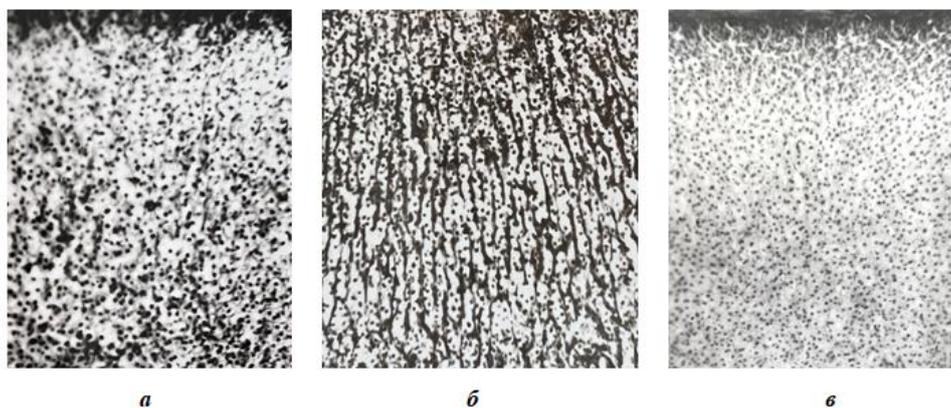


Рисунок 2. Активность щелочной фосфатазы в коре надпочечников крыс:
 а – исходный уровень, б – повышенная активность (3 сутки), в –
 пониженная активность (60 сутки)

В мозговом веществе у обездвиженных животных признаки повышенной функциональной активности хромаффинной ткани отмечали не только в первые дни эксперимента, но и на протяжении второго месяца опыта. В хромаффинных клетках отмечали рост количества и размеров вакуолей, что наряду с расширенными венозными синусами мозгового слоя демонстрирует повышенную их активность. Одновременно существенно возрастала реакция клеток этого слоя на кислую фосфатазу. Такие изменения гистохимических реакций наблюдались на всем протяжении эксперимента. При анализе соотношения количества адреналокитов и норадреналокитов количество первых увеличивалось на ранних стадиях гипокинезии, а вторых – на позднем этапе опыта.

Выводы. 1) Условия опыта вызывают стресс-реакцию у экспериментальных животных, причем колебания в содержания 11-ОКС сочетаются по времени и степени выраженности с изменениями гистохимических реакций коры надпочечников.

2) Морфометрические и гистохимические исследования клеток мозгового слоя показывают их высокую функциональную активность на протяжении всего эксперимента.

Список литературы:

1. Коваленко Е.А, Гуровский Н.Н. Гипокинезия / Е.А. Коваленко, Н.Н. Гуровский. – М.: Медицина, 1980. – 320 с.
2. Хлущевская О.А., Химич Г.З. Механизмы адаптации организма при гипокинезии// Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук, 2014. - №6. - С. 110-113.
3. Васильева Т.Н., Подковкин В.Г., Чикина Е.Л. Биохимическая оценка функционального состояния коры надпочечников. Вестник СамГУ, 2002, №4, С. 137-144.

4. Усватова И.Я, Панков Ю.А. Флюориметрические методы определения кортикостероидов в плазме крови. – В кн.: совр. методы опред. стероидных гормонов биол. жидкостях. М.: Медицина, 1968, С.38-48
5. Яглов В.В. Цитофизиология хромаффинной клетки мозгового вещества надпочечников / В.В. Яглов. – В кн.: Железы, их гистофизиологическая и нервная регуляция. М.: Наука, 1971. – с.130-137
6. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях / В.Ю. Урбах. – М.: Медицина, 1975. – 296 с.

АНТИОКСИДАНТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА В РАЗЛИЧНЫХ МОДЕЛЯХ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ

К.Б. Шумаев^{1,2}, О.В. Космачевская¹, Д.И. Грачев^{2,3}, В.А. Медведева^{2,3},
А.Ф. Топунов¹, В.З. Ланкин², Э.К. Рууге^{2,3}

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха ФИЦ биотехнологии РАН, г. Москва, Российская Федерация, ²ФГБУ "НМИЦ кардиологии" Минздрава России, г. Москва, Российская Федерация, ³Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Физический факультет, г. Москва, Российская Федерация

Актуальность. Известно, что процессы свободнорадикального окисления участвуют в патогенезе многих заболеваний [1-3]. Эти процессы индуцируются активными формами кислорода, азота и галогенов. В крови мишенями этих активных форм являются липопропротеиды низкой плотности (ЛНП) и эритроциты [1-3]. Следует отметить, что гемоглобин может играть важную роль в развитии окислительного стресса. Оксид азота (NO) является предшественником таких активных форм (прооксидантов) как пероксинитрит, диоксид азота и другие высшие окислы азота. С другой стороны, в живых системах NO и такие его физиологические производные как динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) проявляют антиоксидантные свойства [3-6].

В настоящее время наиболее изучены тиолсодержащие ДНКЖ, в которых ион железа координирован с двумя нитрозилами (NO^+) и двумя тиолами (RS^-) {общая формула: $(\text{RS}^-)_2\text{Fe}^+(\text{NO}^+)_2$ }. Лигандами таких ДНКЖ могут быть низкомолекулярные тиолы и SH-группы цистеиновых остатков белковых цепей. В частности, ДНКЖ могут быть связаны с остатками Cys93 β -субъединицы гемоглобина [4].

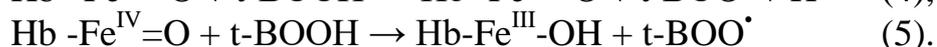
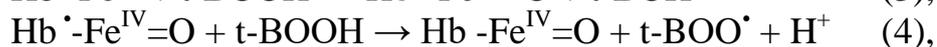
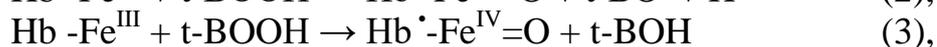
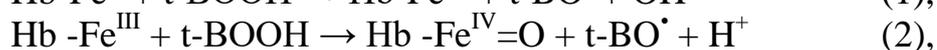
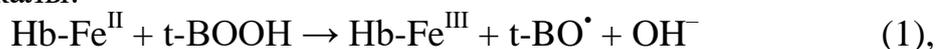
Цель работы. Поскольку механизмы антиоксидантного и антирадикального действия ДНКЖ до конца не изучены мы исследовали влияние этих комплексов NO на свободнорадикальные процессы в различных моделях окислительного стресса.

Материалы и методы. В работе использовали бычий гемоглобин, гидропероксид трет-бутила, восстановленный глутатион (GSH) и другие реактивы фирмы Sigma-Aldrich (США), а также ДЕПМПО (5-диэтоксифосфорил-5-метил-1-пирролин N-оксид) полученную от фирмы CaymanChemicalEuro (Эстония).

ДНКЖ синтезировались как это описано в работах [3-6]. ЛНП получали из плазмы крови здоровых доноров [2]. Свободнорадикальное перекисное окисление в ЛНП (50 мкг белка/мл) индуцировали ионами Cu^{2+} (30 мкМ). Степень перекисного окисления ненасыщенных липидов оценивали по оптическому поглощению при 234 нм (накоплению диеновых конъюгатов). Для определения концентрации парамагнитных ДНКЖ и аддуктов свободных радикалов с ДЕПМПО использовали спектроскопию ЭПР. Спектры ЭПР регистрировали при комнатной температуре (25°C) на спектрометре E-109E фирмы Varian(США).

Результаты. Установлено, что содержащие глутатион и цистеин ДНКЖ эффективно ингибируют индуцированное ионами Cu^{2+} окисление ЛНП из крови человека. Важно отметить, что свободные тиолы ингибировали перекисное окисление в ЛНП менее эффективно, чем ДНКЖ. Следовательно антиоксидантные свойства ДНКЖ не могут быть объяснены действием только их тиольных лигандов.

Для моделирования процессов свободнорадикального окисления часто используется гидропероксид трет-бутила. В наших экспериментах показано, что в реакциях этого органического гидропероксида (t-BOOH) с метгемоглобином (Hb) образуются алкоксильные и алкилпероксильные радикалы:



Кроме того, в этих реакциях образуется оксоферрильная форма гемового железа ($\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$), которая является очень сильным окислителем. Ранее мы обнаружили, что глутатионовые ДНКЖ восстанавливают оксоферрилмиоглобин [3]. В данном исследовании установлено, что ДНКЖ связанные с глутатионом или самим Hb уменьшают концентрацию свободных радикалов, образующихся в системе с гидропероксидом трет-бутила (рис. 1).

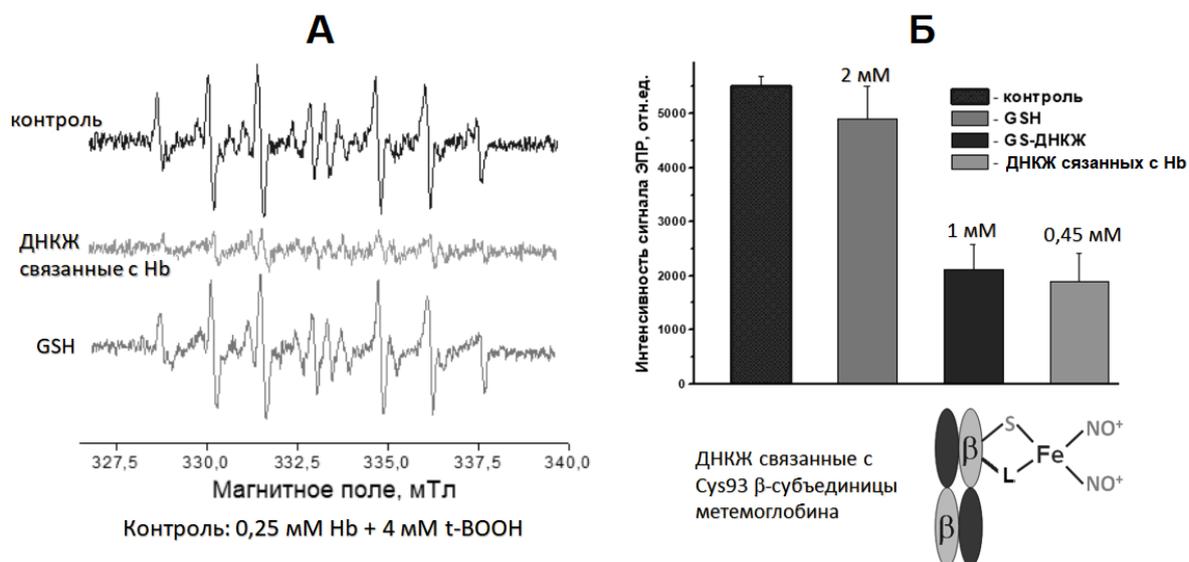


Рисунок 1. А - спектры ЭПР аддуктов ДЕПМПО со свободными радикалами, образующимися в реакционной среде содержащей гидропероксид трет-бутила (t-BOOH) и метгемоглобин (Hb); Б - Изменение уровня этих радикалов в присутствии GSH, а также ДНКЖ связанных с глутатионом (GS-ДНКЖ) или Hb.

Антирадикальный эффект глутатионовых ДНКЖ был дозозависимым и не сводился к действию входящего в их состав тиола. Обнаруженные нами эффекты хорошо согласуются с полученными ранее данными, в том числе с защитным действием глутатионовых ДНКЖ при вызванном хлорноватистой кислотой гемолизе эритроцитов [3]. Также известно, что ДНКЖ, связанные с гемоглобином, предотвращают окислительную модификацию этого белка [6].

Выводы. Мы полагаем, что антиоксидантное действие ДНКЖ как при перекисном окислении ЛНП, так и в системе, содержащей t-BOOH и метгемоглобин обусловлено взаимодействием NO-лигандов этих комплексов со свободными радикалами. В этих реакциях должны формироваться нерадикальные продукты, например нитролипиды.

Список литературы:

1. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания. Новосибирск: АРТА. 2008. 284 с.
2. Ланкин В.З., Коновалова Г.Г., Тихазе А.К., Недосугова Л.В. Влияние глюкозы на свободнорадикальное окисление липопротеинов низкой плотности *in vitro* и *in vivo*. Биомедицинская химия. 2012. 58(3). 339-352.
3. Shumaev K.B., Gorudko I.V., Kosmachevskaya O.V., Grigoryeva D.V., Panasenko O.M., Vanin A.F., Topunov A.F., et al. Protective effect of dinitrosyl iron complexes with glutathione in red blood cell lysis induced by hypochlorous acid. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019. 2019. e2798154.

4. Шумаев К.Б., Петрова Н.Э., Заббарова И.В., Ванин А.Ф., Топунова А.Ф., Ланкин В.З., Рууге Э.К.
Взаимодействие оксоферрилмиоглобина и динитрозильных комплексов железа. Биохимия. 2004. 69(5). 699-705.

5. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Timoshin A.A., Vanin A.F., Topunov A.F. Dinitrosyl iron complexes bound with haemoglobin as markers of oxidative stress. *Methods Enzymol.* 2008. 436. 445–461.

6. Kosmachevskaya O.V., Nasybullina E.I., Shumaev K.B., Novikova N.N., Topunov A.F. Protective Effect of Dinitrosyl Iron Complexes Bound with Hemoglobin on Oxidative Modification by Peroxynitrite. *Int. J. Mol. Sci.* 2021. 22. 13649.

БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА ЗАБОЛЕВАНИЙ В КЛИНИЧЕСКИХ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

НЕДОСТАТОК ВИТАМИНА Д ПРИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОМ ПАРОКСИЗМАЛЬНОМ ПОЗИЦИОННОМ ГОЛОВОКРУЖЕНИИ: РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

А.С. Беденко

ФГАОУ ВО ПМГМУ им. И.М.Сеченова (Сеченовский университет),
г.Москва, Российская Федерация

Актуальность. Дефицит и недостаточность витамина Д широко распространены в популяции (недостаточностью являются значения от 20 до 30 нг/мл, менее 20 нг/мл – дефицит). Недостаток этого фактора достоверно оказывает влияние на кальциево-фосфорный обмен, однако у него есть и другие, неклассические эффекты. Доброкачественное пароксизмальное позиционное головокружение (ДППГ) – одна из самых распространенных причин головокружения. В нашем исследовании мы хотели оценить уровни 25-ОН-витамина Д среди пациентов с ДППГ на территории средней полосы России, с учетом потенциального опосредованного влияния недостатка 25-ОН-витамина Д на состояние отоконияльного аппарата (вследствие наличия гидроксипатитов кальция в его составе).

Цель. Уточнить наличие недостаточности/дефицита витамина Д среди пациентов с доброкачественным пароксизмальным позиционным головокружением (ДППГ)

Материалы и методы. В исследование включены 53 пациента с ДППГ в возрасте от 27 до 80 лет. Всем пациентам проведено нейровестибулярное обследование (включало пробу Хальмаги, тест Фукуда, позиционные пробы Дикса-Холпайка и Маклюра-Пагини, тест с интенсивным встряхиванием головы) Группу контроля составили 25 здоровых добровольцев от 29 до 80 лет. Анализ плазмы крови на 25-ОН-витамин Д проводился методом иммуноферментного анализа (ИФА). Статистическая обработка проводилась с помощью программы Statistica. Для сравнения использовался непараметрический U-критерий Манна-Уитни.

Результаты. Уровень 25-ОН-витамина Д в основной группе варьировал от 5,2 до 42 нг/мл, среднее значение – $19,5 \pm 9,07$, что соответствует дефициту, медиана – 17, верхний и нижний квартили

составляют 24,8 и 13. Группу контроля составили 25 здоровых добровольцев возрастом от 29 до 80 лет. Уровень 25-ОН-витамина Д в группе контроля варьировал от 13,1 до 50,31, среднее значение составило $27,15 \pm 10,12$ (Ме 24,5 [20,38; 32,58]). Сравнение с основной группой проводилось с помощью U-критерия Манна-Уитни. В группе с ДППГ уровень 25-ОН-витамина Д оказался достоверно статистически более значимым ($p = 0,00124$).

Выводы.

1. Дефицит витамина Д является распространенным нарушением метаболизма среди пациентов с ДППГ
2. Уровни витамина Д статистически значимы ниже среди пациентов с ДППГ по сравнению с группой контроля.
3. Целесообразно скрининговое исследование 25-ОН-витамина Д среди всех пациентов с подтвержденным ДППГ.

Список литературы:

1. Mpranzou G., Aït Ben Haddou E., Regragui W., Benomar A., Yahyaoui M. Vitamin D deficiency and its role in neurological conditions: A review. *Rev Neurol (Paris)*. 2016; 172(2):109-22. doi: 10.1016/j.neurol.2015.11.005. Epub 2016 Feb 8. PMID: 26867662.
2. Bedenko A.S., Antonenko L.M., Barinov A.N. Metabolic Disorders in the Pathogenesis of Various Causes of Dizziness and Instability. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2020;75(6):605–608. (In Russ) <https://doi.org/10.17749/2077-8333/epi.par.con.2021.094>doi: <https://doi.org/10.15690/vramn1244>
3. Pigarova E.A., Rozhinskaya L.Y., Belaya J.E., Dzeranova L.K., Karonova T.L., Ilyin A.V., Melnichenko G.A., Dedov I.I. Russian Association of Endocrinologists recommendations for diagnosis, treatment and prevention of vitamin D deficiency in adults. *Problems of Endocrinology*. 2016;62(4):60-84. (In Russ.) <https://doi.org/10.14341/probl201662460-84>
4. Yang B., Lu Y., Xing D., Zhong W., Tang Q., Liu J., Yang X. Association between serum vitamin D levels and benign paroxysmal positional vertigo: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2020 Jan; 277(1):169-177. doi: 10.1007/s00405-019-05694-0. Epub 2019 Oct 19. PMID: 31630244.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА СЛЮНЫ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Л.В. Бельская, Е.А. Сарф

ФГБОУ ВО ОмГПУ, г.Омск, Российская Федерация

Актуальность. В последнее десятилетие возрос интерес к использованию слюны в качестве дополнительного теста, который улучшает традиционные подходы к медицинской оценке серьезных системных заболеваний, в том числе для выявления и скрининга рака молочной железы (РМЖ) [1]. Достаточно широко исследуется динамика отдельных компонентов слюны при РМЖ (микроэлементы, аминокислоты, жирные кислоты, цитокины и т.д.) [2, 3]. Однако, комплексный подход к исследованию слюны для использования ее при диагностике РМЖ до настоящего времени не реализован.

Цель. Изучить метаболические особенности слюны при РМЖ и оценить перспективы ее использования для диагностики.

Материалы и методы. В исследование включены 487 пациентов Клинического онкологического диспансера г. Омска с гистологически подтвержденным диагнозом РМЖ и 298 добровольцев, у которых при плановой диспансеризации не было выявлено патологий молочных желез. У всех пациентов до начала лечения собирали образцы слюны (5 мл), после чего определяли 34 биохимических показателя. В таблице приведены только показатели, для которых различия в значениях между группами статистически значимы. Для построения деревьев классификации использовался метод исчерпывающего поиска одномерных ветвей CART (Classification and Regression Tree) (Statistica 10.0, StatSoft). На диаграммах ID – это номер вершины, N – количество объектов, направленных вдоль этой ветви, условия ветвления указаны возле каждой вершины, а диаграмма внутри каждой вершины показывает результат классификации: если все наблюдения классифицированы правильно, тогда столбец, соответствующий предсказанному классу, будет высоким, а остальные – маленькими.

Результаты. На фоне РМЖ наблюдается изменение метаболического профиля слюны (табл.1). Снижается содержание общего белка в слюне (-40,7%) при одновременном росте уровня α -аминокислот (+4,2%). Растет активность метаболических ферментов ЛДГ (+31,7%), ЩФ (+19,7%), ГГТ (+13,7%) и α -амилазы (+65,5%). Возрастает содержание токсичных продуктов липопероксидации МДА (+9,1%) на фоне уменьшения активности каталазы (-17,5%) и снижения содержания мочевой кислоты (-20,5%).

Использование перечисленных биохимических индикаторов для построения классификатора методом Random Forest позволяет получить значения чувствительности 84,53%, специфичности 75,00%. При оценке

качества классификации по метрике AUC-ROC показано, что площадь под кривой составила 0,9091.

Таблица 1. Биохимический состав слюны больных РМЖ и здорового контроля

Показатель	РМЖ, n=487	Контроль, n=298	p-value
Общий белок, г/л	0.64 [0.37; 1.09]	1.08 [0.65; 1.70]	0.0000
Мочевина, ммоль/л	9.63 [6.25; 13.38]	6.66 [4.36; 9.13]	0.0000
Мочевая кислота, мкмоль/л	65.4 [24.1; 136.1]	85.9 [34.4; 144.5]	0.0119
α -аминокислоты, ммоль/л	4.23 [3.89; 4.76]	4.06 [3.83; 4.32]	0.0000
NO, мкмоль/л	29.1 [17.4; 44.6]	22.8 [13.2; 36.8]	0.0001
Щелочная фосфатаза, Е/л	72.8 [47.8; 106.5]	60.8 [41.3; 84.7]	0.0002
Лактатдегидрогеназа, Е/л	1451.0 [861.6; 2093.0]	1101.5 [635.7; 1908.0]	0.0002
Каталаза, нкат/мл	3.78 [2.53; 5.99]	4.58 [3.32; 5.79]	0.0052
МДА, мкмоль/л	7.09 [5.81; 8.97]	6.50 [5.73; 7.95]	0.0006
Гамма глутамилтрансфераза, Е/л	23.2 [20.0; 26.5]	20.4 [17.4; 24.4]	0.0000
Супероксиддисмутаза, у.е.	73.7 [34.2; 142.1]	57.9 [31.6; 113.2]	0.0247
α -амилаза, Е/л	306.5 [122.6; 605.3]	185.2 [83.5; 384.4]	0.0002

Нами показана принципиальная возможность построения диагностической схемы на основе дерева решений с использованием девяти биохимических показателей слюны (рис.1). Деревья классификации построены с учетом деления на 2 группы (РМЖ/Контроль). Показано, что чувствительность достигает 91,72%, тогда как специфичность только 60,40%.

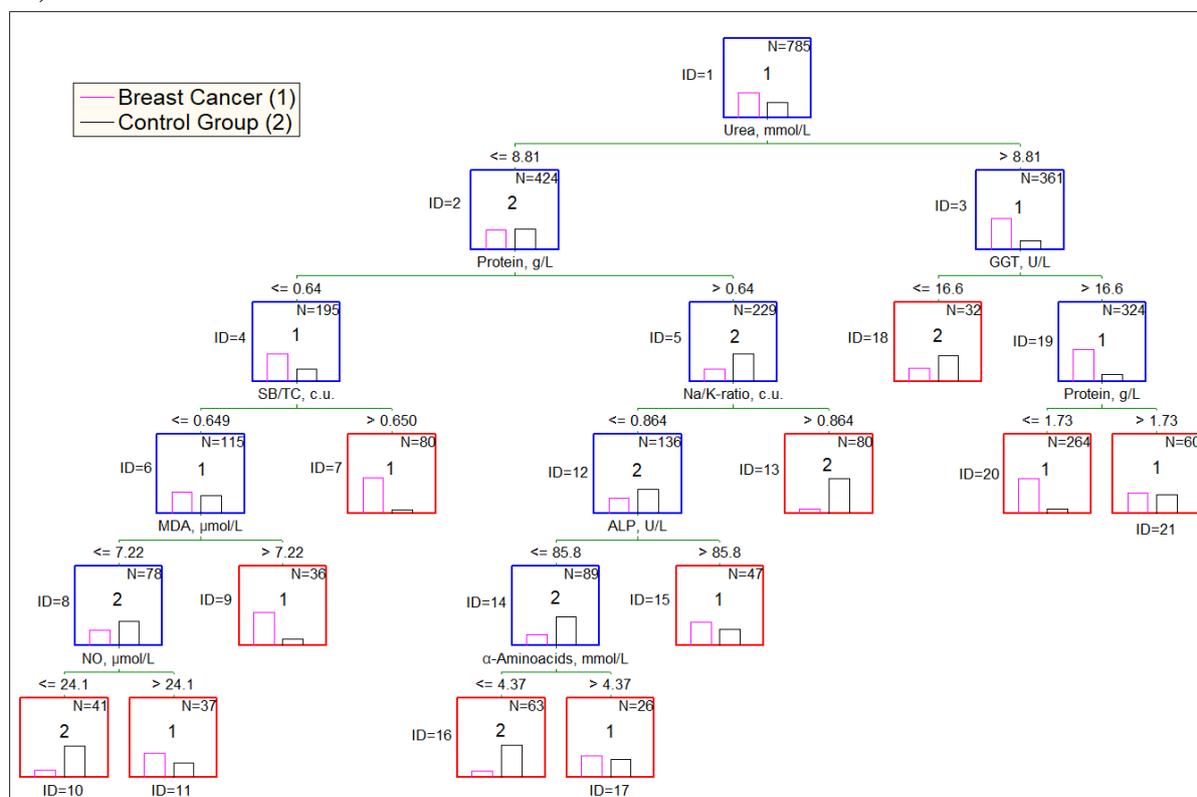


Рис.1. Дерево решений. ALP – щелочная фосфатаза, MDA – малоновый диальдегид, GGT – гамма глутамилтрансфераза, SB – основания Шиффа TC – триеновые конъюгаты.

Выводы. Показано, что на фоне РМЖ в слюне наблюдаются метаболические изменения, что позволяет использовать ее для диагностики с приемлемой чувствительностью.

Список литературы:

1. Porto-Mascarenhas E.C., Assad D.X., Chardin H., Gozal D., Canto G.D.L., Acevedo A.C., Guerra E.N. Salivary biomarkers in the diagnosis of breast cancer: a review. *Critical Reviews in Oncology. Hematology.* 2017. 110. 62–73.

2. Bel'skaya L.V., Sarf E.A., Kosenok V.K. Indicators of L-arginine metabolism in saliva: A focus on breast cancer. *Journal of Oral Biosciences.* 2021. 63(1). 52-57.

3. Bel'skaya L.V., Sarf E.A., Shalygin S.P., Postnova T.V., Kosenok V.K. Potential Diagnostic Significance of Salivary Copper Determination in Breast Cancer Patients: A Pilot Study. *Biol Trace Elem Res.* 2021.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КОНЬЮГАТОВ НАНОАЛМАЗОВ С ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМИ ПРЕПАРАТАМИ (ДОКСОРУБИЦИН, ДИОКСАДЭТ)

Г.М. Бердичевский

ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Минздрава России,
г.Санкт-Петербург, Российская Федерация

Актуальность. Детонационные наноалмазы (ДНА) на сегодняшний день являются одним из наиболее перспективных материалов для адресной доставки лекарственных веществ, в том числе противоопухолевых препаратов [1].

Эта функция ДНА обусловлена их уникальными свойствами, а именно: высокой устойчивостью к химической и физической деградации, фотостабильностью, биосовместимостью и способностью проникать через клеточные мембраны [3].

Известно, что препарат антрациклинового ряда доксорубицин (Докс) наряду с его большой фармакологической значимостью обладает выраженной кардиотоксичностью и способствует развитию химиорезистентности [4].

Развитие химиорезистентности обуславливает необходимость поиска новых химических веществ с цитостатическими свойствами. Одним из таких препаратов является диоксадэт (Диокс) ([5 - [[4,6-бис (азиридин-1-ил) -1,3,5-триазин-2-ил]-амино]-2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил]-метанол), синтезированный в лаборатории химиопрофилактики рака и онкофармакологии НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова в 1996 году. Диокс представляет собой производное симметричного триазина, относится к

группе алкилирующих соединений – этилениминов и является перспективным цитостатиком при лечении ряда онкологических заболеваний [2]. Существенным побочным эффектом применения Диокс в терапевтическом режиме является миелосупрессия [2].

Включение противоопухолевых агентов в состав наносистем доставки является альтернативной стратегией, направленной на снижение побочных эффектов действующего вещества.

Цель. Целью данной работы явилось изучение цитотоксических свойств конъюгатов наноалмазов с доксорубицином и диоксадэтом, обладающими различным механизмом противоопухолевого действия.

Материалы и методы.

ДНА были предоставлены заведующим лабораторией физики кластерных структур Физико-технического института им. А. Ф. Иоффе РАН Вулем А.Я., г. Санкт-Петербург. Синтез конъюгатов ДНА с цитостатическими препаратами Докс и Диокс проводился в Институте химии Санкт-Петербургского государственного университета.

Содержание Докс в составе конъюгата составило 84 %, содержание Диокс составило 68 %, что соответствует терапевтически значимым концентрациям.

Модельными системами были выбраны клеточные линии аденокарциномы поджелудочной железы PANC-1, глиобластомы T98G и карциномы шейки матки HeLa. Культуры клеток получены из коллекции клеточных культур Института цитологии РАН, Санкт-Петербург.

Методы оценки жизнеспособности клеток основаны на различных биохимических внутриклеточных процессах. Одним из таких методов является МТТ-тест. Принцип данного теста основан на том, что митохондриальные дегидрогеназы способны преобразовывать водорастворимый синий 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромид в нерастворимый формазан фиолетового цвета с максимумом поглощения на длине волны 540 нм, который кристаллизуется в цитоплазме клетки. С помощью органических растворителей формазан переводится в растворенное состояние. По изменению оптической плотности раствора можно судить о количестве живых клеток.

Клетки культивировали в CO₂-инкубаторе при +37°C в увлажнённой атмосфере, содержащей воздух и 5% CO₂ в питательной среде DMEM, содержащей 10% термически инактивированную фетальную бычью сыворотку, 1% L-глутамин, 50 Ед·мл⁻¹ пенициллина и 50 мкг·мл⁻¹ стрептомицина.

Для проведения эксперимента клетки высевали в 96-луночный планшет и помещали в течение ночи в CO₂-инкубатор: за это время происходило прикрепление клеток к поверхности лунок (в каждую лунку вносили 104 клеток в 200 мкл среды DMEM). Подсчёт числа клеток проводили на анализаторе жизнеспособности клеток BioRad TC10 (Bio-Rad

Laboratories, США), после чего в лунки добавляли раствор, содержащий нанодиамазы и конъюгаты с цитостатиками в диапазоне концентраций 30-0,47 мкг/л. Инкубация клеток в планшетах продолжалась 48 ч в CO₂-инкубаторе при +37°C. По окончании инкубационного периода культуральную среду DMEM сливали путём инвертирования планшета. Далее в лунки вносили 100 мкл среды DMEM и 20 мкл МТТ-реагента и планшеты с клетками инкубировали в течение 1 ч в CO₂-инкубаторе при +37°C. После удаления надосадочной жидкости полученные кристаллы формазана были растворены в течение 15 мин при перемешивании в 200 мкл диметилсульфоксида на лунку и затем измеряли оптическую плотность на планшетном спектрофотометре BioRadxMarx (Bio-Rad Laboratories, США) на длинах волн 540 нм и 690 нм. Для коррекции фона из значений оптической плотности при 540 нм вычитали значения оптической плотности при 690 нм для соответствующих лунок. Данные были нормированы в процентах по отношению к контрольным клеткам.

Результаты. На основе анализа концентрационных зависимостей (доза-эффект), были рассчитаны значения IC₅₀ (концентрация полумаксимального ингибирования) для всех веществ (табл. I).

Таблица 1. Цитотоксический эффект нанодиамазов, конъюгатов нанодиамазов с доксорубицином и диоксадэтом и свободных доксорубицина и диоксадэта в пересчете на содержание нанодиамазов, г/л (в скобках приведены значения в пересчете на концентрации цитостатиков, мкМ)

Вещество	IC ₅₀		
	Panc-1	T98G	HeLa
Нанодиамаз	-	-	-
Конъюгат нанодиамаз-доксорубцин	0,024±0,004 г/л (236 мкМ)	0,018±0,004 г/л (177 мкМ)	0,040±0,01 г/л (394 мкМ)
Конъюгат нанодиамаз-диоксадэт	0,053±0,009 г/л (352 мкМ)	0,007±0,003 г/л (46,5 мкМ)	0,075±0,018 г/л (505 мкМ)
Доксорубцин	0,3±0,1 мкМ	2,0±0,4 мкМ	2,3±0,5 мкМ
Диоксадэт	33,3±5,2 мкМ	44,9±6,1 мкМ	4,95±1 мкМ

Как видно из представленных данных, определить IC-50 для ДНА оказалось невозможным по причине отсутствия у них цитотоксичности в исследуемом диапазоне концентраций. IC-50 доксорубицина и диоксадэта существенно превышает IC-50 данных цитостатиков в составе конъюгата с ДНА для всех клеточных линий.

Выводы. Использование ДНА в качестве транспортной платформы для доставки противоопухолевых агентов позволит снизить дозу и токсичность цитостатиков.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-315-90116

Список литературы:

1. Направленный транспорт лекарственных средств: от идеи до внедрения: учебно-методическое пособие / И. И. Кулакова [и др.]; ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. – Рязань: ОТС и ОП, 2018. –104 с.
2. Beshpalov V.G., Beliaeva O.A., Kireeva G.S., Senchik K.I., Stukov A.N., Aristova V.A., Vyshinskaia E.A., Kon'kov S.A., Krylova I.A., Semënov A.L., Maïdin M.A., Aleksandrov V.A., Beliaev A.M. Experimental study of antitumour activity and effects on leukocyte count of intraperitoneal administration and hyperthermic intraperitoneal chemoperfusion (HIPEC) with dioxadet in a rat model of ovarian cancer. *J. Chemother.* 2016. 28(3). 203–209.
3. Bondon N., Raehm L., Charnay C., Boukherroub R. Nanodiamonds for bioapplications, recent developments. *Royal Society of Chemistry.* 2020. 8 (48). 10878-10896.
4. Yuan S.J., Xu Y.H., Wang C., An H.C., Xu H.Z. Doxorubicin-polyglycerol-nanodiamond conjugate is a cytostatic agent that evades chemoresistance and reverses cancer-induced immunosuppression in triple-negative breast cancer. *J Nanobiotechnology.* 2019. 17(1). 1-25.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТКАНЯХ ПОЛОСТИ РТА У БОЛЬНЫХ С ТЕРМИНАЛЬНОЙ СТАДИЕЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Т.П. Вавилова, А.В. Минаев, И.Г. Островская, Г.И. Алекберова

ФГБУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова», г.Москва, Российская Федерация

Актуальность. Ежегодно возрастает количество больных, страдающих терминальной стадией хронической почечной недостаточности (тХПН) [2].

Наличие хронической инфекции в полости рта ухудшает развитие основного заболевания у пациентов с тХПН. Несвоевременное проведение комплекса лечебно-профилактических мероприятий по оздоровлению полости рта может служить причиной сепсиса, инфекционного эндокардита, а также является следствием отторжения трансплантата, отягощающих лечение тХПН [3].

Многочисленные исследования последних лет показали, что заболевания полости рта у больных с тХПН наблюдаются по причине несоблюдения гигиены полости рта, аутоинтоксикации, развивающейся при выраженной почечной недостаточности азотемии, расстройства водно-солевого, кислотно-щелочного и осмотического гомеостаза,

сопровождающиеся обменными и гормональными нарушениями дисфункцией всех органов и систем организма [1, 3, 4, 5].

Показано, что у лиц с тХПН среди заболеваний полости рта преобладают кариозные и некариозные поражения, а также воспалительные заболевания тканей пародонта [4]. Тем не менее, на сегодняшний день, имеется небольшое количество работ о биохимических аспектах заболеваний полости рта у вышеупомянутой группы пациентов.

Цель исследования. Изучить биохимические изменения в ротовой полости у больных с хронической почечной недостаточностью в терминальной стадии.

Материалы и методы. Осмотрено 50 больных с диагнозом тХПН, которые получали амбулаторный гемодиализ три раза в неделю. Средний возраст обследованных пациентов составил 49 ± 13 лет. Более половины обследованных составили женщины – 35 человек, а также 15 мужчин. В контрольную группу включили 15 человек с санированной полостью рта, без соматических заболеваний. Используя индекс КПУ проводили индексную оценку поражений твердых тканей зубов кариозным процессом, а состояние тканей пародонта оценивали с помощью пародонтального индекса (КПИ) и упрощенного индекса гигиены полости рта (ОHI-S) по Грин-Вермиллиону. Проводили сбор нестимулированной смешанной слюны, определяли скорость слюноотделения и pH слюны, в супернатанте определяли активность трансаминаз: аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ). Также методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой в слюне смотрели концентрацию общего кальция и неорганического фосфора в ммоль/л. Результаты полученных данных обработали статистически с помощью программы Statistica 10.0.

Результаты и выводы. При проведении осмотра полости рта у 85% пациентов с тХПН выявлена неудовлетворительная гигиена полости рта, что явилось причиной образования твердых зубных отложений (индекс ОHI-S = $4,3 \pm 0,05$; в контрольной группе $1,98 \pm 0,07$). У пациентов с тХПН диагностированы воспалительные изменения в тканях пародонта: легкая степень тяжести пародонтита (КПИ = $2,3 \pm 0,02$) выявлена у 14% обследованных, средняя (КПИ = $3,2 \pm 0,03$) – у 55% лиц, тяжелая (КПИ = $4,2 \pm 0,07$) – у 31% пациентов. В группе контроля распространенность заболеваний тканей пародонта была следующая: у 46% лиц обнаружена легкая степень тяжести, средняя – у 42% больных, а тяжелая степень у 12% пациентов. У более половины осмотренных лиц (56%) выявлено большое количество некариозных поражений (преимущественно клиновидные дефекты), а также у всех пациентов с тХПН имелась повышенная стираемость всех групп зубов. При подсчете индекса КПУ у обследованных пациентов, выяснилось, что он в два раза был выше значений в контрольной группе и составил $13,5 \pm 3,3$. У пациентов с тХПН выявлена гипосаливация, явившаяся причиной ксеростомии (скорость

слюноотделения составила $0,1 \pm 0,008$ мл/мин и была значительно ниже показателей в контрольной группе $0,43 \pm 0,002$ мл/мин). По результатам исследования слюны пациентов с тХПН, установлено смещение рН в щелочную сторону, что составило в среднем $7,68 \pm 0,07$. Причиной этому явилось изменения фосфатной буферной системы, и выведение слюнными железами помимо креатинина и мочевины фосфатов. Немаловажную роль также сыграло возрастание концентрации аммиака, который высвобождается уреолитическими бактериями в реакции гидролиза мочевины в полости рта. В формировании твердых зубных отложений значительную роль играют повышение скорости реакции трансаминирования аминокислот, в связи с этим, выявлено повышение активности аминотрансфераз в смешанной слюне. Активность АСТ составила в среднем $50,0 \pm 22,1$ ЕД/л, а АЛТ $35,7 \pm 18,1$ ЕД/л, что привело к росту количества кетокилот, связывающих кальций, формируя при этом центры инициации и минерализации мягкого зубного налета. Установлено снижение концентрации кальция в смешанной слюне у пациентов с тХПН ($0,27 \pm 0,03$, $p < 0,001$) и повышение содержания фосфатов ($5,35 \pm 0,70$, $p > 0,05$). Подщелачивание слюны привело к образованию плохо растворимого фосфата кальция, который осаждался в виде зубного камня, нарушая мицеллярное строение слюны.

Вывод. Таким образом, у пациентов с терминальной стадией хронической почечной недостаточности выявлены нарушения в деятельности слюнных желёз, по причине изменения количества и состава смешанной слюны, нарушения фосфорно-кальциевого обмена, активации транспорта фосфатов в полость рта слюнными железами, изменении в строении мицеллы слюны, приводящих к возникновению кариозных и некариозных поражений твердых тканей зубов, а также воспалительных заболеваний тканей пародонта. В связи с вышеизложенным необходимо своевременное проведение диагностических мероприятий и комплексное стоматологическое лечение данной группы пациентов.

Список литературы:

1. Алекберова Г.И., Минаев А.В., Ямалетдинова Г.Ф. Оценка показателей смешанной слюны в различных возрастных группах. В книге: Актуальные проблемы биомедицины - 2021. Материалы XXVII Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием. Санкт-Петербург, 2021. С. 203-204.

2. Вавилова Т. П., Афанасьев В. В., Осокин М. В. и др. Показатели смешанной слюны и состояние тканей полости рта у больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности, получающих программный гемодиализ //Российский стоматологический журнал. 2007. №1. С. 8–10.

3. Вавилова Т.П., Янушевич О.О., Островская И.Г. Слюна. Аналитические возможности и перспективы. – М. : БИНОМ, 2014. – 312 с.

4. Митронин А.В., Алекберова Г.И., Вавилова Т.П. Исследование факторов, влияющих на развитие некариозных поражений зубов у больных с хронической почечной недостаточностью // Ж.Эндодонтия today.- 2016.- №16.-с. 3-6

5. Орехов Д.Ю., Вавилова Т.П., Пушкина А.В., Базикян Э.А. Особенности состояния тканей полости рта у пациентов, получающих гемодиализ. // Ж. Cathedra. - 2008.- Т.7.-№.3.- с. 208

ВЛИЯНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ НА ОСТЕОИНТЕГРАЦИЮ ДЕНТАЛЬНЫХ ИМПЛАНТАТОВ У СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ

А.В. Гуськов, А.А. Никифоров, Г.А. Гуськов

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Остеоинтеграция дентальных имплантатов и морфологическое состояние тканей, окружающих их, представляются сложным комплексом адаптационных реакций организма и его физиологического ответа на вживляемые структуры. Многие системные биохимические, гистологические и патофизиологические реакции, которые приводят к воспалительным осложнениям при первичной остеинтеграции, резорбции костной ткани вокруг имплантата после его нагрузки в настоящее время находятся в стадии активного изучения. Следовательно, диагностика процесса остеинтеграции может включать комплекс биохимических, морфологических, микроскопических исследований. К одному из показателей, влияющему на процесс остеинтеграции и состояние минерализации и деминерализации относят С-реактивный белок (СРБ). Данный белок относится к классическому белку острой фазы воспаления, который выделяется как наиболее чувствительный маркер воспаления и тканевого повреждения [3]. По своей структуре СРБ представлен пятью полипептидными единицами, которые образуют дискообразную пентамерную структуру. СРБ синтезируется гепатоцитами печени и его активность регулируется провоспалительными цитокинами [1]. Как маркер воспалительных осложнений СРБ может применяться в случае ответной реакции организма на внедрение имплантата в костные ткани челюсти, это обусловлено тем, что уровень данного белка резко возрастает при травматическом воспалительном повреждении или инфекционном процессе [4].

Цель. Оценить риск воспалительных осложнений у пациентов на этапе остеинтеграции дентальных имплантатов исходя из корреляции уровня С-реактивного белка с рентгенологической картиной периимплантатной зоны.

Материалы и методы. На кафедре ортопедической стоматологии и ортодонтии и ЦНИЛ РязГМУ проводились клинические наблюдения за 30 пациентами спустя 6 месяцев после установки дентальных имплантатов. У всех пациентов на момент исследования имплантаты находились под нагрузкой ортопедическими конструкциями различной протяженности. Для исследования у пациентов бралась кровь из вены для дальнейшего определения уровня С-реактивного белка. Также проводилось КТ-исследование челюстей пациентов с выделением области дентальной имплантации с оценкой плотности костной ткани в области имплантата для оценки динамики ремоделирования костной ткани [5]. Оценка области установки дентального имплантата проводилась по объективным критериям состояния костной ткани и ее плотности, выражаемой в единицах Хаунсфилда (НУ) [2].

Результаты.

Таблица 1. Сводная таблица показателей уровня СРБ и единиц плотности костной ткани у исследуемых пациентов.

	Уровень СРБ мг/л	Плотность костной ткани (НУ)
	1,41	615
	11,19	242
	0,33	715
	1,71	689
	2,64	656
	0,21	798
	1,21	725
	0,27	804
	1,5	748
		632
0	2,12	
		845
1	1,69	
		852
2	0,96	
		869
3	1,35	
		874
4	0,74	
		321
5	5,63	
		458
6	4,14	

7	1,35	756
8	3,93	504
9	2,17	721
0	10,74	236
1	2,75	756
2	2,37	748
3	2,95	798
4	1,33	803
5	0,61	854
6	2,32	726
7	1,67	756
8	1,85	645
9	10,35	221
0	5,23	204

Выводы. Исходя из полученных результатов было установлено, что уровень С-реактивного белка имеет корреляционную связь с показателями плотности костной ткани в области имплантата. Кроме этого, у исследуемых пациентов с повышенным показателем СРБ по клиническим критериям объективно оценивалась воспалительная реакция в области установленных имплантатов, также об этом свидетельствовали рентгенологические показатели, выражающиеся в резорбции костной ткани в области имплантата. Таким образом, выявление отклонений в значениях СРБ может указывать на воспалительно-деструктивные процессы в периимплантатной зоне.

Список литературы:

1. Вельков В.В. Комплексная лабораторная диагностика системных инфекций и сепсиса: С-реактивный белок, прокальцитонин, пресепсин. М. – ДИАКОН. 2015. 117 с.

2. Винниченко О.Ю. Методы оценки плотности костной ткани альвеолярного отростка челюстей и ее значение для увеличения срока функционирования протезной конструкции. Стоматология. 2016. 95(4). 83–86.

3. Глуштенко В.П., Байриков И.М., Трунин Д.А., Гусякова О.А., Комлев С.С. Влияние технологии протезирования зубов на динамику ранних предикторов воспалительно-деструктивного процесса в периимплантатной зоне. ВестникРГМУ. 2019. (2). 44–7.

4. Casado P.L., Aguiar D.P., Costa L.C. Different contribution of BRINP3 gene in chronic periodontitis and periimplantitis: a cross-sectional study. BMC Oral. Health. 2015. (15):33. 1-10.

5. Kang D.Y., Kim M., Lee S.J., et al. Early implant failure: a retrospective analysis of contributing factors. J Periodontal Implant Sci. 2019. 49(5). 287-298.

ОСОБЕННОСТИ СОРБЦИИ ПИРУВАТА НА ПРЕПАРАТЕ ГИДРОЛИЗНОГО ЛИГНИНА В НОРМЕ И ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Н.Л. Зобнина, П.И. Цапок

ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России, г. Киров, Российская
Федерация

Актуальность. Современный уровень развития медицины диагностировать многие патологии в развитии на начальном этапе. Современные медицинские технологии позволяют выявить отклонения в развитии не только на уровне клеток, но и генов. В то же время такие патологии, как атеросклероз, сахарный диабет прочно входят в первую десятку причин летального исхода по всему миру.

Проблема роста заболеваемости сахарным диабетом в настоящее время является одной из актуальных мире. Статистические данные последних лет свидетельствуют о том, что число пациентов с этим диагнозом неуклонно растет и эта патология охватывает категорию населения работоспособного возраста.

В 90% выявленных случаев диабет имеет инсулиннезависимый характер, т.е. относится к диабету 2 типа по классификации ВОЗ [3]. Причины развития данной патологии носят как генетический, так и приобретенный характер (рис.1), которые прочно взаимосвязаны между собой.



Рисунок 1. Взаимоотношение наследственных и факторов внешней среды в прогрессировании нарушений углеводного обмена при сахарном диабете 2 типа [1,4]

Тактика лечения диабета 2 типа заключается в восстановлении резистентности к глюкозе инсулинчувствительных тканей и контроле гликемии медикаментозными и немедикаментозными методами [2,3]. Существенным препятствием при этом является развитие патологий органов и тканей, связанных с эффектом глюкозотоксичности как следствия нарастания глюконеогенеза внутри клеток печени. Используемые методы терапии часто оказывают только внешний эффект, не влияя на процессы, происходящие внутри.

Последствия глюкозотоксичности являются основной причиной инвалидизации и летального исхода среди больных сахарным диабетом. Результаты по снижению этого показателя во всех странах мира все еще остаются неудовлетворительными.

Ситуацию усугубляет и тот факт, что в условиях распространения новой коронавирусной инфекции диагноз «сахарный диабет» является одним из отягчающих факторов протекания заболевания.

Целью исследования ставилось исследование адсорбции ключевого субстрата глюконеогенеза – пировиноградной кислоты на препарате на основе гидролизного лигнина – продукта гидролизной переработки древесины. Данный материал относится к гипоаллергенным и нетоксичным

и способен адсорбировать вещества органической и неорганической природы.

Материалы и методы. На основе 0,2М растворов дигидрофосфата и гидрофосфата натрия был приготовлен фосфатный буферный раствор с рН 7,36 как модель плазмы крови. Расчёт количества компонентов, необходимых для приготовления раствора, производился на основании уравнения Гендерсона-Гессельбаха. Величина рН приготовленных растворов определялась с помощью прибора «рН-метр-иономер – 001-03».

На основе приготовленного буферного раствора были приготовлены растворы пирувата натрия с концентрациями от 0,01 до 0,04 моль/л для имитации повышения концентрации соединения при развитии сахарного диабета. Масса твердого вещества отмерялась на аналитических весах с точностью до 4 знака после запятой.

В качестве сорбента использовался отечественный препарат на основе гидролизного лигнина «Сорбикум». Адсорбент помещался в буферный раствор на 1 час.

Количество пировиноградной кислоты в растворе определялось по методу Умбрайта по реакции с 2,4-дифенилгидразином в растворе соляной кислоты. На основании изменения величины оптической плотности оценивалось изменение концентрации пировиноградной кислоты в растворе, исходя из закона Гугера-Ламберта-Бэра.

В дальнейшем был проведен эксперимент по адсорбции пировиноградной кислоты из биологической жидкости (мочи) в группе здоровых лиц и с верифицированным диагнозом «сахарный диабет».

Результаты. Т.к. для сахарного диабета 2 типа практически нехарактерно явление ацидоза [2, 3], поэтому изменение количества пировиноградной кислоты отслеживалось в растворе, соответствующем физиологическому значению рН.

Результаты исследования представлены на рис. 2 и 3 и табл. 1 и 2.

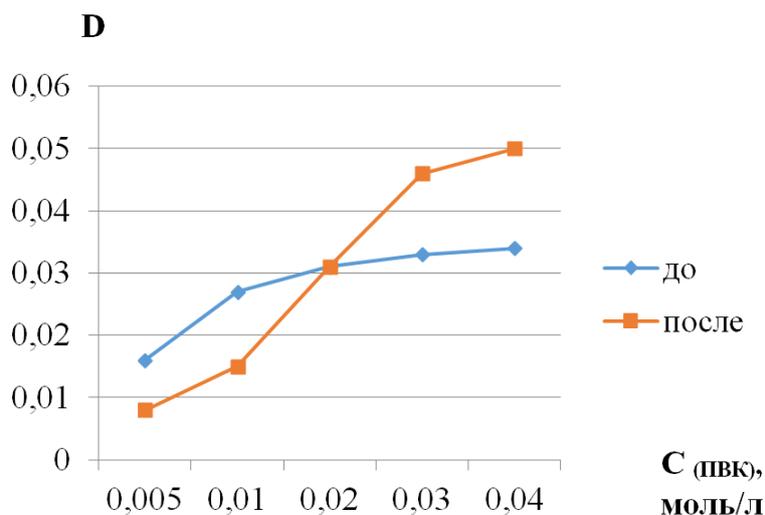


Рисунок 2. Изменение оптической плотности растворов пировиноградной кислоты в буферном растворе рН = 7,36

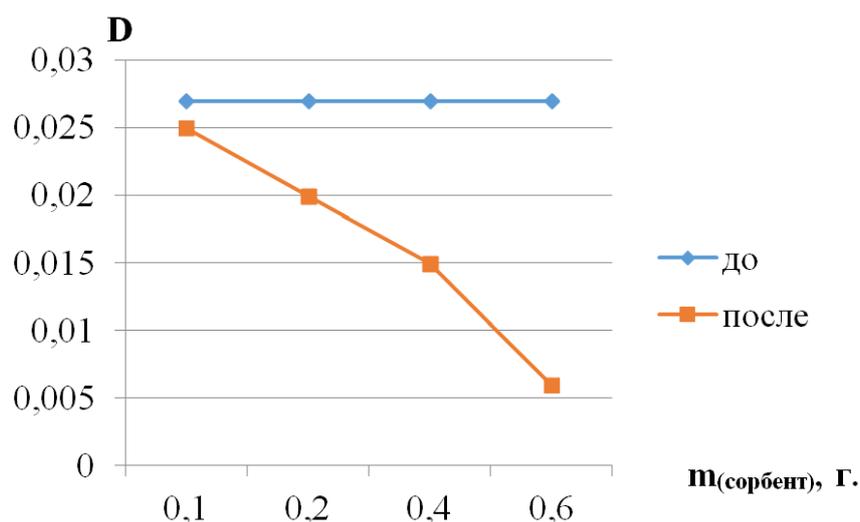


Рисунок 3. Изменение оптической плотности 0,01М раствора пировиноградной кислоты в фосфатном буферном растворе с рН = 7,36

Таблица 1. Значение величин адсорбции (ммоль/г) в группе здоровых лиц

Возраст	Пол	Показатель адсорбции (ммоль/г)
30 – 45	М	0,29
	Ж	0,36
45- 60	М	0,28
	Ж	0,132
61-75	М	0,11
	Ж	0,085

Таблица 2. Значение величин адсорбции (ммоль/г) в группе с верифицированным диагнозом «сахарный диабет»

Возраст	Пол	Показатель адсорбции (ммоль/г)
30 – 45	М.	1,65
	Ж	0,548
45- 60	М	0,242
	Ж	0,207
61-75	М.	0,124
	Ж	0,338

Выводы:

1. В модели, соответствующей физиологическому значению рН крови, происходит адсорбция пировиноградной кислоты (ПВК), как ключевого участника глюконеогенеза. Адсорбционная емкость сохраняется до точки, когда концентрация ПВК становится выше физиологической в 2 раза. Дальнейшее увеличение содержания ПВК в растворе приводит к отрицательному значению адсорбции, что может быть связано с изменением заряда на поверхности сорбента или процессами, характерными для гидролиза гликозидных связей внутри твердого материала. В условиях внутренней среды организма повышение ПВК должно приводить к снижению значения рН среды

2. В группе здоровых и лиц с диагнозом «сахарный диабет» отмечается тенденция к снижению степени адсорбции с увеличением возраста. Данное изменение может быть вызвано не только уменьшением сорбционной активности сорбента по отношению к пирувату, но и возможно с выигрышем в конкуренции за взаимодействие с другими соединениями, присутствующими в моче (в частности, мочевины) и их способностью к химическому связыванию с поверхностью сорбента

3. Наибольшая степень адсорбции в группе здоровых и лиц с диагнозом сахарный диабет наблюдается в возрастной группе 30 – 45 лет.

4. Таким образом, препарат на основе гидролизного лигнина проявляет адсорбционную активность по отношению к пировиноградной кислоте, которая является основным участником глюконеогенеза, как в норме, так и при сахарном диабете. Данный факт открывает новые возможности снижения негативных последствий глюкозотоксичности в терапии диабета, особенно на ранних этапах развития заболевания.

Список литературы:

1. Балаболкин М.И., Клебанова М.Е. Гормоны жировой ткани и их роль в патогенезе сахарного диабета 2-го типа // Лечащий врач 2010, №11, с. 27 – 34.

2. Благосклонная Я.В., Шляхто Е.В., Бабенко А.Ю. Эндокринология: учебник для медицинских ВУЗов. – 3е изд., испр. и доп. – С-Пб, Спецлит 2012. – 421с.

3. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Фадеев В.В. Эндокринология. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 432с.

4. Ткачук В.А., Воротников А.В. Молекулярные механизмы развития резистентности к инсулину. Сахарный диабет, 2014 №2, с 29- 40

СОДЕРЖАНИЕ ВИТАМИНА В12 В СПЕРМОПЛАЗМЕ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ПРОСТАТИТОМ И АСТЕНОЗОСПЕРМИЕЙ

А.Ф. Иштулин¹, Н.В. Короткова¹, Е.Н. Федяева², И.В. Минаев¹,
П.М. Полякова¹

¹ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань; ²ГБУ РО «ГКБ» № 8, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Витамин В12 или цианкобаламин относится к водорастворимым витаминам. Он участвует в метаболизме практически всех клеток человеческого организма и его дефицит приводит к различным патологическим процессам, таких как злокачественная анемия, заболевания центральной нервной системы.

В ранее проведенных исследованиях было установлено, что концентрация витамина В12 в организме мужчин влияет на качество спермы, так как он с кровью переносится в мужские репродуктивные органы и играет существенную роль в сперматогенезе [2, 5]. Было выявлено, что у мужчин с астенозооспермией, олигоастенозооспермией количество витамина В12 в плазме крови снижено, по сравнению с мужчинами, без нарушения репродуктивной функции [3, 4].

Цель. Определить содержание цианкобаламина (витамина В12) в спермоплазме у пациентов с хроническим простатитом и астенозооспермией.

Материалы и методы. Объектом исследования увиделись 20 пациентов с диагнозом хронический простатит и астенозооспермия. Контрольную группу составило аналогичное количество здоровых мужчины сопоставимые по возрасту с исследуемой группой с нормозооспермией. Материалом исследования явилась спермоплазма. Спермоплазму получали путём центрифугирования образца спермы, оставшийся после проведения химико-микроскопического анализа. Образец спермы центрифугировали в течение 10 мин при скорости 1000 об/мин. После отделения осадка спермоплазму хранили при температуре – 20°С до проведения анализа [1]. Определение цианкобаламина (витамина В12) в спермоплазме проводили методом конкурентного ИФА с помощью набора фирмы Cloud-Clone Corp. Конкурентная реакция происходит между цианкобаламином, меченным биотином, немеченным цианкобаламином (в образцах или контроле) и сорбированными антителами специфичными к цианкобаламину. Интенсивность окрашивания обратно пропорциональна концентрации витамина В12 в образце.

Полученные данные статистически обработаны с помощью компьютерной программы Statistics 26.0.

Результаты. При исследовании концентрации витамина В12 у пациентов с хроническим простатитом и астенозооспермией было

установлено снижение концентрации витамина В12 в 3,5 раза, $p < 0,05$ (рис 1). Снижение витамина В12 оказалось статистически значимым по сравнению с пациентами с нормозооспермией, что требует дальнейшего изучения.

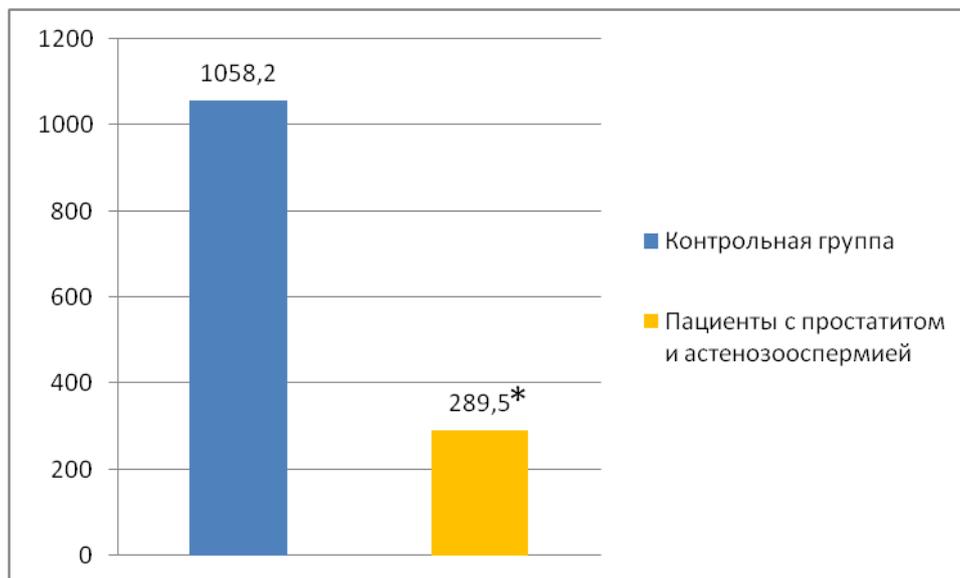


Рисунок 1. Концентрация витамина В12 в спермоплазме у пациентов с хроническим простатитом и астенозооспермией (пг/мл); *–статистически значимые отличия от контрольной группы ($p < 0,05$)

Выводы. Содержание витамина В12 может служить потенциальным диагностическим маркером нарушения репродуктивной функции у мужчин.

Список литературы:

1. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека. Пятое издание. ISBN 978-5-905106-09-05 (Издательство «КАПИТАЛ ПРИНТ»). Москва, 2012. -305 с.
2. Voxmeer J., Smit M., Weber R., et al. Seminal plasma cobalamin significantly correlates with sperm concentration in men undergoing IVF or ICSI procedures. *J. Androl.* 2007; 28(4):521–7. doi:10.2164/jandrol.106.001982
3. Dhillon V., Shahid M., Husain S. Associations of MTHFR DNMT3b 4977 bp deletion in mtDNA and GSTM1 deletion, and aberrant CPG island hypermethylation of GSTM1 in non-obstructive infertility in indian men. *Mol. Hum. Reprod.* 2007;13 (4):213–22. doi:10.1093/molehr/gal118
4. Moriyama H., Nakamura K., Sanda N., et al. Studies on the usefulness of a long-term, high-dose treatment of methylcobalamin in patients with oligozoospermia. *Hinyokika Kyo.* 1987; 33 (1):151–6.
5. Watson A. Seminal vitamin B12 and sterility. *Lancet.* 1962; 2 (7257):644. doi:10.1016/s0140-6736(62)92547-3

ДВЕ ВОЛНЫ АПОПТОЗА ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ АРТЕРИАЛЬНЫХ РЕКОНСТРУКЦИЙ НА МАГИСТРАЛЬНЫХ АРТЕРИЯХ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Р.Е. Калинин¹, И.А. Сучков¹, Э.А. Климентова², Ю.А. Марсянова¹

¹ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация,
²ГБУ РО «Областная клиническая больница», г. Рязань, Российская
Федерация

Актуальность. Согласно последним исследованиям, важную роль в развитии атеросклероза и его осложнений играет система апоптоза. Апоптоз представляет собой запрограммированную клеточную гибель с характерными морфологическими признаками, которая происходит регулярно для обеспечения гомеостаза как в целом в организме, так и в сосудистой стенке в частности. Он может осуществляться двумя разными путями: внешним и внутренним [1]. Внешний (рецепторный) путь характеризуется связыванием лиганда с трансмембранным рецептором, который вступает во взаимодействие с внутриклеточным адаптерным белком, с последующим связыванием и активацией каспаз, опосредующих гибель клеток. И наоборот, внутренний (митохондриальный) путь возникает из-за различных раздражителей в силу отсутствия лиганд-рецепторных взаимодействий. Данный путь опосредован усилением проницаемости митохондриальной мембраны. Его запускают стимулы (поврежденные ДНК, оксидативный стресс, гипоксия, провоспалительные цитокины), приводящие к изменению баланса между проапоптотическими и антиапоптотическими белками семейства Bcl-2. К основным маркерам митохондриального пути относятся белки Bax и Bcl-2. Представителем рецепторного пути апоптоза является растворимая форма Fas (sFas), которая препятствует взаимодействию FasligandacFas рецептором, при этом выступая в качестве ингибитора данного пути [2, 3].

Повреждение артериальной стенки во время операции с последующим ее ремоделированием подразумевает параллельную активацию роста, пролиферации, миграции и гибель клеток при их воздействии на функциональное состояние эндотелия и ремоделировании внеклеточного матрикса [4, 5]. Одним из основных маркеров сосудистой стенки, ответственным за пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток является тромбоцитарный фактор роста PDGFBB [6], дисфункции эндотелия – метаболиты оксида азота (NO) [7].

Исследование посвященных изучению динамики маркеров апоптоза, пролиферации и дисфункции эндотелия в различные сроки послеоперационного периода у пациентов с заболеванием периферических артерий (ЗПА) в базах данных elibrary, pubmed, и др. мы не встретили.

Цель исследования: изучение динамики и взаимосвязи между маркерами апоптоза, пролиферации клеток и дисфункции эндотелия у

пациентов с ЗПА после проведения открытых вмешательств на артериях нижних конечностей.

Материалы и методы. В исследование включено 45 пациентов с ЗПА со IIБ-III стадией заболевания по классификации А.В. Покровского-Фонтейна. Средний возраст в группе А составил 63 [59,5; 69]. Количество мужчин 38 (84%). Всем пациентам было проведено открытое вмешательство на магистральных артериях нижних конечностей. В сыворотке крови были определены методом ИФА показатели апоптоза: Вах, Vcl-2 и пролиферации клеток – PDGFBB, маркер дисфункции эндотелия - NO непосредственно при включении в исследование, в первые часы, 1, 7, 14, 21 сутки и через 1 месяц после операции.

Статистический анализ данных проводился с использованием пакета программ SPSS Statistics 26.0. В связи с отклонением от нормального распределения данных (использовался критерий Колмогорова-Смирнова, $p < 0,05$) для дальнейшего анализа были использованы непараметрические методы. В случае для сравнения связанных выборок использовался многофакторный непараметрический дисперсионный анализа Фридмана для подтверждения оснований принятия гипотезы о наличии различий между всеми временными точками. Post-hoc тестом для парных сравнений выступил критерий Уилкоксона для связанных выборок с поправкой на множественные сравнения по Бонферрони.

Результаты. В первые часы наблюдалось повышение проапоптотического маркера Вах ($p < 0,01$) до пиковых значений, при снижении антиапоптотического маркера Vcl-2 ($p < 0,001$) в сравнении с исходными значениями. В 1-ые сутки на фоне запуска митохондриального пути апоптоза произошло снижения количества маркера дисфункции эндотелия NO ($p < 0,001$) при повышении количества маркера пролиферации клеток сосудистой стенки PDGF BB ($p = 0,03$) по сравнению со значениями в первые часы. Проведенный корреляционный анализ свидетельствует о наличии связи между Vcl-2 и NO ($r = +0,678$, $p < 0,01$). На 7-ые сутки максимальных значений достиг показатель PDGF BB ($p < 0,001$), а количество маркера системы апоптоза Вах снизилось ($p < 0,001$) при повышении маркера Vcl-2 ($p < 0,001$) и постепенном увеличении количества NO ($p < 0,001$). В вышеуказанный период времени выявлена корреляция между PDGF BB и Вах ($r = -0,577$, $p = 0,002$) и Vcl-2 и NO ($r = +0,31$, $p = 0,02$). К концу второй недели наибольших значений достигло количество NO ($p < 0,001$), которое в последующем привело к постепенному снижению значений sFas ($p < 0,001$) по сравнению с их значениями на 7-ые сутки, что подтверждено отрицательным коэффициентом корреляции для sFas и NO ($r = -0,526$, $p = 0,004$). Также с пониженным значением sFas был обратно взаимосвязан в этом период времени показатель PDGF BB ($r = -0,526$, $p < 0,001$). На 21-ые сутки происходит активация второй волны апоптоза, выражающаяся в достоверно значимом снижении маркера sFas ($p = 0,01$) и PDGF BB ($p = 0,01$) по сравнению с их количеством на 14-ые сутки. В этот

период также была обнаружена связь между маркерами PDGF BB и sFas ($r=+0,82$, $p=0,001$). К концу 1-го месяца произошло дальнейшее снижение значений PDGF BB ($p<0,001$), NO ($p<0,001$), на фоне повышения значения sFas ($p<0,001$) по сравнению с 21-ми сутками. В результате, уровень показателей sFas ($p=0,733$), Вах ($p=0,903$), Bcl-2 ($p=0,5$), NO ($p=0,213$), PDGF BB ($p=0,223$) возвращается к исходным значениям.

Выводы. Проведение открытых оперативных вмешательств на магистральных приводит к активации двух волн апоптоза, которые оказывают диаметрально противоположное влияние на ремоделирование сосудистой стенки в послеоперационном периоде.

Список литературы:

1. Paone S., Baxter A.A., Hulett M.D., Poon I.K.H. Endothelial cell apoptosis and the role of endothelial cell-derived extracellular vesicles in the progression of atherosclerosis. *Cell Mol Life Sci.* 2019;76(6):1093-1106.

2. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Климентова Э.А., Егоров А.А. К вопросу о роли апоптоза в развитии атеросклероза и рестеноза зоны реконструкции. *Новости хирургии.* 2020;2:84: 418-427.

3. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Климентова Э.А., Егоров А.А. Апоптоз в сосудистой патологии: настоящее и будущее. *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова.* 2020; 28(1):79-87.

4. Walsh K., R.C. Smith, H.S. Kim Vascular cell apoptosis in remodeling, restenosis, and plaque rupture. *Circ Res.* -2000. -Vol. 87. -P. 184-188.

5. Aravani D, Foote K, Figg N, et al. Cytokine regulation of apoptosis-induced apoptosis and apoptosis-induced cell proliferation in vascular smooth muscle cells. *Apoptosis.* 2020;25(9):648-662.

6. Mao Y, Liu XQ, Song Y, Zhai CG, Xu XL, Zhang L, et al. Fibroblast growth factor 2/platelet-derived growth factor enhances atherosclerotic plaque stability. *J Cell Mol Med.* 2020;24(1):1128-1140.

7. Zhang N., Diao Y., Hua R., Wang J., Han S., Li J., Yin Y. Nitric oxide-mediated pathways and its role in the degenerative diseases. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2017; 22:824-834.

СОСТОЯНИЕ ПРО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ СО ВТОРИЧНОЙ АДЕНТИЕЙ ПРИ ЙОДДЕФИЦИТЕ

Ф.Х. Камиров¹, С.В. Аверьянов¹, Р.Р. Юнусов¹, И.А. Меньшикова¹,
А.Ф. Алтынова²

¹ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, г. Уфа, ²ГАУЗ РКОД Минздрава Республики Башкортостан, г. Уфа, Российская Федерация

Актуальность. Ранее проведённые исследования показали, что пациенты с физиологическим уровнем потребления йода (медиана йодурии 100-199 мкг/л) и дефицитом потребления йода существенно различаются по стоматологическим индексам и гигиеническому состоянию полости рта, характеризуя негативное влияние йоддефицита и гипотиреоза на эти процессы [1].

Целью исследования явилась оценка выраженности перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активности антиоксидантных ферментов в смешанной слюне у пациентов с адентией в зависимости от степени йоддефицита.

Материалы и методы. Обследовано 183 пациентки с вторичной адентией различной степени выраженности в возрасте 35-44 лет, проживающих в эндемичных по зобу горных и предгорных районах Башкирии. В зависимости от йодурии пациентки были разделены на 4 группы: 1-я с физиологическим уровнем йодурии, 2-я с лёгкой (йодурия 50-99 мкг/л), 3-я – средней (20-49 мкг/л) и 4-я с тяжёлой степенью (менее 20 мкг/л) йоддефицита.

Медиану йодурии определяли в утренней порции мочи церий-арсенитным методом (наборы реактивов «Merk»), содержание тиреотропина (ТТГ) и свободного тироксина (сТ4) в плазме крови – методом ИФА (реагенты ЗАО «Вектор Бест», анализатор «StatFox 2100»). В ротовой жидкости исследовали содержание соединений, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (реагенты ООО «АГАТ-МЕД», ТБК-рп), активность каталазы [2], супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы (реагенты «RandoxLaboratoriumLtd»), статобработку осуществляли с использованием программы Statistica 6,0.

Результаты. У пациенток, проживающих в регионах с природным дефицитом йода, обнаруживаются закономерные изменения функционального состояния щитовидной железы (таблица 1) и оксидантно-антиоксидантного статуса с превалированием свободнорадикальных процессов, зависящих от степени йоддефицита (таблица 2).

Корреляционный анализ по Спирмену выявил наличие обратной связи между уровнем йодурии и содержанием ТТГ ($r_s = -0,69$; $p < 0,01$), прямой – с сТ4 ($r_s = 0,63$; $p < 0,001$).

Таблица 1. Функциональное состояние щитовидной железы обследованных, Ме [0,25-0,75]

Группа пациенток	n	Медиана йодурии, мкг/л	ТТГ, мМЕ/л	сТ ₄ , пмоль/л
1-я	60	142 [116-179]	1,92 [1,73-3,03]	13,8 [11,4-15,3]
2-я	40	79 [68-85] ^a	2,93 [2,3-3,91] ^a	12,6 [8,3-14,8] ^a
3-я	50	37 [32-42] ^{a,b}	3,41 [2,72-4,34] ^{a,b}	11,8 [8,8-13,9] ^{a,b}
4-я	27	17 [16-19] ^{a,b,c}	3,88 [2,9-4,66] ^{a,b,c}	10,3 [8,7-11,9] ^{a,b,c}

Примечание: а)– $p < 0,05$ с 1-й, б) – со 2-й, в) – с 3-й группами.

Таблица 2. Интенсивность липопероксидации и активность антиоксидантных ферментов ротовой жидкости обследованных, М [0,25-0,75]

Группа пациенток	n	ТБК-рп, мкмоль/л	СОД, Ед/мг белка	ГПО, Е/мг белка	Каталаза, мкмоль/мин•мг белка
1-я	60	0,62 [0,48-0,88]	44,6[40,6-52,4]	0,38 [0,25-0,42]	13,7 [12,4-11,6]
2-я	40	0,81 [0,61-1,09] ^a	41,7 [40,2-50,6] ^a	0,3[0,24-0,34] ^a	12,4 [11,4-12,8] ^a
3-я	50	1,3 [1,0-1,44] ^{a,b}	30 [22,7-40,4] ^{a,b}	0,23 [0,21-0,25] ^{a,b}	11,4 [10,4-12,1] ^{a,b}
4-я	27	1,42 [1,2-1,59] ^{a,b,c}	26,2 [22,4-33,2] ^{a,b}	0,21 [0,19-0,3] ^{a,b}	10,6 [10,0-12,0] ^{a,b,c}

В патогенезе воспалительных заболеваний пародонта основную роль играет микробный налёт, оказывающий повреждающее действие и запускающий ответную реакцию с активацией свободнорадикальных процессов. Повышение уровня продуктов ПОЛ в тканях пародонта приводит к активации каскада сигнальных молекул, влияющих на выживание и гибель клеток, повреждение структуры и обновления коллагена и других белков, а гипотиреоз при этом способствует развитию негативных процессов, приводящих к утрате зубов [3,4]. Среднее количество утраченных зубов в группе пациенток с физиологическим уровнем потребления йода (1-я группа) составило $8,8 \pm 0,34$, а с йоддефицитом (2-я, 3-я и 4-я группы) – $11,1 \pm 0,43$ ($p < 0,01$). Корреляционный анализ выявил обратную связь количества отсутствующих зубов с уровнем йодурии ($r_s = -0,46$; $p = 0,038$) и содержанием сТ₄ в крови ($r_s = 0,59$; $p = 0,041$), прямую с ТТГ ($r_s = 0,54$; $p = 0,036$).

Выводы.

1. У стоматологических пациентов, проживающих в регионах с дефицитом йода, выявляется корреляционная связь уровня йоддефицита и содержания гормонов тиреоидной системы (ТТГ, сТ4) со степенью вторичной адентии.

2. В ротовой жидкости пациентов с адентией наблюдается дисбаланс про-антиоксидантной систем со снижением активности основных антиоксидантных ферментов. Выраженность оксидативного стресса зависит от степени йоддефицита (медианы йодурии).

Список литературы:

1. Аверьянов С.В., Камилов Ф.Х., Юнусов Р.Р. Взаимосвязь функционального состояния щитовидной железы, минеральной плотности костной ткани скелета и показателей стоматологического статуса пациентов // DentalForum.2020.-№1.-С.2-8.

2. Королюк М.Л., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения каталазы // Лабораторное дело. – 1988. - №3. – С. 16-19.

3. Кочконян Т.С., Гаспарян А.Ф., Ладутько А.А. и др. Процессы перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной системы ротовой жидкости при различных степенях адентии // Кубанский научный медицинский журнал. – 2010. - №2(116). – С. 45-50.

4. Писаревский Ю.Л., Сарафанова А.Б., Писаревский И.Ю. и др. Функциональное состояние щитовидной железы у лиц с патологией пародонта в условиях природного дефицита йода // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2015. – №2(102). – С. 149-152.

ГИПОТИРЕОЗ, ПОЛОСТЬ РТА, МЕЛАТОНИН СЛЮНЫ (обзор литературных данных)

Л.А. Каминская

ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет,
г.Екатеринбург, Российская Федерация

Актуальность. Гипотиреоз – клинический синдром, вызванный длительным, стойким недостатком гормонов щитовидной железы в организме или снижением их биологического эффекта на тканевом уровне. Взрослые и дети, проживающие на Урале, относятся к группе риска [3, 4]. Данные, полученные на животных с экспериментальным гипотиреозом свидетельствуют, что мелатонин (МТ) действует как модулятор функционирования гипофиза и щитовидной железы. Через десять дней введения МТ в дозе 0,1 мг/кг увеличился уровень гормонов (Т4 на 17,3%, Т3 на 16,8%), содержание ТТГ снизилось в 1,4 раза по сравнению с интактными животными [6].

Цель исследования: анализ научных данных о влиянии гипотиреоза и мелатонина на состояние полости рта.

Материалы и методы. Анализ статей, опубликованных в отечественных и зарубежных реферируемых научных журналах, интернет – ресурсах. Результаты обсуждений. В ротовой жидкости здоровых людей содержатся ТТГ, белок - тироксинсвязывающий глобулин, гормоны Т3,Т4., их взаимоотношения сохраняются аналогично крови. Слюна поднижнечелюстных и подъязычных желез содержит больше ТТГ и Т4, Т3 в сравнении с околоушной. При дефиците тиреоидных гормонов снижается синтез белка и продукция факторов роста, что вызывает нарушение обмена кальция и фосфата и мицеллярного строения слюны. Тироксин активирует функцию нижнеподчелюстных слюнных желез, вырабатывающих противовирусные и антибактериальные факторы защиты полости рта; отвечают за ремоделирование костной ткани и активацию одонтобластов и остеобластов выделением щелочной фосфатазы; коллоидно-реологические свойства слюны (фукомуцины, сиаломуцины. При гипотиреозе секрет становится более вязким и густым, увеличивая риски кариозного процесса [5]. Тироксина в слюне влияет на микробиологический состав [8]. Дефицит гормонов щитовидной железы вызывает полисистемные изменения на клеточном уровне тканей полости рта – снижение потребления клеткой кислорода, снижение интенсивности окислительного фосфорилирования и синтеза АТФ [1]; увеличивается уровень свободно радикального окисления, в слюне снижается активность антиоксидантных ферментов соотношение глутатион восстановленный /окисленный [7]. В ротовую жидкости МТ попадает из крови, его синтезируют нижнеподчелюстные слюнные железы, тучные клетки, энтерохромаффинные клетки слизистой оболочки полости рта [2]. Рецепторы к МТ обнаружены в околоушной железе. Содержание МТ слюны отражает содержание свободного МТ крови. Уровень МТ в десневой жидкости коррелирует с состоянием периодонта [10]. МТ снижает активность пародонтогенной микрофлоры полости рта, уровень свободно-радикального окисления, стимулирует активность ферментов антиоксидантной защиты [7]. МТ препятствует резорбции костной ткани через ингибирование активатора рецептора ядерного фактора RANK; обнаружено действие регулятора обмена кальция: стимулирует синтез коллагена типа I, белков костных маркеров (щелочную фосфатазу, остеопонтин и остеокальцин). В результате этих эффектов стимулирует ремоделирование костной ткани пародонта [9].

Выводы. Действие мелатонина слюны направлено на восстановление основных патологических изменений биохимических процессов в полости рта, вызванных дефицитом тиреоидных гормонов.

Список литературы:

1. Бирюкова Е.В., Килейников Д.В., Соловьева И.В. Гипотиреоз. Современное состояние проблемы.// Медицинский совет 2020.- № 7.- С. 96-107.
2. Булкина Н. В., Лепилин А. В. Мелатонинпродуцирующие тучные клетки/ слизистой оболочки десны в норме и при генерализованном пародонтите // Современные проблемы науки и образования. – 2004. – № 1. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=2479>
3. Головкина Л.Г., Муратова А.А., Каминская Л.А. Показатели и коррелятивные связи между гормонами тиреоидной оси до и после лечения у детей с диагнозом гипотиреоз //Тенденции развития науки и образования.-2020. -№62(1).- .-С. 71-75.
4. Кияев А.В. Распространенность заболеваний щитовидной железы у детей и подростков в йоддефицитном регионе/ А.В. Кияев, Л.И. Савельев, Л.Ю. Герасимова и др. // Клиническая и экспериментальная тиреоидология.- 2007.- № 2.- С. 33- 38.
5. Маркарова Г., Эльбекьян К.С., Караков К.Г. Мелатонин и его роль в диагностке степени тяжести генерализованного пародонтита// Здоровье и образование в XXI веке.-2010.-т.12.-№4.-С.461.
6. Эльбекьян К.С., Маркарова Е.В., Ходжаян А,Б, Гевандова М.Г, Влияние мелатонина на уровень тиреотропных гормонов при экспериментальном гипотиреозе у крыс//Медицинский вестник Кавказа.- 2016.-т.11.-2.
7. Chitimus D. M. Melatonin's Impact on Antioxidative and Anti-Inflammatory Reprogramming in Homeostasis and Disease/D. M. Chitimus, M. R. Popescu, S. E. Voiculescu, et.al// Biomolecules.- 2020.-№ 10. – С. 1211-1240.
8. Dong T. Association Between Serum Thyroid-Stimulating Hormone Levels and Salivary Microbiome Shifts/ Ting Dong,, Fen Zhao, Keyong Yuan, et al // Front.
9. Cell. Infect. Microbiol., 2021.-Feb 26;11:603291..9.Permuy M., Melatonin: A Review of Its Potential Functions and Effects on Dental Diseases/ M. PermuyM., M. López-Peña, A. González-Cantalapiedra and F.Muñoz//Int J Mol Sci.- 2017. - №18(4). – P. :865-878.
10. Srinath R, AcharyaA., Thakur S. L. Salivary and Gingival Crevicular Fluid Melatonin in Periodontal Health and Disease// Journal of Periodontology – 2010. - №81(2). P.277-83.

БИОМАРКЕРЫ АПОПТОЗА ПРИ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ

Э.А. Климентова, А.В. Шулькин, И.Н. Шанаев, П.Д. Ерохина,
М.Р. Афенов, И.Ю. Суров

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Большое количество людей в развитых странах мира страдают от атеросклеротического поражения коронарных, сонных и периферических артерий (ЗПА), а развитие атеротромботических осложнений остается основной причиной летальных исходов пациентов [1, 2]. Развитие атеросклероза связано с накоплением окисленных липопротеинов низкой плотности (оЛПНП), воспалительных цитокинов в сосудистой стенке, а также может быть обусловлено апоптозом макрофагов, гладкомышечных (ГМК) и эндотелиальных клеток. Важную роль в поддержании физиологического клеточного гомеостаза сосудистой стенки отводят системе апоптоза [3]. Семейство белков Bcl-2 является одним из основных участников данной системы, регулирующее проницаемость мембран митохондрий. Все белки данного семейства разделяются на проапоптотические (Bax и др.), и антиапоптотические (Bcl2 и др.) Соотношение между антиапоптотическими и проапоптотическими белками определяет, подвергнется клетка гибели или нет [4,5].

Цель исследования: оценка количества биомаркеров системы апоптоза Bcl-2 и Bax в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с ЗПА с ПБ-III стадией заболевания по классификации А.В. Покровского-Фонтейна.

Материалы и методы. В исследование вошли 32 пациента с ЗПА с ПБ-III стадией заболевания, которые находились на лечении в отделении сосудистой хирургии ГБУ РО ОКБ г. Рязань. Средний возраст пациентов составил $63,4 \pm 7,9$ лет. Все пациенты были мужского пола. После подписания информированного согласия у пациентов забирался интраоперационный материал, представляющий собой все три слоя сосудистой стенки. Образцы артериальной стенки вместе с атеросклеротической бляшкой (АТБ) были взяты при выполнении первичных открытых операций на магистральных артериях нижних конечностей. В качестве контроля использовали образцы артерий (сосудистой стенки) полученные во время эксплантации органов от посмертных доноров без ЗПА. По ультразвуковой характеристике структуры АТБ пациенты были разделены на две группы: со смешанной эхогенностью – группа А; группа В – пациенты с гиперэхогенными (кальцинированными) АТБ. Образец сосуда измельчали и готовили гомогенат с помощью лизирующего буфера «Thermo Fisher Scientific» (США) и роторного высокоскоростного гомогенизатора DIAH 900 («Heidolph», Германия) (насадка 6G), со скоростью 24000 об/мин в течение

60 сек при температуре +2°C. В полученном супернатанте определяли количество протеина Bcl-2 с помощью коммерческого набора «Thermo Fisher Scientific» (США), уровень Вах (Bcl2 Associated X Protein) – с помощью набора «Cloud-Clone Corporation» (Китай, США) методом иммуноферментного анализа.

Результаты. В ходе исследования было выявлено, что в артериальной стенке без атеросклеротических изменений (контрольная группа) уровень Bcl-2 составил 1,25 нг/мг, Вах – 4,7 нг/мг, соотношение Bcl-2/Вах – 0,26. В стенке артерий в области АТБ со смешанной эхогенностью количество биомаркера Bcl-2 составило 1,8 нг/мг, Вах - 5,1 нг/мг, соотношение Bcl-2/Вах - 0,3. В стенке артерий в области гетерогенной, кальцинированной АТБ количество Bcl-2 составило 0,9 нг/мг, Вах 6,8 нг/мг, соотношение Bcl-2/Вах - 0,13. Уровень белка Вах ($p < 0.05$) был статистически значимо повышен в сравнении с его уровнем в артериальной стенке без видимых признаков атеросклероза. Количество Bcl-2 статистически значимо было снижено ($p < 0,05$), а количество Вах ($p < 0.05$) повышено в АТБ с преобладанием гиперэхогенного компонента в сравнении с его значениями в АТБ со смешанной эхогенностью.

Впервые в ходе нашего исследования было выполнено количественное определение белков Bcl-2 и Вах в неизменной артериальной стенке периферических артерий человека. В гиперэхогенной кальцинированной АТБ уровень Bcl-2 был снижен, а уровень белка Вах повышен в сравнении с их уровнем в АТБ со смешанной эхогенностью. Это связано с тем, что апоптоз клеток внутри АТБ приводит к ремоделированию сосудистой стенки, высвобождению интерлейкина 1, 8, активации моноцит-хемоаттрактантных белков, повышению протромбогенного статуса путем активации тромбина. Наши данные согласуются с результатами исследований на животных, которые показывают, что на ранних стадиях атеросклеротического поражения количество клеток, подвергающихся апоптозу, составляет около 10% и увеличивается по мере прогрессирования заболевания [6,7].

В нашей работе было показано, что повышенный уровень проапоптотического белка Вах связан с отложением кальция в бляшках. Это обусловлено тем, что матричные везикулоподобные структуры в бляшках являются апоптотическими остатками, которые должны быть быстро очищены соседними фагоцитами. В преимущественно бесклеточном липидном ядре АТБ фагоцитоз апоптотических клеток может быть нарушен из-за присутствия оЛПНП, которые конкурируют с ними за связывание с фагоцитами. Нефагоцитозированные апоптотические клетки подвергнутся вторичному некрозу, который в последующем кальцинируется.

Выводы. Количество антиапоптотического биомаркера Bcl-2 было снижено на фоне повышенных значений проапоптотического белка Вах в гиперэхогенных кальцинированных атеросклеротических бляшках, что

свидетельствует об активации системы апоптоза в прогрессирующих атеросклеротических поражениях.

Список литературы:

1. Марченко А.В., Вронский А.С., Мялюк П.А., Каменский М.С. Исторические аспекты и современное состояние проблемы лечения сочетанного атеросклеротического поражения коронарных и сонных артерий. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2020;9(1):74-81. <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2020-9-1-74-81>.

2. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Мжаванадзе Н.Д., и др. Показатели гемостаза у пациентов с атеросклерозом периферических артерий при реконструктивно-восстановительных операциях. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2018; (8):46-9. <https://doi.org/10.17116/hirurgia2018846>.

3. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Климентова Э.А., и др. Апоптоз в сосудистой патологии: настоящее и будущее. Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2020; 28(1): 79-87. <https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ202028167-75>.

4. Gonzalez L., Trigatti B.L. Macrophage Apoptosis and Necrotic Core Development in Atherosclerosis: A Rapidly Advancing Field with Clinical Relevance to Imaging and Therapy. *Can J Cardiol.* 2017 Mar;33(3):303-312. doi: 10.1016/j.cjca.2016.12.010.

5. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Климентова Э.А., Егоров А.А. К вопросу о роли апоптоза в развитии атеросклероза и рестеноза зоны реконструкции. *Новости хирургии.* 2020;28(4):418-427. doi: 10.18484/2305-0047.2020.4.418.

6. Norata G.D., Tonti L., Roma P., Catapano A.L. Apoptosis and proliferation of endothelial cells in early atherosclerotic lesions: possible role of oxidised LDL. *NutrMetab Cardiovasc Dis.* 2002;12(5):297-305.

7. Akishima Y., Akasaka Y., Ishikawa Y. Role of macrophage and smooth muscle cell apoptosis in association with oxidized low-density lipoprotein in the atherosclerotic development. *Mod Pathol.* 2005;18(3):365-373. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3800249>.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА VDR КАК ПРЕДИКТОР РАЗВИТИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ С УРОЛИТИАЗОМ НА ФОНЕ ПРИЕМА СТАТИНОВ

А.В. Коваленко, В.Б. Бородулин, В.В. Никитина

ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им В.И. Разумовского Минздрава России», г.Саратов, Российская Федерация

Актуальность. В настоящее время «золотым стандартом» в лечении атеросклероза является применение статинов. Вместе с тем в последние годы появились убедительные данные о негативном биохимическом воздействии этих препаратов на органы и системы человека. Наибольшему риску при приеме статинов подвергаются пациенты уже с имеющейся патологией печени и почек. Большинство исследователей связывает это с блокированием статинами не только синтеза холестерина, но и восстановленного убихинона, являющегося единственным липофильным антиоксидантом в клетках млекопитающих [4].

Имеющиеся литературные данные о побочном действии статинов весьма противоречивы и минимизированы в отношении их воздействия на клетки органов мочевыделительной системы [5].

В современных условиях актуальное значение приобретают вопросы безопасности назначения статинов, что обуславливает проведение клинико-лабораторных исследований.

Цель исследования. Прогноз риска развития побочных эффектов у больных на фоне приема статинов с учетом полиморфизма гена VDR:283 A>G BsmI.

Материалы и методы. Для исследования были взяты беспородные белые мыши - самцы весом около 25 г, поставляемые вивариумом СГМУ им. В.И. Разумовского, которые случайным образом были распределены в контрольную группу и опытные группы №1 и №2. В течение всего эксперимента контрольная группа животных потребляла только стандартный корм, состоящий из злаков, овощей и воды. Животные в опытных группах, на фоне того же питания, потребляли дополнительно статины: аторвастатин (1 опытная группа) и симвастатин (2 опытная группа) в концентрации 0,4 мг на 1 кг веса 1 раз в день, что составило 0,02 мг на 1 животное. Через 28 и 44 дня от начала эксперимента проводился забор крови. Биохимические исследования, проводились на автоматическом биохимическом анализаторе FLEXORE (Нидерланды), с использованием наборов фирмы «Диакон – ДС».

Статистическая обработка полученных данных проводилась с применением пакета прикладных программ Статистика 6,1 (StatSoft, США, 2003). Для представления качественных данных использовали как абсолютные, так и относительные показатели (доли, %). Для представления количественных данных приводили описательную

статистику: среднее (M), стандартное отклонение (σ) при нормальном распределении признака, медиана (Me) и интерквартильный размах (25-й и 75-й процентиль) в случае распределения величин, отличного от нормального.

Проанализированы также результаты обследования 16 человек, из которых 11 имели в анамнезе уролитиаз (остальные 5 составили контрольную группу).

Для определения генетического полиморфизма 283 A>G (BsmI) гена VDR использовалась периферическая кровь, взятая натощак с антикоагулянтом ЭДТА. Исследование проводилось методом ПЦР в режиме реального времени в лабораторной службе «Helix» г. Саратова.

Сравнение контрольных и опытных частот проводилось с помощью критерия χ^2 на независимость при условии, что все значения частот сравниваемых признаков больше 5. При частотах меньше 5 сравнение проводилось с использованием точного критерия Фишера. Использовались непараметрические методы: критерий Манна-Уитни для независимых выборок и критерий Вилкоксона для оценки изменения показателей внутри групп [3].

Результаты. В результате проведенного эксперимента на белых лабораторных мышах, получавших аторвастатин (1 опытная группа) и симвастатин (2 опытная группа) в концентрации 0,4 мг на 1 кг веса 1 раз в день, что составило 0,02 мг на 1 животное, выявлено повышение концентрации глюкозы, мочевины, креатинина, аминотрансфераз в сыворотке крови мышей. Наибольшие концентрации данных показателей наблюдались в группе, которая получала симвастатин. В этой же группе выявлено резкое снижение концентрации щелочной фосфатазы сыворотки крови белых лабораторных мышей. Подробные данные проведенного исследования представлены в журнале «Современные проблемы науки и образования»[2].

В ходе работы возник вопрос о возможности прогноза риска развития побочных эффектов у больных с уролитиазом на фоне приема статинов с учетом полиморфизма гена VDR:283 A>G BsmI.

Для медицинской генетики особый интерес представляет информация о корреляции той или иной патологии с мутациями одного гена или установление ассоциации болезни с аллельными вариантами определенных генов [1]. По данным зарубежной литературы, на сегодняшний день проводятся исследования, посвященные изучению ассоциации генного полиморфизма с мочекаменной болезнью (МКБ). Часть работ показывает наличие связи гена VDR:283 A>G BsmI с МКБ [6, 7].

Анализ частот аллелей полиморфизма 283 A>G (BsmI) гена VDR показал, что в группе с уролитиазом реже встречался аллель А (26%), тогда как регистрация аллеля G, наоборот, была повышена (74%). Гетерозиготный генотип A/G гена VDR:283 A>G BsmI определялся в

54,0% случаев, гомозиготный G/G генотип – в 46,0%. Генотип A/A выявлен не был.

В контрольной группе чаще встречался аллель А (54%). Гетерозиготный генотип A/G гена VDR:283 A>G BsmI определялся в 40,0% случаев, гомозиготный генотип A/A – 40,0 % и G/G – в 20,0% случаев.

На фоне приема статинов наблюдалось повышение концентрации глюкозы, мочевины, креатинина и аминотрансфераз в сыворотке крови больных уролитиазом.

Выводы. Выявление аллеля G гена VDR:283 является клинически значимым, с точки зрения прогноза и диагностики развития осложнений у больных с уролитиазом на фоне приема статинов.

Частота встречаемости аллеля G гена VDR:283 может быть ассоциирована с мочекаменной болезнью, и являться генетическим фактором риска.

Список литературы:

1. Баранов В. С. Геномика и молекулярная медицина // Молекулярная биология. 2004.38(1).1–7.

2. Коваленко А.В., Кофтин О.В., Бородулин Я.В., Лазаренко Я.С. Современные проблемы науки и образования. Сравнительная оценка действия гиполипидемических препаратов на показатели сыворотки крови белых лабораторных мышей. 2021. 2. 111.

3. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. М.: Медиа Сфера. 2002. 312.

4. Родненкова О.С. Плейотропные биохимические эффекты статинов и возможности их коррекции. 2006. Дисс. к.мед. наук.

5. Okuyama H., Langsjoen P. H., Hamazaki T., Ogushi Y., Noma R., Kobayashi T., Uchino H. Statins Stimulate Atherosclerosis and Heart Failure: Pharmacological Mechanisms // Expert Review of Clinical Pharmacology. 2015. 8(2). 189 – 199.

6. Lin Y, Mao Q, Zheng X. Vitamin D receptor genetic polymorphisms and the risk of urolithiasis: a meta-analysis. // Urolinternat. 2011. 86. 249-255.

7. Wang S, Wang X, Wu J. Association of vitamin D receptor gene polymorphism and calcium urolithiasis in the Chinese Han population. // Urol Res. 2012. 40(4). 277-284.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ СЕЛЕКТИНА L ПРИ ВАРИКОЗНОЙ БОЛЕЗНИ ВЕН НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Н.В. Короткова¹, Р.Е. Калинин¹, И.А. Сучков¹, М.М. Упоров²

¹ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань, ²ГБУ РО ОККД, г. Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Селектин L (SELL (CD62L, hLHRc, LAM-1, Leu-8) является одним из трех представителей семейства селектинов – молекул клеточной адгезии; представляет собой трансмембранный гликопротеин, локализуется на плазматической мембране лейкоцитов.

Селектин L конститутивно экспрессируется всеми лейкоцитами: нейтрофилами, Т- и В-лимфоцитами, моноцитами, дендритными клетками, макрофагами и Купферовскими клетками, а также НК-клетками [3]. В настоящее время известно, что молекулярная масса активного пептида человеческого L-селектина составляет 37 кДа, он имеет семь потенциальных участков N-гликозилирования. В результате посттрансляционного гликозилирования образуются молекулы с различной молекулярной массой, дифференцированно синтезирующиеся в различных подмножествах лейкоцитов.

В своей структуре L-селектин содержит: N-концевой кальций-зависимый лектиновый домен, отвечающий за узнавание углеводов (CRD); домен, подобный эпидермальному фактору роста (EGF); домен консенсусных повторов (SCR), содержащий два структурных повтора; трансмембранный домен и цитоплазматический C-домен [4].

Селектин L обеспечивает клеточную адгезию лимфоцитов к эндотелиальным клеткам высоких эндотелиальных венул в периферических лимфатических узлах. Было показано, что он обеспечивает эффект «катящихся вдоль сосудистой стенки» в сосудах микроциркуляторного русла нейтрофилов и последующую экстравазацию последних в ткани.

На высоких венулах периферических лимфатических узлов присутствуют лиганды L-селектина, принадлежащие к семейству адрессинов. Среди них можно отметить молекулу клеточной адгезии-1 (MAdCAM-1), GlyCAM-1 (зависимые от гликозилирования молекулы клеточной адгезии-1, Sgp50), CD34 (Sgp90), подокаликсин, эндомуцин, непмуцин и Sgp200. И также лигандом для L-селектина является PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand 1) [5]. Таким образом, L селектин наряду с другими молекулами клеточной адгезии, обеспечивает адгезионную функцию эндотелия и является предметом активного изучения в связи с тем, что его роль изучена в меньшей степени, чем роль других членов семейства селектинов.

ХВН – широко распространённое сегодня заболевание, наиболее частыми проявлениями которого являются телеангиэктазии, ретикулярные

вены, варикозная болезнь вен нижних конечностей (ВБВНК) и более тяжелые – гиперпигментация, липодерматосклероз и язвы [2]. Одной из патогенетических теорий ВБВНК является наличие воспаления. И также активно обсуждается лейкоцитарная агрессия [1].

Цель. Количественная оценка L-селектина у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей.

Материалы и методы. Представленное исследование одобрено на заседании ЛЭК ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, протокол № 9 от 15.04.2020 и соответствует требованиям Надлежащей Клинической Практики (GCP) и Хельсинской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации с поправками 2000 года, Правилам клинической практики в Российской Федерации», утверждённым приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266, а также «Этическим принципам проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования».

В исследовании представлены результаты обследования 15 пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей, проходивших лечение в ГКБСМП в 2020 году. Критериями включения в исследование были: подписанное информированное согласие, верифицированный диагноз ВБВНК, отсутствие острых сосудистых заболеваний в анамнезе: инсульта, артериального тромбоза, венозного тромбоза, тромбоэмболии лёгочной артерии (ТЭЛА), инфаркта миокарда, отсутствие патологии со стороны бронхолегочной системы, отсутствие онкологических заболеваний, травм и продолжительной иммобилизации. В контрольную группу вошли 10 клинически здоровых доноров, сопоставимых с испытуемыми по возрасту и полу. Статистически значимых различий изучаемых показателей по возрасту и полу между исследуемыми группами больных и контрольной группой выявлено не было ($p > 0,05$).

Материалом для исследования послужила сыворотка крови. Забор крови у доноров и пациентов проводился однократно из локтевой вены утром натощак. Полученные образцы оставляли на 2 часа при комнатной температуре до центрифугирования. Центрифугировали 20 минут при ускорении 1000g.

Количественное определение селектина L производили с использованием сэндвич-метода ИФА в сыворотке крови на иммуноферментном анализаторе StatFax 2100 (microplatereader) (Awareness technology Inc. PalmCity, FL 34990, USA). Результаты выражали в пг/мл.

Для статистической обработки полученных результатов применялись программы Microsoft Excel и IBM SPSS Statistics 26. Нормальность распределения выборки оценивалась по критерию Шапиро-Уилка. Для определения статистической значимости различий непрерывных величин использовался U-критерий Манна-Уитни. Для всех проведенных исследований различия считались статистически значимыми при двустороннем уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты. При исследовании концентрации селектина L было отмечено статистически значимое снижение концентрации уровня селектина L в сыворотке крови у пациентов с ВБВНК по сравнению с группой контроля (Рисунок 1).

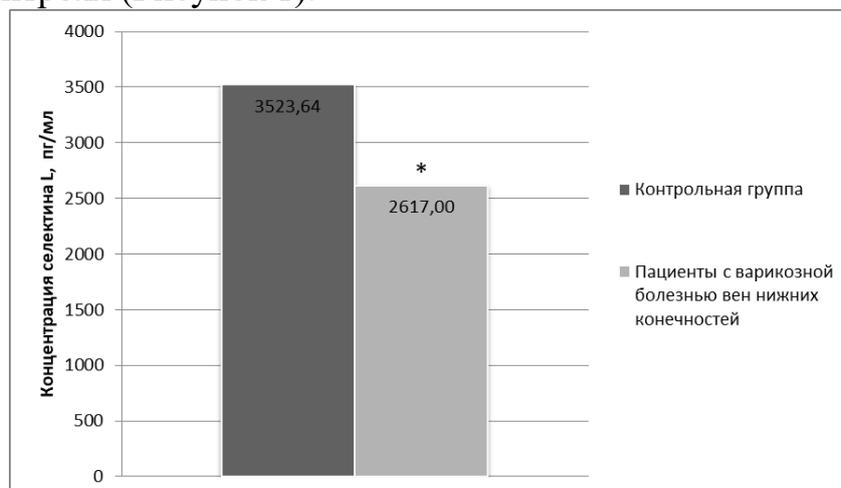


Рисунок 1. Концентрация селектина L в сыворотке крови, пг/мл; *- статистически значимое отличие содержания селектина L у пациентов с ВБВНК по сравнению с группой контроля, $p \leq 0,05$.

Ранее было показано, что при варикозном расширении поверхностных вен в процесс вовлекаются и глубокие вены, о чем свидетельствует повышенная экспрессия CD34, одного из рецепторов L-селектина[1].

Выводы.

1. Концентрация L-селектина в сыворотке крови пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей снижается статистически значимо по сравнению с контрольной группой.

2. Изменение концентрации L-селектина у пациентов с ВБВНК может свидетельствовать о его вовлеченности в патогенез ВБВНК.

Список литературы:

1. Сушков С.А., Самсонова И.В., Гольшевич М.В. О роли лейкоцитарной агрессии в патогенезе клапанной недостаточности глубоких вен. Материалы 9-го Санкт-Петербургского Венозного форума с.77. http://shaidakov.ru/recs_proceedings9.php?a=077

2. Budzyń M., Iskra M., Turkiewicz W., Krasinski Z., Gryszczyńska B., Kasprzak M.P. Plasma concentration of selected biochemical markers of endothelial dysfunction in women with various severity of chronic venous insufficiency (CVI)-A pilot study. PLoS One. 2018;29;13(1):e0191902. doi: 10.1371/journal.pone.0191902

3. Cummings R.D., Smith D.F. The selectin family of carbohydrate-binding proteins: structure and importance of carbohydrate ligands for cell adhesion. Bioessays. 1992 Dec;14(12):849-56. doi: 10.1002/bies.950141210.

4. Kansas G.S. Selectins and their ligands: Current concepts and controversies. Blood 1996, 88, 3259–3287.

5. Tvaroška I., Selvaraj C., Koča J. Selectins – The Two Dr. Jekyll and Mr. Hyde Faces of Adhesion Molecules – A Review. Molecules. 2020; 25(12):2835. doi.org/10.3390/molecules25122835

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ГЕМОМРАГИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

И.С. Курепина^{1,2}, А.А. Косолапов¹, О.В. Евдокимова², Р.А. Зорин^{1,2},
Т.М. Гусева²

¹ГБУ РО «Областная клиническая больница», г. Рязань, Российская Федерация, ²ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Нетравматические внутримозговые кровоизлияния супратенториальной локализации составляют около 15-20% форм острых нарушений мозгового кровообращения в России и мире, являясь одной из основных причин инвалидности и смертности [2]. Тяжесть течения острого периода кровоизлияний супратенториальной локализации определяется в первую очередь высокой летальностью: по данным разных авторов она варьирует от 38 до 73%, 30–дневная летальность составляет 44–52% и при этом половина пациентов умирает в течение первых трех суток [1].

Среди факторов риска, предикторов течения и исходов нетравматических кровоизлияний супратенториальной локализации выделяют клинические, нейровизуализационные и лабораторные [3].

Цель исследования: Определение комплекса клинико-лабораторных предикторов течения острого периода первичных нетравматических внутримозговых гематом супратенториальной локализации.

Материалы и методы. В исследование включено 136 человек; из них 40 пациентов контрольной группы и 96 больных геморрагическим инсультом. Средний возраст пациентов с инсультом составил 66 лет. Среди обследуемых пациентов - 50 пациентов мужского пола и 46 пациентов женского пола.

Всем пациентам с геморрагическим инсультом в первые сутки от момента поступления в стационар проводилось клинико-неврологическое обследование, спектр методов лабораторной диагностики с проведением общеклинического анализа крови, стандартного биохимического профиля с определением уровня гликемии, печеночных ферментов, креатинина, мочевины, липидного спектра, уровня натрия и калия; определялся уровень тромбоцитов, активированное частичное тромбоновое время (АЧТВ), международное нормированное отношение (МНО).

Результаты. Всем пациентам, находящимся под наблюдением, проводили исследование липидного спектра крови, включающее определение уровня общего холестерина сыворотки, липопротеинов низкой плотности, липопротеинов высокой плотности в единицах измерения ммоль/л. Исходный уровень показателей липидного спектра и печеночных трансаминаз в виде АЛТ и АСТ. Лабораторные исследования крови выполнялись на автоматическом биохимическом анализаторе Dimension RxL® Max (Siemens, Германия) в клинко-диагностической лаборатории.

При диагностике общего анализа крови были выявлены следующие показатели: уровень гемоглобина находился в пределах 136–180 г/л; тромбоциты находились в пределах $111-232 \cdot 10^9$ /л; лейкоциты: 4,0–26,6 $\cdot 10^9$ /л; фибриноген: 4,0–7,4 г/л; ФЧТВ: 24 – 34 с.; МНО: 0,9-1,1. Уровень тромбоцитов был снижен у 37 пациентов; у 4 пациентов повышен уровень тромбоцитов; у 55 пациентов уровень тромбоцитов находился в пределах референсных значений.

При анализе коагулограммы у пациентов с геморрагическим инсультом в остром периоде показатели имели следующие значения. Так средний уровень фибриногена равнялся 5,5 г/л (4,0; 7,4); активированного частичного тромбопластинового времени – 29 сек (24; 34); МНО 1,0 (0,9; 1,1), протромбиновый индекс 1,14 (0,38; 11,2)

В таблице 1 представлены показатели газового состава крови и кислотно-основного состояния у пациентов с нетравматическими внутримозговыми кровоизлияниями супратенториальной локализации.

Таблица 1. Показатели газового состава крови и кислотно-основного состояния крови

Показатели	Me	LQ	UQ
pH	7,38	7,33	7,41
pCO ₂ , мм.рт.ст.	35	34	38
pO ₂ , мм.рт.ст.	88	66	89
Htct%	43,8	39,5	45,2
cHCO ₃ ⁻ (P st), с	20,5	19,0	23,1
cHCO ₃ ⁻ (P), с	19,3	18,0	24,5

Уровень pH был в пределах референсных значений в обеих группах.

Парциальное давление кислорода в газовой фазе, находящейся в равновесии с кровью (pO₂) отражает лишь небольшую часть (1 – 2 %) всего кислорода крови, растворенную в плазме [4]. Остальные 98 – 99 % кислорода крови связаны с гемоглобином в эритроцитах. pO₂ в основном отражает поглощение кислорода в легких. Референсные значения находятся в пределах 83–108 мм Hg [5].

В таблице 2 представлены лабораторные показатели в группе в относительно благоприятным течением и неблагоприятным течением.

Таблица 2. Лабораторные показатели в исследуемых группах

Показатели	Группа пациентов 1			Группа пациентов 2			Z	p
	Me	LQ	UQ	Me	LQ	UQ		
АЧТВ, с	27	24	36	29	23	33	511	0,558
МНО	1,00	0,95	1,09	0,99	0,92	1,08	523	0,664
ЛПВП	2,0	1,2	3,3	1,7	1,2	2,5	177	0,290
ЛПНП	2,5	1,5	3,6	2,3	1,5	3,0	185	0,384
Триглицериды	1,1	0,8	1,3	1,8	1,0	2,4	119	0,032
Бета-липопротеины	43	38	80	57	44	99	119	0,407
Холестерин, ммоль/л	5,8	5,0	6,3	5,3	4,8	6,2	557	0,163
Натрий, ммоль/л	140,1	137,5	141,8	140,0	138,5	142,8	528	0,790
Калий, ммоль/л	4,2	4,0	4,7	4,4	4,0	5,1	490	0,880

Определяются достоверно меньшие значения рН в группе 2 пациентов с геморрагическим инсультом.

Выводы. Выделены нейрофизиологические корреляты неблагоприятного течения острого периода нетравматических полушарных гематом супратенториальной локализации внутрислошарной локализации, наибольшее значение имеет повышенный уровень глюкозы крови, снижение уровня тромбоцитов, снижение ЛПВП, высокий уровень гемоглобина.

Список литературы:

1. Пирадов М.А. Геморрагический инсульт: Новые подходы к диагностике и лечению / М.А. Пирадов. – Текст (визуальный): непосредственный // Атмосфера. Нервные болезни. – 2005. – Т. 1. – С. 17–19.
2. Benjamin E.J. Heart Disease and Stroke Statistics - 2018 Update. A report from the American Heart Association / E.J. Benjamin, S.S. Virani, C.W. Callaway, A.M. Chamberlain. –Text: visual // Circulation. – 2018. – Vol. 137, № 12. – P. 67 – 492.
3. Chen R. Diabetes and Stroke: Epidemiology, Pathophysiology, Pharmaceuticals and Outcomes / R. Chen, B. Ovbiagele, W. Feng. – Text: visual // American Journal of the Medical Sciences. – 2016. – Vol. 351, № 4. – P. 380–386.
4. Castro D. Arterial Blood Gas / D. Castro, M. Keenaghan. – Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing, 2020. – Text: visual.
5. Mclellan S.A. Oxygen delivery and haemoglobin / S.A. Mclellan, T.S. Walsh. – Text: visual // Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain. – 2004. –Vol. 4, № 4. – P. 123–126.

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИПИДОВ ГРУДНОГО МОЛОКА

И.В. Мачнева, Е.Н. Лебедева, И.В. Карнаухова

ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России, г.Оренбург, Российская Федерация

Актуальность. Современные научные исследования убедительно демонстрируют преимущества грудного вскармливания. Ни одна самая дорогая и современная молочная смесь не имеет в своём составе такого количества биологически активных веществ как молоко матери. В первые дни после рождения лучшим и единственным источником питательных веществ в пище для младенцев является грудное молоко, оно обеспечивает ребенка необходимыми витаминами, микро- и макроэлементами, защищает от инфекционных и хронических заболеваний. Только грудное вскармливание сокращает смертность детей грудного возраста, от таких болезней детского возраста, как диарея или пневмония и способствует более быстрому выздоровлению [2].

Грудное молоко является очень сложной биологической жидкостью, которая в полной мере может удовлетворить потребности ребенка в первые месяцы жизни всеми необходимыми питательными веществами. Ни одной лаборатории мира ещё неизвестен точный состав грудного молока, у каждой матери он индивидуален и меняется даже в течение одного вскармливания. Поэтому самая адаптированная смесь не заменит женское молоко. Изучение химического состава грудного молока чрезвычайно важно, так как дает возможность оценить обеспеченность ребенка тем или иным нутриентом. Одной из наиболее значимых фракций грудного молока в количественном отношении является липидная. В молоке все липиды связаны между собой и образуют жировую глобулу.

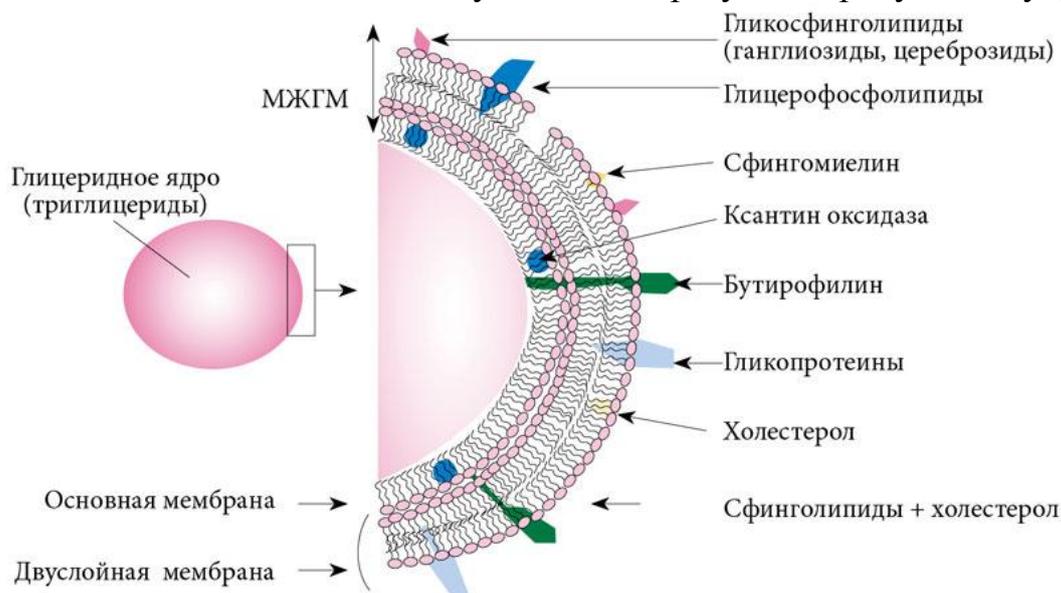


Рисунок 1. Строение жировой глобулы молока [1]

Основу этой частицы составляют триацилглицерины (ТАГ), выполняющие, прежде всего энергетическую функцию для ребенка. Однако роль их этим не ограничивается: они являются источником ВЖК, в том числе, и незаменимых класса омега-6, омега-3 и их длинноцепочечным производным (ДЦ ПНЖК), которые выступают предшественниками биологически активных веществ класса эйкозаноидов [1]. У детей, которые получали грудное молоко, наблюдается более высокий уровень концентрации докозагексаеновой и арахидоновой кислот в плазме крови, в коре головного мозга (как в сером, так и белом веществе). Кроме того, к 15 годам коэффициент умственного развития у них выше по сравнению с детьми, которых кормили смесями, не содержащими эти кислоты.

По литературным данным у доношенных и недоношенных младенцев повышенное обеспечение энергией за счет жиров (более 25%) по сравнению с углеводами дает большую прибавку в массе (чувствительный индикатор адекватного обеспечения энергией в первые месяцы и годы жизни ребенка) и меньший расход энергии в покое[3].

Цель. Определить содержание ТАГ в грудном молоке женщин Оренбургской области

Материалы и методы. В исследование было включено 53 женщины, постоянно проживающих на территории Оренбургской области. Средний возраст женщин составил $26,3 \pm 0,65$.

Определение ТАГ грудного молока проводилось с помощью набора реагентов для определения концентрации триглицеридов энзиматическим колориметрическим методом, фирмы «Витал».

Результаты. Среднее содержание триацилглицеринов в грудном молоке женщин, проживающих на территории Оренбургской области, составило $38,41 \pm 3,09$ г/л. У 60% обследуемых женщин отмечалось снижение данного показателя с минимумом 28,33 г/л. У 30 % женщин было отмечено превышение уровня ТАГ с максимумом 56,2 г/л, у оставшихся содержание ТАГ было в пределах нормы от 40 до 45 г/л.

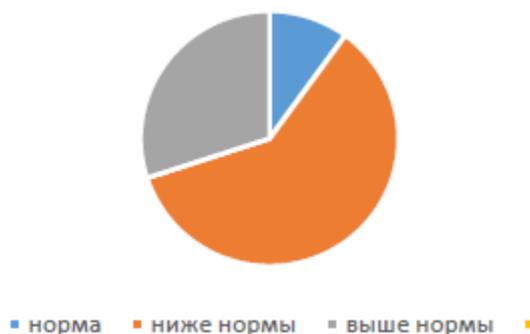


Рисунок 2. Содержание ТАГ в грудном молоке

Выводы. Триацилглицерины как основной липидный компонент грудного молока можно рассматривать в качестве индикатора адекватного обеспечения энергией. Несмотря на то, что у большинства женщин

наблюдалось некоторое снижение концентрации ТАГ, оно не приводило к энергодефициту растущего организма. Напротив, в случае повышения концентрации ТАГ в грудном молоке, на наш взгляд, требуется наблюдение за ростом и развитием ребенка, так как чрезмерное поступление калорий может привести к избыточной массе и ожирению.

Работа выполнена в рамках университетского гранта по теме: «Изучение нутриентов грудного молока с позиции липидомики, протеомики и метаболомики» (Приказ №66 от 17.01.2020) на базе Оренбургского государственного медицинского университета.

Список литературы:

1. Конь И.Я. , Лукоянова О.Л. Жиры в питании ребенка: польза или вред? Эффективная фармакотерапия(Педиатрия). 2014.21.С.30-36.
2. Alabduljabbar, S.; Zaidan, S.A.; Lakshmanan, A.P.; Terranegra, A. Personalized Nutrition Approach in Pregnancy and Early Life to Tackle Childhood and Adult Non-Communicable Diseases. Life. 2021. 11. 467. <https://doi.org/10.3390/life11060467>.
3. Schipper L. Milk lipid composition and structure. The relevance for infant brain development. OCL.2020.27.5 DOI: <https://doi.org/10.1051/oc/2020001>

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КЛЕТОК И ПЕПТИДЫ В КОМПЛЕКСНОЙ ИНДИВИДУАЛИЗИРОВАННОЙ ДИАГНОСТИКЕ И ГЕРОПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

В.Н. Мещанинов^{1,2}, В.С. Мякотных¹, И.В. Гаврилов^{1,2}, О.В. Лимановская^{1,3},
Д.Л. Щербаков^{1,2}, М.С. Благодарева¹, У.В. Зведенинова¹,
А.В. Даниловцева¹, Е.А. Андреева¹

¹ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, ²ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», ³ФГАОУ ВО УрФУ им. Первого Президента России Б.Н. Ельцина, г.Екатеринбург, Российская Федерация

Актуальность. Геропротективная терапия особенно актуальна при патологии ЦНС, т.к. снижение пластичности функционирования головного мозга резко снижает защитные свойства организма в целом и приводит к ускоренному старению. С другой стороны, не вызывает сомнений, что на сегодняшний день из всех органов именно головной мозг остается самым мало изученным [4]. Проблема поиска маркеров старения актуальна, поскольку они позволяют количественно оценить процесс старения, что может служить критерием эффективности геропротектики. Проблемной представляется ситуация с оценкой

возрастных процессов в отношении центральной нервной системы (ЦНС), метаболизм и функции которой остаются недостаточно изученными [3]. С другой стороны, существующие сейчас геропротективные воздействия имеют общеоздоровительную фармакодинамику, векторно не нацеленную на конкретные клетки, органы и ткани [3, 4].

Цель. Обнаружить специализированный маркер старения центральной нервной системы и провести таргетированную коррекцию биологического возраста организма с помощью ЦНС-таргетированных регуляторных нейропептидов.

Материалы и методы. К 1-й серии исследований было привлечено 92 пациента обоего пола зрелого и пожилого возраста. Типичный комплексный клинический диагноз пациентов исследуемой группы: церебральный атеросклероз, энцефалопатия, ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь, хронические неспецифические заболевания легких и др. Критерий включения – наличие полиморбидной патологии с участием ЦНС, исключения – обострения хронических заболеваний, травмы, операции в недавнем анамнезе, наличие онкологических или инфекционных процессов. Исследовали биологический возраст [1], в сыворотке крови – концентрации тиреотропного и натрийуретического гормонов, Т3, Т4, белка S-100 как потенциальных маркеров старения соответствующих клеток [2, 5]. Во 2-й серии исследований была оценено геропротективное действие олигопептидов лиз-глу-асп (Везуген), глу-асп-арг (Пинеалон) у 59 пациентов в возрасте от 41 до 75 лет с полиморбидной патологией по показателю биовозраста. Пинеалон и/или везуген (ООО «ХБО» при РАН, «Фирма Вита») пациенты получали перорально по 1 капсуле, содержащей 20 мкг действующего вещества, 2 раза в сутки в течение 20 дней [3, 6]. До и после раздельного и сочетанного приема указанных пептидов определяли биологический возраст [1], исследовали периферическую кровь на содержание рутинных и некоторых перспективных высокотехнологичных биохимических и гематологических показателей, претендующих на роль специфических маркеров нейронов. Статистическая обработка – в программном пакете «Statistica 10 for Windows» и «MS Excel» с использованием непараметрических критериев Уилкоксона.

Результаты. Обнаружена отрицательная корреляционная взаимосвязь между биовозрастом и содержанием в крови белка S-100 ($r = -0,31$, $p < 0,05$), что свидетельствует об уменьшении концентрации этого белка при старении. Ранее было показано участие белка S-100 в регуляции процессов направленного роста отростков нейронов, механизмах памяти и обучения. С возрастом эти процессы постепенно угнетаются [4], что может объясняться снижением уровня белка S-100, который предположительно можно рассматривать в качестве маркера старения нейронов [5]. У пациентов с полиморбидностью в стадии ремиссии олигопептиды лиз-глу-асп (везуген) и глу-асп-арг (пинеалон) вызывали анаболический эффект,

улучшали деятельность ЦНС и других жизненно важных органов. Это приводило к замедлению темпов старения по показателям биовозраста. Наибольшую геропрофилактическую эффективность выявило комплексное использование одновременно обоих олигопептидов по схеме с чередующимся приемом. Сочетанное применение пинеалона и везугена приводило к снижению биологического возраста на 12,8 лет в группе лиц пожилого возраста и на 3,9 года у лиц среднего возраста. Везуген снижал биологический возраст на 7 лет вне зависимости от календарного. Возрастная тропность препаратов говорит о группо-специфической возраст-зависимой индивидуализации эффективности. Оба пептида могут быть рекомендованы как геропрофилактические средства нейро-вазо-протекторного действия у пациентов с полиморбидной ЦНС-акцентированной патологией. Механизм геропрофилактического действия олигопептидов включает в себя влияние на геном клеток [6], а по нашим данным – основан еще и на нормализации функциональных, гематологических и биохимических показателей организма. Оптимизация функций нейронов, клеток сосудов головного мозга сопровождалась метаболическими перестройками в организме и возможным воздействием на ЦНС через гематоэнцефалический барьер [3, 6].

Выводы. 1. Корреляционная зависимость между биовозрастом и содержанием в периферической крови белка S-100 позволила включить его в методику исследования биологического возраста. 2. Пептидные препараты пинеалон и везуген у пациентов разного возраста с полиморбидной патологией с разной степенью эффективности снижали биологический возраст, особенно при их сочетанном применении*. 3. Обнаружена возрастная тропность препаратов, что говорит о группо-специфической возраст-зависимой индивидуализации их эффективности.

* Тезисы доклада подготовлены в рамках госзадания УГМУ «Индивидуализация подбора комплексной геропрофилактической терапии», рег. №121030900298-9.

Список литературы:

1. Гаврилов И.В., Мещанинов В.Н., Леонтьев С.Л., Сазонов С.В. «Программа для ЭВМ «BIOAGERPolinom» Свидетельство РФ о гос. регистрации программы для ЭВМ № 2012613817.

2. Мещанинов В.Н., Гаврилов И.В., Балужева М.В., Валиева И.Р., Молостова О.О. Поиск специфических биохимических лабораторно-диагностических предикторов старения высокоспециализированных клеток органов пациентов с полиорганной патологией. Вестник Уральской медицин. акад. науки. 2011. № 4 (37). 82-85.

3. Мещанинов В.Н., Ткаченко Е.Л., Жарков С.В., Гаврилов И.В., Катыева Ю.Е. Влияние синтетических пептидов на темпы старения пациентов с хроническими полиморбидными и психоорганическими

нарушениями центральной нервной системы в стадии ремиссии. Успехи геронтологии. 2015. Т. 28. № 1. 62-67.

4. Мякотных В.С., Остапчук Е.С., Мещанинов В.Н., Сиденкова А.П., Боровкова Т. Щербаков Д.Л. Патологическое старение: основные «мишени», возраст-ассоциированные заболевания, гендерные особенности, геропротекция. Учебное пособие: Москва: Изд. ООО «Новый формат», 2021. 128 с.

5.Симхес Ю. В., Карпов С. М., Батурин В. А., Вышлова И. А. Роль белка S100 в патогенезе болевых синдромов. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2016. Т. 8, № 4. 62—64.

6. Хавинсон В.Х. Лекарственные пептидные препараты: прошлое, настоящее, будущее. Клиническая медицина. 2020. Т. 98 (3). 165 -177.

ЗАВИСИМОСТЬ ПОДВИЖНОСТИ СПЕРМАТОЗОИДОВ ОТ АКТИВНОСТИ КАТЕПСИНА Н У ПАЦИЕНТОВ С БЕСПЛОДИЕМ

И.В. Минаев, П.М. Полякова, А.Ф. Иштулин, Н.В. Короткова,
И.В. Матвеева

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Лизосомальные цистеиновые протеазы (катепсины) – это ферменты, которые участвуют в протеолизе и поддерживают внутриклеточный гомеостаз. Активность катепсинов может повышаться при различных патологических процессах, протекающих в организме. К ним относятся воспалительные и онкологические заболевания [2]. Одним из представителей этой группы ферментов является катепсин Н, принимающий участие во внутриклеточном катаболизме белков. Катепсины содержатся во многих биологических жидкостях, в том числе в спермоплазме человека. Изменение активности катепсина Н в спермоплазме, предположительно может быть использовано в качестве маркера диагностики мужского бесплодия.

Бесплодие является актуальной социальной и медицинской проблемой современного общества. Бесплодные браки составляет в среднем 10-15% из них 23,9% связаны с мужским фактором [5]. Причины, приводящие к снижению качества спермы разнообразны, но до сих пор не изучены.

Цель. Изучить взаимосвязь активности лизосомальной цистеиновой протеазы - катепсина Н в спермоплазме с подвижностью сперматозоидов у пациентов с хроническим простатитом и варикоцеле.

Материалы и методы. Объектом исследования явились 30 пациентов, в возрасте 20-35 лет с диагнозом: хронический простатит и астенозооспермия, 30 пациентов с диагнозом: варикоцеле и астенозооспермия. И аналогичное количество мужчин того же возраста, с

нормозооспермией без имеющихся признаков расстройства репродуктивной функции. Материалом для исследования явилась спермоплазма. Спермоплазму получали путём центрифугирования образца спермы, оставшийся после проведения химико-микроскопического анализа. Образец спермы центрифугировали в течение 10 мин при скорости 1000 об/мин. После отделения осадка спермоплазму хранили при температуре – 20°C до проведения анализа [1]. Подвижность сперматозоидов определяли на спермоанализаторе АФС-500-2. Изучение активности лизосомальной цистеиновой протеазы (катепсина Н) проводили с помощью спектрофлуориметрической методики по Barrett и Kirschke с измерением флюоресцирующего продукта реакции – 7-амидо-4-метилкумарина, образующегося при расщеплении специфического флюорогенного субстрата: аргинин-7-амидо-4-метилкумарин (Arg-7-амидо-4-метилкумарин, Sigma, США) [3]. Активность ферментов выражали в нмоль 7-амидо-4-метилкумарина/ч.л. Полученные данные статистически обработаны с помощью компьютерной программы Statistica 26.0. Распределение выборки на нормальность оценивали по критерию Колмогорова-Смирнова. Для всех значений выборка оказалась непараметрической. С помощью Н-критерия Крускала-Уоллиса проводили сравнение множества групп. В последствии проводили апостериорное множественное сравнение по непараметрическому U-критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферрони. Различия между показателями считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Корреляционный анализ проводился между активностью катепсина Н и подвижностью сперматозоидов в экспериментальных группах с помощью программы «Statistica 26.0» с определением коэффициента Спирмена (r). Отличия принимались за статистически значимые при значения $p < 0,05$.

Результаты. При исследовании активности катепсина Н у пациентов с хроническим простатитом и астенозооспермией было установлено снижение активности катепсина Н. У пациентов с варикоцеле и астенозооспермией также наблюдалось снижение активности катепсина Н. У мужчин без нарушения репродуктивной функции и нормозооспермией изменение активности катепсина Н не было выявлено.

Статистически значимым явилось снижение активности катепсина Н для пациентов в экспериментальных группах исследования. При хроническом простатите с астенозооспермией активность катепсина Н была снижена в 3,3 раза, а у пациентов с диагнозом варикоцеле и астеноозоспермия активность катепсина Н была снижена в 25,5 раз.

Была выявлена положительная корреляционная взаимосвязь средней силы при проведении корреляционного анализа между подвижностью сперматозоидов и активностью катепсина Н у пациентов с хроническим простатитом и астенозооспермией, что оказалось статистически значимым по сравнению с пациентами с нормозооспермией. Для катепсина Н

корреляционная взаимосвязь у пациентов с хроническим простатитом и астенозооспермией составила ($r=0,49$).

При поиске корреляционной связей у пациентов с варикоцеле и астенозооспермией тоже была обнаружена положительная корреляционная взаимосвязь средней силы между подвижностью сперматозоидов и активностью катепсина Н, что оказалось статистически значимым по сравнению с пациентами с нормозооспермией. Для катепсина Н корреляционная взаимосвязь у пациентов с варикоцеле и астенозооспермией составила ($r=0,42$).

Таким образом, при проведении исследований было выявлено, что при хроническом простатите с астенозооспермией и у пациентов с варикоцеле с астенозооспермией подвижность сперматозоидов связана с активностью катепсина Н в спермоплазме.

Заключение. Поданным исследования можно сделать вывод, что у мужчин с хроническим простатитом нарушение репродуктивной функции сопровождается снижением активности катепсина Н в спермоплазме. У пациентов с варикоцеле снижение активности катепсина Н в спермоплазме может также являться причиной нарушения репродуктивной функции.

Список литературы:

1. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека. Пятое издание. ISBN 978-5-905106-09-05 (Издательство «КАПИТАЛ-ПРИНТ»). Москва, 2012. -305 с.
2. Assessment of the Roles of Cathepsins B, H and L in the Progression of Colorectal Cancer [Text] / Anestakis Doxakis [et al.] // Journal of Cancer Therapy. – 2013. – Vol. 4. – P. 1-7.
3. Barrett A.J. Cathepsin B, cathepsin H, cathepsin L / A.J. Barrett., H. Kirschke // Methods in Enzymol. – 1981. –Vol. 80. – P. 535-561.
4. Study of the expression of cathepsins in histological material from pancreatic lesions [Text] / Juan Martínez [et al.] // Rev. esp. enferm. dig. – 2016. – Vol.108, № 12. – P. 780-784.
5. Tamrakar. S.R., Bastakoti R. (2019). Determinants of Infertility in Couples. 17(1):85-89. doi: 10.33314/jnhrc.1827.
6. The induction of neuronal death by up-regulated microglial cathepsin H in LPSinduced neuroinflammation [Text] / Kai Fan [et al.] // Journal of Neuroinflammation. – 2015. – Vol. 12. – P.54.

ОСОБЕННОСТИ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ В МЯГКИХ ТКАНЯХ ПОЛОСТИ РТА В ОБЛАСТИ ОПЕРАЦИОННЫХ РАН ВСЛЕДСТВИЕ ЭКСТРАКЦИИ ЗУБОВ У СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ

А.А. Олейников, О.С. Гуйтер, А.В. Гуськов

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Введение. Операции по удалению зубов нередко влекут за собой повреждение и утрату тканей различной морфологии [4]. Это ведет к появлению длительно заживающей послеоперационной раны, восстановление которой часто осложняется воспалением. Биохимические и патофизиологические процессы тканевой перестройки и формирования краевой части раневого дефекта определяют результат стоматологического ортопедического лечения после операции. Однако некоторые особенности репарации, в том числе гистологические, биохимические и сосудистые реакции в данной зоне в отдаленные сроки ортопедической реабилитации изучены не вполне достаточно.

Цель. Обосновать необходимость углубленной диагностики постэкстракционных повреждений слизистой оболочки полости рта в области раневых дефектов для выявления особенностей хронического или скрытого воспалительного процесса в отдаленные сроки ортопедического лечения.

Материалы и методы. В ходе исследования были проанализированы различные литературные источники. На кафедре ортопедической стоматологии и ортодонтии РязГМУ проводились клинические наблюдения за 20 пациентами в различные сроки ортопедического лечения съемными протезными конструкциями, используемыми после удаления зубов. На основании проведенного исследования планировалось определить ключевые механизмы воспаления, репарации и ангиогенеза для создания рациональной тактики разрешения послеоперационных воспалительных осложнений.

Результаты. В ходе исследования были выделены и систематизированы следующие основные этапы воспалительных и репаративных процессов после удаления зубов. Так, активность воспалительного процесса после оперативного вмешательства, при отсутствии осложнений, закономерно снижается в пределах 4-6 суток, после чего нарастает фаза рубцевания дефекта, продолжающаяся до 30 суток [5]. Доступным методом определения процесса воспаления в области раневого дефекта является проба Шиллера-Писарева [2]. Данный метод полезен при выявлении хронического воспаления, формирующегося вследствие низкой активности аэробных гликолитических реакций в области ранозаживления. Указанная проба позволяет выявить наличие гликогена в тканях при активности реакций гликолиза при воспалении. В

этом случае положительная проба определяется способностью гликогена давать окраску тканевой поверхности в ответ на йодсодержащий раствор. Также данная проба выявляет наличие ферментов, таких как кислая фосфатаза, которая преобладает в лизосомах и эндоплазматической сети клеток хронического продуктивного воспаления, и неспецифическая эстераза. Известно также, что эластин дает положительное окрашивание при взаимодействии с йодсодержащим раствором [3]. При воспалении гликоген присутствует в тканях как субстрат для течения гликолитических процессов, сохраняется на поздних стадиях воспаления, накапливается нейтрофилами, а также присутствует в адвентиции сосудов. Кислая фосфатаза и неспецифическая эстераза присутствуют в месте фагоцитарной активности макрофагов и фибробластов, причем фермент кислая фосфатаза указывает именно на пролиферативную фазу воспаления. При этом макрофаги сохраняются в месте прошедшей активной фазы воспаления на протяжении длительного времени и присутствуют в месте хронического воспалительного процесса. При макрофагальной активности, во многом при фагоцитозе, как одной из основополагающих функций этих клеток, течение гликолиза в очаге воспаления сменяется с анаэробного на аэробный, усиливается процесс окисления ферментов, а также процесс окислительного фосфорилирования. Анаэробный гликолиз также сохраняется, но после перехода в пролиферативную фазу будет сменяться на аэробные условия его протекания. При избыточном количестве АДФ, которое начинает появляться на стадии венозной гиперемии, повышается уровень и активность фермента фосфофруктокиназа, которая, в свою очередь, потенцирует активность гликолиза. Однако при активном синтезе АТФ снижается содержание фосфофруктокиназы, активность гликолитических реакций умеренно снижается. Возможно, что в данном случае выработка энергетического субстрата переходит на аэробный путь, при котором образуется пируват и, в условиях недостатка кислорода, особенно в фазе альтерации и экссудации, вырабатывается молочная кислота. В случае появления достаточного количества кислорода, пируват поступает в цикл Кребса, который является источником необходимых ферментов, позволяющих макрофагам осуществлять фагоцитоз и на более поздних стадиях воспаления. Таким образом, макрофаги сохраняются в очаге пролиферации и при дальнейших процессах репарации зоны повреждения. Благодаря этому с помощью метода витальной окраски йодным раствором возможно выявить скрытое воспаление в области раневого дефекта тканей вследствие наличия макрофагов в тканях, потенцирующих для своей активности гликолиз. Вновь образующаяся заместительная ткань потенциально активно кровоснабжается. При этом активность макрофагов поддерживается на данном этапе без участия анаэробного гликолиза, так как кровь выступая переносчиком кислорода обеспечивает аэробные условия в очаге репарации, но в адвентиции сосудов все еще сохраняется

некоторый запас гликогена [1]. По наличию гликогена с помощью метода окраски можно предполагать процесс и степень активности ангиогенеза в месте тканевого повреждения после стихания основной фазы воспаления при репарации дефекта.

В случаях течения воспаления по продуктивному типу в большей мере выявляются аэробные реакции окислительно-восстановительного цикла с преобладанием полиморфных клеток, образование сосудистой сети активное, в меньшей мере протекают реакции гликолиза. Однако выявление реакций гликолиза с помощью метода окраски в случае хронизации процесса с низкой продуктивностью пролиферации и репарации является важным фактором для своевременной коррекции формирования краев раневого дефекта с помощью формирующего и замещающего ортопедического протеза. Это позволит оптимизировать процесс организации тканей с подавлением нежелательных воспалительных эффектов в месте дефекта.

Выводы. Понимание патофизиологической и гистохимической основы движения морфологии воспалительных и регенеративных процессов позволит направить внимание врача-стоматолога именно на те процессы затяжного воспаления в области раневого дефекта, которые могут своевременно и достоверно указать на затруднение физиологической репарации при использовании доступных диагностических методов.

Список литературы:

1. Быкова Н.И., Кобылкина Т.Л., Лайпанова Ф.М., Адамчик А.А. Активность окислительно-восстановительных, гликолитических ферментов и фосфатаз при гранулематозном периодонтите. Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2016. 60(4). 55-58.

2. Гуйтер О.С., Олейников А.А., Мжаванадзе Н.Д., Калиновский С.И. Применение окрашивания слизистой оболочки полости рта для контроля за течением скрытых воспалительных явлений на этапе формирования протезного ложа с помощью имедиат-протезов. GeorgianMedicalNews. 2021. 318(9). 43-49.

3. Дурново Е.А., Беспалова Н.А., Янова Н.А., Корсакова А.И. Анализ хирургических методов увеличения ширины кератинизированной прикрепленной десны. Научный посыл высшей школы – реальные достижения практического здравоохранения: Сборник научных трудов, посвященный 30-летию стоматологического факультета Приволжского исследовательского медицинского университета. – Нижний Новгород: «Ремедиум Приволжье». 2018.

4. Ершов К.А., Севбитов А.В., Шакарьянц А.А., и др. Оценка адаптации к съемным зубным протезам у пациентов пожилого возраста. Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2017. 5(4). 469-476.

5. Кузин М.И., Костюченко Б.М. Раны и раневая инфекция. М.: «Рипол Классик». 2009. 552 с.

ТЕЧЕНИЕ НОВОЙ КОРОНОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19 У ПАЦИЕНТОВ С СОПУТСТВУЮЩИМИ ХРОНИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

С.Н. Райцев

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. По данным Росстата за 2020 год в России 4303000 человек имеют хронические сердечно-сосудистые заболевания. А по данным НМИЦ им. В.А. Алмазова, в 2020 году от болезней системы кровообращения умерло 944 843 человека.[1] Хронические сердечно-сосудистые заболевания являются фактором риска осложненного течения многих заболеваний, в том числе инфекционных. Новая короновиральная инфекция COVID-19 не является исключением. Пандемия короновиральной инфекции COVID-19 (COronaVirus Disease-2019), которую вызывает новый штамм коронавируса – SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus-2), явилась причиной стремительного роста числа заболевших и высокой смертности во всем мире [3, 5]. Несмотря на тропизм SARS-CoV-2 к легочной ткани, имеется высокий риск развития полиорганной недостаточности, в том числе из-за поражения сердечно-сосудистой системы [4]. Вирусная инфекция может дестабилизировать состояние сердечно-сосудистой системы, что значительно снижает шанс выживаемости при сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваниях [3].

Цель исследования. Оценить влияние хронической сердечно-сосудистой патологии на течение COVID-19.

Материалы и методы. Одномоментное ретроспективное наблюдательное исследование проводилось с использованием данных пациентов, госпитализированных в период с 14.01.2021 по 22.07.2021 в ГБУ РО «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Рязань. За время наблюдения было проанализированы данные 235 пациентов, поступивших в инфекционное отделение. Среди всей выборки наблюдалось следующее распределение по гендерному признаку, на основании которого сформированные две когортные группы: мужчин – 110, женщин – 125 человек. Средний медианный возраст составил $Me_{общ}=65$ [57;71] лет ($Me_{муж} = 62,5$ [53;70] года, $Me_{жен} = 67$ [61;73] лет). Было обнаружено, что сердечно-сосудистые заболевания присутствуют у 83,4% пациентов. Чаще всех встречалась гипертоническая болезнь (у 82,1% пациентов), реже ИБС (у 31%), ХСН (у 25,1%). Все пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от степени поражения легких в соответствии с данными компьютерной томографии. У первой группы

данные КТ соответствовали категориям КТ-0, КТ-1, КТ-2 (поражение легких от 0% до 50%) (n= 155). У второй группы степень поражения была на уровне КТ-3, КТ-4 (поражение легких от 50 до 100%) (n=80). Всем пациентам исследовали уровень ферритина и С-реактивного белка. Статистическая обработка выполнена с помощью пакетов MicrosoftOfficeExcel 2019, Statistica. Определяли стандартные статистические параметры: Me с верхним и нижним квартилями [LQ;HQ]. Категориальные переменные между группами сравнивались с помощью критерия Мана-Уитни.

Результаты. В результате проведенного исследования было определено, что наличие сопутствующей патологии в 1 группе составило 84,5%(n=131) для ГБ, ИБС страдали 32,2%(n=50) пациентов, на долю ХСН пришлось 23,87%(n=37). Для 2 группы распределение было таковым: ГБ присутствовала у 77,5%(n=62) пациентов, на долю ИСБ и ХСН пришлось 28,75%(n=23) и 27,5%(n=22) соответственно (рис 1).

Мультиморбидность выявлялась примерно у 50% пациентов.

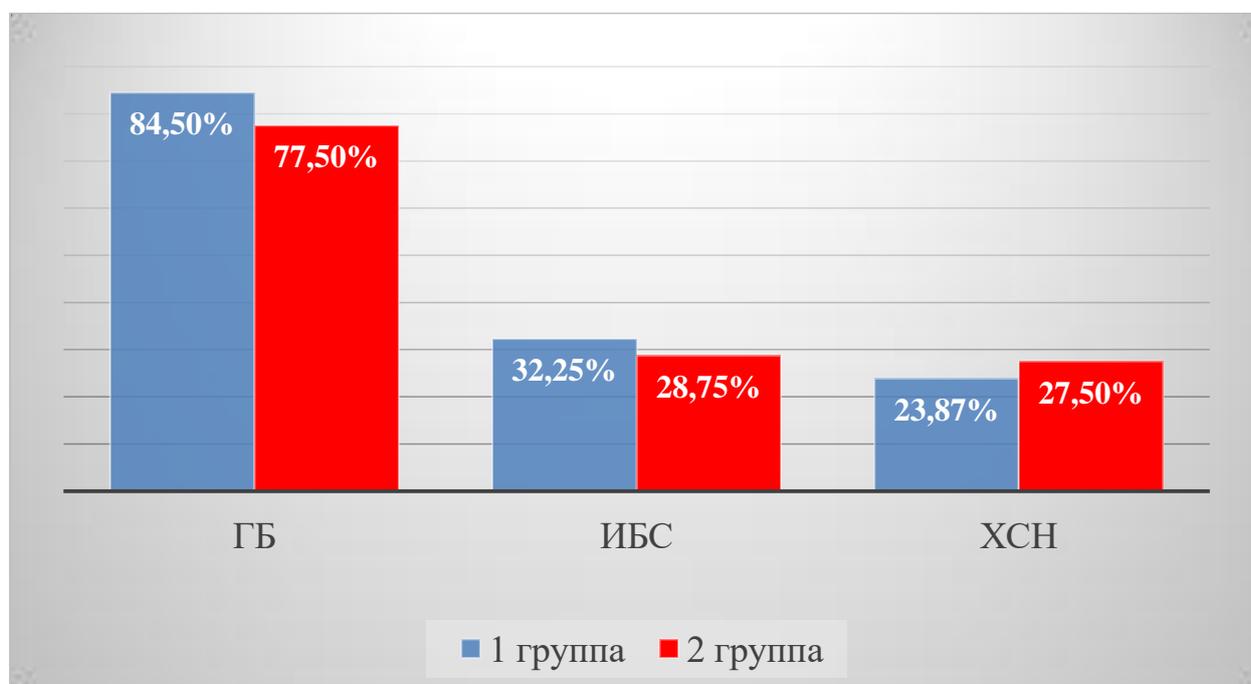


Рисунок 1. Распределение пациентов сопутствующей сердечно-сосудистой патологией

В результате проведенного исследования было выявлено, что показатели С-реактивного белка у второй группы пациентов при каждой сопутствующей сердечно-сосудистой патологии (ГБ – 97,82 [37,5; 146]мг/л, ИБС – 106,66 [34,25; 152,5] мг/л, ХСН – 91,26 [23,7; 149] мг/л) были выше, чем у первой группы (ГБ – 62,84 [21,9; 87,9] мг/л, ИБС – 56,15 [20; 79] мг/л, ХСН – 49,74 [20; 58] мг/л), однако статистическую значимость имели только показатели у пациентов с ИБС в анамнезе (p=0,009).

Показатели уровня ферритина в анализах крови второй группы пациентов в каждой подборке сопутствующей сердечно-сосудистой патологии так же были выше (ГБ – 375,62 [215; 365] мкг/л, ИБС – 422,2 [215; 562] мкг/л, ХСН – 317,8 [235; 356] мкг/л), чем в первой группе пациентов (ГБ – 229,24 [150; 239] мкг/л, ИБС – 203,71 [148; 245] мкг/л, ХСН – 267,5 [200; 310,5] мкг/л). Не было обнаружено статистически значимых отличий ни в одной подборке, кроме пациентов с ГБ в анамнезе ($p=0,04$).

Заключение. Проведенное исследование доказывает, что наличие сопутствующей сердечно-сосудистой патологии в анамнезе у пациентов с COVID-19 оказывает влияние на тяжесть течения новой коронавирусной инфекции, и должно учитываться при выборе тактики лечения.

Список литературы:

1. Бойцов С.А., Драпкина О.М., Шляхто Е.В., Конради А.О., Баланова Ю.А., Жернакова Ю.В., Метельская В.А., Ощепкова Е.В., Ротарь О.П., Шальнова С.А. Исследование ЭССЕ-РФ (Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в регионах Российской Федерации). Десять лет спустя. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2021;20(5):3007.

2. Бубнова М.Г., Аронов Д.М. COVID-19 и сердечно-сосудистые заболевания: от эпидемиологии до реабилитации. Пульмонология. 2020; 30 (5): 688–699. DOI: 10.18093/0869-0189-2020-30-5-688-699

3. Временные методические рекомендации «ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (COVID-19)» (версия 14 от 27.12.2021) https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/059/041/original/BMP_COVID-19_V14_27-12-2021.pdf

4. Руководство Российского кардиологического общества по диагностике и лечению болезней системы кровообращения (БСК) в контексте пандемии COVID-19 <https://scardio.ru/content/Guidelines/COVID-19.pdf>

5. World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) situation report – 48. Available at: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200308-sitrep-48-covid-19.pdf?sfvrsn=16f7ccef_4 [Accessed: March 9, 2020].

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ГЕРПЕТИЧЕСКОГО СТОМАТИТА

С.Э. Реук, Н.А. Терехина

ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России,
г.Пермь, Российская Федерация

Актуальность. В настоящее время мировое сообщество столкнулось с угрозой вирусных пандемий. Лидирующее место среди вирусных заболеваний человека занимает герпетическая инфекция. Клиническим проявлением первичного инфицирования является острый герпетический стоматит (ОГС), который в дальнейшем может принимать хроническую рецидивирующую форму [6]. Показано, что высокая патогенность герпесвируса в несколько раз увеличивает риск коинфицирования и персистенции SARS-CoV-2 в эпителиальных клетках слизистой полости рта [7]. Вирус простого герпеса, реплицируя в лимфоцитах, перестраивает ферментные системы клеток и действует на биомембраны [1, 4]. Разработан способ оценки эффективности лечения детей больных ОГС по биохимическому анализу слюны. Коэффициент соотношения Cu/Ca в слюне детей после лечения ОГС при значении равном или ниже 45 свидетельствует о неэффективной терапии [3].

Цель. Сравнить возможность использования показателей белкового и минерального обменов в крови и слюне детей для оценки эффективности лечения острого герпетического стоматита.

Материалы и методы. Проведен биохимический анализ слюны и плазмы крови 28 детей больных герпетическим стоматитом. Исследовано содержание белков острой фазы воспаления: орозомукоида, С-реактивного белка (СРБ), α 1-антитрипсина, трансферрина, преальбумина, микроальбумина, альбумина, церулоплазмина, общего белка, а также кальция, магния, меди и цинка. Контролем служили слюна и кровь 45 здоровых детей.

Результаты. В слюне здоровых детей с возрастом уровень СРБ, церулоплазмина увеличивается, а микроальбумина, преальбумина, α 1-антитрипсина снижается. Изменение уровня белков, повышение содержания минеральных веществ в слюне здоровых детей связано с возрастными морфологическими особенностями тканей пародонта и пропускной избирательной способностью гематосаливарного барьера для электролитов и протеинов [5].

В связи с интенсивной саливацией при ОГС уровень общего белка в слюне детей снижается, тогда как в крови его концентрация остается без изменений (таблица 1). Содержание гликопротеинов в плазме крови и слюне детей при герпетическом стоматите коррелирует со степенью тяжести воспалительного процесса тканей полости рта: уровень α 1-

антитрипсина возрастает в 2 раза, СРБ, орозомукоида – в 3-4 раза. Содержание преальбумина и микроальбумина увеличивается только в слюне, тогда как в крови не наблюдается изменений их концентрации, что позволяет считать эти белки маркерами проницаемости гематосаливарного барьера.

Таблица 1. Содержание белков в слюне и плазме крови детей при остром герпетическом стоматите

	Слюна		Плазма крови	
	Здоровые	ОГС	Здоровые	ОГС
Общий белок, г/л	4,42±0,27	2,78±0,25*	74,82±2,48	68,42±1,95
СРБ, мг/л	1,10±0,11	3,22 ± 0,53*	2,84±0,28	9,54±1,85*
Орозомукоид, мг/дл	2,81±0,44	11,18±0,92*	71,0±6,46	173,11±13,78*
α ₁ -антитрипсин, мг/дл	4,43±0,50	9,53±1,33*	150,44±12,4	203,67±13,21*
Церулоплазмин, мг/л	20,27±5,21	80,80±10,6*	290,48±14,52	672,63± 56,3*
Трансферрин, мг/дл	16,1±1,56	8,94±1,15*	203,78±9,58	243,11±19,15
Преальбумин, мг/дл	5,71±0,55	10,84±1,18*	20,94 ±2,69	23,72 ± 2,60
Микроальбумин, мг/л	13,69±1,10	43,12±6,16*	–	–

*p < 0,05

Ранее было показано, что герпетический стоматит у крыс сопровождается увеличением концентрации орозомукоида, СРБ, α₁-АТ, микроальбумина, преальбумина в плазме крови и гомогенатах слизистой полости рта не только инфицированной, но противоположной стороны, что указывает на структурные изменения и повышение проницаемости тканей полости рта вне зависимости от очага изъязвления [2]. По-разному изменяется содержание белков-антиоксидантов в слюне детей при герпетическом стоматите. Уменьшение содержания трансферрина в смешанной слюне свидетельствует о снижении антиоксидантной защиты тканей полости рта. Множественные афтозные элементы нарушают структуру слизистой оболочки, поэтому наибольшее увеличение содержания церулоплазмينا в слюне и крови наблюдается при средней степени и тяжелом ОГС.

Отражением существенных молекулярных сдвигов, происходящих в тканях пародонта при тяжелом ОГС, является увеличение в 5-10 раз в смешанной слюне уровня магния, цинка – почти в 2 раза, а содержание кальция возрастает в 4-5 раз по сравнению с группой здоровых детей (рис. 1). В крови детей при герпетическом стоматите в 1,5 раза снижается содержание цинка. Уровень меди в слюне и плазме крови детей увеличивается почти в 2-3 раза при ОГС средней степени тяжести и снижается при тяжелом течении заболевания. После проведенной терапии содержание белков и электролитов в слюне не нормализовалось почти у половины пациентов, преимущественно после тяжелого и средней степени тяжести ОГС.

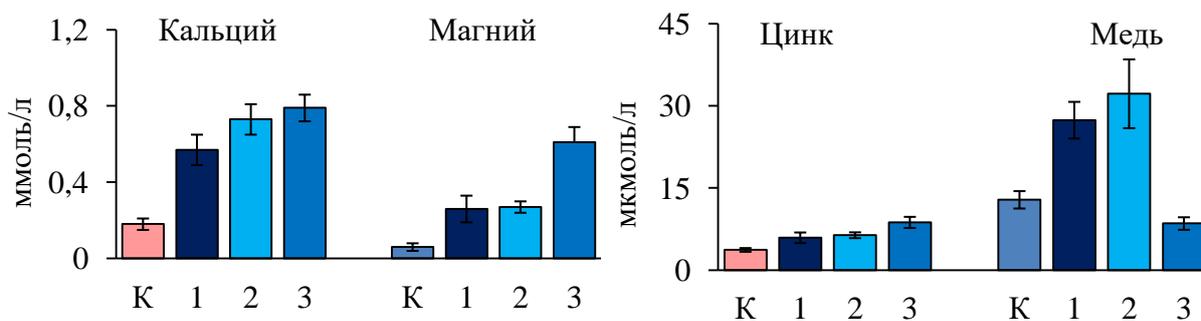


Рисунок 1. Содержание минеральных веществ в слюне детей при остром герпетическом стоматите: К – контроль, 1 – легкая степень ОГС; 2 – средняя степень тяжести ОГС, 3 – тяжелая степень ОГС

Выводы. Показателем, позволяющим оценить эффективность лечения заболевания, следует считать коэффициент количественного соотношения концентрации меди к уровню кальция в слюне детей. Определение гликопротеинов в слюне детей при этой патологии рекомендовано для оценки тяжести воспаления пародонта.

Список литературы:

1. Петрович Ю.А., Терехина Н.А. Ферментная стратегия вируса простого герпеса. Успехи современной биологии. 1990. Т.109, №1. 77-89.
2. Реук С.Э., Терехина Н.А. Белки слизистой оболочки полости рта при экспериментальном герпетическом стоматите. Казанский медицинский журнал. 2015. Т.96, №5. 854-857.
3. Реук С.Э., Терехина Н.А. Разработка способа оценки эффективности лечения детей больных герпетическим стоматитом. Клиническая лабораторная диагностика. 2020. Т.65, №5. 269-274.
4. Терехина Н.А., Петрович Ю.А. Активность антиоксидантных ферментов и хемилюминесценция лимфоцитов периферической крови при инфицировании глаза вирусом простого герпеса. Вопросы медицинской химии. 1992. Т.38, №5. 62-63.
5. Терехина Н.А., Реук С.Э., Петрович Ю.А., Атаманова Т.И. Белки острой фазы воспаления в слюне детей при герпетическом стоматите и гингивостоматите. Российский стоматологический журнал. 2010. №4. 17-19.
6. Яновский Л.М., Ковтонюк П.А. Острый герпетический стоматит у детей: алгоритм лечебных мероприятий. Сибирский медицинский журнал. 2015. №1. 126-128.
7. Bordan Z., Gaudin A., Struillon X. et al. Periodontal pockets: a potential reservoir for SARS-CoV-2? Med. Hypotheses. 2020. V.143. 109907.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА И ФИБРИНОЛИЗА У ПАЦИЕНТОВ С ИНФАРКТОМ МИОКАРДА

А.В. Саратовцев¹, Н.Ю. Русецкая¹, В.Б. Бородулин^{1,2}

¹ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ Минздрава России, г. Саратов, Российская Федерация, ²ФГБОУ ВО Российский технологический университет Минобрнауки России (РТУ МИРЭА), г.Москва, Российская Федерация

Актуальность. К настоящему моменту известно, что сердечнососудистые заболевания (ССЗ) и их осложнения могут быть вызваны полиморфизмами генов гемостаза (F1 (FB) (-455 G > A), FII (20210 G > A), FV (1691 G > A) и фибринолиза (PAI-1 4 G / 5 G). Кроме того, полиморфизмы генов гемостаза и фибринолиза опасны рисками тромбообразования и тромбоэмболии [3-6].

Цель. В этой связи целью нашего исследованию явилось изучение полиморфизмов генов гемостаза (F1 (FB) (-455 G > A), FII (20210 G > A), FV (1691 G > A) и фибринолиза (PAI-1 4 G / 5 G) у больных инфарктом миокарда.

Материалы и методы. Полиморфизмы генов системы гемостаза (F1 (FB) (-455 G > A), FII (20210 G > A), FV (1691 G > A) и фибринолиза (PAI-1 4 G / 5 G) изучали методом гибридизации с использованием ФИБР-БИОЧИПА [1] и определяли по интенсивности флуоресценции. ДНК выделяли из лейкоцитов венозной крови 50 пациентов, перенесших инфаркт миокарда.

Статистическая обработка (критерий Шапиро-Уилкса, Т-критерий Манна-Уитни) проводились на персональном компьютере с использованием программы Microsoft Excel [2].

Результаты. В 32 из 50 образцов ДНК обнаружены полиморфизмы генов системы гемостаза (F1 (FB) (-455 G > A), FII (20210 G > A), FV (1691 G > A) и фибринолиза (PAI-1 4 G / 5 G). Гомозиготные мутантные полиморфизмы F1 (FB) (-455 G>A), FII (20210 G>A), FV (1691 G>A), и PAI-1 4 G / 5 G выявлены у пяти (10%), шести (12%), трех (6%) и семи (14%) пациентов соответственно. У двоих пациентов, перенесших инфаркт миокарда, определялись одновременно мутации FGB (-455 A/A) и PAI-1 (675 5G/5G) и еще у двоих пациентов – мутации F I (-455 A/A) и F II (20210 A/A). Сочетание этих мутаций коррелировало с тяжестью инфаркта миокарда.

Выводы. В этой связи целесообразным является проведение персонализированного обследования и лечения пациентов, страдающих ССЗ. Кроме того, в современных условиях борьбы с коронавирусной инфекцией стоит учитывать частоту осложнений тромбозами, особенно у пациентов с сердечнососудистой патологией.

Список литературы:

1. Бородулин В.Б., Шевченко О.В., Свистунов А.А., Железинская Н.В., Горошинская И.А., Саратовцев А.В., Бычков Е.Н., Барыльник Ю.Б., Колесниченко Е.В., Абросимова Ю.С., Бобылева Е.В. Технология и применение ДНК-биочипов. Известия ВУЗов.Северо-Кавказский регион. Естественные науки. 2012. (1). 82-86.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ. Ю.А. Данилова; под ред. Н.Е. Бузикашвили, Д.В. Самойлова. – М.: Практика. – 1998. - 459 с.
3. Субботовская А.И., Цветовская Г.А., Слепухина А.А., Лифшиц Г.И. Полиморфизм гена ингибитора активатора плазминогена в оценке риска развития тромбозов различной локализации (пилотное исследование). Российский кардиологический журнал. 2015. (10). 50-53.
4. Федорова С.Б., Кулагина И.В., Рябов В.В. Полиморфизмы генов факторов системы гемостаза у пациентов с невыраженными изменениями коронарных артерий при остром коронарном синдроме. Кардиология. 2019.59(10). 14-22.
5. Gu L., Wu G., Su L., Yan Y., Long J., Tan J., Liang B., Guo X., Huang G. Genetic polymorphism of β -fibrinogen gene-455G/A can contribute to the risk of ischemic stroke. *Neurol Sci.* 2014. 35(2).151-161.
6. Zhang Q., Jin Y., Li X., Peng X., Peng N., Song J., Xu M. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 4G/5G promoter polymorphisms and risk of venous thromboembolism - a meta-analysis and systematic review. *Vasa.* 2020. 49(2). 141-146.

АНАЛИЗ ИМТ И НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИПИДНОГО СПЕКТРА У ПАЦИЕНТОВ С АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

Е.К. Соловей, А.И. Онощенко, А.М. Густиневич

УО «ГрГМУ», г.Гродно, Беларусь

Актуальность. Научные исследования во всем мире, в том числе и Беларуси постоянно демонстрируют широкую распространенность среди населения разных возрастных групп основных сердечно-сосудистых заболеваний, в особенности ишемической болезни сердца (ИБС) и инфаркта миокарда, фиксируя высокую долю смертности и инвалидизации от этих заболеваний [1]. Наибольшие проблемы в этом плане составляют острые формы ИБС, проявляющиеся в виде острого инфаркта миокарда или нестабильной стенокардии.

Анализ основных возрастно-половых особенностей риска ИБС дают основание утверждать, что мужской пол связан с более высоким риском

неблагоприятных коронарных событий и летальных исходов ИБС в сравнение с женским полом [2].

На сегодняшний день особую диагностическую роль играют методы, позволяющие визуализировать стенку коронарных артерий, одним из которых является коронарная ангиография, которая по праву является «золотым стандартом» диагностики ИБС [3].

Выделяют более 250 факторов риска развития ИБС, которые можно подразделить на 2 типа: корригируемые и некорригируемые. К некорригируемым факторам риска относят: мужской пол (в возрасте 30-69 лет), возраст и генетические факторы, включающие наличие в анамнезе случаев ИБС, возникших до 55-65 лет, а также отягощенную наследственность, способствующую развитию дислипидемии, сахарного диабета, гипертензии [4]. Среди частично корригируемых факторов выделяют: артериальная гипертензия, избыточная масса тела/ожирение, гиперхолестеринемия, гипертриглицеридемия. К корригируемым факторам риска относятся: потребление алкоголя, курение, несбалансированное питание [5].

Как было отмечено выше, важными факторами развития ИБС являются избыточная масса тела и дислипидемии, характеризующиеся высоким уровнем общего холестерина крови (ОХС) и триглицеридов (ТАГ), что и обусловило актуальность настоящего исследования.

Цель. Оценка состояния передней межжелудочковой ветви, ИМТ и некоторых показателей липидного спектра крови у пациентов с различными клиническими формами ИБС.

Материалы и методы. В ходе исследования использовались данные стационарных карт пациентов Гродненского областного клинического кардиологического центра, госпитализированных как в плановом, так и в экстренном порядке в период апрель-май 2019 года. Общее количество пациентов составило 64 человека.

Статистический анализ проводился методами математической статистики (пакет программ Microsoft word – Excel).

Индекс массы тела (ИМТ) рассчитывали по стандартной формуле. Из клинических биохимических показателей учитывали общий холестерин крови (ОХС) и триглицериды (ТАГ).

Результаты. В данной работе использовали коронарографическую классификацию атеросклеротического поражения артерий: стеноз I степени – облитерация 50% площади просвета; стеноз II степени – облитерация от 50% до 75% площади просвета; стеноз III степени – облитерация от 75% до 90% площади просвета; стеноз IV степени – облитерация более 90% площади просвета.

В ходе предварительного анализа было установлено, что у 78,13% пациентов наблюдался стеноз правой межжелудочковой ветви - второй сегмент.

Согласно коронарографической классификации и результатов обследования все пациенты были распределены на четыре группы: стеноз I степени – 6% пациентов, стеноз II степени – 10% пациентов, стеноз III степени – 53% пациентов, стеноз IV степени – 31% пациентов.

В первой группе преобладали пациенты с нормальным индексом массы тела – 67%; ожирение I степени отмечалось у 33%. Клинические биохимические показатели – ОХС и ТАГ находились в пределах нормы. Средний возраст пациентов данной группы составил 64 ± 2 , в данной группе преобладали мужчины (соотношение мужчины: женщины составило 2:1). При этом 70% пациентов данной группы были госпитализированы в экстренном порядке. Пациенты со стенозом I степени имели значения ОХС, не выходящие за пределы нормы, (ОХС ниже 5,17 ммоль/л), а также допустимые показатели для ТАГ – 0,15–1,71 ммоль/л.

Стеноз II степени наблюдался у 10% пациентов, из которых 30% были доставлены в плановом и 70% в экстренном порядке. Соотношение мужчины: женщины в данной группе составило 2:1. Возрастной показатель составил 59 ± 8 . Данная группа пациентов характеризовалась показателями ИМТ и липидного профиля сходными с таковыми у пациентов первой группы.

Стеноз III степени отмечался у 53% пациентов, причем большинство из них (56,9%) были госпитализированы в плановом порядке. Установлено, что у 50% пациентов данной группы наблюдалась избыточная масса тела. Биохимические показатели варьировались, причем у 34,61% пациентов был превышен ОХС, а у 19,23% превышены значения триглицеридов. Соотношение мужчин и женщин в этой группе составило 8:1. Средний возраст пациентов исследуемой группы – 63 ± 6 лет.

Стеноз IV степени отмечался у 31% пациентов, из них 80% были госпитализированы в экстренном порядке. В данной группе также преобладали мужчины (4:1), и присутствовали две возрастных категории пациентов: 50-59 лет и 70-79 лет. Большинство пациентов данной группы имели избыточную массу тела, причем у 60% отмечалось ожирение I степени, а у 20% – ожирение II степени. Следует отметить, что у 60% пациентов данной группы отмечалась гиперхолестеринемия и гипертриглицеридемия.

Выводы. Проведенное исследование позволяет констатировать следующее:

1. Наиболее распространенным осложнением ИБС в исследуемой группе пациентов является стеноз правой межжелудочковой ветви;

2. Стеноз как осложнение ИБС чаще встречается у мужчин, чем у женщин, особенно стеноз высокой степени (III - IV степень);

3. Выраженные изменения в метаболическом статусе пациентов, проявляющиеся в гиперхолестеринемии, гипертриглицеридемии и сопровождающиеся значительным повышением ИМТ и ожирением, ассоциированы с облитерацией коронарной артерии III - IV степени.

Список литературы:

1. Карнаухова, И.В., Анализ липидного профиля пациентов ОКБ № 1 города Оренбурга как возможный критерий семейной гиперхолестеринемии/ О.Ю. Ширяева, Е. М. Алехина, А.И. Онощенко, В.В. Минакова// Современные проблемы гигиены, радиационной и экологической медицины : сб. науч. ст. - 2018. – Вып. 8. – 44-57 с.
2. Кухарчук, В.В., Заключение совета экспертов по изучению атеросклероза / В. В. Кухарчук, С. А. Бойцов // Атеросклероз и дислипидемии. – 2015. – № 3. – С. 5-15
3. Diagnosis and treatment of heart deases [Электронныйресурс] / G. K. Hovingh [et al.] // Eur. Heart J. – 2018. – Vol. 4. – P. 956–963. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz015>. – Дата доступа: 03.01.2022.
4. Coronary artery disease. / J. Pang [et al.] // J. Clin. Lipidol. – 2018. – Vol. 5. – P. 683–697.
5. Heart disease and stroke statistics / M. V. Go [et al.] // . – 2019 update: a report from the American Heart Association. – 2019. – 219(2). – P. 248–252.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ОСТРОГО ПОЧЕЧНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ (обзор литературы)

Д.А. Соловых¹, Р.С. Кавгиев^{1,2}

¹ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация,
²ГБУ РО «ГКБ№11», г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. В конце 2019 года мир столкнулся с новой смертельно угрозой – пандемией опасного вируса COVID-19, течение которого может варьировать от легких форм, не требующих какого-либо лечения, до тяжелых респираторных патологий, синдрома полиорганной недостаточности и смерти. При этом довольно часто одним из органов, который страдает от COVID-19, являются почки. В зарубежных источниках было описано, что у более 35% больных поступивших в стационар, обнаруживались те или иные почечные патологии, включая острое почечное повреждение (ОПП) [3]. Сам же термин ОПП (Острое Почечное Повреждение) фигурирует в медицине относительно недавно, придя на замену термину ОПН (Острая Почечная Недостаточность), что было связано с определенными трудностями унификации критериев диагностики и прогнозирования тяжести поражения почечной ткани. Сейчас под ОПП понимают быстрое (а иногда и молниеносное) развитие дисфункции почек в результате непосредственного действия повреждающих факторов ренального, пре-, или пост-ренального генеза. Исходя из отчетов коллег из Европы и Америки, ОПП весьма нередко развивалось среди тяжелобольных пациентов с коронавирусной

инфекцией, поражая около 40% пациентов, поступающих в реанимацию [4].

Хочется отметить, что ОПП является не только весомой медицинской, но еще и социальной проблемой, поскольку является мультиэтиологическим состоянием, может протекать достаточно тяжело, а исходы обычно остаются неудовлетворительными, с высокими процентами летальности и инвалидизации населения.

Столкнуться с данной патологией могут врачи множества специальностей: согласно сведениям отечественных и зарубежных специалистов, у 52,5% пациентов с воспалением лёгких, у 48,6% с патологиями сердечно-сосудистой системы и у 68,4% с сепсисом помимо основного заболевания развивалось и ОПП.

На сегодняшний день в клинической практике ОПП определяют согласно критериям KDIGO, где основная роль стратификации тяжести процесса отводится двум показателям: уровню сывороточного креатинина (sCr) и объему диуреза. Однако, эти параметры далеки от идеала, а особенно креатинин. Его концентрация в сыворотке крови зависит от многих факторов, которые порой могут и не иметь отношение к повреждению органа: мышечная масса, расовые особенности, возраст, беременность, пол, наличие сопутствующих заболеваний, особенности питания и диеты и др. Исходя из вышесказанного, перед учеными встала задача о поиске иных диагностических биомаркеров, обладающих более высокой специфичностью и позволяющих определить локализацию повреждения нефрона, определить риски развития осложнений/летального исхода и возможные схемы лечения. Помимо этого, идеальный маркер должен без труда определяться в биологических жидкостях, обладать определенной стабильностью в среде, его концентрация должна напрямую зависеть от повреждения почек и, желательно, мог бы определять локализацию ОПП (пре-, пост- или ренальный вариант).

Цель. Изучить и описать важнейшие биохимические маркеры ОПП, указав их преимущество перед рутинными методами, используемыми в лечебно-профилактических учреждениях, такими как определение уровня мочевины сыворотки крови и клиренс-тест креатинина.

Материалы и методы. В процессе написания статьи было изучено несколько отечественных клинических рекомендаций по нефрологии, множество зарубежных и отечественных статей и диссертаций, посвященных диагностике ОПП и определению соответствующих биомаркеров, а так же анализ историй болезней нефрологического и гемодиализного отделений ГБУ РО «ГКБ№11» с последующей консультацией врачей-специалистов.

Результаты. За последние несколько лет были выявлены следующие биохимические маркеры, клиническое тестирование по которым обладает не только достаточным уровнем чувствительности, но и позволяет установить локализацию повреждения, сделать прогноз течения

заболевания в будущем: 54 3 160 NGAL (LCN2), KIM-1, L-FABP, HIF- 1 α , IL-18, Кальпротектин (Calprotectin), сывороточный Цистатин С (Serum Cystatin C), α -1-М, IGFBP7, TIMP-2, YKL-40/ Vpr39, UMOD, TNF- α . и др. Остановимся подробнее на некоторых из них.

Сывороточный цистатин С (Cystatin C) – белок с относительно небольшой массой молекулы, состоит из 122 аминокислотных остатка. Основная функция цистатина – это ингибирование цистеиновых протеиназ. Синтез цистатина осуществляется во всём организме и невозможен только в безъядерных клетках, он свободно фильтруется через гематканевую барьер нефрона и затем подвергается реабсорбции в проксимальных канальцах, соответственно повышение его концентрации в сыворотке свидетельствует о развивающейся в вышеуказанных структурах патологии [2].

NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin; липокалин ассоциированный с желатиназой нейтрофилов, LCN2; онкоген 24p3) - протеин, представляющий из себя гетеродимер (m=135 кДа) мономера липокалина (m=25 кДа), подвергнувшегося ассоциации с желатиназой зернистых лейкоцитов – нейтрофилов. Белок является наиболее изученным биомаркером ОПП.

NGAL эффективнее в диагностике ОПП, чем прочие маркеры, так как уже спустя два часа с момента развития патологии наблюдается скачок концентрации белка с последующим достижением максимума к четвертому часу и сохранению данного уровня в течение двух суток.

При достаточно сильном поражении фильтрующего аппарата, обнаружить NGAL в моче можно даже на 5 сутки после повреждения [5]. Помимо высокой чувствительности и специфичности, с помощью NGAL можно предсказывать риск летального исхода и начала заместительной почечной терапии.

KIM-1 (kidney injury molecule, молекула почечного повреждения 1) – это интегральный протеин, имеющий в составе углеводный компонент, имеет массу 38,7 кДа и имеет домен, по строению схожий с таковым у иммуноглобулинов, экспрессируется в основном в проксимальных канальцах. Имеются предположения, что биологическая роль данной молекулы – участие в регенеративных процессах при повреждении эпителия. В норме в почечной ткани данного белка фактически нет, однако его экспрессия значительно возрастает в ответ на поражение клеток тубулярного эпителия. Данные клинических исследований подтвердили значимость и важность определения KIM-1 в моче в качестве биомаркера ОПП, особенно при остром канальцевом некрозе, т.к. являлся высокочувствительным предиктором высокого уровня летальности и необходимости начала заместительной почечной терапии методом аппаратного гемодиализа [6].

IL-18 (интерлейкин-18; фактор, индуцирующий IFN γ) – пептид – провоспалительный цитокин массой 24 кДа, после синтеза активируется

каспазой-1 и накапливается в иммунокомпетентных клетках, в том числе и в клетках почечного эпителия. На практике использование ИЛ-18 в 54 137 161 качестве биомаркера нашло применение в кардиохирургии, где в ряде случаев увеличение концентрации ИЛ-18 в плазме крови служило вестником назревающего ОПП. Помимо этого, в экспериментах было установлено, что введение ИЛ-18-связывающего белка перед воздействием ишемии на животную модель привело к снижению тяжести поражения клеток нефрона, что открывает возможности использования анти-ИЛ-18 непосредственно в лечении ОПП.

L-FABP (fatty acid binding protein 1, печеночный протеин, связывающий жирные кислоты) – это представитель суперсемейства внутриклеточных белков, способных связывать липиды, свободные жирные кислоты, -эндо и фитоканнабиониды и прочие липофильные вещества. L-FABP впервые был обнаружен в печени (основное место синтеза), однако в достаточных концентрациях обнаруживается в желудке, лёгких и почках (в проксимальных канальцах). В норме не обнаруживается в моче, т.к. полностью фильтруется и абсорбируется в почках, и попадает в мочу лишь при повреждении почечных канальцев, чем и обуславливается его роль биомаркера ОПП. Данный белок является эффективным маркером развития ОПП у детей, перенесших кардиохирургическую операцию с АИК, и позволяет спрогнозировать риск гибели пациента с сепсисом.

Кальпротектин (Calprotectin)-олигопептид ($m=24$ кДа), состоит из S100A8 и S100A9 субъединиц. Впервые был обнаружен в цитозоле нейтрофилов, в связи с чем изначально приписываемая ему функция – противомикробная. Кальпротектин может синтезироваться эпителиоцитами (внутриклеточная форма) собирательных канальцев в результате воздействия ишемии, обнаруживаться в моче спустя 2ч с момента действия фактора гипоксии, а макс. концентрация достигается к 48ч и сохраняется на высоком уровне в течение 5 суток. В экспериментальных условиях было показано, что нокаутные по S100A9 мыши более подвержены фиброзу почек вследствие ишемического воздействия, что объясняется усиленной активацией M2-клеток [7].

YKL-40 (хрящевой гликопротеин) – сложный белок, имеющий в составе углеводный компонент, участвует в таких процессах как: регенерация тканей, развитие воспаления, обладает цитопротекторным свойством. Путём активации M2-макрофагов, YKL-40 способствует ограничению апоптоза и защите тканей от действия окислителей. В организме YKL-40 локализуется преимущественно в лёгочной ткани, однако, согласно недавним исследованиям, белок можно использовать в качестве маркера ОПП. Обладая цитопротективным свойством, YKL-40 секретируется / абсорбируется в почечных канальцах после ишемического воздействия, из-за чего белок может быть обнаружен в моче при ОПП и являться маркером патологического процесса.

Выводы. В нашей статье мы постарались рассмотреть некоторые соединения из панели биомаркеров острого почечного повреждения, немного рассказали об их строении, функциях и их диагностической роли. Конечно же, в данной статье мы не смогли привести и охарактеризовать абсолютно все биохимические маркеры ОПП, ведь наука и медицина не стоят на месте и постоянно происходят всё новые и новые открытия: одни соединения приобретают медицинскую и диагностическую важность, другие же наоборот – теряют её. Однако мы призываем как ученых, так и клиницистов смотреть на проблему диагностики ОПП шире, нежели делать ключевые ставки на «рутинные» показатели креатинина, мочевины и объема диуреза!

Список литературы:

1. Нефрология. Клинические рекомендации / под ре. Е.М. Шилова, А.В. Смирнова, Н.Л. Козловской.-М.: ГЭОТАР-Медиа,2020.- с561-616.
2. Каюков И.Г., Смирнов А.В., Эмануэль В.Л. Цистатин С в современной медицине. Нефрология. 2012;16(1):22-39.
3. Cheng Y., Luo R., Wang K. et al. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. *Kidney Int* 2020; 97: 829-38.
4. Acute kidney injury in COVID-19 patients. ESICMtv Webinar. Posted April 17, 2020.
5. Liu, X.L. Plasma neutrophil-gelatinase-associated lipocalin and cystatin C could early diagnosecontrast-induced acute kidney injury in patients with renal insufficiency undergoing an elective percutaneous coronary intervention / X. L. Liu, Z. J. Wang, Q. Yang [et al.] // *Chin. Med. J. (Engl)*. – 2012. – Vol. 125. - № 6. – P. 1051-1056.
6. Koyner JL, Vaidya VS, Bennett MR Urinary biomarkers in the clinical prognosis and early detection of acute kidney injury. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5(12):2154-1265.
7. Dessing MC, Tammaro A, Pulskens WP, Teske GJ, Butter LM, Claessen N, van Eijk M, van der Poll T, Vogl T, Roth J, Florquin S, Leemans JC. The calcium-binding protein complex S100A8/A9 has a crucial role in controlling macrophage-mediated renal repair following ischemia/reperfusion. *Kidney Int*. 2015;87:85–94.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ SARS-COV2 АССОЦИИРОВАННОЙ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ

Л.В. Спирина^{1,2}, Д.А. Дьяков¹, О.Е. Акбашева¹, И.Ю. Шувалов¹,
А.Е. Кебекбаева¹, В.Н. Масунов¹, Н.В. Масунова¹

¹Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Российская Федерация, ²Томский национальный исследовательский медицинский центр, НИИ онкологии, г. Томск, Российская Федерация

Актуальность. В основе инфицирования вируса SARS-CoV2 лежит воспаление с активацией протеолитических ферментов, как на местном, так и на системном уровнях [3]. Входными воротами для вируса является рецептор АПФ 2 типа, CD147, DPP4 (дипептидилпептидаза-4), ANPEP (аланил аминопептидаза), ENPEP (глутамиламинопептидаза) и NRP-1 [5].

Ключевыми протеолитическими ферментами нейтрофилов и макрофагов, обеспечивающим развитие воспалительной реакции являются трипсиноподобные и эластазоподобные протеиназы [4], которые могут участвовать в развитии острого респираторного синдрома (ОРДС) [1].

Ведущим патогенетическим синдромом при COVID-19 является активация протеиназ свертывающей системы с образованием тромбина, который осуществляет превращение фибриногена в фибрин, приводя к развитию тромбофилии и ДВС-синдрома [6]. Кроме непосредственного участия в активации гемостаза, тромбин запускает активацию тромбоцитов через PAR4, что приводит к увеличению синтеза и секреции тромбоксана A₂, провоспалительных факторов IL-1b, RANTES [2, 7].

В настоящее время нет биохимических маркеров COVID-19, которые были бы способны предсказать тяжёлую форму заболевания, развитие ОРДС и летального исхода. Имеются сведения, что тяжесть заболевания может определяться характером метаболических и биохимических изменений, затрагивающих деятельность многих внутренних органов.

Цель исследования заключалась в изучение активности протеолитических ферментов, α_1 -протеиназного ингибитора, содержания PAR4, нейропилина в сыворотке крови больных с внебольничной пневмонией на фоне инфицирования SARS-CoV2.

Материал и методы. В исследование включено 92 пациента с диагнозом внебольничная двусторонняя полисегментарная пневмония на фоне новой коронавирусной инфекции SARS-CoV2. Выявление РНК SARS-CoV-2 осуществлялось с применением методов амплификации нуклеиновых кислот в мазках из носоглотки. Тяжесть острого респираторного дистресс-синдрома оценивалась по соотношению парциальное давление артериального кислорода к фракции вдыхаемого кислорода (PaO₂/FiO₂).

Возраст пациентов варьировал от 30 до 80 лет. 23 человека (25.0%) составили группу <45 лет; 25 человек (27.1%) попали в возрастную

категорию от 45-59; -31 (33.7%) – в 60-75 и 13 (14.2%) человек были старше 75 лет.

В контрольную группу включены 30 здоровых пациентов (в возрасте 56.8 (45.6; 65.38) лет). У данных лиц был отрицательный результат ПЦР на РНК SARS-CoV2, а также отсутствовали в сыворотке крови антитела, связанные с SARS-CoV2.

Активность α 1-протеиназного ингибитора (α 1-ПИ) определяли по торможению аргинин-эстеразной активности трипсина. Активность трипсиноподобных протеиназ определяли по гидролизу синтетического субстрата N-бензоил-L-аргинин-этиловый эфир (БАЭЭ). Активность эластазоподобных протеиназ измеряли по скорости гидролиза p-нитрофенилового эфира N-бутилоксикарбонил-L-аланина (БАНЭ). Содержание PAR4 и нейропиллина измеряли при помощи иммуноферментного анализа набором Cloud-Clone Corporation (США).

Результаты. Активность α 1-ПИ повышалась как при внебольничной пневмонии, так и при пневмонии, ассоциированной с COVID-19, соответственно, в 1,5 раза и 1,4 раза, по отношению к контрольной группе. Активность трипсиноподобных протеиназ при внебольничной пневмонии увеличилась в 2 раза, а при сочетании с COVID-19 – в 4,8 раза, по сравнению с контрольной группой. Активность эластазоподобных протеиназ при пневмонии возрастала незначительно, а при пневмонии, развивающейся на фоне COVID-19, увеличение составило 3,5 раза по сравнению с контролем.

Содержание PAR4 в сыворотке крови больных с внебольничной пневмонией на фоне инфицирования вирусом SARS-Cov2 при поступлении в стационар было выше в 1,25 раза по сравнению с практически здоровыми лицами. Показано, что при ОРДС содержание PAR4 возрастало еще больше, в 1,75 раза превышало уровень контроля и в 1,4 раза - уровень PAR4 у пациентов без признаков ОРДС.

Содержание нейропиллина в сыворотке крови пациентов внебольничной пневмонией на фоне SARS-CoV2 было увеличено в 1,9 раза по отношению к практически здоровыми лицами. При развитии дыхательной недостаточности (ДН) зафиксированы изменения содержания данного белка. В группе пациентов без сахарного диабета провели исследование уровня нейропиллина выявлено, что содержание изучаемого белка было повышено как у лиц с содержанием глюкозы < 6 ммоль/л, так и у больных с увеличением глюкозы > 6 ммоль/л, соответственно, в 1,9 раза и 2,5 раза по отношению к здоровым лицам.

Выводы. Таким образом, коронавирусная инфекция, осложненная пневмонией, сопровождается увеличением активности α 1-ПИ, трипсино- и эластазоподобных протеиназ в плазме крови больных. Уровень PAR4 может быть ранним признаком неблагоприятного течения COVID-19: увеличение ассоциировано с наличием ОРДС. Выявлено повышение содержания нейропиллина в сыворотке крови пациентов с SARS-CoV2-

ассоциированной пневмонией, в том числе с гиперглиемией.

Список литературы:

1. Carroll E.L., Bailo .M, Reihill J.A., Crilly A., Lockhart J.C., Litherland G.J., Lundy F.T., McGarvey L.P., Hollywood M.A., Martin S.L. Trypsin-Like Proteases and Their Role in Muco-Obstructive Lung Diseases. *Int J Mol Sci*. 2021. 22(11):5817.
2. French S.L., Arthur J.F., Lee H., Nesbitt W.S., Andrews R.K., Gardiner E.E., Hamilton J.R. Inhibition of protease-activated receptor 4 impairs platelet procoagulant activity during thrombus formation in human blood. *J ThrombHaemost*. 2016. 14(8). 1642-54.
3. Guéant JL, Guéant-Rodriguez RM, Fromonot J, Oussalah A, Louis H, Chery C, Gette M, Gleye S, Callet J, Raso J, Blanchecotte F, Lacolley P, Guieu R, Regnault V. Elastase and exacerbation of neutrophil innate immunity are involved in multi-visceral manifestations of COVID-19. *Allergy*. 2021. 76(6). 1846-1858.
4. Karampoor S, Hesamizadeh K, Maleki F, Farahmand M, Zahednasab H, Mirzaei R, Banoun H, Zamani F, Hajibaba M, Tabibzadeh A, Bouzari B, Bastani MN, Laali A, Keyvani H. A possible pathogenic correlation between neutrophil elastase (NE) enzyme and inflammation in the pathogenesis of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Int Immunopharmacol*. 2021. 100. 108137.
5. Masre S.F., Jufri N.F., Ibrahim F.W., Abdul Raub S.H. Classical and alternative receptors for SARS-CoV-2 therapeutic strategy. *Rev. Med. Virol*. 2021. (5). 1-9.
6. McGonagle D., O'Donnell J.S., Sharif K., Emery P., Bridgwood C. Immune mechanisms of pulmonary intravascular coagulopathy in COVID-19 pneumonia. *Lancet Rheumatol*. 2020. 2(7). 437-e445.
7. Rovai E.S., Alves T., Holzhausen M. Protease-activated receptor 1 as a potential therapeutic target for COVID-19. *ExpBiol Med (Maywood)*. 2021. 246(6).688-694.

ЗНАЧЕНИЕ МЕТОДА ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ В НЕОНАТАЛЬНОМ СКРИНИНГЕ

Е.И. Шумская^{1,2}, Н.В. Рубан², О.Б. Серебрякова²

¹ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация,

²ГБУ РО «Областной клинический перинатальный центр», г. Рязань,
Российская Федерация

Актуальность. Неонатальный скрининг – это комплекс мероприятий, направленных на выявление наследственных заболеваний новорожденных при отсутствии клинических симптомов. Критерии

эффективности скрининга разработаны еще в 1968 году Wilson и Junger (утверждены ВОЗ) [4]. В них отмечается, что лабораторный тест, используемый для скрининга, должен быть точным, приемлемым для обследования большого по численности контингента (популяции), достаточно простым в осуществлении, безопасным и относительно недорогим. В настоящее время проведение неонатального скрининга обеспечивается методом иммунофлуоресценции, показавшим высокую эффективность на практике и отвечающим всем необходимым требованиям.

Цель. Проанализировать значение проведения двукратного биохимического скрининга болезней обмена веществ методом иммунофлуоресценции в современных условиях.

Материалы и методы. Анализ литературы и статистических данных лаборатории неонатального скрининга медико-генетической консультации (МГК) г.Рязани.

Результаты. Первое обследование новорожденных на болезни обмена веществ началось с анализа на фенилкетонурию (ФКУ) в мире в 1963 году, в нашей стране в 1986 году и с 1991 года в Рязанской области. Для исследования использовался метод тонкослойной хроматографии на пластинах «Силуфол». С 1995 года детей в Рязани обследуют на ФКУ и гипотиреоз методом иммунофлуоресценции. С 2006 года, согласно Приказу Минздравсоцразвития РФ "О массовом обследовании новорожденных детей на наследственные заболевания" [1] внедрена система неонатального скрининга на 5 заболеваний: фенилкетонурию, галактозэмию, муковисцидоз, адреногенитальный синдром и гипотиреоз [2]. В Рязанской области лаборатория неонатального скрининга оснащена в рамках реализации нацпроекта «Здоровье» в 2007 году, установлена комплектная многофункциональная лаборатория для иммунофлуоресцентного анализа «Дельфия» и иммунодиагностический анализатор «Автодельфия» (в 2014 году). Исследование DELFIA Neonatal – это твердофазный флуориметрический двухсайтовый метод, основанный на прямой «сэндвич» модели, в которой моноклональные антитела с флуоресцентной меткой направляются против отдельных антигенных детерминант на молекуле исследуемого вещества. Степень флуоресценции пропорциональна концентрации исследуемого вещества в пробе.

За 15 лет работы лаборатории методика зарекомендовала себя как эффективный способ выявления болезней обмена веществ, соответствующий всем предъявляемым критериям. Показана высокая точность и результативность диагностики как в Рязанской области, так и по России [6].

Недостатком иммунофлуоресцентного метода является необходимость проводить 5 независимых анализов для каждого новорожденного. Новые технологии позволяют сделать неонатальный скрининг более эффективным.

Таблица 1. Количество проведенных исследований методом иммунофлуоресценции за 15 лет

Год	Количество обследованных детей	Выявленные случаи заболеваний				
		Фенилкетонурия	Муковисцидоз	Адреногенитальный синдром	Гипотиреоз	Галактоземия
2007	10434/3266	3			1	
2008	11172	3	1	2	3	1
2009	11283	1		1	3	1
2010	11464	2	2		1	1
2011	9308	1	1		4	
2012	11953	3	1	2	2	
2013	12120	3	2		6	
2014	12105	1			3	
2015	11525	3	1	2	4	
2016	11525	2	1	1	1	
2017	10553	1	1	2	1	
2018	9935	1	2	1	2	
2019	8974	3		1	2	
2020	8476	1			1	1
2021	7786	1		3	1	
Итого	158613	29	12	15	35	4

С 2023 года планируется расширение объема исследований до 36 заболеваний за счет внедрения метода тандемной масспектрометрии [3], позволяющего диагностировать 29 заболеваний за один тест, таких как нарушения обмена аминокислот, окисления жирных кислот, лизосомных болезней накопления и других. Также планируется внедрение молекулярно-диагностических методов для выявления таких социально-значимых заболеваний как спинальная мышечная атрофия и первичные иммунодефициты [5]. Но для ряда заболеваний флуориметрические методики остаются оптимальным способом диагностики, с возможностью работать на уже имеющемся в медико-генетических консультациях оборудовании.

Выводы. Метод иммунофлуоресцентного анализа для выявления наследственных заболеваний и болезней обмена является надежным и актуальным даже в условиях перехода на современный высокотехнологичный метод тандемной масс-спектрометрии при проведении расширенного неонатального скрининга.

Список литературы:

1. Приказ Минздравсоцразвития РФ от 22.03.2006 N 185 "О массовом обследовании новорожденных детей на наследственные заболевания" (вместе с "Положением об организации проведения массового обследования новорожденных детей на наследственные заболевания",

"Рекомендациями по забору образцов крови при проведении массового обследования новорожденных детей на наследственные заболевания")

2. Приказ Минздрава России от 15.11.2012 N 921н "Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю "неонатология"

3. Байдакова Галина Викторовна, Иванова Т.А., Захарова Е.Ю., Кокорина О.С. Роль тандемной масс-спектрометрии в диагностике наследственных болезней обмена веществ // РЖДГиО. 2018. №3. 96-105.

4. Воинова В.Ю., Школьникова М.А., Найговзина Н.Б. РЕСУРСЫ ОКАЗАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ БОЛЬНЫМ С ОРФАННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ В РАЗЛИЧНЫХ СТРАНАХ // Доктор.Ру. 2018. №4 (148). 6-13.

5. Дерябина С.С., Тузанкина И.А., Власова Е.В., Болков М.А., Шершнёв В.Н. Неонатальный скрининг на тяжелую комбинированную иммунную недостаточность в России: прекрасное далеко или завтрашняя реальность? // ВСП. 2017. №1. 59-66.

6. Донников М.Ю., Мещеряков В.В., Колбасин Л.Н., Коваленко Л.В. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДА ОЦЕНКИ РЕЗУЛЬТАТОВ НЕОНАТАЛЬНОГО СКРИНИНГА МУКОВИСЦИДОЗА // Рос вестн перинатол и педиат. 2020. №4. 230-231.

ВЛИЯНИЕ АЛЬФА-ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ НА СИСТЕМУ ГЕМОСТАЗА ПРИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

В.А. Щелконогов^{1,2,3}, А.М. Иншакова¹, Е.С. Дарнотук¹, А.В. Шипелова¹,
Н.С. Шастина¹, А.А. Юшина¹, О.А. Баранова^{2,3}, А.В. Чеканов^{2,3},
К.Д. Казаринов³, С.С. Суховольская⁴, В.П. Мудров^{4,5}, Э.Ю. Соловьева²,
А.И. Федин²

¹МИРЭА - Российский технологический университет (ИТХТ им. М.В. Ломоносова), г. Москва, Российская Федерация, ²ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И.

Пирогова Минздрава России, г. Москва, Российская Федерация, ³Фрязинский филиал ФГБУН «Институт радиотехники и электроники имени В. А. Котельникова» РАН, г. Фрязино, Российская Федерация, ⁴ГБУЗ «ДКЦ № 1 ДЗМ», г. Москва, Российская Федерация, ⁵ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Москва, Российская Федерация

Актуальность. Последствия COVID-19 вирусной инфекции респираторного эпителия включают дисфункцию и разрушение альвеолярного эпителия, а также увеличение проницаемости эндотелия капилляров [5]. При COVID-19 происходит повреждение эндотелия, приводящее к активации каскада коагуляции. В основе общего провоспалительного состояния может лежать опосредованный SARS-CoV-

2 окислительно-восстановительный статус в эндотелиальных клетках за счет активации пути рецепторов ACE/AngII/AT1 или увеличения выработки митохондриальных активных форм кислорода (mtАФК). Этот порочный круг между окислительным стрессом (ОС) и воспалением вызывает эндотелиальную дисфункцию, старение эндотелия, высокий риск тромбоза и коагулопатии. При тяжелой форме COVID-19 возникает повышенный риск артериального и венозного тромбоза, на что указывают изменения фактор фон Виллебранда (VWF), фибриногена, D-димера, протромбинового времени и АЧТВ [2]. VWF, проадгезивный гликопротеин, высвобождаемый активированными эндотелиальными клетками, значительно повышен у пациентов с COVID-19 [7]. Эндотелиит при COVID-19 может объяснить системное нарушение функции микроциркуляции в различных сосудистых руслах и связанные с этим клинические последствия у пациентов с COVID-19 [3].

Накопленные данные *in vitro* и *in vivo* продемонстрировали, что α -липоевая кислота (АЛК) через окислительно-восстановительный статус может модулировать течение инфекционного процесса, влияя на специфические и неспецифические факторы иммунитета, а также биохимические, коагулологические и другие параметры, связанные с инфекциями [1]. АЛК улучшает функцию эндотелия за счет восстановления эндотелиальной активности синтазы оксида азота и оказывает противовоспалительное действие, зависящее от ее антиоксидантных свойств [4]. Улучшая функцию митохондрий, АЛК может поддерживать гомеостаз тканей в критической ситуации, а за счет увеличения восстановленного глутатиона косвенно укреплять иммунную систему [6].

Цель. Определить влияние α -липоевой кислоты на систему гемостаза при новой коронавирусной инфекции.

Материалы и методы. Обследована плазма 20 пациентов обоего пола в возрасте 32-47 лет с диагнозом U 07.1 «Коронавирусная инфекция» на 7-ой день после установления диагноза. В качестве группы сравнения обследована плазма 14 здоровых пациентов обоего пола в возрасте 29-42 лет, не болевших коронавирусной инфекцией. Для определения антиагрегационной активности α -липоевой кислоты производили агрегометрию тромбоцитов с использованием прибора AggRam (Helena, Великобритания) при температуре 37°C. В качестве активатора использовали водный раствор арахидоновой кислоты. В ходе работы оценивались степень агрегации и скорость агрегации тромбоцитов.

Определение влияния α -липоевой кислоты на показатели плазменного звена гемостаза (АЧТВ, протромбин, фибриноген, тромбиновое время, фактор фон Виллебранда, D-димер) производилось на автоматическом коагулометре StarEvolution 5100 (Sysmex, Япония).

Для анализа различий количественных признаков в трех и более несвязанных группах использовался статистический критерий Краскелла-

Уоллиса ANOVA, в двух несвязанных группах применялся критерий Манна-Уитни. Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты. Мы наблюдали повышенные уровни активности VWF у пациентов с COVID-19 (180-220%) по сравнению с нормальными значениями $< 160\%$.

У пациентов с COVID-19 обнаружили более низкое время образования сгустка, более высокий угол альфа и повышенную максимальную плотность сгустка, что указывает на состояние гиперкоагуляции. Липосомы с α -липоевой кислотой снижали агрегацию на 20-40% в зависимости от концентрации α -ЛК (1-2 мМ/л).

Выводы. Липосомальная форма α -липоевой кислоты подавляет при новой коронавирусной инфекции агрегацию тромбоцитов. Благодаря небольшой концентрации липосомальной формы α -липоевой кислоты и пролонгированному высвобождению удается избежать побочного явления тромбоцитопении.

Список литературы:

1. Baral P.K., Amin M.T., Rashid M.O., Hossain M.S. Assessment of Polyunsaturated Fatty Acids on COVID-19-Associated Risk Reduction. *Rev Bras Farmacogn.* 2021 Dec 2 : 1–15.

2. Bertolin A.J., Dalçóquio T.F., Salsoso R., de M. Furtado R.H., Kalil-Filho R. et al. Platelet Reactivity and Coagulation Markers in Patients with COVID-19. *Adv Ther.* 2021 Jun 4 : 1–13.

3. Delshad M., Safaroghli-Azar A., Pourbagheri-Sigaroodi A., Poopak B., Shokouhi S., Bashash D. Platelets in the perspective of COVID-19; pathophysiology of thrombocytopenia and its implication as prognostic and therapeutic opportunity. *Int Immunopharmacol.* 2021;99:107995. doi:10.1016/j.intimp.2021.107995

4. Dragomanova S., Miteva S., Nicoletti F., Mangano K., Fagone P. et al. Therapeutic Potential of Alpha-Lipoic Acid in Viral Infections, including COVID-19. *Antioxidants (Basel).* 2021 Aug; 10(8): 1294.

5. Moolamalla S.T.R., Balasubramanian R., Chauhan R., Priyakumar U. D., Vinod P.K. Host metabolic reprogramming in response to SARS-CoV-2 infection: A systems biology approach. *Microb Pathog.* 2021 Sep; 158: 105114.

6. Rochette L., Ghibu S. Mechanics Insights of Alpha-Lipoic Acid against Cardiovascular Diseases during COVID-19 Infection. *Int J Mol Sci.* 2021 Aug; 22(15): 7979.

7. Ruberto F., Chistolini A., Curreli M., Frati G., Marullo A.G.M. et al. Von Willebrand factor with increased binding capacity is associated with reduced platelet aggregation but enhanced agglutination in COVID-19 patients: another COVID-19 paradox? *J Thromb Thrombolysis.* 2021 Jan 2 : 1–6.

ПРИКЛАДНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В РАЗВИТИИ ЗДОРОВЬЕСБЕРЕГАЮЩИХ И ПРИРОДООХРАННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

АНАЛИЗ О ФАКТОРАХ РИСКА САХАРНОГО ДИАБЕТА, ОСВЕДОМЛЁННОСТИ О РАСТИТЕЛЬНЫХ САХАРОПОНИЖАЮЩИХ ПРЕПАРАТАХ. ПРОФИЛАКТИКА

А. Амангельдинова, Р.Р. Олжаева, Г. Кизатова, И. Абдулкаримов,
Н. Хабибуллаев, А. Санаткызы

НАО медицинский университет Семей, г.Семей, Республика Казахстан

Актуальность. К сожалению сахарный диабет на сегодняшний день по прежнему является одной из важнейших медико-социальных проблем во всем мире. Данное заболевание часто сопровождается гипергликемией, то есть высоким уровнем глюкозы в крови, что в свою очередь приводит к повреждению многих систем организма. Конечно на данный момент существуют методы эффективного контроля и лечения заболевания.

На фоне этого за последнее десятилетие заметно растёт интерес к методам комплементарной и альтернативной медицины. Некоторые исследователи сообщают, что до 72,8% людей с сахарным диабетом применяли фитотерапевтическое лечение, диетические добавки и другие из методов комплементарно-альтернативной медицины, причем в большинстве случаев в качестве дополнения к традиционному медикаментозному лечению. Многие растительные средства обладают антиоксидантными свойствами, которые способны снижать уровень окислительного стресса – одного из ключевых патогенетических факторов развития диабета [2].

Растительные препараты содержат значительное количество активных компонентов, влияющих на разные звенья патогенеза сахарного диабета, что обеспечивает мультифакторный механизм воздействия на обмен веществ (Kar A. et al., 2003). Невысокая экономическая составляющая терапии на основе средств растительного происхождения и минимальное количество побочных эффектов в процессе лечения служат дополнительным обоснованием целесообразности их применения [5].

Цель. Анализ информированности студентов о сахарном диабете, факторах риска, осведомленности о знании и о применении растительных

сахаро-понижающих препаратах для лечения этого заболевания. Проведение профилактической работы среди обучающихся.

Материалы и методы исследования. Студенты 1-5 курса НАО МУС (медицинский университет семей) г. Семей. Поперечный метод исследования путем анкетирования среди студентов.

Результаты. Было проведено анкетирование среди студентов (154 человека) всех факультетов НАО МУС: Общая медицина (72,1%), Общественное здравоохранение (6,5%), Сестринское дело (1,9%), Фармация (5,8%), Стоматология (1,9%) и другие. Возраст опрошенных составлял 16-20 лет(85,6%) и 20-30 лет (14,1%).

Анкета состояла из следующих вопросов: - Знаете ли вы что такое «сахарный диабет»? 25 человек ответили отрицательно (16,23%), 129 человек из всех опрошенных (83,77%) ответили – знают. Болеете ли вы сахарным диабетом? Выявлено, что 1 из студентов болеет сахарным диабетом(2,2%), остальные 153 не болеют (97,8%). Болеют ли ваши родные и близкие этим заболеванием? Анализ анкет показал, что 107 человек ответили отрицательно(70,1%), остальные 46 ответили положительно(29,9%). Болеете ли вы другими болезнями, перечислите: 5 человек написали анемию (3,24%), 1 человек - дизагрегационнаятромбоцитопатию (1%), 1 человек -резидуальную энцефалопатию (1%), 2 человека - аллергии(1,29%), 1 человек - порок сердца и систольный шум (1%), 1 человек - синусовую пароксизмальную тахикардию(1%), 4 человека - хронический гастрит (2,59%), 1 человек - бронхит и пиелонефрит (1%), 1 человек - внутричерепное давление (1%), 1 человек - миопию (1%), 1 человек- рак (1%), 1 человек - недостаток йода (1%). Есть ли у вас избыточный вес? Оказалось, что у 131 нет (85,1%), а у 22 человек есть (14,3%). Употребляет ли вы алкоголь, курите? 10 человек - да (7,1%), остальные 144 человека - нет (93%). Занимаетесь ли вы спортом? 68 студента отметили вариант редко(44,8%), 74 студента занимаются на постоянной основе(48,7%), остальные 12 нет (7%). – Какие сахаропонижающие препараты знаете?Из 154 человек 6 отметили (3,89%) фиточай, отвары, настои и экстракты из трав, сахарозаменители. Остальные 148 студентов (96,1%) написали свои ответы: «Инсулин», «Глюконил (Метморфин)», «Манинил (Глибенкламид)», «Глюренорм», «Ксилит», «Сиафор», «Глюкофаж», «Гликлазид (Диабетон МВ)», «Глидиаб», «Антарис», «Актрапид», «Глимакс», «Глимепирид (Амарил, Диамерид, Глемаз», «Актрапид», «Сиофор», «Глемаз».

Выводы. По результатам проведенного опроса 16,23% проанкетированных не знали, что такое сахарный диабет. Среди опрошенных, у студентов есть родственники с данным заболеванием 29,9%, что указывает на фактор риска предрасположенности к сахарному диабету. Многие не знают свой уровень глюкозы в крови. Только 3,89% назвали растительные сахаро-понижающие препараты, как фиточай, настои, экстракты и сахарозаменители. Большинство студентов редко

занимаются спортом, имеют другие заболевания, некоторые курят, употребляют алкоголь и имеют избыточный вес, что всё же отрицательно влияет на организм человека.

Анализ анкет показал у 22 человек есть (14,3%) – лишний вес, употребляет алкоголь, курят – 10 человек - (7,1%), 68 студентов редко занимается спортом (44,8%), а остальные 12 нет (7%).

Есть риск генетической предрасположенности, как фактора риска. По некоторым литературным данным 2% от всех форм заболеваний диабетом являются следствием генетического дефекта, который был унаследован. Все остальные люди наследуют не болезнь, а различные предрасположенности (к ожирению, к перееданию, к накоплению токсических продуктов). Благодаря современным генетическим тестам, любой человек имеет возможность еще в молодом возрасте узнать о высоком риске развития сахарного диабета. На основе этих данных врач подбирает такому пациенту индивидуальную программу питания и профилактики, которая позволит существенно снизить риск возникновения сахарного диабета. Очень важно, пациенту строго и регулярно контролировать уровень глюкозы в крови и в случае ее повышения, принимать меры.

Надо отметить, что ожирение и сахарный диабет второго типа – это партнёры, которые нередко работают вместе. Полный человек имеет значительно больше шансов стать диабетиком. Поэтому, в случае наличия высокого риска сахарного диабета, человеку, в первую очередь, необходимо снижать вес до нормы в основном за счёт физической нагрузки и низкоуглеводной диеты, употреблять больше чистой воды. Такие простые рекомендации уже помогут снизить риск развития сахарного диабета второго типа вдвое [4].

Определить самый лучший препарат невозможно, все они лишь кирпичики в комплексном подходе. Успех в лечении сахарного диабета во многом зависит от пациента. Для того чтобы получить эффект от приема препаратов не только врач должен подобрать правильную схему и комбинировать препараты, учесть риски со стороны почек, сердца, сопутствующие заболевания.

От человека требуется изменить образ жизни, привычки питания, заняться физкультурой, проводить ежедневно мониторинг уровня глюкозы, вести дневник, соблюдать диету. Только вместе можно добиться стабильных цифр глюкозы в крови [4. 5].

Таким образом, можно сделать вывод, что если студенты будут проинформированы о таком коварном заболевании, как сахарный диабет, о его профилактике, знать и применять препараты при лечении и вести здоровый образ жизни, то меньше людей будут подвержены этой болезни. [1].

Список литературы:

1. Амангельдинова А., Кизатова Г., Хабибуллаев Н., Санаткызы А., Абдулкаримов И. Олжаева РР.. /Сахарный диабет. Растительные сахаропонижающие препараты. /Сборник внутривузовской научной конференции «Студенческое научное общество: естественные и медицинские науки», посвященной 30-летию Независимости Республики Казахстан 05 Ноября 2021 года г. Семей Стр -8-9
2. Дедов, Т.Л. Кураева, О.В. Ремизов и др.. /Генетика сахарного диабета у детей и подростков: пособие для врачей / И.И.— М., 2003. 72 с.
3. Под редакцией Дедова И.И., Шестаковой М.В., Майорова А.Ю. /Клинические рекомендации «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» 8-й выпуск
4. Шестакова М.В., Сухарева О.Ю. /Глифлозины: особенности сахароснижающего действия и негликемические эффекты нового класса препаратов//Клиническая фармакология и терапия 2016 №2
5. Ajit Kar 1, B K Choudhary, N G Bandyopadhyay. /Comparative evaluation of hypoglycaemic activity of some Indian medicinal plants in alloxan diabetic rats. Ethnopharmacol. 2003 Jan;84(1):105-8. doi: 10.1016/s0378-8741(02)00144-7.

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ ДОБАВКА К ПИЩЕ «СТАЛЬНИКА СИРОП ЭКОЛАБ»

К.В.Баландина, С.В.Холодков

ЗАО «ЭКОлаб», г.Электрогорск, Российская Федерация

Актуальность. В 1954 г. стальник полевой был разрешен к применению в медицине фармакологическим комитетом Министерства здравоохранения СССР. В 1974 г. в Московской клинической больнице имени Боткина (А.Д. Туровой) было проведено клиническое испытание корней стальника. Согласно результатам исследований у больных геморроем прекратились кровотечения, уменьшились боли, нормализовался стул – прекратились хронические запоры, самочувствие стало хорошим [1].

Состав: стальника корни, шиповника плоды, сок клюквы, вода очищенная, сорбитол, сорбат калия.

Отсутствие в сиропе спирта позволяет расширить его применение для лиц, занятых работой повышенной опасности (водители, охранники, военные и др.), принимающих несовместимые с алкоголем препараты: антибиотики, мочегонные, антигистаминные, разжижающие кровь, сосудосуживающие, и др.

Отсутствие сахара позволяет принимать сироп пациентам с высоким уровнем глюкозы в крови и лицам, контролирующим массу тела [2].

В состав БАД входят следующие компоненты:

- корень стальника снимает воспаления в области ЖКТ, оказывает мочегонное, слабительное действие, снижает кишечные и желудочные боли, позволяет быстрее заживить внутренние язвы и эрозии, снижает кровоточивость геморроидальных узлов, способствует уменьшению хрупкости и проницаемости капилляров.

- плоды шиповника оказывают желчегонное, общеукрепляющее действие на организм, применяются для лечения и профилактики гиповитаминозов, кроме того, экстракт шиповника придает тонус коже, способствуя ее регенерации.

- сок клюквы оказывает противовоспалительное, антибактериальное, тонизирующее, иммуностимулирующее действие, повышает сопротивляемость организма инфекциям.

- сорбитол незаменим, когда у пациента аллергия на другие медикаментозные средства, его природное происхождение не вызывает острую реакцию организма. Не является углеводом - применим для больных диабетом. Не вызывает раздражения слизистой ЖКТ, что позволяет использовать сорбитол при язве желудка и гастритах. Увеличивает объем содержимого толстой кишки. Повышает устойчивость кишечной микрофлоры. Стимулирует перистальтику и способствует успешному опорожнению кишечника. Сохраняет витамины группы В [3,4].

Рекомендации по применению: взрослым принимать по 2 чайные ложки (10 мл) 2 раза в день во время еды, запивая достаточным количеством воды. Продолжительность приёма – 2 недели. При необходимости приём можно повторить. Перед применением флакон взболтать [5, 6].

Вывод. БАД применяется при лечении и профилактике геморроя, хронических запоров, кишечных и желудочных болей, нарушениях функции желчевыводящих путей, дисбактериозов, гиповитаминозов, оказывает общие укрепляющее и антибактериальное действие на организм.

Список литературы:

1. В.В. Помазанов, С.Г. Марданлы, В.Ю. Борисов. ЭКОлогическая ЛАБоратория. Растительные настойки, сиропы и масла.

2. В.А. Киселева, С.Г. Марданлы, В.В. Помазанов, А.Н. Рябков. Некоторые аспекты «фито» и «апи» терапии. – Орехово-Зуево: Редакционно-издательский отдел ГГТУ, 2016.

3. В.В. Помазанов, С.Г. Марданлы, И.В. Болдырев. Вода+алкоголь. – Владимир; Электрогорск : Транзит –икс. 2015. – 328 с.

4. Введение в галенику: монография / В.В. Помазанов, С.Г. Марданлы, Е.П. Рогожникова, В.А. Киселева. – Орехово-Зуево: Редакционно-издательский отдел ГГТУ, 2016. – 356.

5. Муравьёва О. А. Стальник - *Ononis L.* Флора СССР. Т.11. Л., 1945. С. 94102.

6. Лекарственные растения Нахчыванской Автономной Республики / Составители: коллектив ученых Института Биоресурсов Нахчыванского отделения НАНА; Русское издание под общей редакцией Марданлы С.Г. Орехово-Зуево: РИО ГГТУ, 2018. 452 с.,: 132 цв. ил. + 30 карт, ISBN 978-5-87471-239-8.

7. Е.А. Ситникова, С.Г. Марданлы, Е.П. Рогожникова. Система фармаконадзора на реальном предприятии.

ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ

И.А. Борисов, В.А. Кирюшин, Е.В. Костюкова, Т.В. Моталова,
Д.С. Хренова, А.В. Чернокошкин

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. В ряде регионов Российской Федерации качество питьевой воды не соответствует заявленным гигиеническим нормативам. Основные причины ухудшения состава воды связаны с загрязнениями водоисточников, низкой санитарной надежностью систем водоподготовки и водораспределения, недостаточной водообильностью или дефицитом воды.

В соответствии с государственным докладом Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения по Рязанской области в 2020 году» за последние 10 лет отмечается увеличение доли населения, которая обеспечивается качественной питьевой водой. Но все же, по результатам социально-гигиенического мониторинга видно, что проблема с поставкой качественной питьевой воды наиболее актуальна.

Цель. Провести санитарно – гигиеническую оценку качества воды хозяйственно-питьевого водоснабжения г. Рязани по органолептическим и санитарно-химическим показателям.

Материалы и методы. Лабораторные исследования качества воды из водопроводной сети административных районов г. Рязани проводились в лаборатории кафедры профильных гигиенических дисциплин РязГМУ.

Отбор проб воды производился из бытовых водопроводных кранов согласно требованиям ГОСТ Р 59024-2020 «Вода. Общие требования к отбору проб». Всего за ноябрь-декабрь 2021 года была отобрана и анализирована 121 проба.

Исследования проводились согласно действующим методикам: ГОСТ Р 57164-2016 «Вода питьевая. Методы определения запаха, вкуса и мутности», ГОСТ 31868-2012 «Вода. Методы определения цветности», ГОСТ 4386-89 «Вода питьевая. Методы определения массовой концентрации фтора», ГОСТ 4011-72 «Вода питьевая. Методы измерения массовой концентрации общего железа», ГОСТ 4974-2014 «Вода питьевая. Определение содержания марганца фотометрическими методами». Органолептические (цветность) и санитарно-химические (общее железо, марганец, фториды) показатели определялись фотометрическим методом с помощью фотометра КФК-3-01 ЗОМЗ.

Определение величины водородного показателя проводилось потенциометрическим методом по ПНД Ф 14.1:2:3:4.121-97 Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений рН в водах потенциометрическим методом.

Проведена гигиеническая оценка показателей на соответствие СанПиН 1.2.3685 – 21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания» (глава 3).

Результаты. За период исследований были изучены органолептические свойства воды. Запах и привкус природная вода приобретает в результате протекания в ней различных биохимических реакций, растворения минеральных соединений, разложения и гниения органических веществ [2]. Наличие неприятного запаха и привкуса не всегда свидетельствует о загрязнении воды, но употребление ее становится маловероятным. Согласно требованиям СанПиН 1.2.3685 - 21 привкус и запах воды централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения должен быть не более 2 баллов. Все образцы исследуемой воды соответствуют гигиеническим нормативам.

Определение цветности воды происходило путем измерения оптической плотности проб воды с последующим определением значения цветности по градуировочной характеристике, установленной по растворам хром-кобальтовой шкалы цветности. Нормативный показатель цветности, согласно СанПиН 1.2.3685 - 21, не более 20 градусов. За весь период исследований величина цветности не превышала норматива.

Значения водородного показателя в исследуемых образцах варьируется в пределах 6,67-8,12 ед. при нормативе 6-9 ед.

В питьевой воде всех административных районов г.Рязани отмечается превышение содержания таких химических веществ, как железо и марганец.

Железо всегда присутствует в воде. Норма железа установлена по органолептическому лимитирующему показателю вредности, так как повышенные его концентрации проблема больше эстетическая. Высокий уровень железа придает воде характерный металлический запах и привкус, окрашивает ее в желтовато-бурый цвет [1].

В ходе проведенных исследований было обнаружено 43 нестандартные пробы. Доля нестандартных проб составила 35,54% со средним значением 0,47 мг/л. Отмечаются пробы с превышением предельно-допустимой концентрации, равной 0,3 мг/л, в 2-5 и более 5 раз.

Марганец, как и железо, является элементом 3 класса опасности. Повышенные концентрации марганца в воде приводят к риску развития болезней крови, заболеваний центральной нервной системы, возникновению аллергических реакций, мутаций [4].

Содержание марганца в исследованных пробах колебалось в пределах 0,002-0,22 мг/л при предельно-допустимой концентрации 0,1 мг/л. Из всего числа проб 21 проба не соответствует требованию СанПиН 1.2.3685 - 21, что составляет 17,36%.

В ходе проведенных исследований питьевой воды на определение содержания фторидов было установлено, что все пробы не превышают заявленный гигиенический норматив (ПДК=1,5 мг/л). Однако, из всей совокупности, 97,52% составляют пробы с очень низкими ($\leq 0,5$ мг/л) концентрациями фторид-аниона в питьевой воде. Поскольку фтор имеет важное значение для здоровья человека, а основной путь поступления в организм – водный, проведение гигиенической оценки качества питьевой воды по содержанию этого микроэлемента является актуальным и требует более детального изучения [3].

Выводы. Таким образом, вода, подаваемая населению города, не соответствует требованиям по химическому показателю. С целью улучшения качества питьевой воды необходимо выполнение мероприятий по улучшению водоподготовки, очистке питьевой воды и выполнение плана капитального ремонта инженерных сетей.

Список литературы:

1. Барабаш А.Л., Булгаков Н.Г. Влияние физико-химических свойств подземных питьевых вод на здоровье человека. Успехи современной биологии. 2015. №3.

2. Бодяковская Е.А., Щербин В.В. Качество воды из колодцев Мозырского района. Вестник. 2012. 4(37). 3-8.

3. Канатникова Н.В., Захарченко Г.Л. Физиологическая роль фтора и его содержание в питьевой воде Орловской области. Здоровье населения и среда обитания: ЗНиСО. 2010. 5 (206). 40-43.

4. Мазунина Д.Л. Негативные эффекты марганца при хроническом поступлении в организм с питьевой водой. Экология. 2015. 03.25-31.

ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ДНК АПТАМЕРА ИНГИБИТОРА ТРОМБИНА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ХРАНЕНИИ

О.А. Волошан, Д.А. Горшков

ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, г. Астрахань,
Российская Федерация

Актуальность. В последние десятилетия отмечается рост количества разрабатываемых лекарственных препаратов (ЛП), созданных биологическим путем (моноклональные антитела, полипептиды, РНК и ДНК олигонуклеотиды (аптамеры) и т.д. Это обусловлено развитием биотехнологий и высоким уровнем эффективности таких ЛП, меньшим количеством побочных эффектов.

Однако с точки зрения фармацевтической технологии и биотехнологии эти сложные субстанции имеют свои особенности в процессе синтеза, включения в лекарственные формы, транспортировки и хранения. После исследования потенциальных молекул начинается длительный процесс разработки ЛП и важным параметром является срок хранения фармацевтической субстанции.

Цель. Изучить стабильность ДНК аптамера ингибитора тромбина и его биологического эффекта при длительном хранении на протяжении 5 лет. Возможные методы исследования: эмпирические и расчётные. В нашей работе эмпирически был исследован срок возможного хранения ДНК аптамера ингибитора тромбина 31-RE [1, 2, 3].

Материалы и методы. Экспериментальное исследование ДНК аптамера ингибитора тромбина RE-31 провели на 17 белых беспородных крысах-самцах: 5 - контрольная группа, 12 - для изучения свойств ДНК аптамера. Определение функциональной стабильности аптамера ингибитора тромбина RE-31 при длительном хранении по показателям свертывания крови: активированному частичному тромбопластиновому времени (АЧТВ) и протромбиновому времени (ПТВ) в эксперименте *in vivo* на лабораторных животных.

Результаты исследования.

Исследовали функциональные свойства образцов ДНК аптамера ингибитора тромбина RE-31, хранившихся 5 лет, 3 года и синтезированного месяц назад с интервалами в 10, 60, 120 и 300 минут после введения препаратов. Были получены следующие результаты.

Показатели активированного частичного тромбопластинового времени сохраняются приблизительно на одном уровне на протяжении двух лет, что, в свою очередь, подтверждает сохранность структуры молекулы аптамера и, соответственно, его функциональной активности.

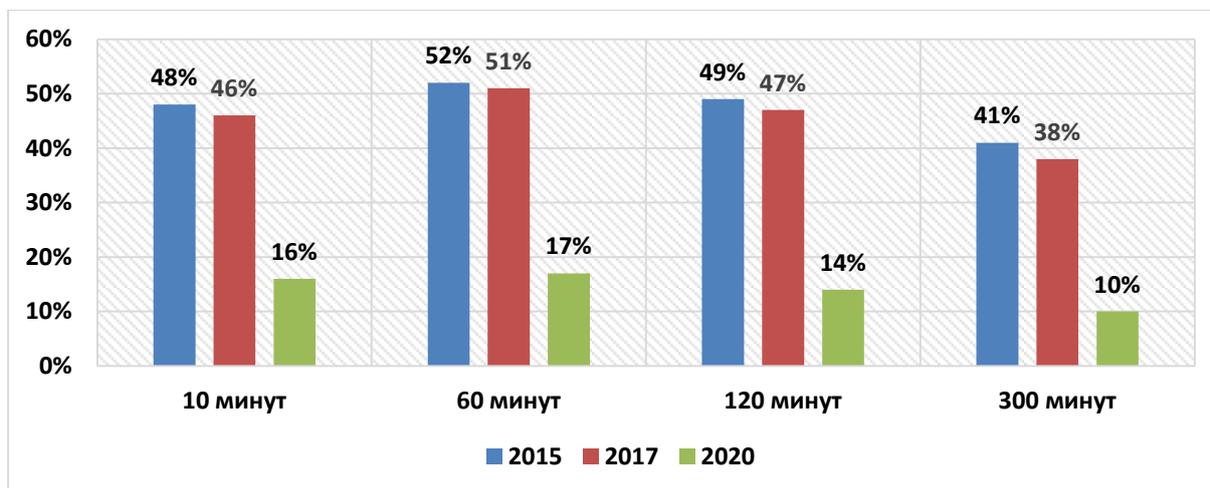


Рисунок 1. Удлинение времени АЧТВ в % по отношению к контролю на трех этапах хранения

Полученные данные по протромбиновому времени свидетельствуют о том, что количественные показатели внешнего пути свертывания сохраняют высокие значения и указывают на стабильность структуры так же, как и в предыдущем случае, при хранении аптамера на протяжении двух лет.

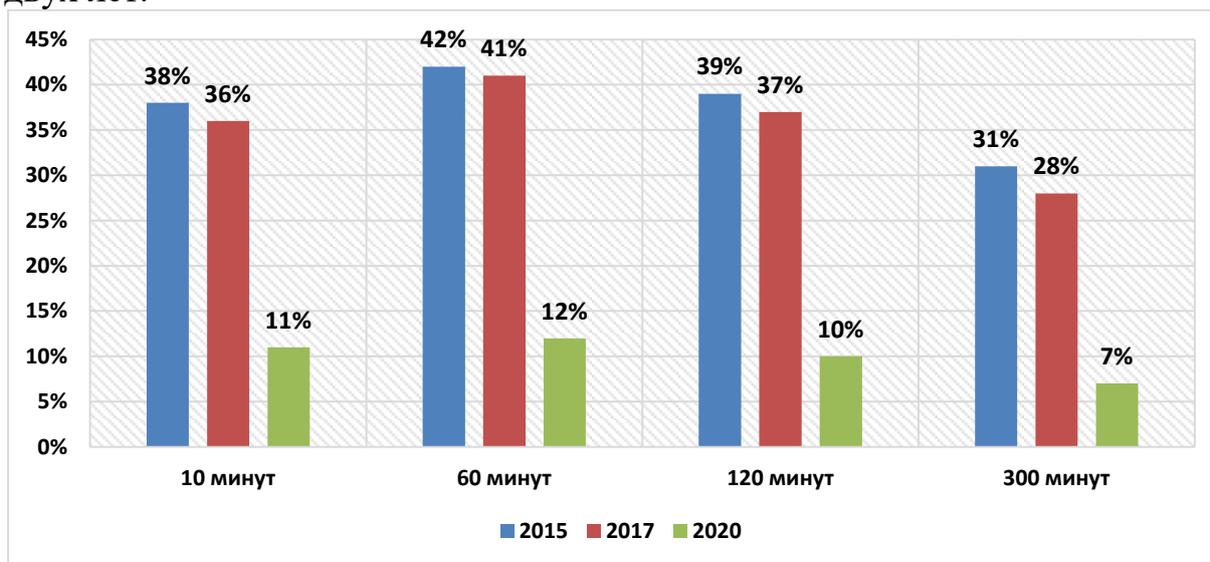


Рисунок 2. Удлинение ПТВ в % по отношению к контролю на трех этапах хранения

Выводы.

1. Результаты исследования свидетельствуют о том, что предполагаемый срок действия ДНК аптамеров составляет, как минимум, два года при небольшом снижении активности.

2. Необходимо дополнительно уточнить активность через 3 и 4 года, так как через 5 лет она резко снижена.

3. Подтверждение полученных предварительных данных позволит ускорить продвижение ДНК аптамеров ингибиторов тромбина в практическую медицину в качестве антикоагулянтов нового поколения.

Список литературы:

1. Никулина Д.М. Влияние ДНК-аптамеров (ингибиторов) тромбина на синдром гиперкоагуляции при кишечной непроходимости / Никулина Д.М., Дюкарева О.С., Тризно М.Н., Голубкина Е.В., Шишкина Т.А. // Материалы 88-й итоговой НП конференции сотрудников академии, врачей города и области «Актуальные вопросы современной медицины», Астрахань, 2011. – С. 51.

2. Шишкина Т.А. Морфологическая оценка распределения ДНК-аптамера ингибитора тромбина RE-31 в органах с обезвреживающей и выделительной функцией /Т.А. Шишкина, Д.М. Никулина, В.А. Спиридонова, Л.И. Наумова, И.С. Давлатова, Е.Ю. Панкрашова // Естественные науки. - 2017. - № 2 (59). - С.81-86.

3. Spiridonova V.A. Complex formation with protamine prolongs the thrombin-inhibiting effect of DNA aptamer in vivo / V.A. Spiridonova, T.M. Novikova, D.M. Nikulina, T.A. Shishkina, E.V. Golubkina, O.S. Dyukareva, N.N. Trizno // Biochimie. 2018, Feb; 145: 158-162. (Scopus, Impact Factor: 3.188, SJR 1.404)

4. Biochimie. doi: 10.1016/j.biochi.2017.09.010. Epub 2017 Sep 19. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/febs.12919/pdf>

МИКРОЭЛЕМЕНТОЗЫ: ПРИЧИНЫ, РАСПРОСТРАНЕНИЕ, КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ, ТЕРАПИЯ И ПРОФИЛАКТИКА МИКРОЭЛЕМЕНТОЗОВ (обзор литературы)

А.А. Дощенко¹, Ю.А. Марсянова²

¹МБОУ «Гимназия №9 имени дважды Героя Советского Союза С.Г. Горшкова» г.Коломна, Российская Федерация, ²ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Научное изучение физиологии обмена микроэлементов, их свойств и функций, а также понятие о микроэlementозах началось недавно, даже несмотря на то, что сами элементы были открыты и было давно доказано их присутствие в организме живых существ, в частности человека. Базовые понятия и основные положения этого направления научной деятельности заложил академик В.И. Вернадский. В тридцатые годы XX века он высказал предположение о том, что состояние нашего здоровья гораздо больше зависит от потребления минералов, что напрямую зависит от качества воды, изменения почв, вдыхаемого воздуха, чем от калорий, витаминов или соблюдения пропорций между белками, жирами,

Далее наука начала развиваться и появилось понятие микроэlementозы – патологические состояния, вызванные дисбалансом

поступления и потребления минеральных веществ в организм, которые сопровождаются различными патологическими состояниями. Отдельно стоит вопрос об микроэлементах у детей и беременных так, как эти группы населения являются уязвимыми, с одной стороны, потому, что их жизнь связана с быстрым ростом, а как следствие большим потреблением микроэлементов, а с другой стороны, незрелостью систем обеспечивающих обмен микроэlementов в организме. Это может провоцировать развитие острых или хронических нарушений обмена веществ, что ведёт к развитию заболеваний.

Однако медицинские аспекты учения о микроэлементах еще недостаточно разработаны и относящиеся к нему материалы не систематизированы.

Цель. Оценить частоту возникновения и распространение микроэlementозов и способы их коррекции.

Материалы и методы. В процессе исследования проведен обзор и анализ работ с применением российских и международных систем поиска (КиберЛенинка, eLIBRARY, GoogleScholar). Проанализировано 14 источников, в которых описывается физиологическое значение микроэлементов, их распространение в пищевых ресурсах человека и случаи заболеваний, связанных с их недостаточностью.

Результаты. Микроэлементами называют такие химические элементы, норма потребности человека в которых составляет несколько наногرامмов в день. К ним относят 81 элемент, 15 из которых считают эссенциальными: Fe, I, Cu, Zn, Co, Cr, Mo, Ni, V, Se, Mn, As, F, Si, Li [5]. В клетках микроэлементы выполняют функции протетических групп белков и кофакторов ферментов.

Получение микроэлементов организмом также зависит от того, в какой форме и с какими веществами они поступают: совместное поступление может, как усиливать их всасывание в желудочно-кишечном тракте, так и препятствовать этому.

Эссенциальные микроэлементы хорошо изучены так, как нарушение их обмена ведёт к яркой клинической картине. Например, роль *цинка* заключается в обеспечении работы систем, которые контролируют экспрессию генов в ходе их репликации или репарации. Отдельно стоит отметить роль цинка во взаимодействии с рецепторами тиреоидных гормонов. Так же он регулирует функции ряда металлоферментов (супероксиддисмутаза, карбонгидраза и др.), обеспечивая, тем самым, работу метаболических процессов [3], активно участвует в регуляции функции иммунной системы, синтезе гормонов и др..

Не менее важным микроэлементом является *медь*, роль которой также незаменим в обеспечение антиоксидантной защиты, т.к. без неё не функционирует циркулоплазмин (это белок находящийся преимущественно в плазме крови), обладающий ферроксидазной активностью, которая

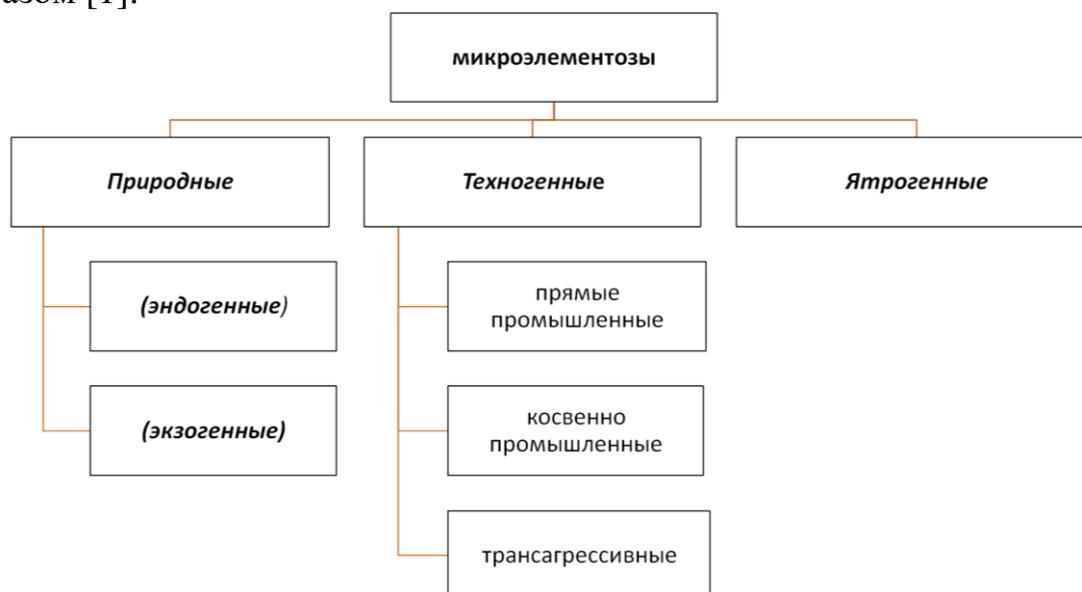
необходима для превращения содержащегося в клетках двухвалентного железа в трёхвалентное.

Биологические эффекты железа очень разнообразны. Железо обнаружено в составе гемоглобина, миоглобина, цитохромов. что объясняет его необходимость для таких процессов, как клеточное дыхание, транспортировка и запасание кислорода, синтез ДНК, иммунные реакции, репарация клеток и тканей и многие другие процессы. Насыщение клеток и тканей железом происходит с помощью белка трансферрина. Лигандные комплексы железа способствуют стабилизации хромосом. Но при ионизации железа и его соединений оно приобретает свойства свободного радикала запуская перекисное окисление липидов, которое может вызывать повреждение ДНК и провоцировать гибель клетки.

Основная биологическая роль *иода* состоит в том, что он входит в состав тиреоидных гормонов. Эти гормоны оказывают влияние на многие метаболические процессы, в связи с чем, значимость иода для организма человека трудно переоценить.

Ферментные системы содержащие *селен* обеспечивают механизмы в биохимической адаптации (например, окисление ксенобиотиков). В первую очередь это обеспечивается его антиоксидантной активностью и иммуномодулирующим свойствам. У селена есть антагонист, препятствующий его усвоению, – это сера. В ходе многочисленных экспериментов было доказано, что у селеносодержащих аминокислот организма (селеноцистеин, селенометионин) конкурентными ингибиторами усвоения являются их аналоги, содержащие серу аминокислоты (метионин, цистеин). Это объясняется тем, что механизмы их всасывания аналогичны.

Дисбаланс жизненно необходимых элементов, как первопричина ряда заболеваний, всё чаще рассматривается в качестве самостоятельной патологии. Микроэлементозы можно классифицировать следующим образом [1]:



Зависимость возникновения микроэлементозов. Дефицит иода – одна из важнейших медико-социальных проблем мирового масштаба. По оценке специалистов среди населения Российской Федерации около 40% популяции (в некоторых эндемичных регионах до 95%) страдают теми или иными нарушениями обмена гормонов щитовидной железы, связанными с недостаточным поступлением иода [4]. Для решения проблем с иододефицитом следует употреблять йодированную поваренную соль, при необходимости врач назначает препараты, содержащие физиологическую дозу йодида калия, но тем не менее потребление иода в России в среднем втрое ниже нормы.

Недостаточное поступление хрома ведёт к ускорению возникновения атеросклероза, т.к. хром участвует в окислении липидов. В случае иододефицита, хром может встраиваться в состав белков щитовидной железы, препятствуя нормальному синтезу тиреоидных гормонов. Очень распространённым микроэлементозом на сегодняшний день является дефицит железа, который в первую очередь проявляется появлением анемии. Дефицит селена проявляется эндемической «болезнью Кешана», в основе патогенеза которой лежит нарушение работы глутатионпероксидазы, поражение мембран эритроцитов и тромбоцитов. Селен обеспечивает функционирование цитохрома P450 в ЭПС печёночной ткани и участвует в клеточном дыхании. Дефицит цинка ведёт к нарушению репаративных процессов во всех тканях и органах, замедлению заживания ран, обновлению клеток слизистых кожи, нарушению репродуктивной функции. Генетически связанное нарушение усвоения цинка – акродерматическая энтеропатия – приводит к крайней степени его дефицита. Следующий элемент, на который следует обратить внимание, это кадмий. Он имеет множество естественных путей поступления в организм с пищей (peros), с воздухом и через кожу. Избыточное его потребление ведёт к угнетению активности цинк-содержащих ферментов, так как кадмий блокирует сульфгидрильные группы ферментов и нарушает синтез ДНК. Кадмий является конкурентом металлов в металлфлавопротеиновых комплексах, где занимает их место и нарушает работу комплексов.

Диагностика микроэлементозов. Диагностика микроэлементов базируется на многих параметрах, особенностях химических свойств элементов и их основных органах-мишенях (те органы, работа которых наиболее зависима от поступления этих элементов). В последнее время получили распространение исследование волос для анализа состояния обмена химических элементов и поиска признаков их дефицита или избытка в организме. В волосах концентрируются многие вещества в большем количестве, чем в биологических жидкостях. Распространёнными методами химического анализа в крови определяется 6-8 элементов, а в волосах – 20-30.

Профилактика нарушений минерального обмена у человека. В случаях, когда выявляется дефицит того или иного микроэлемента, в целях профилактики вводят препараты и нормализуют диету человека. При наследственных микроэлементазах применяют патогенетическое лечение, вводят в рацион соответствующие добавки и исключают факторы риска. Также необходимо соблюдение комплекса общегигиенических мероприятий.

Вывод. Полученные человечеством медицинские и научные данные о микроэлементах, их функциях, транспортировке в организме и их метаболизме, данные о заболеваниях, вызываемых дисбалансом микроэлементов, могут быть собраны и обобщены для дальнейшего использования в целях лечения и диагностики этих заболеваний. На сегодняшний день установлены далеко не все механизмы поступления и действия биогенных элементов в организм человека, для части элементов не установлены даже нормы суточного потребления. Поэтому вопрос о микроэлементазах, их диагностики, лечении и профилактики остаётся открытым и требует дальнейших научных изысканий.

Список литературы:

1. Гольдфейн М. Д., Адаев О. Н., Тимуш Л. Г., Заиков Г. Е., Ярошевская Х. М. Роль химических элементов и их соединений в природе и процессах жизнедеятельности человека. Вестник технологического университета. 2015. Т.18, №16

2. Иванов С.В., Гук М.Г., Фазылова Ф.Р., Плиско Е.Ф. Взаимосвязь химического состава почвы и поверхностных вод и их влияние на развитие эндемических заболеваний. Центральный научный вестник. 2018- с. 15-19.

3. Кожина А. А., Владимирский Б. М. Микроэлементозы в патологии человека экологической этиологии // Медицинская экология // Южный федеральный университет. 2013 г.

4. Артеменков А. А. Проблема профилактики эндемических заболеваний и микроэлементозов у человека. Профилактическая медицина. 2019;22(3):92-100. URL:

<https://doi.org/10.17116/profmed20192203192> (дата обращения: 27.12.2021).

5. Туманова А. Л., Рустембекова С. А. Микроэлементозы и факторы, влияющие на их развитие // Известия ЮФУ. Технические науки. 1998. №4.

БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ПИТАНИЯ И ВРАЧЕБНОГО КОНТРОЛЯ БЫВШИХ СПОРТСМЕНОВ

А.В. Еликов¹, Р.А. Ханферьян²

¹ФГБОУ ВО Кировский ГМУ, г. Киров, России, ²ФГАОУ ВО РУДН, г. Москва, Российская Федерация

Актуальность. Достижение спортивных результатов непременно подразумевает существенно более высокий уровень двигательной активности, что сопровождается перестройкой всего метаболизма [1-3]. Спортивный травматизм и связанные с ним болезни опорно-двигательного аппарата являются значимыми медицинскими проблемами, инвалидизация от которых за последние годы выросла на 45% [4]. Прекращение занятий спортом, связанных с существенным уменьшением объема и характера мышечной деятельности, вне всякого сомнения будут сказываться на функционировании всех систем и протекании метаболических процессов. Детренированность организма спортсмена после окончания профессиональной карьеры является серьезной, малоизученной проблемой. При этом обратились бы за медицинской помощью для решения вопроса адаптации к снижению физической активности 74,6% опрошенных ветерана спорта [5]. Одним из наиболее перспективных направлений работы с целью минимизации неблагоприятных последствий является разработка подходов к научно обоснованному питанию бывших спортсменов и оптимального врачебного контроля за состоянием их обмена веществ.

Целью нашей работы было на основе данных о состоянии метаболизма бывших спортсменов предложить научно обоснованный подход к организации специализированного питания и врачебного контроля в постспортивный период.

Материалы и методы. Проведено биохимическое обследование 24 бывших спортсмена мужского пола в возрасте от 19 до 29 лет. Бывшие спортсмены подразделялись на 2 группы по 12 человек (1-я группа - обследуемые, прекратившие занятия сроком до 2-х лет; 2-я - обследуемые, прекратившие занятия спортом свыше 2-х лет). Спортивная квалификация детренированных лиц была от 3 взрослого разряда до КМС, специализация включала как циклические, так и ациклические виды спорта. Контрольную группу составили 15 практически здоровых нетренированных студентов-добровольцев аналогичного возраста, занимающихся физической культурой только в объеме вузовской программы.

Все исследования проводили в осенне-зимний сезон. Обследуемые лица находились на обычном пищевом рационе. За неделю до эксперимента исключался прием поливитаминных комплексов, биологически активных добавок и пищевых продуктов с высоким

содержанием витаминов С и Е превышающим среднюю рекомендованную суточную дозу для данного возраста и пола.

Забор крови проводили из локтевой вены. Кровь центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин. Исследования проводились в плазме крови и эритроцитах, трижды отмытых 0,85% раствором NaCl. Определялись ключевые показатели белкового, липидного, углеводного, пуринового обменов, а также показатели характеризующие состояние оксидантного баланса.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Biostat и Statistica 6.0. Нормальность распределения определяли по методу Шапиро-Уилка. После проверки на нормальность, достоверность различий оценивали с использованием t-критерия Стьюдента. Учитывали результаты с уровнем статистической значимости не ниже 95% ($p \leq 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение. Основные показатели в плазме крови и эритроцитах, характеризующие метаболизм бывших спортсменов представлены в таблице 1.

Таблица 1. Показатели обмена веществ в плазме крови и эритроцитах у детренированных лиц ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Контрольная группа (n=15)	Бывшие спортсмены	
		1-я группа (n=12)	2-я группа (n=12)
Плазма крови			
Мочевина, ммоль/л	4,80 ± 0,18	5,84 ± 0,26*	5,13 ± 0,22
Глюкоза, ммоль/л	4,65 ± 0,11	5,15 ± 0,14*	4,89 ± 0,16
Мочевая кислота, мкмоль/л	262 ± 14	325 ± 18*	296 ± 17
Индекс атерогенности, ед.	2,03 ± 0,10	3,00 ± 0,18*	2,30 ± 0,13
Аскорбиновая кислота, мг/л	6,82 ± 0,23	5,66 ± 0,17*	6,29 ± 0,22
α-токоферол, мг/л	10,63 ± 0,56	7,98 ± 0,49*	8,88 ± 0,52*
ТБКактивные продукты, мкмоль/л	5,38 ± 0,26	7,46 ± 0,30*	5,65 ± 0,26
Церулоплазмин, мг/л	256 ± 12	396 ± 18*	295 ± 14*
Эритроциты			
Супероксиддисмутаза, % ингибирования	53,4 ± 3,8	42,8 ± 3,1*	50,3 ± 3,6
Каталаза, ммоль/мл/мин	4,67 ± 0,31	6,34 ± 0,40*	5,42 ± 0,36
Глутатионпероксидаза, мкмоль/мин · мл	3,94 ± 0,23	2,56 ± 0,18*	3,69 ± 0,22
Глутатионредуктаза, мкмоль/мин · мл	0,78 ± 0,04	0,92 ± 0,06	0,84 ± 0,05
Общая антиоксидантная активность, у.е.	0,103 ± 0,004	0,077 ± 0,003*	0,095 ± 0,004
Примечание: - * - различия с контролем статистически достоверны ($p \leq 0,05$)			

Установлено, что ранний постспортивный период характеризуется катаболической направленностью обмена веществ, статистически значимым увеличением содержания глюкозы, атерогенной

направленностью липидного обмена и компенсированным нарушением оксидантного баланса. В поздний постспортивный период данные изменения значительно менее выражены, что свидетельствует о стадийности процесса. Исходя из выявленных нарушений обмена веществ методические подходы к коррекции питания в ранний постспортивный период будут включать рекомендацию продуктов белково-антиоксидантной направленности. В тоже время, в рационе питания рекомендуется ограничить общее количество калорий за счет рафинированных углеводов и насыщенных жиров. Отдельного внимания заслуживает применение витаминно-минеральных комплексов, которые должны в повышенных количествах содержать витамины и микроэлементы антиоксидантного действия (витамины С и Е, селен), а также витамины и витаминopodobные вещества, усиливающие утилизацию глюкозы тканями (тиамин, липоевая кислота). При организации врачебного контроля рекомендуется углубленный мониторинг сердечно-сосудистой и эндокринной систем.

Выводы.

1. Постспортивный период, связанный с переходом от состояния повышенной двигательной активности к обычной, сопровождается неблагоприятными изменениями метаболизма, носящих стадийный характер.

2. Компоненты специализированного питания бывших спортсменов и углубленный врачебный контроль рекомендуется направить на профилактику последствий стрессовой реакции, связанной с состоянием относительной гиподинамии.

Список литературы:

1. Королев Д.С., Ивкина М.В., Архангельская А.Н., Гуревич К.Г. Особенности гормонального, макро- и микроэлементного статуса у борцов. Спортивная медицина: наука и практика. 2021. 11(1). 11-18.

2. Коростелева М.М., Кобелькова И.В., Ханферьян Р.А. Нутритивная поддержка в спорте: Часть 1. Роль макронутриентов в повышении выносливости спортсменов (обзор зарубежной литературы). Спортивная медицина: наука и практика. 2020. 10(3). 18-26.

3. Раджабканиев Р.М., Бекетова М.А., Вржесинская О.А., Кошелева О.В. и др. Содержание некоторых витаминов в рационе питания и сыворотке крови профессиональных футболистов. Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2021. 29(1). 54-65.

4. Yang A., Hunter C.W., McJunkin T.L. PRP therapies (tendons, joints, spine). Springer Nature Switzerland AG. 2019. 91. 749-756.

5. Лубышева Л.И., Назаренко Л.Д. Актуализация проблем социальной адаптации и детренированности спортсменов после завершения спортивной карьеры. Физическая культура: воспитание, образование, тренировка. 2020. 1. 2-5.

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК

С.И. Зыкова¹, А.С. Воронков^{2,3}, Т.В. Иванова²

¹ГОУ ВО МО Государственный гуманитарно-технологический университет, г.Орехово-Зуево, Российская Федерация, ²ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г.Москва, Российская Федерация, ³Московский медицинский университет Реавиз, г. Москва, Российская Федерация

Резюме. Проведен развернутый анализ состава жирных кислот (ЖК) биологически активной добавки (БАД) из жира рыб производства Норвегии. Показано, что содержание незаменимых ω -3 эйкозапентаеной и докозагексаеновой кислот соответствует заявленному производителем, и является очень высоким. Однако другой информации о составе БАД в аннотации не указано. При этом добавка содержит эруковую кислоту в количестве, превышающим допустимые рекомендованные ГОСТ значения для потребления человеком. Кроме того, отношение ω -6/ ω -3 ЖК в данной БАД не соответствует физиологическому оптимуму для человека. Таким образом, можно заключить, что неполное информирование покупателя о составе препарата в данном случае можно рассматривать как введение в заблуждение и чисто маркетинговой уловкой.

Актуальность. Тренд на потребление вместе с пищей различных биологически активных добавок (БАД) в настоящее время не только не ослабевает, но и, напротив, только усиливается. Однако, так как БАД не относятся к лекарственным средствам рынок их распространения, требования к качеству препаратов и их сертификация очень слабо регулируется, а в некоторых аспектах не регулируется полностью. При этом в 2020 году ёмкость коммерческого рынка биодобавок составила 323,7 млн упаковок на сумму 63,4 млрд рублей. При сравнении с 2019 годом объём реализации вырос на 18,7% в стоимостном выражении и на 2,2% в натуральном объёме. Таким образом, можно говорить о постоянном росте спроса на БАД на отечественном рынке.

При этом, покупатель, выбирая БАД чаще всего ориентируется на информацию «на коробочке», которая зачастую носит рекламный характер, так как к ней нет жестких требований. В аннотации к препарату так же содержится лишь общая информация, источник и страна происхождения, и в лучшем случае химический состав. Как правило, последний далеко не полный, и перечисляет лишь наиболее выгодные для производителя с точки зрения маркетинга ингредиенты. Поэтому целью нашей работы стал подробный химический анализ БАД для сравнения результатов анализа с заявленными производителем.

Объект и методы исследования. В качестве объекта исследования была выбрана БАД – источник незаменимых жирных кислот (ЖК)

премиального сегмента рынка: капсулированный жир рыб, производства Норвегия.

Метилловые эфиры жирных кислот получали по описанной нами ранее методике [1], с некоторыми модификациями. Омыление навески БАД проводили в кипящем растворе 4% гидроксида натрия в метиловом спирте/воде (1:1, V/V). Пробу упаривали досуха. Добавляли 1-2 мл дистиллированной воды, отмывали от неомыляемых ЖК до прозрачного гексана. Затем пробу подкисляли 20% серной кислотой до розового метилоранжа. Шестикратно экстрагировали ЖК гексаном. Гексан упаривали, добавляли к пробе 3 мл метанола в присутствии ацетилхлорида, кипятили в течение одного часа. Затем пробу снова упаривали, добавляли 1-2 мл воды и несколько капель метилоранжа, экстрагировали метилловые эфиры ЖК шестикратно гексаном. Гексан упаривали, добавляли 500 мкл бензола.

Экстракт в бензоле наносили на хроматографическую пластинку, в качестве подвижной фазы использовали смесь гексан/диэтиловый эфир/уксусная кислота (8:2:0.1, V/V). После прохождения фронта до верха пластинки, пластину высушивали на воздухе 1-2 минуты. Затем пластинку обрабатывали 0.001% раствором 2',7'-дихлорфлюоросцеина в этаноле. Высушивали на воздухе 5–7 минут. Зону, содержащую липиды, визуализировали в УФ свете ($\lambda = 365$ нм). Сорбента, содержащий метилловые эфиры жирных кислот (МЭЖК) переносили на стеклянный фильтр (Schott, Германия), МЭЖК элюировали с сорбента гексаном.

Идентификацию МЭЖК выполняли с помощью ГЖХ-МС на приборе Agilent 7890A GC (США) с 60-метровой капиллярной колонкой с внутренним диаметром 0.25 мм (DB-23, Ser. № US8897617H). Для МС-идентификации индивидуальных видов МЭЖК в ходе их ГЖХ-фракционирования использовали расширенный пакет встроенных рабочих программ MSD ChemStation G1701EA E.02.00.493 с библиотекой спектров NIST, при этом степень соответствия между массовым спектром образца и массовым спектром в базе данных составляла 98–99% [2].

Результаты и обсуждение. Подробный анализ МЭЖК, показал, что кроме заявленных производителем незаменимых для человека ω -3 эйкозапентаеной (ЭПА) и докозагексаеновой (ДГК) кислот данный образец так же содержит ещё 32 индивидуальных ЖК. Следует отметить, что по содержанию ЭПА и ДГК данные производителя оказались в пределах ошибки с нашими измерениями и составили $\approx 35\%$ и $\approx 22\%$ от общего количества МЭЖК, соответственно. К главным кислотам данной БАД так же можно отнести следующие ω -9 ЖК: незаменимую олеиновую (5,88%), а также гондоиновую (5,42%) и эруковую (6,42%).

Общее количество ценных ω -3 ЖК в препарате, включая незаменимые ЭПА и ДГК, составляет 63,75%! При этом содержание насыщенных ЖК равняется всего лишь 8,83%. Таким образом, данный препарат очень выгоден по количеству незаменимых полиненасыщенных

ЖК, и его действительно можно считать ценным источником незаменимых ω -3.

Но кроме содержания отдельных ω -3 ЖК, в питании очень важным считается соотношение содержания ω -6/ ω -3 ЖК [3,4]. Соотношение ω -6/ ω -3 в рационе влияет на активность иммунной системы человека [5]. Известно, что физиологическая потребность для взрослых составляют 8-10 г/сутки ω -6 жирных кислот, и 0,8-1,6 г/сутки ω -3 жирных кислот, или 5-8% от калорийности суточного рациона, для ω -6 и 1-2% от калорийности суточного рациона для ω -3. Оптимальное соотношение в суточном рационе ω -6 к ω -3 жирных кислот должно составлять 5-10/1. Физиологическая потребность в ω 6 и ω -3 жирных кислотах – 4-9% и 0,8-1% от калорийности суточного рациона для детей от 1 года до 14 лет и 5-8% и 1-2% для детей от 14 до 18 лет, соответственно. В исследуемом нами препарате отношение ω -6/ ω -3 = 15/1, что не соответствует физиологическому оптимуму для человека. Поэтому данная БАД по этому показателю должна заставить покупателя очень хорошо задуматься о покупке. Однако эта информация в аннотации к препарату не представлена.

Говоря о содержании кислот, не относящихся к незаменимым, необходимо подчеркнуть наличие в образце эруковой кислоты в количестве, превышающим допустимые по ГОСТ 30089-93 значения, рекомендованные для потребления человеком. Известно, что данная кислота оказывает токсическое воздействие на сердце, вследствие отложения жиров в мышцах, особенно [6]. Биосинтез эруковой кислоты также протекает в организме человека, поэтому дополнительное избыточное её поступление с пищей нежелательно и особенно опасно при хроническом воздействии.

Заключение. Развернутый анализ состава жирных кислот [7] препарата показал, что производитель указал достоверное количество незаменимых в питании человека ЭПА и ДГК. Однако не предоставил развернутого состава ЖК препарата, из которого следует, что данным препарат по некоторым характеристикам не является полезным, а для людей с заболеваниями сердечно-сосудистой системы может быть даже опасным.

Список литературы:

1. IvanovaTV., AS. Voronkov, TK. Kumakhova, et al., Russ. J. Plant. Physiol., 67, 463–471 (2020).
2. Voronkov AS., TV. Ivanova, TK. Kumachova, et al., Chemistry&Biodiversity, 17(1), e1900588, 2020.
3. Hibbeln JR., LRG. Nieminen, TL. Blasbalg, et.al., Am. J. Clin. Nutr., 83(6), 1483S-1493S, (2006).
4. Blasbalg TL., JR. Hibbeln, CE. Ramsden, et al., Am. J. Clin. Nutr., 93(5), 950-962, (2011).

5. Dennis EA., PC. Norris, Nat. Rev. Immunol., 15(8), 511-523, (2015).
6. Knutsen HK., J. Alexander, L. Barregard, et el., EFSA J., 14 (11), e04593, (2016).
7. Зыкова С.И., Воронков А.С., Иванова Т.В. Анализ некоторых БАД. В книге: Молодежь в науке - 2021. Тезисы докладов XVIII Международной научной конференции молодых ученых. В 2-х частях. Минск, 2021. С. 33.

БИОДОСТУПНОСТЬ И МЕХАНИЗМЫ АДАПТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ НА ОСНОВЕ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА

Л.А. Лысенко, Н.П. Канцерова, И.С. Суховская, Н.Н. Фокина

ФИЦ «Карельский научный центр Российской Академии наук»,
г.Петрозаводск, Российская Федерация

Актуальность. Введение в рацион человека и животных биологически активных добавок природного происхождения является признанным (но не в полной мере научно обоснованным) способом повышения их устойчивости к действию неблагоприятных факторов, абиотических и биотических [4, 5]. Адаптогенный потенциал растительных экстрактов определяется антиоксидантной, пробиотической и другими активностями входящих в его состав веществ (биофлавоноидов, полисахаридов и др.), причем комплексное действие биоактивных веществ может превосходить по силе суммарный эффект отдельных его компонентов [4]. Адаптогенами могут служить химически разнообразные вещества, повышающие неспецифическую устойчивость организма к неблагоприятным воздействиям среды и его устойчивость к стрессу, который, в классическом определении Г. Селье, угрожает гомеостазу. Пищевые добавки изменяют ответные реакции организма на действие повреждающих факторов, затрагивая базовые консервативные пути регуляции гомеостаза, поэтому изучение механизмов их действия и оценка профиля безопасности могут быть проведены на модельных животных и клеточных линиях.

Цель. В экспериментах с модельными животными установить степень биодоступности и механизмы биологической активности экстрактивных веществ, получаемых при переработке древесины лиственницы, включая наиболее массовый компонент, флавоноид дигидрокверцетин, при действии на организм повреждающих факторов. Сопоставить полученные данные с известными из литературы сведениями об эффектах применения дигидрокверцетина у человека, в том числе при развитии социально-значимых заболеваний.

Материалы и методы. Экспериментальные данные получены на модельном объекте – радужной форели, *Oncorhynchus mykiss* L.,

содержавшейся в аквакультуре на природном водоеме (при естественном сезонном изменении внешних факторов) и в контролируемых аквариальных условиях (при изолированном действии повреждающих факторов). Учитывались жизнеспособность рыб и физиологические переменные (линейный и весовой прирост, накопление белка и липидов в мышцах). Степень биодоступности дигидрокверцетина устанавливалась по распределению нативной молекулы в тканях (хромато-масс-спектрометрия, ВЭЖХ). Оценивались биохимические маркеры гомеостаза в печени и мышцах рыб: активность супероксиддисмутазы (SOD), каталазы (CAT), глутатион-пероксидазы (GPx), глутатион-S-трансферазы (GST), катепсинов В и D, кальпаинов, химотрипсиноподобной активности протеасомы, содержание ретинола, восстановленного глутатиона (GSH), белковых карбониллов; методы оценки параметров описаны ранее [2]. Проведено полногеномное транскрипционное профилирование паренхимы печени с оценкой дифференциальной экспрессии генов. Сравнивались показатели у рыб, подвергнутых действию неблагоприятных факторов, включая повышенную и пониженную температуру, бактериальную инфекцию, паразитарную инвазию и их комбинации, и у интактных особей.

Результаты. Дигидрокверцетин, введенный в рацион рыбы в дозе 25-1000 мг/кг корма, обнаруживался в химически неизменном виде в химусе, сыворотке крови, внутренних органах рыбы (скелетные мышцы > сыворотка крови > печень > почка > сердце). Дигидрокверцетин (индивидуально или в составе добавки) достоверно не изменял скорость роста рыб, накопление в их органах белков и липидов [1]. Однако, обогащенный добавками рацион рыбы снижал ее чувствительность к действию изученных неблагоприятных факторов, что выражалось в более низком уровне летальности. Экспериментальные данные подтверждают иммуномодулирующую активность дигидрокверцетина в отношении клеточного звена иммунитета, активности фагоцитов крови и лизоцима в слизистых покровах – неспецифических защитных механизмов против бактериальных и паразитарных инвазий [2]. На биохимическом уровне пищевая добавка снижала выраженность оксидативного стресса, о котором судили по уровню окисленных производных белков и липидов, за счет индукции синтеза ферментов антиоксидантной системы (SOD, CAT, GPx, GST), неферментативных антиоксидантов (ретинола, GSH), повышения активности ферментов, контролирующих качество внутриклеточных белков и органелл (аутофагии, протеасомного пути, кальпаинов) и их обмен. Обнаруженные биохимические изменения были подтверждены анализом транскриптома печени [3]; у рыб, получавших с кормом добавку, в отсутствие стрессирующего воздействия генная экспрессия не изменялась, а ответная реакция на действие стресс-фактора (повышения температуры) включала инициацию синтеза регуляторов фолдинга и

качества белков и органелл, уровня внутриклеточного кальция, липидного обмена, репрессией генов клеточной пролиферации.

Выводы. Обогащение рациона животных дигидрокверцетином и смесью экстрактивных веществ лиственницы изменяет ответные реакции животных на действие стресс-факторов, включая повышенные и пониженные температуры среды, бактериальную инфекцию, паразитарную инвазию, путем активации гомеостатических механизмов – способности тканей к купированию оксидативного стресса и поддержанию протеостаза.

Заключение. Экспериментально подтверждено влияние природных веществ, экстрагируемых из древесины лиственницы, и их основного компонента, флавоноида дигидрокверцетина, на базовые гомеостатические процессы в организме животных, подвергающихся действию неблагоприятных факторов. В отсутствие повреждающего воздействия добавка не изменяет физиологию животных. Основываясь на этих результатах, можно полагать, что обогащение рациона дигидрокверцетином в комбинации с другими экстрактивными веществами, может обладать сходным адаптогенным действием на организм человека, усиливая его толерантность к повреждающим и экстремальным условиям среды проживания в арктическом и приарктическом регионах. Получение изученных веществ из сырьевых отходов – комлевой части лиственницы – также способствует решению задачи более полной переработки растительных биоресурсов севера.

Благодарности: Экспериментальные этапы работы выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 17-74-20098; фундаментальные сведения об ответных реакциях рыб на действие экзогенных факторов получены в рамках бюджетной темы FMEN-2022-0006.

Список литературы:

1. Kantserova N., Borvinskaya E., Lysenko L., Sukhovskaya I., Churova M. Dataset on body weight and length of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed with dihydroquercetin, arabinogalactan or a mixture of both in an aquaria experiment. Data in Brief. 2020. 32. 106184. doi: 10.1016/j.dib.2020.106184
2. Kantserova N., Lysenko L., Churova M., Tushina E., Sukhovskaya I., Nemova N. Dietary supplement with dihydroquercetin and arabinogalactan affects growth performance, intracellular protease activities and muscle-specific gene expression in bacterially infected *Oncorhynchus mykiss*. Int. Aquat. Res. 2020. 12(1). 63-73. doi: 10.22034/IAR(20).2020.671431
3. Lysenko L., Kantserova N., Sukhovskaya I. Hepatocyte transcriptome and antioxidant responses to high ambient temperature in rainbow trout fed with a plant flavonoid. Mol. Biol. Cell. 2021. 32(22). 638. doi: 10.1091/mbc.E21-11-0545

4. Reverter M., Bontemps N., Lecchini D., Banaigs B., Sasal P. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. *Aquaculture*. 2014. 433. 50-61. doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.05.048

5. Weidmann A.E. Dihydroquercetin: More than just an impurity? *Eur. J. Pharmacol.* 2012. 684. 19–26. doi: 10.1016/j.ejphar.2012.03.035

ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФРАКЦИИ НЕЗРЕЛЫХ ТРОМБОЦИТОВ (IPF) И ИНДУЦИРОВАННОЙ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА С РАЗЛИЧНОЙ ЛЕЧЕБНОЙ СТРАТЕГИЕЙ

С.П. Казаков^{1,2}, П.Г. Шахнович³, Г.К. Тагирова¹

¹ФГБУ «ГВКГ им. академика Н.Н.Бурденко» МО РФ, Москва; ²ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, Москва; ³ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой» Управления Делами Президента РФ, г.Москва, Российская Федерация

Актуальность. Поиск новых предикторов гемостазиологических осложнений, связанных с активацией тромбоцитов, при коронарных вмешательствах становится всё более актуальным [1]. Сетчатые или незрелые тромбоциты (IPF) являются самой молодой фракцией тромбоцитов, высвобождаемой в кровоток. Они имеют более высокие уровни маркеров поверхностной активации и считаются более реактивными по сравнению со зрелыми тромбоцитами [4]. Фракция незрелых тромбоцитов (IPF) косвенно отражает состояние клеток костного мозга, перспективна в качестве ценного маркера тромбопоэтических осложнений, например, при диагностике тромбоцитопении, трансплантации костного мозга, сепсиса [5]. Изучение фракции IPF позволяет оценить эффективность проведения транслуминальной ангиопластики, стентирования [1, 2]. Однако, до сих пор не ясна связь уровня IPF и риска кардиоваскулярных осложнений и, в частности, ответа на антиагрегантную терапию. Кроме того, измерение IPF на анализаторах Sysmex, оптимизирует индивидуальный специфический ответ [3, 4].

Целью стало исследование фракции незрелых тромбоцитов (IPF) и индуцированной агрегации тромбоцитов во время и после чрескожного вмешательства (ЧКВ).

Материалы и методы. В первой группе пациентов с консервативной стратегией ИБС было 32 человека, а во второй группе больных с инвазивной стратегией, которым проводилось ЧКВ, - 20 пациентов. Вторую группу больных с ЧКВ делили на подгруппы: до вмешательства и через 4, 24 и 72 часа после вмешательства. На

анализаторе Sysmex XN 1000 с помощью PLT-F канала определяли количественные характеристики тромбоцитов: относительное и абсолютное количество IPF ($\%$, $\times 10^3/\mu\text{l}$), процентное содержание больших тромбоцитов (PLC-R, $\%$), средний объем тромбоцитов (MPV). Агрегацию тромбоцитов исследовали импедансным методом на агрегометре Chrono-Log (USA) модель 590 с индукторами АДФ и коллагеном [2]. Статистический анализ результатов проводился с использованием версии 23 SPSSStatistics. Оценка достоверности различий осуществлялась на основе критерия Вилкоксона $p < 0,05$. Значения исследованных параметров представляли в виде медианы межквартильного диапазона (25-й и 75й процентиля).

Результаты. При исследовании тромбоцитарных параметров у доноров, больных с ИБС и ЧКВ значимых межгрупповых отличий не выявлено. При сравнении абсолютного количества IPF в группе больных до вмешательства и после обнаружили достоверное повышение через 4 часа и через 24 часа после оперативного вмешательства, а также рост относительных значений количества IPF у больных с ЧКВ через 4 часа после операции. Сопоставляя коллаген – индуцированную агрегацию тромбоцитов через 4 и 72 часа после оперативного вмешательства, продемонстрировали статистически значимые различия в медианах амплитуды и площади под кривой (Табл.1).

Таблица 1. Сравнение тромбоцитарных параметров больных с ИБС с больными до и после ЧКВ

	Параметры	Доноры	Больные с ИБС	До ЧКВ	4 часа после ЧКВ	24 часа после ЧКВ	72 часа после ЧКВ
1	PLT($10^9/L$)	247 (229;282)	221 (195;294)	254 (217;281)	269 (214;294)	232 (182;397)	262 (192;384)
2	MPVfl	10,3 (10,0;10,7)	10,5 (10,3;11,5)	10,4 (10;10,8)	10,25 (9,6;10,7)	10,3 (9,6;10,8)	10,15 (9,8;10,7)
3	P-LCR%	27,25 (25,4;32,1)	30,0 (26,3;36,6)	28,4 (25,6; 31,6)	26,8 (22,1; 31,7)	26,75 (23,4;30,4)	26,75 (23,3; 30,4)
4	IPF%	4,05 (2,4;5,1)	5,3 (3,7;6,9)	5,1** (3,9;6,6)	6,7** (5,8;8,4)	6,6 (4,1;7,9)	4,99 (3,3;5,9)
5	IPF ($10^9/L$)	10,0 (6,8;13,1)	11,9 (9,8;20)	12,0 (8,5;13,6)	15,0** (13,4;17,1)	14,8** (12,9;15,9)	9,1 (7,3;12,4)
6	ADF(om/min)	6,0 (0; 22,2)	7,9 (0,8;28,0)	1,2 (0;7,9)	0,3 (0;8,3)	3,6 (0;13,2)	1,6 (0;13,2)
7	Collagen (om/ min)	63,9 (38,2;67,9)	42,2 (27,1;59,2)	20,2 (8;62,9)	6,05** (3,3;33,4)	18,0 (4,9;43,4)	34,0** (14,7;46,3)

** $p < 0,05$ *Me (Q25;Q75)

Известно, что незрелые или сетчатые тромбоциты обладают повышенным тромбоцитарным потенциалом и очень стойки к действию аспирина и агонистов рецептора цитохрома P-450 P2Y₁₂X[5]. Полученные данные позволяют предположить, что дисфункция IPF играет

определенную роль в послеоперационных кровотечениях у кардиологических больных, индуцируя соответствующие изменения гемостаза. IPF может быть дополнительным прогностическим биомаркером осложнений при ЧКВ.

Выводы:

1. Статистически значимых различий относительного и абсолютного количества незрелых тромбоцитов у здоровых лиц, а также пациентов с ишемической болезнью сердца, не выявлено.

2. Обнаружено, что через 4 часа после проведения транслюминальной баллонной ангиопластики, стентирования коронарных артерий относительное и абсолютное количество незрелых тромбоцитов возрастает, а затем снижается на протяжении трех суток после ЧКВ.

3. Тестагрегации, индуцированной коллагеном, оказался наиболее чувствительным показателем степени восстановления функциональных свойств тромбоцитов после операций у больных с ЧКВ, что подтверждает предположение о том, что незрелые тромбоциты обладают повышенным тромботическим потенциалом.

Список литературы:

1. Кудряшов С.К., Тагирова Г.К., Вшивкова А.В., и др. Использование новых показателей тромбоцитов и их функциональных свойств для выявления предикторов восстановления тромбоцитарного звена у больных после реваскуляризации миокарда//Материалы научно-практических конференций в рамках V Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2019)- Москва, 2019.с. 111-112.

2. Крюков Е.В., Шахнович П.Г., Тагирова Г.К., и др. Поиск современных лабораторно-диагностических предикторов эффективности чрескожного коронарного вмешательства у больных с ишемической болезнью сердца//Кардиологический вестник. 2020. Т15. №5. с.55-56.

3. Hisen-Li Huang, Chin-Hung Chen, Chia-Te Kung. Clinical utility of mean platelets volume and immature platelet fraction in acute coronary syndrome. *Biomed. J.* 2019 Apr, 42(2), 107-115.

4. Verdoia M, Pergolini P., Rolla R., et al. Impact of immature platelet fraction on platelet reactivity during prasugrel maintenance treatment. *Platelets.* 2019;30(7):915-922.

5. Matteo Nardin, Monica Verdoia, Federica Negro, et al. Impact of uric acid on immature platelet fraction in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Thromb. Res.*, 2021 Feb;198:171-181.

ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ – ЭТО ПОДГОТОВКА К ВОЙНЕ ИЛИ МИРНОМУ СОСУЩЕСТВОВАНИЮ?

В.А. Киселева, В.В. Помазанов, Т.В. Попова, С.И. Зыкова

Государственный гуманитарно-технологический университет
г.Орехово-Зуево, Российская Федерация

Человечество регулярно сталкивается с неуправляемыми вспышками инфекционных заболеваний, охватывающих всё живое на Земле. Инфекционные агенты появились намного раньше не только появления человека, но и всей растительной и животной жизни. Археологами обнаружены археи, заселявшие её сушу и водоёмы около 4 млрд лет тому назад! Естественно, что сегодня микроорганизмы и вирусы не только полновластные хозяева планеты, но и населяющих ими животных и людей, с которыми они сосуществуют, контактируя и конкурируя друг с другом за пищу и условия проживания.

Микроорганизмы – суть земной жизни. Борьба с ними на уничтожение бессмысленна, но и терпеть жизненные потери человечество не намерено. На протяжении многих веков борьба идет с переменным успехом: и на смену «побеждённым» холере, чуме, оспе и другим различным инфекциям пришёл ВИЧ, СПИД – ассоциированные инфекции иммунодефицитных состояний организма, которые на сегодня унесли 36 млн жизней. За два года после открытия Колумбом Америки (1492 г.) в Европе от сифилиса погибло более 5 млн человек. Ровно сто лет назад «испанка» H1N1 унесла более 50-70 млн жизней. И постоянно, как и другие инфекции, продолжают их уносить или калечить.

За последние два года неизвестная до этого короновирусная инфекция убила к концу 2021 г. 5,4 млн жителей планеты, ежедневно унося до 3,5 тыс. жизней. Россия за это время лишилась более 300 тыс. населения, теряя в сутки около 1 тыс. взрослых и детей.

Сегодня нет эффективных подходов к решению проблемы мирного сосуществования человечества с микроорганизмами на фоне локальных эпидемий и глобальных пандемий. На наиболее верном пути стоит клиническая лабораторная диагностика бытовых и социально значимых инфекций [1], микробиом-ассоциированная экспосомика в диагностике и лечении различных заболеваний за счёт системного подхода к интегральной оценке микробного сообщества [2].

На фоне «короновирусной истерии», и эпидемиологической обстановки на первый план выходят внутриутробные инфекции (ВУИ), считающиеся лидерами причин неонатальной смертности детей и их инвалидизации. Особое положение среди ВУИ занимают инфекции TORCH-группы, объединённые по их характерным признакам:

– *Toxoplasmosis* (токсоплазмоз);

- *Other* (группа других внутриутробных инфекций: гепатитов В и С, хламидиоза, сифилиса, гонококковой инфекции и мн. др).;
- *Rubella* (краснуха);
- *Cytomegalia* (цитомегаловирусная инфекция);
- *Herpes simplex* (герпетические инфекции).

Инфекции TORCH-группы – это собрание врожденно-приобретённых инфекций, вызывающих значительную заболеваемость и смертность у новорожденных.

В настоящее время приобретает все большую медико-социальную значимость группа широко и повсеместно распространённых вирусных инфекций, общим признаком которых, кроме родственных отношений между возбудителями, является их пожизненное персистирование в организме. Это герпетические инфекции, возбудителями которых является вирус герпеса, которые в настоящее время насчитывают около 200 видов, инфицирующие самые различные виды животных — млекопитающих, птиц, рептилий, амфибий, рыб, моллюсков [3].

Более того, необходимо отметить неудовлетворительное состояние контроля за инфекциями TORCH-группы в связи отсутствия стандартов их лабораторной диагностики и рекомендаций оптимальных методов лабораторного обследования групп риска [4]. Из используемых на практике для установления этиологии заболевания, на роль ведущих методов лабораторного обследования инфекций TORCH-группы наиболее вероятными являются серологические методы. Они используются для выявления в сыворотке крови специфических маркеров возбудителей. Иммуноферментный анализ сочетает в себе специфичность и высокую чувствительность. Подходит для практического применения в большинстве лабораторий для проведения скрининговых обследований групп риска. Более того, методы иммунного блоттинга для заключительных подтверждающих исследований являются наиболее оптимальными.

Разработка для диагностики инфекций, в том числе TORCH-группы, широкого ассортимента медицинских изделий и внедрение в практику отечественного здравоохранения иммунохимического лабораторно-клинического комплекса диагностики инфекций TORCH-группы [5-10], несомненно, является эффективным вкладом в решение проблемы эпидемиологического надзора.

Успех и неудачи в клинической лабораторной диагностике и микробиом-ассоциированной экспосомике в недалёком будущем покажут, будем ли мы постоянно «гневаться» в бесконечной войне с микромиром или будем «сосредотачиваться» и находить с ним общий язык.

Список литературы:

1. Марданлы С.Г., Помазанов В.В., Ротанов С.В. и др. Комплекс реактивных и технических средств клинической лабораторной

диагностики инфекций TORCH-группы // Под общ. ред. С.Г. Марданлы и В.В. Помазанова // Орехово-Зуево, РИО ГГТУ, 2020, 288 с.

2. Безродный, С.Л. Марданлы С.Г., Затевалов А.М., Развитие концепции экспосома в оценке влияния микробиома на нарушения липидного и углеводного обмена человека // Известия ГГТУ-Медицина *Фармация, Орехово-Зуево, РИО ГГТУ, №4 (008), 2021 С.7-21

3. Марданлы С.С., Марданлы С.Г. Вирус герпеса Седьмого типа: обзор литературы // Орехово-Зуево, РИО ГГТУ, 2021. – 28 с.

4. Марданлы С.Г. Герпесвирусные инфекции: Учебное пособие // Орехово-Зуево, РИО ГГТУ, 2017, 144с.

5. Марданлы С.Г. Иммуноферментные тест-системы ЗАО "ЭКОлаб" для диагностики простого герпеса // Журн. Клин. лаб. диагностика. 2008. № 2. С. 35-38.

6. Марданлы С.Г. Разработка и испытания новых иммуноферментных тест-систем для диагностики токсоплазмоза // Журн. Клин. лаб. диагностика. 2009. № 2. С. 37-38

7. Марданлы С.Г., Симонов В.В., Авдоница А.С. Производство наборов реагентов для клинической лабораторной диагностики иммунохимическими методами, Орехово-Зуево, РИО ГГТУ, 2017,-240 с.

8. Марданлы С.Г. Эпидемиологический надзор за инфекциями TORCH-группы на основе современных технологий диагностики // Дисс.на соискание уч. степ. д. мед. наук // М., ЦНИИ эпидемиологии, 2016, -234 с.

9. Марданлы С.Г., Симонова Е.Г., Симонов В.В. Инфекции TORCH-группы: клиническая лабораторная диагностика, эпидемиологический надзор и контроль // Транзит-ИКС, 2018, 240 с.

10. Марданлы С.Г., Дмитриев Г.А. Лабораторная диагностика сифилиса // Электрогорск, ЗАО «ЭКОлаб», 2011. 24 с.

ОТЕЧЕСТВЕННЫЙ РЫНОК ИММУНОХИМИЧЕСКИХ ДИАГНОСТИКУМОВ. СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

С.Г. Марданлы

ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет», г.Орехово-Зуево, Российская Федерация, Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, г.Москва, Российская Федерация, ЗАО «ЭКОлаб», г.Электрогорск, Российская Федерация

Иммунохимические диагностикумы (диагностические наборы, тест-наборы, тест-системы) относятся к медицинским изделиям, которыми, в соответствии со ст.38 закона № 323-ФЗ [1], «...являются любые инструменты, аппараты, приборы, оборудование, материалы и прочие

изделия, применяемые в медицинских целях... и предназначенные производителем для профилактики, диагностики, лечения и медицинской реабилитации заболеваний, мониторинга состояния организма человека, проведения медицинских исследований...»

Лицензии на разработку и производство медицинских изделий не требуется. На территории Российской Федерации разрешается обращение медицинских изделий, прошедших государственную регистрацию в порядке, установленном Правительством Российской Федерации, и медицинских изделий, прошедших регистрацию в соответствии с международными договорами и актами, составляющими право Евразийского экономического союза.

Российский рынок медицинских товаров не слишком значителен по мировым меркам: эксперты оценивают его долю в 1,3% от общемирового объёма. Для нашей страны — это очень значительные цифры: по итогам 2020 г. его объём в денежном выражении составил около 290 млрд рублей. В соответствии с общемировыми тенденциями эта величина снизилась в сравнении с 2019 г., когда этот показатель оценивался в сумму порядка 305 млрд рублей [2].

«Пандемия коронавируса изменила расклад сил во многих отраслях экономики, но самое сильное влияние по логичным причинам она оказала на рынок медицинских товаров. Эти изменения коснулись как российского, так и мирового рынка продуктов медицинского назначения, однако степень влияния «коронавирусного» фактора и характер этого воздействия оказались разными» [2].

В целом, по оценкам экспертов, реальный объём производства медицинских изделий по итогам 2020 г. сократился на 1,8% по сравнению с 2019 г. Объём производства в денежном выражении в 2020 г. оценивался в сумму порядка 411 миллиардов долларов, что на 3,2% ниже уровня предыдущего года. Невзирая на довольно серьёзное падение по итогам 2020 г., эксперты прогнозируют быстрое его восстановление: по их мнению, уже в текущем 2021 году российские производители восстановят доковидный объём производства, выйдя на уровень порядка 304 млрд рублей, а в 2022 г. достигнут 319 млрд рублей. В 2021-2022 гг. прогнозируется достаточно стабильный рост рынка в денежном выражении на уровне 4,8-4,9% в год.

В 2020 г. структура рынка медицинских изделий отражала ситуацию, связанную с распространением коронавирусной инфекции и последствиями этого тренда. Существенную долю этого рынка по итогам года заняли диагностические товары – 27% и продукция для реанимации.

Предприятие ЗАО «ЭКОлаб» занимает ведущие позиции в области разработки и производства иммунохимических диагностикумов для практических нужд основной массы клинических лабораторных центров Российской Федерации и ряда стран ближнего зарубежья. Предприятие производит более 400 наименований медицинских изделий, применяемые

in vitro при диагностике инфекционной и неинфекционной патологии практически для всех социально значимых инфекций, медицинские товары для биохимических исследований, а также лекарственные препараты и биологически активные добавки [3-10].

В связи с пандемией, предприятие не снизило объём производства и реализации диагностических изделий, в частности, иммунохимических, при этом освоило выпуск новых диагностикумов для качественного и количественного обнаружения ковидной инфекции методом ПЦР, выйдя на лидирующие позиции на рынке этих актуальных сегодня медицинских изделий.

ЗАО «ЭКОлаб» постоянно расширяет свою научную и производственную базу. Воздвигает новые производственные цеха и исследовательские лаборатории, оснащённые современным технологическим и научно-исследовательским оборудованием и приборами, строит просторные учебные аудитории, спортивные сооружения, вспомогательные корпуса, виварии и полигоны; функционирует собственный диагностический центр, оказывающий медицинские услуги населению города, учреждает по всей стране дочерние дистрибьюторские и производственные компании.

Сегодня ЗАО «ЭКОлаб» – сосредоточение научной, инженерной и технологической мысли в области клинической лабораторной диагностики и смежных дисциплин: биотехнологии, фармации, биохимии, иммунологии, микробиологии, вирусологии. Работает учёный совет, имеющим в составе известных докторов и кандидатов наук. Создана совместно с фармацевтическим факультетом ГГТУ базовая кафедра фармации и фармацевтических дисциплин. Ряд молодых учёных и специалистов являются аспирантами ведущих вузов страны. Специалисты предприятия активно участвуют в работе международных и отечественных научных форумах, конференциях и выставках.

Список литературы:

1. Закон Российской Федерации от 21.11.2011 N 323-ФЗ (ред. от 02.07.2021) "Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации"
2. MediTex -Центр компетенций медтехиндустрии. Российский рынок медизделий 2019,2020,2021 гг. meditex.ru ***
3. Марданлы С.Г. Иммуноферментные тест-системы ЗАО "ЭКОлаб" для диагностики простого герпеса // Журн. Клин. лаб. диагностика. 2008. № 2. С. 35-38.
4. Марданлы С.Г. Разработка и испытания новых иммуноферментных тест-систем для диагностики токсоплазмоза // Журн. Клин. лаб. диагностика. 2009. № 2. С. 37-38

5. Марданлы С.Г., Симонов В.В., Авдоница А.С. Производство наборов реагентов для клинической лабораторной диагностики иммунохимическими методами, Орехово-Зуево, РИО ГГТУ, 2017,-240 с.

6. Марданлы С.Г., Симонова Е.Г., Симонов В.В. Инфекции TORCH-группы: клиническая лабораторная диагностика, эпидемиологический надзор и контроль // Транзит-ИКС, 2018, 240 с.

7. Марданлы С.Г., Дмитриев Г.А. Лабораторная диагностика сифилиса // Электрогорск, ЗАО «ЭКОлаб», 2011. 24 с.

8. Марданлы С.Г., Киселева В.А., Мишуткина Я.В. Содержание и использование животных-продуцентов биологического сырья // Орехово-Зуево, РИО ГГТУ, 2019, -87с.

9. Марданлы С.Г., Помазанов В.В., Ротанов С.В. и др. Комплекс реактивных и технических средств клинической лабораторной диагностики инфекций TORCH-группы // Под общ. ред. С.Г. Марданлы и В.В. Помазанова // Орехово-Зуево, РИО ГГТУ, 2020, 288 с.

10. Марданлы С.С., Марданлы С.Г. Вирус герпеса Седьмого типа: обзор литературы, Орехово-Зуево, РИО ГГТУ, 2021. – 28 с.

ДИАГНОСТИКА ГЕРПЕСВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ НА ФОНЕ КОРОНОВИРУСНОЙ ПАНДЕМИИ

С.С. Марданлы¹, С.И. Зыкова², А.М. Затевазов³

¹ ЗАО «ЭКОлаб», г.Электрогорск, Российская Федерация, ²ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет», г.Орехово-Зуево, Российская Федерация, ³ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Российская Федерация

На фоне смертельной борьбы с коронавирусом пандемией, мы как то упускаем из виду другие инфекции, повседневно сопровождающие нас, требующие постоянной диагностики, профилактики и лечения. Маркетинговые исследования показали достаточно ощутимое снижение в 2020-2021 гг. оптовых закупок клиничко-диагностических материалов табельных инфекций и резкий взлет продаж на ПЦР и иммунохимические диагностики на ковид.

Не за горами сезонные заболевания гриппом, не ушли в прошлое кишечные инфекции или заболевания передающиеся половым путем а также туберкулез, корь, гепатиты и другие социально значимые и опасные заболевания. Герпесвирусные инфекции приобретают все большую медико-социальную значимость, общим признаком которых, кроме родственных отношений между возбудителями, является их пожизненное персистирование в организме. В докладе рассматривается ситуация с герпесвирусными инфекциями, которые являются одной из ведущих

причин смерти детей в раннем неонатальном периоде и важным фактором инвалидизации с детства.

Некоторые виды герпеса обнаруживаются практически у каждого жителя Земли. Вирусов герпеса в настоящее время насчитывается около 200 видов, инфицирующих самые различные виды животных — млекопитающих, птиц, рептилий, амфибий, рыб, моллюсков. По современным данным, к вирусам герпеса человека относятся 8 типов герпесвирусов:

- вирус простого герпеса 1-го и 2-го типа;
- вирус ветряной оспы-опоясывающего герпеса;
- вирус герпеса человека 4-го типа или вирус Эпштейна-Барр;
- вирус герпеса человека 5-го типа или цитомегаловирус;
- вирусы герпеса человека 6-го, 7-го и 8-го типов.

Разнообразие клинических форм герпеса существенно осложняет его диагностику. В связи с тем, что заболевания, обусловленные герпетической инфекцией, имеют большой спектр клинических проявлений, исключительно важное значение приобретают методы её лабораторной диагностики.

На предприятии ЗАО «ЭКОлаб» за последнее десятилетие отработана технология и регламенты производства наборов реагентов для иммунохимической диагностики более 50 наименований инфекций с созданием научно-производственной базы для их промышленного выпуска. Создан и внедрен Комплекс методических, реагентных и приборных средств лабораторной диагностики инфекций TORCH-группы, в том числе 14 наименований наборов для диагностики герпетических инфекций:

- «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу простого герпеса I и II типа»;
- «Тест-система иммуноферментная для выявления антител класса G к вирусу простого герпеса 1 типа»;
- «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу простого герпеса II типа»;
- «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу простого герпеса I и II типов»;
- «Диагностикум для выявления антител класса М к вирусу простого герпеса 1 типа в реакции иммунофлюоресценции»;
- «Диагностикум для выявления антител класса G к вирусу простого герпеса 1 типа в реакции иммунофлюоресценции»;
- «Диагностикум для выявления антител класса М к вирусу простого герпеса 2 типа в реакции иммунофлюоресценции»;
- «Диагностикум для выявления антител класса G к вирусу простого герпеса 2 типа в реакции иммунофлюоресценции»;
- «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу герпеса человека 6 типа»;

- «Тест-система иммуноферментная для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу герпеса человека 8 типа».

Список литературы:

1. Марданлы С.Г., Кирпичникова Г.И., Неверов В.А. и др. Герпетическая инфекция (простой герпес). этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, лабораторная диагностика, лечение // Электрогорск, 2005, -48 с.

2. Марданлы С.Г. Герпесвирусные инфекции: Учебное пособие // Орехово-Зуево, РИО ГГТУ, 2017, 144с.

3. Марданлы С.Г. Иммуноферментные тест-системы ЗАО "ЭКОлаб" для диагностики простого герпеса // Журн. Клин. лаб. диагностика. 2008. № 2. С. 35-38.

4. Марданлы С.Г. Эпидемиологический надзор за инфекциями TORCH-группы на основе современных технологий диагностики // Дисс.на соискание уч. степ. д. мед. наук // М., ЦНИИ эпидемиологии, 2016, -234 с.

5. Марданлы С.Г., Симонова Е.Г., Симонов В.В. Инфекции TORCH-группы: клиническая лабораторная диагностика, эпидемиологический надзор и контроль // Транзит-ИКС, 2018, 240 с.

6. Марданлы С.Г., Асратян А.А. Иммуноферментные тест-системы для диагностики цитомегаловирусной инфекции // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2008. № 3. С. 98-99.

7. Марданлы С.Г., Кирпичникова Г.И., Неверов В.А. Цитомегаловирусная инфекция: этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, лабораторная диагностика, лечение, профилактика // Электрогорск, 2011, - 32 с.

8. Помазанов В.В., Марданлы С.Г., Борисов В.Ю. Экологическая лаборатория. Ваша домашняя аптечка растительных настоек, сиропов и масел // Владимир, 2012, -184 с.

9. Помазанов В.В., Марданлы С.Г., Болдырев И.В., ВОДА+АЛКОГОЛЬ // Владимир- Электрогорск: Транзит -ИКС, 2015, -328 с.

10. Марданлы С.Г., Помазанов В.В., Ротанов С.В. и др. Комплекс реактивных и технических средств клинической лабораторной диагностики инфекций TORCH-группы // Под общ. ред. С.Г. Марданлы и В.В. Помазанова // Орехово-Зуево, РИО ГГТУ, 2020, 288 с.

11. Марданлы С.С., Марданлы С.Г.. Вирус герпеса Седьмого типа: обзор литературы, Орехово-Зуево, РИО ГГТУ, 2021. – 28 с.

ФОРМИРОВАНИЕ РЕГИСТРАЦИОННОГО ДОСЬЕ НА ЛЕКАРСТВЕННЫЙ ПРЕПАРАТ ПО ПРАВИЛАМ ЕАЭС НА ПРИМЕРЕ «ИБУПРОФЕН ПЛЮС ЭКОЛАБ», ГЕЛЬ ДЛЯ НАРУЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ, 5%+3%

Е.М. Матолыгина

ЗАО «ЭКОлаб», г.Электрогорск, Российская Федерация

Актуальность. Начиная с 01.01.2021 в РФ лекарственные препараты (ЛП) регистрируются по правилам ЕАЭС. Регистрационное досье (РД) ЕАЭС увеличилось на один модуль (№ 2) по сравнению с РД по национальной процедуре (регламентировалось приказом № 409н от 12.07.2017 г.), в котором их было 4. Помимо этого, наполняемость остальных модулей по количеству и содержанию разделов возросла. Изменился формат подачи РД в уполномоченные органы. Нормативная документация по регистрации ЛП стала полностью наднациональной. Изменения в системе регистрации претерпели тотальные изменения, что требует изучения новых правил регистрации ЛП, в том числе на конкретных ЛП, которые регистрируются впервые.

Цель работы. Заключается в изучении материалов нормативной документации по регистрации ЛП по процедуре ЕАЭС, формирование понимания принципа наполнения разделов модулей РД и применении данных материалов при формировании РД на ЛП «Ибупрофен плюс ЭКОлаб», гель для наружного применения, 5%+3%. Данный ЛП применяется как местное обезболивающее и противовоспалительное средство для симптоматической терапии при ушибах (без повреждения кожи), растяжениях, мышечных и суставных болях, ревматизме у детей с 14 лет и взрослых.

Материалы и методы: Основные документы ЕАЭС:

- Решение № 78 от 3 ноября 2016 года «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения»;
- Решение № 88 от от 3 ноября 2016 г. N 88 «Об утверждении требований к инструкции по медицинскому применению лекарственных препаратов и общей характеристике лекарственных препаратов для медицинского применения»;
- Решение № 76 от 03.11.2016 N 76 «Об утверждении Требований к маркировке лекарственных средств для медицинского применения и ветеринарных лекарственных средств»;
- Решение № 85 от 03.11.2016 № 85 «Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках ЕАЭС»;

· Решение № 151 от 7 сентября 2018 г. «Об утверждении Руководства по составлению нормативного документа по качеству лекарственного препарата»;

· Решение № 159 от 17 сентября 2019 г. «О классификаторе видов документов регистрационного досье лекарственного препарата и справочнике структурных элементов регистрационного досье лекарственного препарата».

Участие в обучающих вебинарах.

Результаты исследования и их обсуждения. На основе изученных материалов были сформированы следующие разделы РД на ЛП «Ибупрофен плюс ЭКОлаб», гель для наружного применения, 5%+3%.

Разделы модуля 1:

1.3. общая характеристика лекарственного препарата, инструкция по медицинскому применению (листок-вкладыш), маркировка;

1.3.1. проекты общей характеристики лекарственного препарата, инструкции по медицинскому применению (листка-вкладыша) на русском языке;

1.3.2. макеты первичной (внутренней) и вторичной (потребительской), промежуточной упаковок на русском языке;

1.5.2. письмо держателя мастер-файла активной фармацевтической субстанции с обязательством сообщать о всех изменениях производителю лекарственного препарата и уполномоченному органу государства - члена Евразийского экономического союза, прежде чем какие-либо существенные изменения будут внесены в мастер-файл фармацевтической субстанции;

1.5.3. письмо, подтверждающее согласие держателя мастер-файла фармацевтической субстанции на представление документов закрытой части мастер-файла на фармацевтическую субстанцию по запросу уполномоченного органа государства - члена Евразийского экономического союза;

1.5.7 Проект нормативного документа по качеству, подготовленный в соответствии с Руководством по составлению нормативного документа по качеству лекарственного препарата, утвержденным Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 7 сентября 2018 г. № 151;

1.10.1. мастер-файл системы фармаконадзора держателя регистрационного удостоверения в соответствии с Правилами надлежащей практики фармаконадзора Евразийского экономического союза, утвержденными Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 87, или краткая характеристика системы фармаконадзора держателя регистрационного удостоверения;

1.10.2. письменное подтверждение того, что держатель регистрационного удостоверения имеет в своем распоряжении

квалифицированное лицо, ответственное за фармаконадзор на территории государства - члена Евразийского экономического союза.

Разделы модуля 2:

2.3.S. общее описание активной фармацевтической субстанции;

2.3.P. общее описание лекарственного препарата;

Разделы модуля 3:

3.2.S. активная фармацевтическая субстанция (АФС), для лекарственных препаратов, содержащих несколько активных (действующих) веществ, информация представляется в полном объеме относительно каждого из них;

3.2. P.5. контроль качества лекарственного препарата

Появилось понимание дальнейшей работы по наполнению модулей 4,5 РД.

Выводы. Изученные материалы помогли приобрести необходимые навыки для формирования РД по процедуре ЕАЭС в том числе на примере конкретного ЛП - «Ибупрофен плюс ЭКОлаб», гель для наружного применения, 5%+3%.

Список литературы:

1. Помазанов В.В., Марданлы С.Г., Борисов В.Ю. Экологическая лаборатория. – Владимир: Издательско-полиграфическая компания "Транзит-ИКС", 2012. – 184 с.

2. Помазанов В.В., Марданлы С.Г., Киселева В.А., Рогожникова Е.П. Введение в галенику. - Орехово-Зуево: Редакционно-издательский отдел ГГТУ, 2016. – 365 с.

3. Ситникова Е.А., Марданлы С.Г., Рогожникова Е.П. Система фармаконадзора на реальном предприятии. Разработка и регистрация лекарственных средств.2018; 2(23): 170-172.

4. Помазанов В.В., Марданлы С.Г., Болдырев И.В. Вода + алкоголь. – Владимир: Издательско-полиграфическая компания «Транзит-ИКС», 2015.- 328 с.

5. Помазанов В.В., Марданлы С.Г., Киселёва В.А. Расплотворение. – Орехово-Зуево: РИО ГГТУ, 2017. – 215 с.

6. Решение № 78 от 3 ноября 2016 года «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения»;

7. Решение № 88 от от 3 ноября 2016 г. N 88 «Об утверждении требований инструкции по медицинскому применению лекарственных препаратов и общей характеристике лекарственных препаратов для медицинского применения»;

8. Решение № 76 от 03.11.2016 N 76 «Об утверждении Требований к маркировке лекарственных средств для медицинского применения и ветеринарных лекарственных средств»;

9. Решение № 85 от 03.11.2016 № 85 «Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках ЕАЭС»;

10. Решение № 151 от 7 сентября 2018 г. «Об утверждении Руководства по составлению нормативного документа по качеству лекарственного препарата»;

11. Решение № 159 от 17 сентября 2019 г. «О классификаторе видов документов регистрационного досье лекарственного препарата и справочнике структурных элементов регистрационного досье лекарственного препарата».

СТЕРОИДНЫЕ ГОРМОНЫ: ПРОМЫШЛЕННЫЙ СИНТЕЗ, БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ, ПРИМЕНЕНИЕ В МЕДИЦИНСКОЙ И НЕМЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ (обзор литературы)

С.А. Мокроусова¹, А.Ю. Селезнёва¹, Ю.А. Марсянова²

¹МБОУ «Гимназия №9 имени дважды Героя Советского Союза С.Г. Горшкова» г.Коломна, Российская Федерация, ²ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Стероидные гормоны играют большую роль в регуляции различных процессов метаболизма человека. В основе их образования лежит холестерин, поэтому для всех стероидов характерно наличие ядра стерана (насыщенное и ненасыщенное). Химический состав стероидных гормонов разнообразен: встречаются полиолы (эстрадиол и эстриол), кетоны (прогестерон) и гидроксикетоны (кортизол, тестостерон и др.).

По непосредственному месту синтеза стероидные гормоны подразделяются на кортикостероиды (гормоны коры надпочечников, различают глюкокортикостероиды и минералокортикостероиды) и гонадостероиды (гормоны половых желез, различают женские и мужские половые гормоны).

Необходимость дополнительного (экзогенного) приёма любых гормонов продиктована, в первую очередь, недостаточностью содержания этих гормонов в организме вследствие дисфункции гормонпродуцирующих органов в результате различных острых состояний. В частности, приём стероидных гормонов производится при недостаточной функции надпочечников, яичников и семенников. Помимо этого, стероидосодержащие препараты способны подавлять активность веществ, провоцирующих патологические процессы (например, воспаление, в том числе аллергическое). Андрогены, мужские половые

гормоны, содержатся в составе БАДов для спортсменов и применяются как «дополнение» к белковым ресурсам организма — они снижают активность процесса распада белка, который в большом количестве используется в организме во время интенсивных тренировок.

Цель. Описать получение стероидных гормонов для производства лекарственных средств и БАДов, показания к применению и их биохимические эффекты.

Материалы и методы. Для исследования использовался информационно-аналитический метод. Проанализировано 6 источников, в которых описывается участие стероидных гормонов в метаболизме человека, их практическое значение и синтез промышленным способом. Анализ литературных источников проводился с применением российских и международных систем поиска (КиберЛенинка, eLIBRARY, Google Scholar, PubMed, Medline, Scopus, Web of Science).

Результаты. В медицинской практике особенно широкое распространение получили препараты на основе глюкокортикостероидов. Основная область их применения – лечение или ведение острой и хронической недостаточности надпочечников; также глюкокортикоиды обладают выраженными противовоспалительными и противоаллергическими эффектами, что обуславливает их высокую эффективность в терапии при бронхиальной астме. В психиатрии такие препараты используются как противошоковые средства из-за способности повышать и нормализовать АД, а восстановление деятельности глюкокортикоидной системы организма в целом – один из методов, применяемых при лечении психотических расстройств и абстинентных состояний.

Минералокортикостероиды (альдостерон, дезоксикортикостерон) влияют на водно-солевой обмен в организме. Препараты на их основе применяются при нарушении функции надпочечников (особенно при болезни Аддисона), адинамии, миастении.

Гонадостероидосодержащие препараты применяются при заболеваниях женской и мужской репродуктивной системы, вызванных дисфункцией соответствующих гормонсинтезирующих органов, то есть восполняют недостаток эндогенных половых гормонов. Аналоги эстрогенов также применяются при нарушениях менструального цикла и при возникновении менопаузного метаболического синдрома, а аналоги андрогенов используются для улучшения половой функции у мужчин при сопутствующем снижении уровня тестостерона.

Половые гормоны влияют на развитие первичных и вторичных половых признаков. Феминизирующее или маскулизирующее действие гонадостероидосодержащих препаратов лежит в основе проведения гормональной терапии при трансгендерном переходе.

На основе природных и синтетических мужских половых гормонов (андрогены, тестостерон) производятся анаболические средства, основная

цель применения которых – ускорение реакций пластического обмена в организме. Это свойство анаболических стероидных препаратов используется как для лечебно-профилактических целей (контроль мышечной массы у людей с состояниями, хронически истощающими организм и влияющими на стойкость иммунитета), так и для увеличения возможностей организма при нормальных показателях.

Промышленный синтез стероидов. Для промышленного синтеза стероидных гормонов применяются методы биотрансформации, микробиологического гидроксирования, микробиологического дегидрирования, методы химического синтеза и применение иммобилизованных живых клеток микроорганизмов. Сырьём для их синтеза могут служить стерины или стиролы, вещество S (11-деоксикортизол).

Биотрансформация – метод синтеза органических веществ с помощью способности микроорганизмов изменять отдельные участки в исходных молекулах, превращая их в структурно родственные соединения, которые обладают лучшими свойствами, чем исходные. Эти превращения могут осуществлять немногие бактерии, а также «низшие» и «высшие» грибы. Главная особенность биотрансформации заключается в специфичности ферментных систем микроорганизмов. Актинобактерии являются эффективными биокатализаторами многих процессов, связанных со стероидной биоконверсией, которые имеют большое значение для синтеза гормональных препаратов. Возможность катализировать конверсию широкого спектра стероидных субстратов позволяет ожидать эффективного использования этих микроорганизмов при разработке новых технологий производства стероидных фармацевтических субстанций.

Микробиологическое гидроксирование – наиболее часто применяемый метод получения стероидных препаратов. Присутствие гидроксильных групп в 3, 11, 16, 17 положениях обуславливает физиологическую активность для большинства гормональных стероидных препаратов.

Сутью микробиологического дегидрирования является повышение физиологической активности исходного вещества при введении 1,2-двойной связи.

Вывод. При анализе литературы было установлено, что природные стероидные гормоны в сравнении с их синтетическими аналогами биологически менее активны, поэтому для современной медицины является востребованным производство препаратов с искусственными стероидными гормонами.

Список литературы:

1. Сазыкин Ю.О. Биотехнология. 3-е издание, 2008. 154-156 с.
2. Масловская А.А. Биохимия гормонов: пособие для студентов педиатрического, медико-психологического, медико-диагностического

факультетов и факультета иностранных учащихся. 6-е изд.: - Гродно, 2012. 24-32 с.

3. Ершов, Ю.А. Биохимия человека: Учебник для академического бакалавриата / Ю.А. Ершов. - Люберцы: Юрайт, 2016. - 374 с.

4. Северин, Е. С. Биохимия : учебник / под ред. Е. С. Северина. - 5-е изд., испр. и доп. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. 17(11).

5. Научно-методический журнал. 21 век: итоги прошлого и проблемы настоящего, 2017. 24-30 с.

6. Березов, Т. Т. Биологическая химия. 3-е издани, 1998. 275-283 с.

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИЗГОТОВЛЕНИЯ НАНОСТРУКТУР С ЦЕЛЮ ИММОБИЛИЗАЦИИ В НИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

В.В. Оверченко, Г.М. Кремнева, Л.В. Романова, Э.Р. Матвиенко,
А.Д. Оверченко

ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет
Минздрава России, г. Ставрополь, Российская Федерация

Актуальность. Один из самых актуальных вопросов медико-биологической науки – поиск и разработка лекарств с высокими фармакологическими свойствами. Проектирование наночастиц и различных композиций на их основе является перспективным направлением в области создания лекарственных средств.

Цель работы: изучить современные методы построения наноструктур для потенциального их применения в медицинских целях, дать краткую характеристику перспективным объектам нанотехнологии, рассмотреть особенности терапии при помощи наночастиц, обобщить и систематизировать имеющиеся данные в части изготовления наноструктур.

Подразумевая наночастицы, используемые для доставки терапевтических молекул, обычно говорят о липосомах, фуллеренах и нанотрубках.

Сферические везикулы, имеющие в своем составе один и более липидных бислоев, называют липосомами. Являясь амфифильными соединениями, липосомы способны включать в себя и удерживать вещества различной природы. Это могут быть как неорганические ионы и низкомолекулярные органические соединения, так и крупные белки и нуклеиновые кислоты. Такие свойства придают липосомам уникальные возможности для решения некоторых медицинских проблем[2].

Когда говорят о строительном материале для получения липосом, в основном подразумевают фосфолипиды природного происхождения. Это могут быть как животные компоненты (например, яичный желток или эритроциты крови животных), так растительные (соевые фосфатиды).

Липосомы на сегодняшний день переходят в разряд продуктов крупномасштабного производства, следовательно, необходимомощное оборудование, а также дешевое и доступное сырье. Решение проблемы состоит в использовании для этих целей не самих липосом, а искусственных везикул, изготавливаемых из синтетических амфифильных соединений. В данном случае отлично могут подойти органические вещества, молекулы которых построены в соответствии с принципом амфифильности. То есть обладающие одновременно гидрофильными и гидрофобными свойствами. Такие везикулы будут отличной альтернативой липосомам из природных материалов [4].

Другим перспективным объектом медицинского назначения являются фуллерены и нанотрубки. По существу, фуллерены — это замкнутые молекулы углерода, атомы которых расположены в вершинах правильных шестиугольников или пятиугольников, которые покрывают поверхность сферы или сфероида.

Синтез фуллеренов в дуговом разряде считается одним из наиболее популярных и часто используемых методов за счет его простоты и высокой производительности. В ходе исследований специалисты пришли к выводу о предпочтительности бесконтактного метода получения дуги, при котором отсутствует контакт между электродами, они находятся на некотором расстоянии. Это позволяет дуге стабильно гореть в зазоре между ними. Прочный контакт между электродами нужен только на подготовительной стадии для зажигания дуги. Дальше электроды разводятся на определенное расстояние, которое с целью обеспечения стабильного горения дуги следует поддерживать постоянным. Для этого в дуговых установках предусматривается устройство перемещения одного из электродов [5].

Углеродные нанотрубки представляют собой молекулы цилиндрической формы, состоящие из свернутых листов атомов углерода.

Фуллерены и нанотрубки могут решить проблему целевой доставки разнообразных веществ благодаря способности проникать в различные ткани организма и переносить большие дозы агентов, оказывая терапевтический и диагностический эффекты.

Новый метод производства высококачественных углеродных нанотрубок предложен специалистами центра космических полетов NASA в Гинбелте. Как утверждают авторы, он гораздо проще и безопаснее современных. Основное отличие заключается в отсутствии задействования металлического катализатора при производстве пучков нанотрубок. Типичные технологии производства нанотрубок используют металлы-катализаторы для формирования нанотрубок. Все это приводит к необходимости изъятия частиц металла, следовательно, новая технология позволит получить готовый продукт намного чище и дешевле. Конструкции такого высокого качества отлично найдут применение в медицине ввиду отсутствия в их составе токсичных металлов. Лицензию

на использование уже приобрели компании, работающие в области производства нанотрубок: IdahoSpaceMaterials, Nanotailor, E-CityNanoTechnologies [1].

Недавно ученые исследовательского университета в Нэшвилле научились выделять из смеси нанотрубки с самой мощной люминесценцией. С этой целью сначала использовали специальное поверхностно-активное вещество и ультразвуковую обработку для диспергирования смеси в воде. Для удаления примесей в ультрацентрифугу помещали получающуюся темную жидкость.

Было установлено, что, если после этого снять наиболее плавучий слой, а через некоторое время снова поместить его в ультрацентрифугу, жидкость разделяется на несколько чётких слоёв. По результатам анализированный слой содержал самые яркие нанотрубки и имел фиолетовый цвет. Ожидания по повышению квантового выхода (количественная мера люминесценции) превзошли себя. Такреальный эффект был выше в 20-100 раз по сравнению с исходной смесью. Среди возможных медицинских применений нового метода – термотерапия раковых опухолей. Здесь люминесцентные нанотрубки могут прийти на смену нанокластерам золота, которые успешно исследуются учёными довольно давно, но обладают одним недостатком: места прикрепления кластеров трудно обнаружить. Люминесценция же нанотрубок должна облегчить задачу их локации [4].

Выводы. За последние 20 лет было выполнено много исследований и разработок, посвященных вопросам синтеза наночастиц в больших масштабах, в том числе для медицины. Для производства фуллеренов плазменные методы являются одними из наиболее подходящих и часто используемых. Из данного обзора видно, что дуговой метод синтеза фуллеренов дает возможности масштабировать технологический процесс производства и эффективно им управлять.

Последние исследования углеродных нанотрубок относятся к наиболее важным достижениям современной науки. Многие свойства углеродных нанотрубок не имеют ничего общего ни с графитом, ни с фуллеренами. Углеродные нанотрубки можно смело рассматривать и исследовать как материал, обладающий уникальными физико-химическими характеристиками, которые могут быть использованы во благо человечеству.

Соблюдая принцип амфифильности, при изготовлении липосомоподобных везикул могут быть задействованы самые разные органические вещества. При этом исходным сырьем не обязательно должны быть пищевые продукты, как предполагалось в недалеком прошлом. Поиск таких веществ является приоритетным направлением в вопросах производства наночастиц для терапевтического применения в медицине.

Список литературы:

1. Балужева, К. Н. Фуллерены и нанотрубки. Ученый. — 2017. — № 4 (13). — С. 44-46.
2. Н.Б. Демина. Биофармация – путь к созданию инновационных лекарственных средств // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013. № 5.
3. Кожанова К.К., Жетерова С.К., Великая Т.В. Липосомы – системы направленной доставки БАВ, Вестник КазНМУ, 2014.
4. Сухно И.В., Бузько В.Ю. Углеродные нанотрубки. Часть 1 – Высокотехнологичные приложения, Краснодар, 2008.
5. Удовицкий В.Г., Кропотов А.Ю., Фареник В.И. Развитие плазменных методов синтеза фуллеренов, НФТЦ МОН МС и НАН Украины, Харьков, 2012.

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ПИТАНИЯ ШКОЛЬНИКОВ

Г.П. Пешкова, Е.В. Карпова, О.С. Косоротова

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация,
Филиал ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии в Тамбовской области",
г.Моршанск, Российская Федерация

Актуальность. Здоровье детей и подростков – это важнейший вопрос национальной безопасности страны. Многочисленные исследования, выполненные в последние годы в разных регионах Российской Федерации, свидетельствуют о нарушении питания населения [1,4]. Одним из приоритетных направлений Государственной политики в области здорового питания населения России является оптимизация алиментарного статуса, сохранение и укрепление здоровья отдельных групп населения и, прежде всего детей и подростков [5].

Цель работы – изучить фактическое питание школьников и разработать рекомендации по оптимизации питания.

Материалы и методы. Оценка питания школьников осуществлялась анкетно – опросным методом по стандартизированной методике суточного воспроизведения питания с выяснением частоты потребления отдельных продуктов в соответствии с методическими рекомендациями по изучению фактического питания и состояния здоровья населения в связи с характером питания [2, 3]. В исследовании приняли участие 165 школьников в возрасте 13-17 лет, обучающихся в школах Моршанского района Тамбовской области.

Результаты. Результаты анкетирования свидетельствуют о недостаточном поступлении животного белка и полиненасыщенных жирных кислот, витаминов и минеральных веществ, а также об избыточном употреблении углеводов и жиров животного происхождения.

Дисбаланс поступления пищевых веществ обусловлен недостаточным употреблением молока и молочных продуктов, рыбы, мяса, бобовых, фруктов и овощей. Редко употребляют овощи и овощные блюда 42% и 7,4 % почти их не употребляют. Наиболее часто употребляются хлебобулочные изделия и крупяные продукты, картофель, а также сахар и кондитерские изделия. Характерными проявлениями нарушения питания являются высокие величины потребления простых углеводов. Любят сладкое и часто употребляют кондитерские изделия 40,2 % школьников, редко по праздникам - 49,4 %. В качестве перекуса 41,5 % школьников выбирают свежий фрукт, 30,5 % - бургеры и хот-доги, 11 % - чипсы, сухарики, 17% - пирожки, пиццу. Более 25% анкетированных часто питаются всухомятку, 61,6 % - иногда. Неправильное питание без достаточного количества жидкости приводит к определенным проблемам со здоровьем. Вода – основной элемент организма человека, жизненно важный для работы органов и терморегуляции. По результатам анкетирования большая часть школьников (65,5%) употребляют воду, 18,2 % - соки, растворимый кофе, 10,3% - газированные напитки, 3 % чай и 3% компоты, молоко. Последствиями неправильного питания могут быть нарушение роста, ухудшение умственного и физического развития, повышение утомляемости, сонливости в течение всего дня, нарушению работы всех органов и систем в организме. [6]. У многих школьников в связи с перестройкой всего организма нередко возникают проблемы с обменом веществ и, как следствие, проблемы с избыточным или недостаточным весом. Большинство школьников (60,6 %) считают свой вес нормальным, 27,9 % - избыточным и 11,5 % недостаточным.

Значительное умственное и физическое напряжение, которое в последние годы значительно возросло в связи с увеличением потока информации, усложнением школьных программ, нередко в сочетании с дополнительными нагрузками, приводит к необходимости ответственного подхода к соблюдению режима питания современных учащихся. Проведенные исследования свидетельствуют, что 19,4% опрошенных соблюдают и 79,3% не соблюдают режим питания. По результатам анкетирования 50,9% школьников не соблюдают режим питания по причине нехватки времени, в остальных случаях они либо не испытывают желание поесть, либо просто ленятся. У большинства школьников ужин плотный (мясо с гарниром – 28,5%, каши, чай с печеньем-23,6%) и 21,2% выпивают стакан кефира, или молока, йогурта либо употребляют фрукты. Важное значение имеет и кратность приема пищи. Более 20% школьников питаются 2 раза в день, около 40% - 3 раза и около 40% - 4-5 раз в день. Систематические нарушения режима питания ухудшают обмен веществ, и способствуют возникновению болезней органов желудочно-кишечного тракта, неравномерной выработке ферментов и желудочного сока [6]. При этом 89,1 % опрошенных понимают, что от правильного питания зависит здоровье и успеваемость и только 10,9 % с этим суждением не согласны.

Следует учитывать, что современный школьник проводит вне дома от 8 до 10 часов. Уроки, дополнительные занятия в кружках, студиях и спортивных секциях вынуждают их пользоваться услугами школьных столовых и буфетов. Горячее питание учащихся во время пребывания в школе является одним из важных условий поддержания их здоровья и способности к эффективному обучению. Хорошая организация школьного питания ведёт к улучшению показателей уровня здоровья школьников. Однако, только 57% школьников довольны школьным питанием, 17,6 % - не довольны, 9,1 % - считают питание дорогим и 16,4 % - указали другие причины. В связи с этим одна из главных задач школы сегодня – помочь учащимся осознать ценность здоровья и назначение здорового питания для современного человека, сформировать ответственное отношение к собственному здоровью. Для этого школьники должны знать и уметь применить для себя основные принципы рационального питания, а это возможно только в результате совместной работы педагогов, самого ребенка и родителей, т.к. именно в семье прививаются основы здорового образа жизни, зарождаются пищевые пристрастия, формируется культура питания, воспитывается ответственное отношение к здоровью. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что периодически мероприятия по пропаганде здорового питания (конкурсы, классные часы и др.) проводятся в школах в 43,6% случаях, 23,6 % - проводятся постоянно, 13,3 % - не проводятся, а 19,4 % школьников - первый раз об этом слышат. Поэтому одной из основных задач школы сегодня – помочь учащимся осознать ценность здоровья и назначение здорового питания для современного человека, т.е. образование в области питания должно быть интегрировано в общий образовательный процесс.

Выводы. Таким образом, питание школьников не полностью соответствует принципам рационального питания. Значительная часть школьников не обладают четкой информацией по вопросам рационального питания, и с нашей точки зрения, основополагающим элементом неотложных действий для реального включения фактора питания в число эффективных средств профилактики заболеваний алиментарного характера является активная просветительная и воспитательная работа, а это возможно только в результате серьезной кропотливой совместной работы педагогов, родителей и самих школьников.

Список литературы:

1. Мартинчик А.Н., Маев И.В., Петухов А.Б. Питание человека (основы нутрициологии)-М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2002.-С.435-455.

2. Методические рекомендации по вопросам изучения фактического питания и состояния здоровья населения в связи с характером питания» №2967-84 от 08.02.84 / МЗ СССР // Перечень основных действующих нормативных документов по гигиене питания. – М., 2004.

3. Методические рекомендации по оценке количества потребляемой пищи методом 24-часового (суточного) воспроизведения питания № СІ-19/14-17 / А.Н.Мартинчик [и др.] – М., 1996. – 123с.

4. Проблемы питания и состояния здоровья населения Рязанской области /Г.П. Пешкова [и др.] // Вопросы питания. – 2018. – Т.87, №5. – С.108-109.

5. Тутельян В.А. Государственная политика здорового питания населения /В.А. Тутельян, Г. Г. Онищенко.-М., 2009.- 257с.

6. https://school83.edu.yar.ru/pitanie_v_shkole/vazhnie_pravila_zdorovogo_o_pitaniya.html.

ПРОДУКТЫ ПИТАНИЯ = БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ДОБАВКИ = ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ

В.В. Помазанов, В.А. Киселева

Государственный гуманитарно-технологический университет
г.Орехово-Зуево, Российская Федерация

Население, общественность, фармацевтическое лобби, чиновники здравоохранения, журналисты, врачи, провизоры по-разному относятся к обороту пищевых продуктов и лекарственных препаратов, доводя антагонизм их восприятия до абсурда, зачастую ставя экономические интересы выше интересов здравоохранительных.

В докладе рассматриваются законодательные определения:

- продуктов питания – ПП;
- биологически активных добавок – БАД;
- лекарственных препаратов – ЛП.

В соответствии с первой редакцией ст.1 закона № 29-ФЗ [1] «Биологически активные добавки – природные (идентичные природным) биологически активные вещества, предназначенные для употребления одновременно с пищей или введения в состав пищевых продуктов». Следует отметить, что и ПП, и БАД, и ЛП во многом состоят из химических биологически активных веществ зачастую идентичных, близких по природе и действию на организм.

В последней редакции закона № 29-ФЗ понятие БАД, как таковое, отсутствует, и даётся новое определение термину «пищевые продукты» - это «продукты животного, растительного, микробиологического, минерального, искусственного или биотехнологического происхождения в натуральном, обработанном или переработанном виде, которые предназначены для употребления человеком в пищу, в том числе специализированная пищевая продукция, питьевая вода, расфасованная в ёмкости, питьевая минеральная вода, алкогольная продукция (в том числе пиво и напитки на основе пива), безалкогольные напитки, биологически

активные добавки к пище, жевательная резинка, закваски и стартовые культуры микроорганизмов, дрожжи, пищевые добавки и ароматизаторы, а также продовольственное сырье».

Образно говоря, – водка, закуски и жевательная резинка ставятся в один ряд с БАД и лечебными биологически активными веществами, которые, тем не менее, «ЛП не являются», о чём и гласит эта обязательная для БАД лицемерная приписка.

Законодательное определение ЛП [2] мало что говорит по существу вопроса: «Лекарственные препараты – лекарственные средства (вещества и их комбинации) в виде лекарственных форм, применяемые для профилактики, диагностики, лечения заболевания, реабилитации, для сохранения, предотвращения или прерывания беременности». Ничего не говорит законодательство об индивидуальности качества восприятия ПП, ЛП и БАД.

Если продукты питания резко отличаются по «форме» от родственных им БАД и напрямую не используются для «...диагностики и прерывания беременности», то БАД широко производятся в виде всевозможных (естественно, кроме ректальных) «лекарственных формах»: таблетках, капсулах, драже, зачастую имея одинаковый состав действующих веществ, схожую потребительскую тару, торгующихся преимущественно в аптеках, при этом обладающих лечебными свойствами, как и их пищевые предшественники.

Классический пример: лимон, он же ПП, он же БАД, он же ЛП – спаситель от цинги. В то же время масса современных ЛП (от 30-50% до 97!) не имеют доказанной терапевтической эффективности, зато обладают массой побочных эффектов, вплоть до летальных [3]. БАД этих отрицательных качеств практически не имеют; «Ваша пища должна быть лекарством, а ваши лекарства – пищей», – писал великий врачеватель Гиппократ за 460 г. до н.э.;

«БАД – это не лекарство, не средство лечения болезни, а средство устранения причин её вызывающих»; «Регулярное использование БАД – это лучшее, что может сделать человек для своего здоровья» - В.А. Тутельян [3,4].

Рынок ПП, БАД и ЛП огромен:

- к 2024 г. валовая добавленная стоимость, создаваемая производством пищевых продуктов, должна достигнуть 2 841,9 млрд руб. (в 2019 г. – 2 000 млрд руб.), в том числе за счёт существенного увеличения экспорта готовой продукции;

- темп роста фармацевтического рынка в 2020 г. обогнал все прогнозы. Объём рынка достиг 2 040 млрд руб. против 1 858 млрд годом ранее, а прибыль от продаж увеличилась вдвое;

- по итогам первого полугодия 2021 г. ёмкость фармацевтического рынка в России составила 1094 млрд рублей, что на 9% больше, чем за аналогичный период 2020 г. Денежный оборот ряда мировых

фармацевтических компаний превышает валовый национальный доход некоторых государств. Объем будущего рынка вакцин от коронавируса может составить более \$10-25 млрд в год, пишет The Guardian со ссылкой на оценки аналитиков Morgan Stanley и Credit Suisse [3, 5].

Обладая колоссальными денежными средствами, фармбароны в состоянии интенсивно влиять на рынок ЛП и БАД, вытесняя и/или дискредитируя их разработку и производство на любом уровне, будь то министерство, СМИ, научная или бизнес-общественность. Перед разработчиками БАД стоит важнейшая задача по популяризации преимуществ их товара, активно влияющего на продолжительность и качество жизни населения.

Учитывая достигнутые научные, производственные, конъюнктурные и социально-экономические факторы [3, 6-10], ЗАО «ЭКОлаб» организовал специализированное направление по разработке и производству БАД на основе растительного и животного сырья. В докладе представлены последние разработки в этой области.

Список литературы:

1. Федеральный закон "О качестве и безопасности пищевых продуктов" от 02.01.2000 N 29-ФЗ
2. Федеральный закон "Об обращении лекарственных средств" от 12.04.2010 N 61-ФЗ
3. Помазанов В.В., Марданлы С.Г., Киселева В.А. и др. Биологически активные добавки. Разработка и маркетинг // Известия ГГТУ, №4, 2020, - С.247-2554.
4. Тутельян В.А. Онищенко Г.Г., Гуревич Г.К. и др. Здоровое питание: Роль БАД // ГЕОТАР-медиа, 2000, 480 с.
5. Москва. 6 ноября 2021, INTERFAX.RU - Объем будущего рынка вакцин от коронавируса может составить более \$10 млрд в год interfax.ru/business/735911***
6. Помазанов В.В., Марданлы С.Г., Киселева В.А. Концепция фармацевтической безопасности // В сборнике: "Известия ГГТУ". Медицина Фармация. Научные труды. Орехово-Зуево, 2020. С. 32-44
7. Помазанов В.В., Марданлы С.Г., Рогожникова Е.П., Киселева В.А. Введение в галенику // Орехово-Зуево, РИО ГГТУ, 2016, -156 с.
8. Помазанов В.В., Марданлы С.Г., Болдырев И.В., ВОДА+АЛКОГОЛЬ // Владимир- Электрогорск: Транзит -ИКС, 2015, -328 с.
9. Помазанов В.В. Марданлы С.Г., Киселева В.А. Расплотворение. Лечебные и оздоровительные продукты пчеловодства // Орехово-Зуево, РИО ГГТУ, 2017, 208 с.
10. Помазанов В.В., Марданлы С.Г., Киселева В.А. Концепция фармацевтической безопасности // Известия ГГТУ, №1, С.32-4

ПРОБЛЕМА ВЫБОРА ОПТИМАЛЬНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТОКСИЧНОСТИ ПОЛЛЮТАНТОВ

Ю.А. Поминчук, О.В. Баковецкая, А.А. Терехина

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Увеличения числа и объемов поллютантов в компонентах окружающей среды – одна из глобальных экологических проблем. Современная тенденция по увеличению числа загрязнителей требует разработки и применения методов, направленных на оценку опасности отдельных химических веществ и их смесей, обнаружения их в окружающей среде, оценку влияния спектра поллютантов на живые системы разного уровня [1, 4, 6].

Методы биотестирования заслуженно нашли широкое применение в экологических исследованиях. Применение тест-объектов способствует обнаружению низких доз загрязняющих веществ, выявлению эффектов новых поллютантов, проведению экологического мониторинга в соответствии с международными и национальными директивами по охране окружающей среды [4, 5]. Сравнение эффективности различных существующих методик биотестирования и подбор объектов для тестирования различных веществ представляет собой весьма актуальную задачу.

Цель. Проанализировать проблема, связанные с выбором оптимальной тест-системы при определении токсичности поллютантов.

Материалы и методы. Выбор тест-объекта, метода учета тест-параметра определяется методикой исследований, особенностями самого тест-организма и возможностями лаборатории. Наиболее распространен метод прямого определения численности организмов, так же необходимо учитывать изменение метрических показателей организма, снижение его двигательной и трофической активности.

Результаты. В качестве тест-объектов может быть использовано довольно много групп живых организмов: микроводоросли, высшие растения, моллюски, простейшие, ракообразные, рыбы (преимущественно мальки), культуры клеток человека и животных [1, 2, 6].

Биологические объекты обладают более высокой чувствительностью даже к низким концентрациям веществ, чем аналитические датчики. Живые организмы являются наиболее информативными и показательными при исследованиях последствий негативного воздействия. Совершенствование методологии биотестирования направлено на максимальный учёт факторов, влияющих на реакции тест-организмов. Однако, при использовании метода биотестирования возникает ряд проблем, обусловленных как спецификой объекта исследования, так и недоработками в методической базе [2, 4, 5].

Одна из проблем, с которой сталкивается исследователь – отсутствие унифицированной методики биотестирования для различных сред по единым критериям, что не позволяет сравнивать результаты. Так, например, возникает проблема выбора экстрагирующей и разбавляющей жидкости, способов «осветления» вытяжек из почв [3].

Необходимо учитывать уровень органических и биогенных веществ в исследуемой среде. При повышенном содержании органических веществ в водных растворах часто наблюдается недостаток кислорода, что не позволяет сделать однозначное заключение о токсичности пробы и возникает необходимость подтверждения результатов дополнительными методами. Присутствие большого количества биогенных элементов в водной вытяжке из почвенных образцов затрудняет применение зеленых протококковых водорослей [3, 5].

Результат экспериментального тестирования отобранных для исследования проб во многом определяется процедурой подготовки этих проб к биологическому исследованию. Например, окраска и мутность не связанные с присутствием токсических веществ, могут исказить результат биотестирования почв. Взвешенные вещества или коллоидный раствор вытяжки, негативно влияют на дафний с фильтрующим способом питания. Биотестирование на инфузориях и хлорелле также предусматривает работу преимущественно со светлыми жидкостями без взвеси, что связано с особенностями используемых приборов [4, 5].

При выборе тест-объекта необходимо учитывать механизмы проникновения поллютантов в организм, характер воздействия химического вещества, а также реакции организма и способность к адаптации. Воздействие поллютантов на организм определяется рядом факторов. От размера молекулы химического соединения зависит способ его проникновения в клетки организма (пассивный или активный транспорт). Липофильные высокомолекулярные соединения способны проявлять высокую токсичность за счёт проникновения через фосфолипидную оболочку клеток и образование прочных связей между поллютантом и биологической молекулой. Ряд веществ может нарушать пространственную координацию биологической молекулы. Химически активные вещества производят локальные нарушения, действуя как сильные окислители или восстановители. Поллютанты первых поколений отличались высокой стабильностью, что привело к их широкому распространению и биоконцентрации. Токсичность зависит также от дозы вещества и скорости его биотрансформации, а также сбора и накопления данных о зависимостях «доза-эффект», суммарного эффектах действия загрязняющих веществ [2, 4, 5, 6].

В настоящее время мировым трендом является сведение к минимуму использования высокоорганизованных животных в лабораторных исследованиях, что тоже влечет за собой возникновение ряда трудностей перед исследователями.

Выводы. Таким образом, можно сделать выводы, что при выборе оптимальных тест-объектов для изучения токсического действия поллютантов, исследователи сталкиваются с рядом проблем, следовательно, существует необходимость расширять спектр методик биотестирования, предназначенных для определения эко- и цитотоксичности, подбирать тест-объекты с учетом диапазонов их чувствительности к различным факторам. При этом важно сохранять принципы минимизации использования живых организмов в лабораторных исследованиях.

После изучения литературных данных последних лет, прогрессивным, на наш взгляд, является выбор клеточных культур в качестве тест-объекта, позволяющие отследить воздействие токсикантов, на основе сходства изменений на молекулярном и морфологическом уровнях, метод имеет высокую корреляцию результатов и обоснованность.

Список литературы:

1. Лихачев, С.В. Биотестирование в экологическом мониторинге : учебнометодическое пособие / С.В. Лихачев, Е.В. Пименова, С.Н. Жакова; Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный аграрно-технологический университет имени академика Д.Н. Прянишникова». – Пермь : ИПЦ «Прокрость», 2020 – 89 с

2. Влияние поллютантов на биохимические свойства микроорганизмов / О. В. Бойко, Ю. И. Доценко, Н. И. Гудинская [и др.] // Гигиена и санитария. – 2020. – Т. 99. – № 4. – С.

3. Олькова, А. С. Биотестирование почвенных образцов: основные правила и проблемы / А. С. Олькова // Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах : Материалы III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 110-летию со дня рождения профессора Эмилии Адриановны Штиной, Киров, 26–30 октября 2020 года. – Киров: Вятская, 2020. – С. 87-89.

4. Олькова, А. С. Факторы получения репрезентативных результатов биотестирования водных сред (обзор) / А. С. Олькова, Т. Я. Ашихмина // Теоретическая и прикладная экология. – 2021. – № 2. – С. 22-30.

5. Терехова, В. А. Технологии биотестирования в оценке экотоксичности отходов / В. А. Терехова // Экология производства. – 2009. – № 1. – С. 48-51

6. Чупис, В. Н. Применение в экологических исследованиях методов биотестирования на культурах клеток человека и животных / В. Н. Чупис, Л. Л. Журавлева, Д. Е. Иванов // Теоретическая и прикладная экология. – 2008. – № 4. – С. 71-76.

МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ПАЗАРИТИЧЕСКИХ НАСЕКОМЫХ К ПРЕПАРАТАМ- ИНСЕКТИЦИДАМ И ПУТИ ИХ ПРЕОДОЛЕНИЯ НА ПРИМЕРЕ PEDICULUS HUMANUS

А.А. Терехина, О.В. Баковецкая, Т.А. Калыгина

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Паразитарные заболевания, вызванные насекомыми, сопровождали человечество на протяжении всей истории. Ярким примером является педикулез, вызываемый облигатными эктопаразитами человека, вошь человеческая головная *Pediculus humanus*. *Pediculus humanus* их гниды были обнаружены мумифицированных останках в Египте, Китае, Южной Америке [3].

На протяжении всех этих веков человечество боролось с *Pediculus humanus*, различными способами. Так, высушенные цветки некоторых видов ромашки, в частности, Пиретриум цинерариелистного, применялись в качестве инсектицида еще воинами Александра Македонского, затем в древнем Китае и в средние века Персии.

На данный момент для борьбы используют инсектициды из разных классов соединений, но их широкое использование ускорило процесс возникновения и накопления факторов, вызывающих резистентность к данным препаратам у насекомых. Следовательно, поиск действенных инсектицидов, изучение механизмов возникновения и способов преодоления резистентности продолжают.

Целью работы стало изучение современных представлений о механизмах возникновения резистентности насекомых к инсектицидам на примере *Pediculus humanus*.

Материалы и методы: изучение современной научной литературы отечественных и зарубежных авторов.

Результаты. Совместная коэволюция человека и облигатных паразитов приводит к возникновению адаптаций. Многие из химических веществ, которые, эффективны против них, перестают работать всего через несколько лет использования, в связи с возникновением физиологических и биохимических механизмов резистентности у паразитов.

Выделяют три основных пути формирования резистентности насекомых к инсектицидам:

- 1) специфическая устойчивость молекулярных мишеней инсектицидов за счет точковых мутаций кодирующих их генов;
- 2) увеличение активности ферментных систем, участвующих в детоксикации ксенобиотиков (неспецифические эстеразы, монооксигеназы, глутатион S-трансферазы);
- 3) изменение активности АТФ-зависимых АВС-транспортных белков за счет гиперэкспрессии генов.

Возможны также снижение проницаемости кутикулы для инсектицидов и поведенческая устойчивость [6].

Нейротоксичные инсектициды воздействуют на молекулы-мишени, которые являются – ферментами и рецепторами нервной системы паразитов: ацетилхолинэстераза, никотин-ацетилхолиновые рецепторы, потенциалзависимые натриевые каналы в межнейронных синапсах, хлорные каналы в нейроэффektorных синапсах. Под действием инсектицидов происходит нарушение функционирования данных систем, что приводит к параличу и гибели паразитов [4].

Ацетилхолинэстераза является мишенью для инсектицидов из класса фосфорорганических соединений. Механизм действия основан на ингибировании активного центра фермента, который отвечает за гидролиз ацетилхолина в холинергических синапсах нервных окончаний. Ингибирование происходит в результате фосфорилирования остатка серина в активном центре фермента и приводит к накоплению ацетилхолина в синапсе в результате его чрезмерного выделения холинергическими рецепторами. Следует отметить, что фосфорорганические соединения приводят к необратимому ингибированию активного центра фермента. При молекулярно-генетических исследованиях были выявлены 14 мутаций, определяющие резистентность к данному классу инсектицидов у насекомых [1].

Потенциал-зависимые натриевые каналы мембран нервных клеток периферической и центральной нервной систем являются участками-мишенями для инсектицидов ряда пиретроидов и хлорорганических соединений. Мутации, приводящие к заменам аминокислотных остатков в I-III доменах – субъединиц натриевых каналов насекомых, связаны с резистентностью паразитов к данным инсектицидам. Основная часть известных на сегодняшний день мутаций локализуется во II домене [2].

Второй путь формирования резистентности – это работа неспецифических систем детоксикации ксенобиотиков, то есть – ферментные системы, являющиеся членами больших мультигенных семейств неспецифических эстераз, оксидаз (монооксигеназ) и глутатион-S-трансфераз. Вследствие того, что монооксигеназы катализируют протекание множества реакций и характеризуются широкой субстратной специфичностью, они принимают участие в метаболизме хлорорганических и фосфорорганических инсектицидов, карбаматов и пиретроидов. Основным путём метаболизма пиретроидов является окисление трансметильной группы в кислотной части молекулы, происходящее при участии монооксигеназ [7].

Введение ингибитора монооксигеназы – пиперонилбутоксид в противопедикулезное средство позволяет повысить эффективность средства и преодолеть резистентность паразитов к инсектицидам.

Также известно, что в некоторых случаях применение синергиста изменяет проницаемость кутикулы насекомого для инсектицида, что также повышает его активность [5].

Третий путь формирования резистентности насекомых к инсектицидам – это изменение активности АТФ-зависимых АВС-транспортных белков. Транспортёры – это мембраносвязанные белки, которые переносят различные соединения через мембраны и являются важным инструментом детоксикации ксенобиотиков. Эти белки осуществляют движение субстратов через клеточные мембраны с помощью энергии, получаемой при гидролизе АТФ.

Токсикологическим методом исследован вклад АТФ-зависимых транспортных белков (АВС–транспортёров) в механизм резистентности к перметрину у платяной вши *Pediculus humanus humanus* после предобработки насекомых верапамилом, ингибирующего активность АВС-транспортёров, токсичность перметрина несколько возросла. Однако, использование верапамила не позволило полностью преодолеть резистентность вшей к перметрину, что свидетельствует о возможной второстепенной роли этих транспортных белков в формировании резистентности к перметрину у *P.h.humanus* [1].

В заключении хотелось бы отметить, что микроэволюция среди насекомых-паразитов продолжается и в настоящее время, мы наблюдаем возникновение адаптивных приспособлений, в частности, к используемым против них инсектицидов путем изменения метаболических путей, ферментных систем и рецепторного аппарата.

Список литературы:

1. Еремина О.Ю., Лопатина Ю.В. Молекулярно-генетические механизмы резистентности к инсектицидам у насекомых // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2017. №4. С. 44-53.
2. Dong K., Du Y., Rinkevich F., Nomura Y., Xu P., Wang L., Silver K., Zhorov B.S. Molecular biology of insect sodium channels and pyrethroid resistance // *Insect. Biochem. Mol. Biol.* 2014; 50: 1—17.
3. Dralietal.,2016 Drali R., Mumcuoglu K., Raoult D. (2016). Human lice in paleoentomology and paleomicrobiology. *Microbiol. Spectr.* 4:PoH-0005-2014. 10.1128/microbiolspec. PoH-0005-2014
4. Ffrench-Constant R.H., Daborn P.J., Le Goff G. The genetics and genomics of insecticide resistance // *Trends Genet.* 2004; 20: 163—170.
5. Pridgeon J.W., Appel A.G., Moar W.J., Liu N. Variability of resistance mechanisms in pyrethroid resistant German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae) // *Pestic. Biochem. Physiol.* 2002; 73: 149—156.
6. Sparks T.C., Nauen R. IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management // *Pestic. Biochem. Physiol.* 2015; 121: 122—128.

7. Yu S.J. The toxicology and biochemistry of insecticides. Taylor and Francis Group, LLC. 2008. 276 p.

РАЗРАБОТКА ИММУНОФЕРМЕНТНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССА G К ПОВЕРХНОСТНОМУ ГЛИКОПРОТЕИНУ S SARS-COV-2

Н.Н. Шершнева, П.В. Самосадова, Ж.А. Токмакова

ЗАО «ЭКОлаб» г.Электрогорск, Российская Федерация

Актуальность. В связи с повсеместным распространением нового коронавируса SARS-CoV-2, приведшего к пандемии, приоритетной задачей системы здравоохранения на ближайшие несколько лет является оценка напряжённости гуморального ответа после перенесённой инфекции и определение уровня нейтрализующих антител, которые препятствуют повторному заражению. По данным зарубежных исследователей диагностическое значение имеют антитела к белкам нуклеокапсида и Spike-белку, его индивидуальным фрагментам S1 и S2 [1], которые образуются в процессе протеолиза Spike, а также домену фрагмента S1, отвечающего за взаимодействие с рецептором RBD (receptor binding domain). Считается, что именно антитела к RBD и фрагменту S1 обладают защитной (нейтрализующей) функцией, они способны блокировать связывание вируса с ангиотензинпревращающим ферментом 2 (ACE2) и проникновение вируса в клетки [2]. Антитела же к белку нуклеокапсида не обладают такой способностью и потому имеют исключительно диагностическое значение [3].

Вакцинация против COVID-19 является наиболее надёжным способом защиты от этой инфекции. Для оценки поствакцинальных антител проводят лабораторные исследования, определяющие количественное содержание антител к S-белку коронавируса, а именно к его рецептор-связывающему домену. Достаточное количество антител свидетельствует о сформировавшемся иммунитете.

Целью данного исследования явилась разработка иммуноферментной тест-системы для оценки гуморального иммунитета при текущей или перенесенной инфекции COVID-19, а также для определения уровня поствакцинального иммунитета, сформированного на S-белок (включая RBD) вируса SARS-CoV-2.

Материалы и методы. При конструировании тест-системы реализован метод непрямого иммуноферментного анализа на твердой фазе, для чего в качестве специфического компонента иммуносорбента был использован рекомбинантный полноразмерный тримеризованный поверхностный гликопротеин S, несущий RBD – домен. Иммуобилизация антигена была выполнена в концентрации 1 мкг/мл в карбонатно-

бикарбонатном буфере рН 9,6 с блокировкой раствором сахарозы в фосфатном буферном растворе рН 7,2 (25 г/л).

Для повышения стабильности и увеличения срока хранения, полученных иммуносорбентов их сушили под вакуумом и помещали в пластиковые пакеты, которые запаивали в атмосфере азота.

Для детекции вирусспецифических IgG-антител использовали пероксидазный конъюгат к Fc-фрагменту IgG человека. В качестве хромогена применяли стабилизированный раствор тетраметилбензидина.

Аттестацию калибровочных проб проводили относительно международного стандарта First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human), NIBSC code: 20/136. Диагностическую специфичность наборов проверяли на 2316 образцах сыворотки крови доноров и беременных. Для проверки чувствительности исследовали 650 человек с диагнозом «COVID-19», верифицированном на основании положительного ОТ-ПЦР теста и характерной картины по МСКТ легких. Для оценки уровня поствакцинальных антител анализировали образы вакцинированных разными вакцинными препаратами. В качестве наборов сравнения взяли наборы «Anti-Sars-CoV-2 ELISA (IgG)», EuroImmun, Германия и «Architect SARS-CoV-2 IgG», Abbot, США. При оценке результатов использовали программу Statistica StatSoft.

Результаты и выводы. Разработанный набор продемонстрировал высокую корреляцию с First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human), NIBSC code: 20/136: калибровочных проб и контрольного положительного образца (рисунок 1). Коэффициент корреляции (R) – 0,9998, величина достоверности аппроксимации (R²) – 1,0.

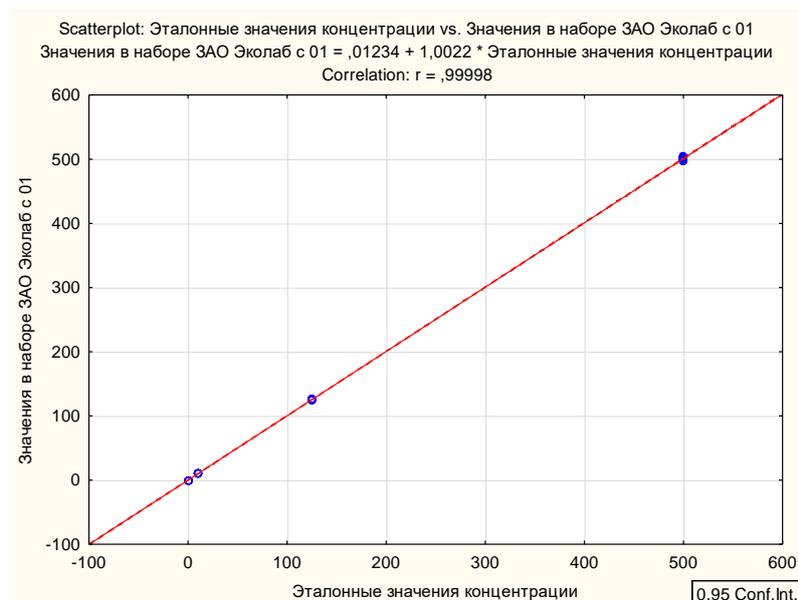


Рисунок 1. Корреляция между эталонными значениями концентрации и значениями в наборе Эколаб, $r=0,9998$.

Все 2316 образцов сыворотки крови доноров и беременных были отрицательными. Диагностическая специфичность составила 100%. В 650 пробах пациентов с диагнозом «COVID-19» были выявлены антитела с концентрацией более 190 Вау/мл. Концентрацию антител класса G к SARS-CoV-2 в исследуемых образцах сыворотки (плазмы) крови человека определяли по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания антител класса G к SARS-CoV-2 в калибровочных пробах. У вакцинированных вакцинными препаратами «ГамКОВИДВак» / «Спутник V» и «Спутник Лайт» так же были выявлены антитела в диапазоне от 120 до 4256 Вау/мл.

Отмечена полная сходимость результатов с наборами сравнения производства «EuroImmun» и «Abbot».

Полученные экспериментальные данные показывают, что разработанный набор реагентов по специфичности не отличается от наборов сравнения, и обладает высокой чувствительностью. Тест-система может быть рекомендована для широкого использования в клинико-диагностических лабораториях учреждений здравоохранения для определения концентрации антител класса G к SARS-CoV-2 и для массового серологического изучения иммунного статуса населения и оценки эффективности проводимой вакцинации.

Список литературы:

1. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (сovid-19)//УТВЕРЖДАЮ Заместитель Министра здравоохранения Российской Федерации О.В. Гриднев. Версия 1-14 (29.01.2020- 27.12.2021)

2. Марданлы С.Г., Авдони́на А.С., Мамедова С.Г., Разработка иммуноферментной тест-системы для выявления антител класса IgG к возбудителю COVID-19 в сыворотке (плазме) крови человека., Клиническая лабораторная диагностика. 2020. Т. 65. № 11. С. 683-687.

3. Авдони́на А.С., Марданлы С.Г., Лабораторные исследования в диагностике COVID-19., Известия ГГТУ. Медицина, фармация. 2020. № 4. С. 32-38.

4. Марданлы С.Г., Авдони́на А.С., Разработка иммуноферментной системы для выявления специфических иммуноглобулинов класса «М» к коронавирусу SARS-COV-2 методом иммунного блоттинга в формате "LINE BLOT", Клиническая лабораторная диагностика. 2021. Т. 66. № 8. С. 472-479.

5. Марданлы С.Г., Авдони́на А.С., Затевалов А.М., Иммунный блоттинг для выявления специфических иммуноглобулинов класса «М» к коронавирусу SARS-COV-2., Известия ГГТУ. Медицина, фармация. 2021. № 3. С. 45-53.

6. Марданлы С.Г., Производство наборов реагентов для клинической лабораторной диагностики иммунохимическими методами [Текст],

МИКРОПЛАСТИК СЕГОДНЯ

А.М. Шитикова

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Проблема микропластикового загрязнения наряду с быстрыми климатическими изменениями входит в пятерку самых обсуждаемых экологических угроз в наши дни. Согласно данным ООН, всего в мире было произведено более 9 млрд тонн пластика. Это примерно по 1 тонне на человека. И пандемия эту ситуацию только ухудшила. По оценкам журнала *Environmental Science and Technology*, помимо обычного мусора, из-за пандемии COVID-19 человечество ежемесячно выбрасывает 129 млрд масок для лица и 65 млрд перчаток, которые также производятся из полимеров. Под микропластиком (МП) понимают синтетические твердые частицы или полимерные матрицы правильной или неправильной формы, размером от 1 мкм до 5 мм, первичного или вторичного происхождения, нерастворимые в воде [7]. Первичный МП – это искусственно синтезированные микрогранулы пластика, которые добавляются в различную продукцию. Они встречаются в составе средств гигиены и косметики и после использования попадают в окружающую среду. Вторичный МП – это продукт распада крупных фрагментов пластика в природной среде на мелкие частицы. По химическому составу большая доля обнаруживаемых МП приходится на полиэтилен, полипропилен, поливинилхлорид и полистирол. Следует отметить, что около 4 % от веса пластмасс составляют добавки органического и неорганического происхождения, которые могут оказывать токсическое действие на организм человека. Среди них встречаются фталаты, алкилфенолы, бисфенол А, наночастицы - диоксида титана, бария, серы и цинка [6].

Загрязнение окружающей среды частицами МП происходит повсеместно. МП был обнаружен не только в городских окрестностях, но и глубоко в океанах, в горах и даже в арктических снегах [3]. Было показано, что МП также содержится в воде, чайных пакетиках, детских бутылочках, моллюсках, соли [4, 10]. 202 вида морских обитателей, употребляемых человеком в пищу, содержат МП [10]. Предполагаемое ежегодное потребление МП человеком колеблется от 39 000 до 52 000 частиц [4].

МП может попадать в организм человека через ЖКТ (например, при употреблении загрязненной МП пищи), через дыхательные пути (МП присутствуют в виде частиц, переносимых воздушно-капельным путем) [12] или через контакт с кожей [9]. После попадания частиц МП в организм человека их судьба и последствия все еще остаются спорными и

малоизвестными. У людей всасывание МП и, особенно, нанопластиков представляется вероятным, поскольку частицы размером менее 150 μm могут пересекать эпителий ЖКТ у млекопитающих. Показано, что частицы МП размером около 10 μm способны пересекать клеточные мембраны, гематоэнцефалический барьер и проникать в плаценту, предполагая распределение частиц в таких органах, как печень, мышцы и мозг [3]. Частицы размером менее 135 μm могут беспрепятственно проходить через дыхательные пути человека, что приводит к стойкому раздражению альвеол [11]. Считается, что накопление и распределение МП в органах обратно пропорционально размеру частиц, а депонирование частиц МП размером менее 20 μm происходит в печени, почках и кишечнике [5].

Было показано, что МП оказывает токсическое воздействие на живые организмы. Среди негативных эффектов МП выделяют влияние на энергетический и липидный обмен, окислительный стресс и нейротоксические реакции [5]. Воздействие 0,5 μm , 4 μm и 10 μm частиц пластика оказывало токсические эффекты на репродуктивную систему самцов мышей, вызывая нарушения сперматогенеза, снижение уровня тестостерона, воспаление яичек и повреждение гемато-тестикулярного барьера [8]. Эффекты частиц МП могут быть обусловлены их физическими свойствами (размером, формой, длиной), химическими свойствами (наличием добавок и типом полимера), концентрацией или слоем микробной биопленки [3].

Идентификация МП в биологических объектах затрудняется выделением частиц МП из окружающей среды, масок, перчаток, лабораторных вспомогательных материалов [7]. Кроме того, в России и в мире до сих пор отсутствует единая утвержденная методика по определению МП в различных объектах, что затрудняет сопоставимость получаемых данных измерений. Поскольку в мире отсутствует стандартный протокол анализа МП, выбор метода зачастую зависит от технического оснащения лаборатории. Каждый из методов имеет свои достоинства и недостатки. Так, методы визуальной микроскопии характеризуются низкой стоимостью и высокой погрешностью оценки, поэтому могут использоваться для предварительной идентификации частиц и их отбора на качественный анализ. Наиболее часто используемые и точные методы качественного анализа полимерных частиц в настоящее время - рамановская спектроскопия комбинационного рассеяния и ИК-Фурье спектроскопия, при возможности, дополненные ИК-микроскопией [1]. Рамановская спектроскопия в комплексе с микроскопией позволяет обнаружить частицы от 1 до 20 μm , однако данный метод ограничивает наличие флуоресценции различных органических и неорганических примесей. При применении ИК-Фурье спектроскопии спектры поглощения частиц размером менее 20 μm могут не поддаваться идентификации [2].

Таким образом, очевидна необходимость изучения распределения частиц МП в организме человека, выявления их возможных токсических

эффектов и разработка стандартизированных методов определения МП на основе существующих в мировой практике знаний.

Список литературы:

1. Ершова А. А., Еремина Т. Р., Дунаев А. Л. и др. Исследование загрязнения микропластиком морей российской Арктики и Дальнего Востока. *Арктика: экологияиэкономика*. 2021 (11). № 2. 164—177. DOI: 10.25283/2223-4594-2021-2-164-177.
2. Baruah A., Sharma A., Sharma S., Nagraik R. An Insight into Different Microplastic Detection Methods. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 2021.
3. Campanale C., Massarelli C., Savino I., Locaputo V., Uricchio V.F. A Detailed Review Study on Potential Effects of Microplastics and Additives of Concern on Human Health. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020(17). 1212.
4. Cox K.D., Covernton G.A., Davies H.L., Dower J.F., Juanes F., Dudas S.E. Human Consumption of Microplastics. *Environ. Sci. Technol.* 2019 (53). 7068–7074.
5. Deng Y., Zhang Y., Lemos B., Ren H. Tissue accumulation of microplastics in mice and biomarker responses suggest widespread health risks of exposure. *SciRep*. 2017(7). 46687. doi: 10.1038/srep46687.
6. EFSA (2016) Presence of microplastics and nanoplastics in food, with particular focus on seafood. *EFSA J.* <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4501>
7. Frias J., Nash R. Microplastics: Finding a consensus on the definition. *Mar. Pollut. Bull.* 2019 (138). 145–147.
8. Haibo J., Tan M., Xiaoxuan S., Zhenyu L., Yuan Z., Xiannan M., Yabing C., Xiaodong H., Jie D. Polystyrene microplastics induced male reproductive toxicity in mice. *JournalofHazardousMaterials*. 2021(40). 1123430
9. Revel M., Châtel A., Mouneyrac C. Micro(nano)plastics: A threat to human health? *Curr. Opin. Environ. Sci. Health* 2018(1). 17–23.
10. Toussaint B, Raffael B, Angers-Loustau A, Gilliland D, Kestens V, Petrillo M, Rio-Echevarria IM. Review of micro- and nanoplastic contamination in the food chain. *Food AdditContam Part AChem Anal Control Expo Risk Assess.* 2019(36). 1–35. <https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1583381>
11. Wright SL, Kelly FJ. Plastic and human health: a micro issue? *EnvironSciTechnol* 2017. 51(12). 6634e47.
12. Zhang Q., Xu E.G., Li J., Chen Q., Ma L., Zeng, E.Y., Shi H. A Review of Microplastics in Table Salt, Drinking Water, and Air: Direct Human Exposure. *Environ. Sci. Technol.* 2020(54). 3740–3751.

ВОПРОСЫ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ И ПРЕПОДАВАНИЯ БИОХИМИИ В МЕДИЦИНСКОМ ВУЗЕ

ПРАКТИКО-ОРИЕНТИРОВАННЫЙ ПОДХОД В ОБУЧЕНИИ СТУДЕНТОВ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА

Е.В. Бондаренко, Е.В. Зыкова, О.В. Островский

ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, г.Волгоград, Российская
Федерация

Актуальность. Практическая подготовка студентов медицинского вуза важная составляющая организации образовательного процесса и формирования профессиональных компетенций. Отработка практических навыков важное звено в профессиональной подготовке врача. Студенты медицинского вуза осваивают практические навыки во время учебных практик или на практических занятиях. Включение процедуры отработки практических навыков на текущих занятиях позволяет развить аналитические и рефлексивно-оценочные способности; понять специфику профессии; освоить профессиональные компетенции; актуализировать профессионально важные качества; осознано применять полученные теоретические знания и умения в профессиональной деятельности; накопить опыт, который позволит избежать ошибок в будущей профессиональной деятельности. Практика как одно из важных направлений в подготовке компетентного специалиста играет огромную роль в формировании профессиональных и общих компетенций современного врача [1].

Цель. Представить в данной работе основные направления по организации практической подготовки студентов, обучающихся по специальности «Медицинская биохимия».

Практическая подготовка – это ключевой компонент учебного процесса в медицинском вузе, целью которого выступает получение знаний, формирование навыков практической работы по специальности [2, 3]. На кафедре теоретической биохимии с курсом клинической биохимии Волгоградского государственного медицинского университета практико-ориентированный подход реализуется при обучении студентов по специальности 30.05.01 «Медицинская биохимия» по следующим дисциплинам: «Общая биохимия», «Организация и планирование исследовательской работы», в том числе проходят преддипломную практику, с дальнейшим написанием и защитой выпускной

квалификационной работы.

Результаты. Отработка практических навыков обязательный элемент подготовки студентов, обучающихся по специальности «Медицинская биохимия». На кафедре теоретической биохимии с курсом клинической биохимии в рамках изучения дисциплины «Общая биохимия» практико-ориентированный подход реализуется на практических занятиях при выполнении лабораторных работ и отработки практических навыков. Для этих целей используется биохимическое оборудование (например, спектрофотометр UV-VIS), которое имитирует работу в клинико-диагностической лаборатории. Методика приобретения навыков в условиях симуляции проводится по принципу «от простого к сложному». Разработка занятия с элементами практико-ориентированного подхода требует определенной логики действий и предполагает пошаговый метод освоения знаний. Освоение практических навыков независимо от сложности навыка проводится по следующей схеме. На первом практическом занятии преподаватель демонстрирует эталонный вариант выполнения анализа. На последующем занятии студенты выполняют лабораторную работу самостоятельно, но при участии преподавателя, который корректирует работу обучающегося, поясняет последовательность действий или возможные ошибки. Далее обучающиеся самостоятельно выполняют все действия по протоколу исследования.

Еще одним примером практико-ориентированного подхода на кафедре может служить отработка практических навыков при реализации дисциплины «Организация и планирование исследовательской работы» на 4 курсе. Целью изучения данной дисциплины является формирование теоретических научных знаний и практических умений по организации, планированию, проведению и анализу результатов исследовательской работы. На первых занятиях обучающиеся знакомятся с понятием «эксперимент», изучают виды эксперимента, типы медико-биологических исследований, дизайн исследований. Далее, студенты для освоения навыков научно-исследовательской деятельности получают индивидуальные задания и на основании полученных данных осуществляют все этапы планирования, обработки и представления результатов «виртуального эксперимента»:

1) На основании имеющихся результатов и выводов, представленных в статье, студенты учатся формулировать цель, задачи и название исследовательской работы;

2) Формируют список литературы по требованиям ГОСТа, составляют библиографическое описание на книгу нескольких авторов, автореферат, учебное пособие и др.

3) Проводят оценку точности, погрешности, правильности измерений.

4) С помощью программы Excel обрабатывают полученные данные, считают среднее значение, стандартное отклонение и коэффициент

вариации.

5) Представляют полученные результаты в виде наиболее часто используемых форм (устной презентации и стендового доклада). В данном разделе обучающиеся должны представить результаты своей работы в виде устного доклада с сопровождением мультимедийной презентацией. Из числа слушателей докладчику назначаются рецензенты и оппоненты. Обучающийся с ролью «Рецензент» готовит развернутую рецензию, как на устный доклад, так и на содержимое мультимедийной презентации. Студент в роли «Оппонента» формулирует ряд вопросов по представляемой работе.

Выводы. В заключение хотим отметить, что такой подход в организации образовательного процесса позволит сформировать у обучающихся те профессиональные компетенции, которые обеспечат им в дальнейшем успешную работу над своей выпускной квалификационной работой; представление результатов своей работы на конференциях в виде тезисов, докладов. Сформированные практические навыки и навыки научно-исследовательской работы повысят конкурентоспособность выпускника медицинского вуза специальности «Медицинская биохимия».

Список литературы:

1. Бондаренко Е.В., Зыкова Е.В. Опыт подготовки студентов медико-биологического факультета в условиях дистанционного образования // Эффективный менеджмент здравоохранения: стратегии инноваций: II Международная научно-практическая конференция, Саратов, 23–24 сентября 2021 года. – Саратов: Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского, 2021. – С. 53-55.

2. Иванишкина Е.В., Цепова Е.Л., Удовикова О.И. Учебная практика как начальное звено формирования профессионального мастерства врача // Смоленский медицинский альманах. 2015. №2.

3. Малыгина О.Г., Лейхтер С.Н., Давидович Н.В., Бажукова Т.А. Использование чек-листов для оценки практических навыков у студентов в медицинском вузе // Медицинское образование и профессиональное развитие. 2021. №2 (42).

РОЛЬ БИОХИМИИ В ФОРМИРОВАНИИ КЛИНИЧЕСКОГО МЫШЛЕНИЯ У СТУДЕНТОВ ПЕДИАТРИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА

М.Г. Енгальчева

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Для становления личности врача, развития клинического мышления необходимо не только владение множеством теоретических сведений, но и умение трансформировать, комбинировать,

адаптировать имеющиеся знания под определённую, всегда уникальную, ситуацию конкретного больного. Формирование клинического мышления у студентов является сложным, многоступенчатым, последовательным процессом [5].

Известны несколько уровней восприятия информации: 1) узнавание информации (знания-знакомства); 2) воспроизведение информации (знания-копии); 3) воспроизведение действий по указанному образцу (знания-умения); 4) самостоятельно построенная творческая деятельность (знания-трансформации) [4].

На первых курсах медицинского вуза обычно используются первые три уровня восприятия информации, однако они закладывают прочный фундамент, на котором базируются навыки четвертого уровня. В рамках изучения курса биохимии на 2 курсе педиатрического факультета формируются не только теоретические знания основ метаболических процессов, протекающих в организме человека, но и изучаются основы некоторых патологий, что, безусловно, способствует становлению профессиональных компетенций будущих врачей [2].

Цель. Целью настоящего исследования стала оценка мнения студентов и выпускников педиатрического факультета Рязанского государственного медицинского университета имени И.П. Павлова о роли изучения биохимии в вузе в аспекте формирования клинического мышления.

Материалы и методы. В анонимном опросе, проведённом с помощью Google-формы, приняли участие 111 студентов 3-6 курсов и выпускников педиатрического факультета РязГМУ. Респондентам предлагалось ответить на следующие вопросы: пригодились ли им знания, полученные при изучении биохимии, при дальнейшем изучении теоретических и клинических дисциплин; какие из пройденных тем и форм работы они считают наиболее полезными в аспекте формирования клинического мышления. Также участникам опроса была предоставлена возможность в свободной форме изложить их предложения и идеи по изучаемой теме.

Результаты. Более четверти опрошенных полагают, что знания, полученные при изучении биохимии, не пригодились им при изучении ни теоретических (27,8%), ни клинических (26,1%) дисциплин (табл. 1). Столь высокий процент отрицательных ответов ожидаем. Многие студенты 2 курса изучают биохимию из необходимости, полагая, что дисциплина сводится только к изучению химических формул и реакций, которые никак не пригодятся в их будущей профессиональной деятельности. Зачастую студенты, имеющие задолженность за первый курс, вынуждены уделять много времени и сил на ликвидацию задолженностей, что, в свою очередь, приводит к тому, что освоение биохимии для них становится полностью самостоятельной работой.

Таблица 1. Процентное распределение респондентов, давших положительные и отрицательные ответы

Респонденты	Знания биохимии пригодились мне при изучении последующих...			
	теоретических дисциплин		клинических дисциплин	
	Да	Нет	Да	Нет
3-4 курс	73,6%	26,4%	71,7%	28,3%
5-6 курс	72,3%	27,7%	81,4%	18,6%
Выпускники	72,7%	27,3%	63,6%	36,4%
Среднее	72,2%	27,8%	73,9%	26,1%

Пропуски занятий и отставание в изучении программы лишают таких студентов возможности получить полное восприятие предмета через комментарии преподавателя. В таких условиях формируется искаженное и неполное представление о значении биохимии, что впоследствии выражается в негативном отношении к изученной дисциплине.

Среди тем, изучаемых в курсе биохимии, наиболее «востребованными» среди респондентов оказались следующие: «Гормоны» (75,7%), «Витамины» (62,2%) и «Ферменты» (58,6%) (рис. 1). Около половины опрошенных считают полезными в дальнейшем обучении темы «Пищеварение», «Обмен углеводов» и «Биохимия органов и тканей».

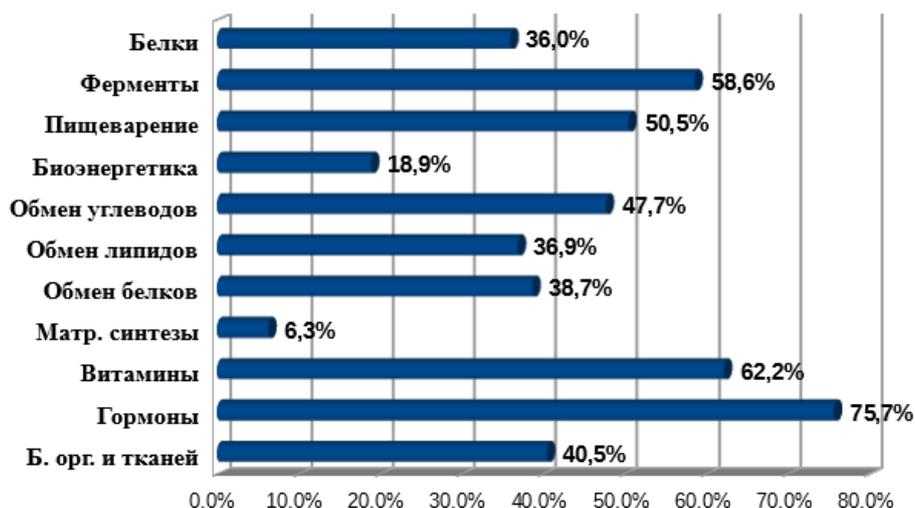


Рисунок 2. Распределение ответов респондентов на вопрос: «Больше всего мне пригодились знания разделов... (множественный выбор)»

Полученные результаты подтверждают преимущество в изучении биохимии и последующих дисциплин. Однако стоит отметить, что ряд изучаемых тем «обесцениваются» опрошенными, хотя едва ли можно считать лишними знания по какой-либо из них. Для изменения ситуации мы разработали сборник задач и упражнений для студентов педиатрического факультета, где сделан упор на клиничко-диагностическое значение фундаментальной науки [1]. Задания в сборнике составлены

таким образом, чтобы студенты уже в ходе обучения на 2 курсе могли понять, каким образом они могут использовать знания биохимии на практике, применительно к той или иной клинической ситуации.

Среди форм работы, применяемых при изучении биохимии, наиболее важными для развития клинического мышления респонденты посчитали разбор теоретического материала с преподавателем (75,7%), проработку задач с практическим уклоном (61,3%) и оценку результатов лабораторных исследований (60,4%) (рис. 2). Контактная работа с преподавателем играет крайне важную роль в подготовке врачей - клиницистов, так как в условиях информационного общества, изобилующего различными, порой недостоверными сведениями, крайне важно сформировать у студентов критичность, избирательность мышления [3]. Навык грамотного профессионального общения, свободного и качественного владения терминологией формируется только в результате непосредственного общения с педагогом, коллегами.

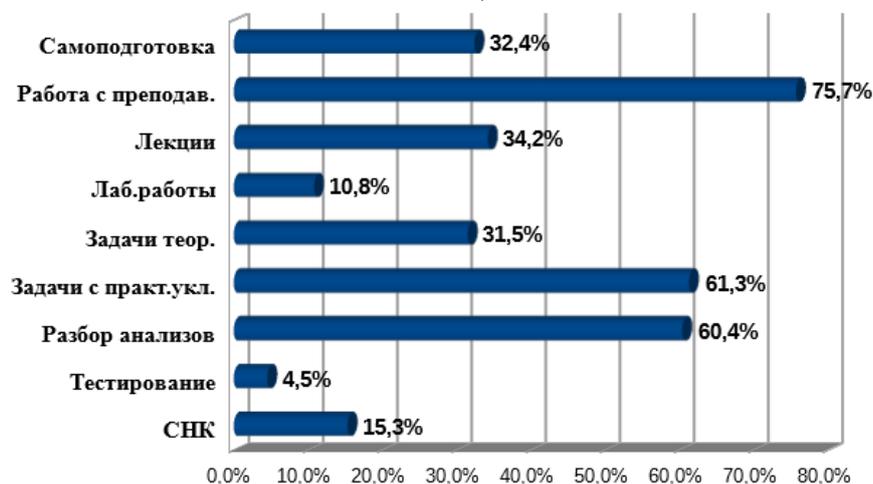


Рисунок 3. Распределение ответов респондентов на вопрос: «Наиболее полезная для формирования клинического мышления форма работы при изучении биохимии... (множественный выбор)»

Проработка задач с практическим уклоном, разбор результатов лабораторных исследований является одним из элементов проблемного обучения, способствующего погружению студентов в профессионально-ориентированную среду. Это позволяет перейти от формального освоения теоретического материала к осознанному применению полученных знаний, повысить мотивацию к изучению фундаментальной дисциплины.

Несмотря на богатый арсенал педагогических методик и средств обучения, качественная подготовка специалиста в медицинском вузе невозможна без грамотно организованной самостоятельной работы. При этом всего 32,4% опрошенных признают важность самоподготовки при изучении биохимии. В формате свободного изложения предложений по улучшению преподавания дисциплины ряд студентов отметили, что не считают необходимым заучивание химических формул и реакций. Безусловно, некоторые обучающиеся испытывают значительные

трудности при выполнении этого вида работы. Однако нельзя не признать, что полноценное, глубинное понимание как нормальных, так и патологических метаболических процессов, невозможно без изучения химических реакций, ферментов, их катализирующих.

Работа студенческих научных кружков признана эффективной для формирования клинического мышления лишь 15,3% респондентов. Но выдвигая свои предложения в Google форме, ряд опрошенных отметили, что считают полезными проведение заседаний кружков с обсуждением прикладных вопросов биохимии и педиатрии, междисциплинарных проблем. Данный формат взаимодействия со студентами имеет целый ряд преимуществ: на заседания кружков приходят максимально замотивированные, заинтересованные студенты; выбор тем не ограничивается учебной программой; участники имеют возможность развивать коммуникативные навыки, при этом погружаясь в профессиональную среду [3]. Проведение учебного занятия регламентировано, и подразумевает не только разбор теоретического материала, но и контроль знаний, выполнение лабораторных работ, индивидуальную работу со студентами. В рамках заседания студенческих кружков появляется неограниченная возможность для обсуждения клинических аспектов биохимии.

Выводы. По мнению большинства студентов и выпускников педиатрического факультета, изучение биохимии является одним из аспектов, формирующих клиническое мышление. Включение в освоение фундаментальной дисциплины элементов, погружающих студентов в решение практически ориентированных задач, может позволить увеличить мотивацию обучающихся к изучению биохимии и помочь в становлении клинического мышления будущих специалистов.

Список литературы:

1. Енгальчева М.Г., Марсянова Ю.А., Матвеева И.В. Сборник задач и упражнений по биохимии: Сборник заданий для обучающихся по специальности Педиатрия. ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России: – Рязань: ОТСиОП, 2020. 186с.

2. Матвеева И.В., Марсянова Ю.А. Внедрение междисциплинарного подхода в опыт преподавания фундаментальных дисциплин. Медицинская биохимия – от фундаментальных исследований к клинической практике. Традиции и перспективы. Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию профессоров А.Ш. Бышевского и Р.И. Лифшица. 2019. 100-102.

3. Медведев Н.В. Современные особенности организации педагогического и воспитательного процесса в медицинских вузах. Методология и технология непрерывного профессионального образования. 2020. 2(2). 15-22.

4. Муртазина Г.Х. Характеристика уровней усвоения учебной информации. Ученые записки университета им. П.Ф. Лесгафта. 2011. 76(6). 112-116.

5. Сидорова С.А. Аспекты формирования клинического мышления и личности врача у студентов лечебного факультета старших курсов. Современные проблемы науки и образования. 2008. 4. 55-56.

ЦИФРОВАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ПРЕПОДАВАНИЯ БИОХИМИИ ИНОСТРАННЫМ СТУДЕНТАМ В УСЛОВИЯХ ON-LINE ОБУЧЕНИЯ

Е.И. Ерлыкина, А.А. Анашкина, П.П. Загоскин, Л.М. Обухова, О.В.
Барина, А.Б. Языкова, В.П. Французова

ФБГОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, г.Нижний Новгород, Российская
Федерация

Развитие цифровизации системы образования приводит как к изменению организации образовательного процесса, так и к трансформации содержания образования [2, 3]. Пандемия форсировала и так начавшиеся изменения в высшем образовании — и вот уже преподаватели оказались в условиях, когда необходимо стремительно осваивать новые цифровые сервисы и инструменты, выстраивать занятия в соответствии с новой, цифровой педагогикой, учитывать особенности цифровой — опять же — психологии студентов [1]. Тем не менее, два года дистанционных технологий научили и преподавателей, и студентов гораздо большему в сфере цифровых технологий, чем многие курсы повышения квалификации. В нашу жизнь прочно вошли и стали уже обычным явлением видеоконференции, совместные документы, онлайн-доски и другие электронные образовательные элементы. Все это повлекло за собой существенные изменения в содержательном наполнении задач и функций профессиональной деятельности преподавателя.

Профессиональная деятельность преподавателя онлайн включает следующие компоненты:

разработка учебно-методического обеспечения и организация деятельности обучения (администрирование учебного процесса): целеполагание, планирование, структура, оценивание и компоненты учебной дисциплины; трансформация содержательного наполнения в формат заданий для электронной среды;

1. поддержка мотивации к обучению: вовлечение, мотивирование студентов к достижению результатов обучения; способность предвидеть возможные дидактические трудности;

2. прямое инструктирование (непосредственно деятельность преподавания): поддержка в освоении учебного материала.

3. изменения в профессиональных ролях преподавателя в онлайн обучении – коучер, модератор, онлайн тьютор.

Следует также учитывать особенности педагогического проектирования и преподавания в англоязычной виртуальной образовательной среде в условиях интернализации образования, что также требует от преподавателя активизации самостоятельного онлайн изучения и совершенствования английского языка. Кафедра биохимии им. Г.Я. Городисской вот уже более 20 лет ведет преподавание предмета студентам из более, чем 50 стран дальнего зарубежья на английском языке. Накоплен огромный опыт, который пришлось заново осмыслить для трансформации в электронную среду. В Университете создана электронная образовательная среда (СДО – сайт дистанционного образования).

Преподавателям кафедры близка модель университета Северной Каролины в Шарлотте – RASE: R – resources (ресурсы), A –activity (деятельность), S – support (поддержка), E –exam (оценка).

Ресурсы: это записанная видеолекция, слайды презентации, синхронная трансляция лекции, ссылки на электронные книги, открытые образовательные ресурсы, файлы с учебными материалами, схемами, таблицами, видеофильмы.

Деятельность: Студенты работают над письменными заданиями дома (например, используя MS Word или Google Docs) с последующей рефлексией на СДО; обсуждают изучаемый материал модуля, дискутируют, используются интерактивные формы обучения в реальном времени (платформы Cisco Webex.com, Zoom), знакомятся с виртуальным лабораторным практикумом, решают практические задачи; особое внимание уделяется решению кейсов, что позволяет оценить глубину полученных студентом компетенций.

Поддержка: отправка студентам оценок их деятельности (форум для выполненных домашних заданий), подведение итогов по текущему занятию и переход к введению новых учебных задач на предстоящую неделю. Предоставление расписания для всех мероприятий, заданий и экзаменов. Вопросы студентов / консультации / советы. Настройка времени для виртуальной консультации через Cisco. Создание онлайн-обсуждений для вопросов, связанных с курсом. Настройка электронной почты для индивидуальных вопросов. Размещение информации для студентов на горячей линии.

Оценка: онлайн студенты нуждаются в регулярной обратной связи. Предоставление всем студентам регулярных и своевременных отзывов о выполненных заданиях. Использование журнала успеваемости корпоративного портала (личный кабинет студента). Предоставление студентам неформальной обратной связи по электронной почте. Тестирование. Коллоквиум. Экзамен.

Весь курс биохимии разделен на модули (для лечебного факультета – 16 модулей). В каждом модуле есть информационный, содержательный и

контролирующий разделы. Студентам должна быть понятна логика курса обучения, дана предварительная его аннотация, обозначена цель и задачи курса, имеется инструкция по изучению материала темы, материал разбит на «порции» - лекция, практическая часть, домашнее задание, кейсы и пр. Для этого очень важна удобная навигация - переходы к разделам, учебным материалам, коммуникации, справочным материалам, результатам обучения. Должна быть понятна система контроля выполнения задания и результаты тестирования, налажена обратная связь с преподавателем. Курс биохимии разработан на платформе Moodle и успешно используется преподавателями Приволжского исследовательского медицинского университета.

КОНСОЛИДАЦИЯ ЗНАНИЙ ПО ЛАТИНСКОМУ ЯЗЫКУ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКОЙ ТЕРМИНОЛОГИИ

Л.В. Ефремова

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Когда речь заходит о медицинской терминологии, то сразу вспоминается латинский язык. Именно *Lingua Latina* – база научной медицинской терминологии. Всем известно, что одной из важных наук, изучаемых в медицинских вузах, является биохимия. Студент, учась на первом курсе, не всегда правильно оценивает важность изучения латинского языка. Это касается и экспериментального изучения биохимии в школе. Биохимия – одна из наук, в которой также используется латинская терминология. Зачастую многие термины настолько часто используются в науке, что теряется ассоциативная связь с латинским языком [2]. Это касается, например, школьных предметов, таких как физика, математика. Терминология биохимии обладает устоявшимся сводом лексем, которые активно используются в рамках предмета.

Цель. Установить взаимосвязь языка медицины с терминологией биохимии. Основными *задачами* стали:

- исследовать терминологическую базу предмета «Биохимия»;
- определить особенности процесса образования термина из «метаязыка» в «подязык».
- выявить термины, которые содержат в себе отнесение к греческим или латинским дериватам;

Объектом исследования являются лексические единицы биохимической терминологии на материале глоссариев и словарей терминов для различных специальностей.

Предметом исследования являются способы образования терминов биохимии и их взаимосвязь с терминологией медицины, а конкретно с латинским и греческим языками.

Образования термина биохимии – сложный многоуровневый процесс, включающий в себя знания об анатомо-гистологической и клинической терминологии. Объединение знаний данных разделов латинского языка помогает углубленно понять терминологию биохимии. В свою очередь это тот самый ключ к легкому запоминанию терминологии [4], а как следствие – успешному освоению достаточно сложного предмета, изучаемого в медицинском вузе. Исследование языка медицины позволило выделить «подязык» биохимии, рассмотреть общие черты и выявить особенности классификации.

Материалы и методы. Лексика биохимии неразрывна подчинена изучению свойств живого организма. Основным языком анатомической и клинической терминологии является латинский и греческий языки. Всем известно, что латинский язык является базовым в биологии и в медицине. Стандартизация терминологии – это одна из главных целей терминоведения [3]. Методологической базой данного исследования является сравнительный анализ дериватов медицинского языка и терминов биохимии с точки зрения семантики [5]. Основными *методами* стали:

- метод сплошной выборки терминологического состава биохимии;
- терминологический анализ лексем, который направлен на уточнение их значения;
- метод сопоставления, то есть приведения аналогий в языке медицины и в терминологии биохимии.

Результаты. Анализ терминов биохимии показал, что большинство из них различные детерминанты латинской медицинской терминологии.

Термины биохимической терминологии можно поделить на несколько основных видов: содержащие терминоэлементы (ТЭ), термины-транслитераты, термины-гибриды и небольшую часть составляют термины русского происхождения (термины-ассоциативы). Рассмотрим каждый вид подробно.

1) Термины, содержащие терминоэлементы (ТЭ): Один из самых продуктивных видов терминов. Это однословные термины, которые содержат греческий детерминант. Сюда можно отнести такие единицы, как *гистоны, оксидоредуктаза, энзимология, антиоксидант, полисахарид, ксенобиотики, симпорт, гемофилия* и др. Так, например, Гистон – это тканевые белки с выраженными основными свойствами из-за большого содержания аргинина и лизина» [1, с. 7] – содержит ТЭ «*histo – ткань*». Антиоксиданты – вещества, предотвращающие окисление органических веществ» [1, с. 19] – данный термин содержит несколько ТЭ: *anti-* против и *oxi* – кислород. Ксенобиотики – вещества природного происхождения или продукты жизнедеятельности человека, поступающие в животные организмы с пищей или из окружающей среды» [1, с. 98]. В этом термине содержатся два ТЭ *xeno-* животное; *bio-* жизнь. Этот вид терминов в процентном составляет 38 % от общего количества терминов.

2) Термины-транслитераты – это однословные термины, дословно переведенные с латинского языка с руссификацией окончания. Этот вид терминов также можно отнести к продуктивным. Любопытно, что многие термины в опросах студентов не ассоциируются ими с латинским языком. Сюда входят такие термины, как: *Гидратация, конъюгация, метгемоглобинэмия, трансферрин, коллагеназа, коллагенозы, миопатия, апоптоз, активация* и проч. Например, гидратация – это русский эквивалент латинского слова *Hydratatio*, где -ТЭ *-io* обозначает процесс, а *Hydratat* – вода; Активация – *activatio*: процесс создания активности. Коллагеназа – *collagenasum*: (коллаген+фермент). Данный вид терминов составляет 27 % терминов.

3) Термины-гибриды – это многословные термины, которые могут содержать ТЭ, транслитераты и исконно русские слова. Например, *биологические функции гликопротеинов, изоэлектрическая точка, биологические мембраны, дыхательная цепь митохондрий, макроэргические соединения, хемиосмотическое сопряжение и др.* Рассмотрим несколько терминов: Биологические (содержит ТЭ *bio-* (жизнь)) + функции (от лат.*Functiones*) + гликопротеинов (содержит два ТЭ *glyko-* (сахар, глюкоза) и *proteinum, in (протеин)*); холиевые кислоты (желчные кислоты), в данном термине использован ТЭ *Chole-* (желчь). Подобных терминов в биохимической терминологии встречается 24% от общего количества терминов.

4) Термины-ассоциативы – это такие термины, которые имеют русское происхождение, но образованы по ассоциативным рядам. Менее продуктивный способ образования термина. К ним можно отнести: *первичная структура, сверхвторичные структуры, третичная структура белка, активные формы кислорода, дыхание клеточное, обмен веществ* и проч. Таким терминам есть эквиваленты в латинском языке и в других национальных языках, но «прижились» и используются они именно в переводе. Общее количество таких терминов составляет 11%.

Выводы. Студенты учатся не просто получать знания, но и использовать их в дальнейшем, добывать и активно применять их в различных областях науки. В этом заключается консолидация знаний латинской медицинской терминологии с предметом «Биохимия». После проведенного исследования были выявлены виды терминов биохимической лексики. Из четырех представленных групп терминов три содержат латинские дериваты. Группа, содержащая термины на русской основе, является малопродуктивной. Всего в этой группе представлено около 15 терминов. В процентном соотношении группы, содержащие латинские дериваты составляют 89%, а термины на базе русской транскрипции – 11% от общего количества терминов. (Рис. №1). Таким образом, можно сделать вывод, что терминология биохимии – это значимая часть метасистемы языка медицины.



Рисунок 1. Процентное соотношение видов биохимических терминов

Список литературы:

1. Биохимия: учебное пособие для студентов заочного отделения фармацевтического факультета / В.И. Звягина, В.В. Юркова; ГОУ ВПО РязГМУ РосЗдрава. – Рязань: РИО РязГМУ, 2009 – 128 с.

2. Ефремова Л.В. Влияние языка медицины на метафоричность речи [Электронный ресурс] / Л.В. Ефремова // Личность в меняющемся мире: здоровье, адаптация, развитие: сетевой журн. 2018 т.6 №1 (20). Режим доступа: <http://humjournal.rzgmu.ru/art&id=297>

3. Павлова, Л. П. Роль самостоятельной познавательной деятельности в формировании у студентов культуры умственного труда // Вышэй-шая школа. – 2000. – № 3–4. – С. 35–40.

4. Организация самостоятельной работы студентов – условие реализации компетентностного подхода / Г. Тюрикова [и др.] // Высшее образование в России. – 2008. – № 10. – С. 93–97.

5. Цисык А.З. Об организации самостоятельной работы учащихся по изучению материала дисциплины «Латинский язык» в медицинском вузе: [Электронный ресурс]. – Минск, 2021. URL: <https://www.bsmu.by/files/category23/61/> (дата обращения: 28.12.2021).

ФОРМИРОВАНИЕ КОМАНДНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СТУДЕНТОВ ПЕРОВОГО КУРСА В УСЛОВИЯХ ДИСТАНЦИОННОО УЧЕБНОГО ПРОЦЕССА

Л.А. Каминская

ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет,
г.Екатеринбург, Российская Федерация

Актуальность. В государственном образовательном стандарте высшего образования – специалитет 31.05.02 «Педиатрия» в разделе универсальные компетенции выделено направление формирования «УК-3. Командная работа и лидерство. Способен организовывать и руководить работой команды, вырабатывая командную стратегию для достижения поставленной цели». «Команда – это группа людей, работающих на достижение одной общей цели, где у каждого участника своя определенная роль и функция, и от качества работы каждого зависит конечный результат» [3]. Одна из главных задач, которые может решить интерактивное образование – умение работать в группе, и создать для каждого студента индивидуальную образовательную траекторию [1]. Врач в профессиональной деятельности будет работать в коллективе специалистов, в составе команды. Учебный процесс на 1 курсе имеет сложности, связанные с особенностями организации в университете в сравнении со школой, с необходимостью формирования мотивации. В условиях контактной формы учебы названные проблемы разрешаются легче [2]. Выше внимательность, возможна гибкая по ситуации тактика проведения занятия; быстрая скорость проведения диалогов «вопрос - ответ». Это создает благоприятные условия для создания учебного коллектива. Интернет ограничивает эти возможности.

Цель исследования: формирование командной деятельности студентов первого курса с применением интерактивного обучения в условиях дистанционного учебного процесса.

Материалы и методы исследования. Анализ результатов учебной деятельности во 2 семестре 10 учебных групп первого курса педиатрического факультета при изучении дисциплины «Супрамолекулярная химия – биополимеры организма человека» (72 часа) на кафедре биохимии. Результаты рейтинга решения ситуационных задач, итогового электронного тестирования на зачете обработаны в программе Statistica -2010.

Обсуждение результатов. В условиях дистанционного образования (2020 -21 уч. год) был использован интерактивный метод для решения ситуационных задач. Каждая студенческая группа получала по интернету свою задачу, основанную на материале лекции и практического занятия. Было рекомендовано создавать для выполнения задания внутри группы рабочие команды в соответствии с числом вопросов в задаче (4-5

вопросов). Предполагалось, что каждая команда создаст свой ответ и далее предоставит его всем другим командам группы на обсуждение. Ответы, прошедшие рецензии, следовало объединить и представить преподавателю. Обсуждение ответов осуществлялось двумя способами: комментарии преподавателя в чате группы или в письме старосте; далее следовало дистанционно обсуждение на занятии, с привлечением при необходимости повторно уже известных студентам презентаций, иллюстраций. На рис.1 представлена диаграмма, отражающая в динамике итоговые баллы (максимально 100) за ситуационную задачу на занятиях №3 и № 6 по учебному плану (интервал 4 недели).

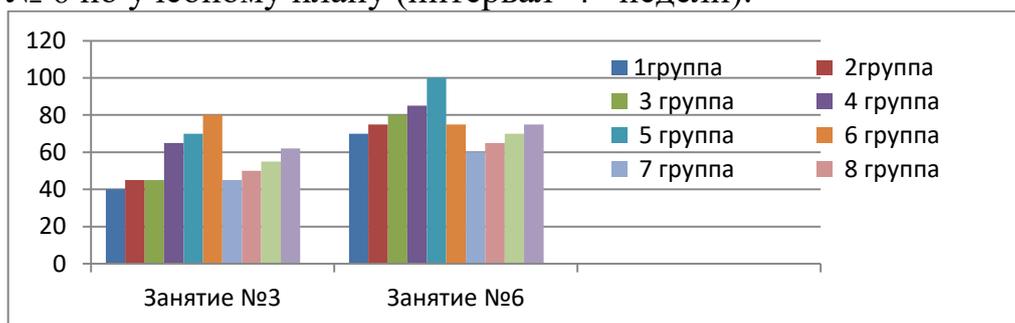


Рисунок 1. Баллы в группах при решении ситуационных задач

Анализ результатов выявил, что более серьезно к деятельности в командном формате на занятии №3 отнеслись группы №№ 4,5,6, показали наибольшее количество правильных ответов. К занятию № 6 все группы подняли свой командный рейтинг. Наличие связи между успеваемостью в течение семестра и электронным итоговым тестированием подтверждены наличием корреляции от + 0,73 до + 0,99 между имеющимися результатами. В единственной группе №4 нет корреляции между итоговым тестированием и семестровым рейтингом членов команды ($r = - 0,4$). В беседе выяснилось, что не сформировалось командное интерактивное взаимодействие, задания делали несколько участников группы, остальные пользовались их ответами.

Выводы.

1. Формирование прообраза профессиональной команды необходимо начинать с первого курса обучения в университете.

2. Возможно вовлечение студентов первого курса в условиях дистанционного образовательного процесса в командную деятельность через интерактивное обучение, связанное с групповым выполнением заданий, которое создает навыки деятельности в команде и ответственности по отношению к членам группы.

3. В опросе о методике дистанционного интерактивного обучения около 70% опрошенных студентов (60% от общего числа, свободная выборка) ответили, что у них постепенно возникало чувство единой команды и это придавало большую заинтересованность в учебе.

4. Итоговое тестирование формирует понимание личного статуса,

позволяет проявить индивидуальные качества каждого члена группы, провести самооценку уровня овладения знаниями,

Список литературы:

1. Гансуар К. Опыт проектно - ориентированного обучения и организации командной работы студентов вуза [Текст] / К. Гансуар, Е. А. Неретина, Ю. В. Корокошко // Интеграция образования. - 2015. -т.19, №2. - С. 22-30.

2. Каминская Л.А. Внедрение инновационных педагогических технологий на кафедре биохимии / Л.А. Каминская, И.В. Гаврилов, В.А. Лукаш, В.Н. Мещанинов // Здоровье, демография, экология финно-угорских народов.- 2017.- № 3-. С.97-100.

3. Малышева А.Д. Способность работать в команде как общекультурная компетенция студентов вуза // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 2. URL: <http://science-education.ru/article/view?id=26191..>

ИНТЕГРАЦИЯ И ИННОВАЦИОННЫЕ МЕТОДЫ ОБУЧЕНИЯ В ПРЕПОДАВАНИИ БИОХИМИИ

Р.Р. Олжаева¹, Г.Р. Олжаева², Ж.К. Смаилова¹, Д.Д. Муртазина¹,
К.Т. Сыдыкова¹, Б.С. Советов¹

¹«НАО медицинский университет Семей», г. Семей, Республика Казахстан,
²КГУ «СОШ No 34» ГУ «Отдела образования» г.Семей ВКО, Республика Казахстан

Актуальность. Современное время – время инноваций, новшеств и нововведений. Приучение к инновационным методам обучения, постоянное их использование, позволяет сделать открытым к новшествами мышление самих студентов, научить работать на опережение, поскольку эти качества являются особенностями инновационного обучения. Инновационные методы обучения – это активные методы обучения, они позволяют формировать опыт творческой и инновационной деятельности студентов, который в конечном счете влияет на компетентность будущего специалиста [1]. В высшей медицинской школе в настоящее время широко используются различные инновационные образовательные технологии, такие как: личностноориентированное, развивающее, проблемное, модульное и дистанционное обучение; игровые и деятельностные; информационно-коммуникативные и симуляционные; исследовательские методы [2]. Особенности применения личностно-ориентированных технологий в процессе обучения заключаются в том, что педагог должен создавать условия для использования индивидуальных программ обучения, моделирующих исследовательское мышление [3].

Цель. Интеграция в преподавании биохимии и использование инновационных методов обучения в преподавании биохимии.

Методы. Биохимический диктант, мозговой штурм, TBL, casestudy-CBL, ОСПЭ, работа в малых группах.

Обсуждение. В педагогической практике сложилась определенная система инновационных образовательных технологий, к которым относятся: методы работы в малых группах, «мозговой штурм-биохимический диктант», «ОСПЭ-объективный структурированный практический экзамен». В условиях постоянного увеличения объема информации, необходимой будущему врачу, а также дефицита учебного времени, в преподавании биохимии совершенствуется процесс обучения по следующим направлениям: активизация самостоятельной работы студентов при подготовке к практическим занятиям, использование быстрых и эффективных технологий проверки знаний, внедрение инновационных форм обучения. При использовании разных методов обучения у студентов появляется возможность более глубоко изучить биохимию, рассмотреть практическую значимость, с учетом включенности в процесс познания всех студентов группы без исключения. Совместная деятельность означает, что каждый вносит свой особый индивидуальный вклад, в ходе работы идет обмен знаниями, идеями, способами деятельности, обязательной обратной связи. Организуются индивидуальная, парная и групповая работа, используются разные инновационные методы обучения [2. 3]. Особенности применения личностно-ориентированных технологий в процессе обучения заключаются в том, что педагог должен создавать условия для использования индивидуальных программ обучения, моделирующих исследовательское (поисковое) мышление [1]; Вначале занятий часто используем методику проведения биохимических диктантов, что позволяет, за счет своеобразного «мозгового штурма», определить важные, основные цели и задачи занятия и в дальнейшем, обдуманно и осмысленно в течении разбора темы, закрепить и лучше запомнить материал. Так, с введением ОСПЭ в качестве контроля освоения практических навыков студентов, изменился вектор оценки знаний студентов на приближение их к практической деятельности. Важное условие удачного выбора, оптимального варианта обучения, наличие у студентов проблемно-поискового стиля мышления. В этом направлении для студентов на кафедре биохимии проводятся, как практические занятия, так и лабораторные работы. Студентам предлагается определить определённые показатели биологических жидкостей-крови, мочи, ликвора, желудочного сока и.т.д., в нескольких пробах или анализах пациентов, сравнивать полученные данные, интерпретировать биохимические и физиологические изменения, объяснять причины, механизмы нарушений, при различных видах патологии. Выбор оптимального варианта, содержания обучения с помощью выделения главного, межпредметной

координации и построения рациональной структуры учебного материала, выступает в роли важной группы способов оптимизации обучения, позволяющей успешно решать задачи образования, воспитания и развития. На кафедре биохимии, разбирают клинические случаи при разборе сложных тем и разделов («Биохимия гормонов», «Биохимия печени» и др.). Перед студентами ставится ряд проблемных вопросов, где они должны определить изменения в предложенных анализах больных, объяснять причины и механизмы их возникновения. В преподавании курса биохимии большое внимание уделяется междисциплинарному общению, что очень важно для гармоничных взаимоотношений между частями целого. Комплексный подход отражает объективную целостность системы, связывающей разные уровни. Успех в обучении биохимии, развитие и воспитание студентов зависит от формирования у них представлений о единстве тела, осознания необходимости регулировать деятельность организма на основе знаний общебиологических, химических, анатомических, физиологических, биохимические законы и правила, раскрытие внутренних и междисциплинарных связей. Мы используем различные уровни интеграции: начинающий, сочетающий базовые знания (интеграция с предметами – биология, биофизика); Промежуточный – интеграция тем раздела знаний в такие предметы, - интеграция с объектами – анатомия, гистология, биофизика); Заключительный – интеграция на завершающем этапе обучения в связи с изучением биохимических процессов. Понимание механизмов интеграции всех типов метаболизма для функционирования организма в целом на всех уровнях структурной организации: клеточном, межклеточном, тканевом, органе и целом с системами интеграции и управления всем телом. Мы рассматриваем междисциплинарное общение и внутри-предметные коммуникации, как прямые, так и обратные. Современное обучение достаточно, чтобы быть эрудированным, он должен уметь творчески использовать существующие знания по темам биологии, химии, анатомии, физиологии и других наук для решения концепции новых проблем в курсе биохимии, что, в свою очередь, важен и является основным предметом для углубленного развития знаний студентов по последующим теоретическим и клиническим дисциплинам. Метод командное обучение в малых группах - это тип инновационного обучения, для развития студентам навыки командной работы. В целях повышения качества обучения, непрерывности, реализации интеграции обучения, разработаны и проведены исследования вертикальной и горизонтальной интеграции с использованием методик TBL. Правильный выбор преподавателем метода и средств обучения, качество организации процесса обучения, отражаются в оценке освоенных знаний, навыков и умений [5].

Выводы и заключение. Из вышеизложенного следует, что инновационные методы обучения являются дополнительным способом

образования в области преподавания медицинских дисциплин, повышают качество обучения, а также сокращают время изучения предмета. Эффективность контроля знания и умений обучающихся зависит от умения преподавателя и грамотного выбора проведения занятия [4].

Список литературы:

1. Левашева, Ю. А. Учебные задания и их роль в процессе обучения / Ю. А. Левашева // Инновации в системе высшего образования: материалы международной научно-методической конференции. – Кинель: РИО СГСХА, 2017. – С. 198-201. 7. – С. 198-201. 7. – С. 198-201. [1];

2. Некрасова С. В. Формы и методы контроля и оценки знаний обучающихся Формы и методы контроля и оценки знаний обучающихся на занятиях по спецдисциплинам // Молодой ученый. — 2017. — № 39 (173). — С. 96-98. — URL: <https://moluch.ru/archive/173/45765/> (дата обращения: 31.01.2022).

3. Сайфуллаева Д.А., Миржанова Н.Н., Саидова З.Х. Развитие профессиональных компетенций и творческих способностей студентов высших учебных заведений научно-методический журнал вестник // науки и образования. 2020. № 19 (97). Часть 2. С. 554.

4. Киселева Н.И., Арестова И.М., Жукова Н.П., Радецкая Л.Е., Дейкало Н.С., Колбасова Е.А Использование современных инновационных образовательных технологий в подготовке конкурентоспособного врача-специалиста клинического профиля/ Сборник материалов Международной Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Инновационные обучающие технологии в медицине» Витебск, 2017 р. 46

5. Муртазина Д.Д., Сыдыкова К.Т., Олжаева Р.Р., Омарова А.Ш., Советов Б.С. Инновационные методы обучения в медицинском образовании. /MaterialsoftheXIIIInternationalReserchandPracticeConference "ScienceandCivilization"-2017, Sheffield, Vol.4.,page:21-24

**ВНЕДРЕНИЕ ИЗУЧЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ОСНОВ
МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ ФИТОЭКДИСТЕРОИДОВ СЕМ.
ГВОЗДИЧНЫХ НА КАФЕДРЕ ФАРМАКОГНОЗИИ РЯЗГМУ ИМ.
АКАД. И. П. ПАВЛОВА МИНЗДРАВА РОССИИ**

Т.О. Острикова, С.В. Дармограй, В.Н. Дармограй, В.А. Морозова,
Н.С. Ерофеева, А.С. Лизунова, Е.В. Акульшина

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

Актуальность. Высшее фармацевтическое образование ставит своей целью подготовку профессиональных сотрудников фармацевтической отрасли. Дисциплина «Фармакогнозия» реализует выполнение

профессионального стандарта обучения «Провизор». Данный курс подразумевает изучение «химии растений» в контексте применения лекарственных свойств изучаемых объектов.

Тенденции ВОЗ и Правительства РФ указывают вектор развития фармации в направлении создания принципиально новых лекарственных средств, обладающих наименьшим количеством побочных эффектов. Для этой цели как нельзя лучше подходят фитопрепараты.

На кафедре фармакогнозии Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова проводится изучение таких эффективных и безопасных соединений, как фитоэксдистероиды на примере семейства Гвоздичных. [2, 3]

За более чем 50 лет плодотворной научной работы совместно с клиническими кафедрами университета выявлены следующие эффекты фитоэксдистероидов:

- Стимуляция репаративной регенерации
- Антитоксическая активность
- Антимикробное действие
- Способность стимулировать различные формы иммунитета – естественную резистентность и др. [1]

Изучение биохимических процессов механизма действия фитоэксдистероидов как перспективных лекарственных средств помогут студентам развить логическое мышление, сформировать междисциплинарные связи, освоить причинно-следственные принципы поиска решений проблемных вопросов.

Цель: внедрить изучение биохимических процессов механизма действия фитоэксдистероидов семейства Гвоздичных в курс фармакогнозии соответствующей кафедры ФГБОУ ВО РязГМУ им. акад. И.П.Павлова Минздрава России.

Материалы и методы. При поиске литературы по основам биохимического механизма действия фитоэксдистероидов был использован ретроспективный анализ литературы с использованием PubMed, Google академия, базы Sciencedirect. Для создания тестовых заданий и анкетирования студентов применялись сервисы Google (Google-формы).

Результаты. В ходе работы подготовлены методические указания к занятию «Биохимические основы механизма действия фитоэксдистероидов как принципиальный момент физиологической активности соединений». Внедрение темы одобрено на заседании кафедры.

Студентам предложено две авторских схемы действия фитоэксдистероидов, основанных на изученной литературе. [4, 5] Задача обучающихся, работая в малых группах в интерактивном режиме, опираясь на имеющиеся и полученные знания, собрать пазл данных схем.

Данный игровой метод, основанный на прорабатывании пошагового принятия решений в работе малыми группами, обеспечит детальную

проработку биохимических, фармакогностических и фармакологических сторон действия фитостероидов.

Выводы. На основании проведенного поиска литературы составлены авторские схемы механизмов действия фитостероидов - перспективных в фармакологическом отношении биологически активных веществ. Подготовлены методические указания, дидактические материалы для проведения занятия с использованием технологии активного обучения. Внедрение темы принято на заседании кафедры.

Список литературы:

1. Дармограй С.В., Гуськов А.В., Зиманков Д.А., Ерофеева Н.С., Дармограй В.Н. Возможное использование фитостероидов в стоматологической практике. Фармация, 2021; 70 (6): 9–14.

2. Дармограй С.В., Ерофеева Н.С., Дармограй В.Н., Острикова Т.О., Морозова В.А., Дармограй Н.Ф., Лизунова А.С. Химический состав и анатомическое изучение тысячеголова испанского. Фармация, 2021; 70 (4): 26–31.

3. Дармограй С.В., Ерофеева Н.С., Острикова Т.О., Дармограй В.Н., Морозова В.А., Лизунова А.С., Дармограй Н.Ф. Изучение анатомо-морфологического строения и химического состава качима постенного (*Gypsophila muralis* L.) методом ВЭЖХ. Фармация, 2021; 70 (2): 18–23.

4. Тимофеев Н.П. Фитостероиды: фармакологическое использование и активность (обзор). Медицинские науки. 2005. 4. 26-66.

5. Niranjana Das, Siddhartha Kumar Mishra, Anusha Bishayee, Eunüs S. Ali, Anupam Bishayee. The phytochemical, biological, and medicinal attributes of phytoecdysteroids: An updated review. Acta Pharmaceutica Sinica B 2021. 11 (7). 1740-1766.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЕДАГОГИЧЕСКИХ ИНСТРУМЕНТАРИЕВ В ОРГАНИЗАЦИИ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА

О.В. Полякова, А.Н. Жолудова

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г.Рязань, Российская Федерация

В настоящее время быстроизменяющийся мир ставит определенные требования перед будущим специалистом. С одной стороны, современный специалист должен за время обучения научиться как самостоятельно, так и работая в команде, справляться с такими вызовами глобальной экономики, как неопределенность, многозадачность, открытость, цифровизация и ускорение. С другой стороны, современный этап развития общества характеризуется стремительным развитием инновационных процессов в сфере образования. Поэтому требования к высшей школе определяются

ситуацией, в которой находится государство, когда происходят глобальные процессы на рынке перераспределения труда.

Таким образом, если перед выпускником вуза стоят такие глобальные задачи и вызовы, то и современный преподаватель высшей школы должен трансформироваться под реалии современного мира. Всё это предполагает использование в высшей школе новых педагогических инструментариив. Под педагогическим инструментариив мы понимаем совокупность инструментов, т.е. средств, форм, методов, приемов и т.д., используемых в педагогической деятельности преподавателя. Структура, содержание, технологии, формы и методы, применяемые на занятии, должны способствовать успешному осуществлению учебно-педагогической деятельности, направленной на достижение желаемых результатов обучения.

Знания последних тенденций вузовского образования, применение новых технологий обучения предполагают непрерывное повышение квалификации преподавателей. Необходимо отметить, что руководство Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова старается обеспечить профессорско-преподавательскому составу свою траекторию для профессионального и личностного роста.

Сейчас в образовании, в том числе и высшем, реализуется федеральный проект «Кадры для цифровой экономики». В связи с этим в рамках национальной программы «Цифровая экономика» на базе университета Иннополиса создан опорный образовательный центр, который направлен на подготовку кадров для цифровой экономики. РязГМУ вошел в проект «Консорциум образовательных организаций высшего и среднего профессионального образования» для решения поставленных задач, а именно, для формирования и последующего внедрения инструментов развития образовательной инфраструктуры, а также увеличения числа высококвалифицированных специалистов различных предметных областей, востребованных на рынке труда. Сотрудники нашего университета прошли курсы повышения квалификации на базе университета Иннополиса и активно внедряют полученные знания в образовательную практику медицинского вуза.

Профессорско-преподавательским составом кафедры психологии, педагогики и инклюзивного образования ФДПО РязГМУ выстроена взаимосвязанная система работы с преподавателями вуза по формированию их профессиональной педагогической траектории и методической поддержки:

1 ступень – обучение в «Школе молодого преподавателя». Курс разработан для преподавателей со стажем работы менее 5 лет. Молодые преподаватели погружаются в педагогическую науку и получают необходимый багаж знаний для эффективной профессиональной деятельности. Они знакомятся с новыми педагогическими технологиями

(Web-квест, тьюторинг, Форсайт и др.), осваивают эффективные методы организации образовательного процесса (например, инновационные методы организации опроса: «Цепочка», «Работа в малых группах», «Ролевая игра», «Дерево знаний», «Конференция», «Журнальный клуб», «Синквейн» и др.).

Обучение не ограничивается только теоретическим курсом, а содержит большой практический модуль. В ходе педагогической супервизии у каждого преподавателя происходит формирование индивидуального методического стиля работы, осваиваются новые формы, методы и различные техники педагогической деятельности («Своя опора», «Базовый лист контроля», «Рейтинг», «Кредит доверия» и др.).

2 ступень – обучение по программе профессиональной переподготовки «Преподаватель профессиональной образовательной организации» для преподавателей, не имеющих педагогического образования и со стажем работы более 5 лет, состоящая из 6 дисциплин, охватывающих основные направления преподавания в современном вузе: профессиональная педагогика и методика преподавания; профессиональная психология; инклюзивное образование; основы воспитательной деятельности; дистанционные технологии и информационно-коммуникационные технологии в деятельности преподавателя (технологии создания образовательных траекторий, технологии воспитательной работы, в частности - тьюторинг и др.) [1].

3 ступень – обучение по программе повышения квалификации «Преподаватель профессиональной образовательной организации», цель которой актуализация знаний слушателей по основным вопросам современного преподавания в высшей школе, овладение новыми психолого-педагогическими технологиями, методами оценки качества образования и результатов инновационного развития вуза (например, дидактические технологии, формы и методы проектных работ, коммуникативные технологии и др.).

4 ступень – организация и проведение учебно-методических семинаров по обмену опытом между преподавателями и сотрудниками университета. Эта работа позволяет участникам семинаров представлять свои проекты инновационной деятельности в вузе, направленные на улучшение и модернизацию учебно-воспитательного процесса.

В период пандемии перед образовательными организациями встала задача по повышению медиаграмотности как преподавателей, так и обучающихся. На базе кафедры осуществляется регулярное обучение преподавателей по внедрению современных цифровых инструментов в образовательный процесс. В период дистанционного образования сотрудниками вуза освоены и внедрены следующие цифровые инструменты в онлайн формате: Jamboard, Miro, Mentimeter, Genial.ly, Quizlet, Google класс, Kahoot, Xtranormal [2].

Набирает большие обороты геймификация процесса обучения. Отметим, что геймификация - это не внедрение игр или симуляторов в образовательный процесс, а использование игровых методов, технологий и механизмов в образовании с главной целью – вовлечь, увлечь в процесс, помочь подать информацию правильно, облегчить восприятие.

Познакомиться с гейминг-формами работы преподаватели РязГМУ могли в формате тимбилдинга с Алексеем Ильиным, директором Научно-исследовательского центра креативных индустрий. Итогом обучения стала разработка учебно-игровых комплексов, которые внедряются и применяются для итоговой аттестации и промежуточного контроля знаний студентов. Учебно-игровые комплексы также могут быть использованы и в профориентационной работе в средних школах, чтобы дать абитуриентам более полное представление о работе врача или фармацевта.

Таким образом, повышение качества вузовского образования в целом зависит от повышения качества образовательного процесса каждым преподавателем на своем учебном предмете. Современный преподаватель должен владеть педагогическими инструментариями и использовать их в системе интегрированной оценки достижений студентов, для формирования профессионализма конкурентноспособных выпускников. При подготовке специалистов-медиков необходимо не только закреплять у обучающихся приобретенные компетенции, но и развивать их личностные качества, высокий уровень творческого мышления и социальной приспособленности для успешной работы в сегодняшних непростых условиях.

Список литературы:

1. Жолудова А.Н., Полякова О.В. Готовность преподавателей медицинского вуза к инклюзивному образованию // Личность в меняющемся мире: здоровье, адаптация, развитие. 2019. №2 (25). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/gotovnost-prepodavateley-meditsinskogo-vuza-k-inklyuzivnomu-obrazovaniyu>

2. Жолудова А.Н., Полякова О.В. Применение здоровьесберегающих технологий в медицинском вузе во время пандемии коронавируса / Психолого-педагогическое сопровождение образовательного процесса: теория и практика // Материалы Всероссийской научно-практической конференции. Выпуск 11. – Елабуга, 20 октября 2021. С. 177 – 184.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ОНЛАЙН ПРЕПОДАВАНИЯ И ИЗУЧЕНИЯ БИОХИМИИ

А.В. Сгибнев, М.М. Павлова, Е.Н. Лебедева, Л.В. Амелина, С.Н. Афолина,
И.В. Карнаухова, И.В. Мачнева, Н.В. Зобкова, Е.И. Глушихина,
К.Н. Игнатьева

ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России, г.Оренбург, Российская
Федерация

Мы живем в мире, где компьютер, планшет, мобильный телефон считается такой же привычной вещью, как электронное освещение, без которого немисливо нормальное существование. Использование цифровых технологий во всех сферах жизнедеятельности привело к изменениям и в системе образования, которые связаны с применением различных технологий в образовательной деятельности. Всемирное развитие Интернета открыло новые горизонты для развития информационных технологий [3].

Это побуждает вузы к активному совершенствованию электронного обучения, которое становится одним из ведущих факторов их конкурентоспособности. Педагоги используют электронные учебники, журналы и дневники, а студенты, в свою очередь уже имеют навыки со школьной скамьи.

В условиях пандемии Covid-19 все вузы были вынуждены перейти на формат онлайн-обучения. В первые дни перехода на дистанционное обучение могло показаться, что этот формат крайне специфичен и труден для привыкания [1]. Встал вопрос, что мы будем делать, как это будет выглядеть?

При традиционной форме обучения все находились в аудитории при прослушивании лекции, проведении семинаров и лабораторных занятий, общались с преподавателем. Выход на онлайн-формат создал множество трудностей как для преподавателя, так и для студента. Объем работы преподавателей увеличился в 3 раза и более. Встал вопрос о подготовке к лекциям, так как вырос объем слайдов с 15 до 70 на одну лекцию, а также возникла необходимость в более тщательном и длительном подборе материала к лекции. Слайды ограничивают материал лекции и не позволяют менять структуру изложения по ходу чтения лекции.

Наряду с этим сервисы университета не были готовы к подобным нагрузкам, были частые жалобы на регулярные «вылеты» и «зависания». Общение со студентами идет на расстоянии, коммуникация стала более горизонтальной, при этом во время лекции нет времени на обсуждение материала, очень часто отсутствует обратная связь со студентами.

Несмотря на некоторые нежелательные моменты, хочется отметить и положительную роль в онлайн лекциях и семинарах, особенно для студентов. 60% опрошенных студентов отметили, что они при такой форме

обучения получают большой объем информации, при этом остаются дома, в комфортной для работы атмосфере. Имеется возможность записать лекцию и пересмотреть ее, не тратя время на дорогу и сборы, что обеспечивает высокую посещаемость онлайн-занятий. Также обучающиеся довольны, что есть доступ к общению с преподавателем, хотя длительное нахождение перед экраном монитора наносит отпечаток на эмоциональное и физическое состояние, что приводит к снижению мозговой деятельности. Наиболее часто контроль знаний студентов осуществляется в форме тестирования. При этом снижается уровень тревожности у студентов, так как отвечать на тестовые вопросы легче, чем по билету преподавателю, меньше психоэмоциональной нагрузки. При этом оказалось, что уровень объективности оценки падает, в пользу студента, в сторону завышения [2].

30% студентов негативно оценивают дистанционный формат проведения занятий, объясняют это техническими трудностями, неполадками в работе информационных ресурсов, недостатком живого общения с одноклассниками и преподавателем. 10% не смогли оценить такой формат обучения [6].

Исходя из выше изложенного, можно сделать некоторые выводы:

1. Преподаватели и большинство студентов считают целесообразным применение дистанционного образования. Достоинством дистанционных образовательных технологий признают экономию ресурсов (времени, денег), что предопределяет возможности массового применения;

2. Несмотря на все достоинства, можно выделить ряд отрицательных моментов:

- Все участники образовательного процесса чаще сутулятся, что ведет к искривлению позвоночника. Возникает статическое напряжение, которое отражается на состоянии мышц шеи, кровеносные сосуды сдавливаются, насыщение кислородом головного мозга уменьшается;

- «Однобокость» развивающего эффекта;
- Снижается творческая активность;
- Снижается эмоциональное развитие.

Таким образом, студенты и преподаватели считают, что нужно использовать модель обучения, сочетающую в себе очные аудиторные занятия и дистанционные формы обучения.

Список литературы:

1. Андреев А.А., Введение в дистанционное обучение [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://masters.donntu.org/2001/fvti/kozdoaba/diss/lib/broshur.htm>
2. Аркусов И.В. Компьютерное тестирование в виде контроля знаний в вузе// Педагогика. 2016. №10 С.36-43
3. Базиев Р.С., Перминова Л.М., Гаджеты в учебном процессе: за и против// Педагогика. 2018 №8 С.44-56
4. Захарова И.Г. Информационные технологии в образовании. М.:

Академия ИЦ, 2011. 188 с.

5. Лаптев В.В., Носкова Т.Н. // Педагогика. 2016 №10 С.3-13

6. Лебедева Е.Н., Амелина Л.В., Афонова С.Н., Глушихина Е.И., Зобкова Н.В., Карнаухова И.В., Гирина Л.В., Мачнева И.В., Павлова М.М., Биохимия через призму дистанционного образования// Актуальные проблемы биохимии - Гродно, 2021. – С.39-43

7. Трайнев В.А. Электронно-образовательные ресурсы в развитии информационного общества: Монография. М.: Дашков и К, 2015, 255 с.

ПРЕЕМСТВЕННОСТЬ УЧЕБНО-ВОСПИТАТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА В СИСТЕМЕ «ШКОЛА-ВУЗ»

О.А. Тимохина

МБОУ «Александровская СШ», с. Александрово, Рязанский район,
Российская Федерация

Актуальность. Проблема преемственности во все времена являлась одной из самых насущных и важных проблем в образовании. Ученик, переходя на новую ступень образования, каждый раз сталкивается с новыми педагогами, требованиями, методиками и системами преподавания. И если в период школьного обучения данный вопрос не стоит остро, хотя есть и свои нюансы при переходе от младшего звена к среднему, то в момент окончания школы и поступления в высшее учебное заведение проблема преемственности как никогда становится актуальна. Так, например, Александров Г.Н. и Дорофеев Г.В. определяют преемственность начальной и средней школы и вуза, через передачу элементов воспитания, а также школьного и профессионального образования. Авторы заключают, что «преемственность высшей и средней школы можно рассматривать как принцип, процесс и способ разрешения противоречия между специальными задачами высшей школы и общеобразовательным характером подготовки в средней школе» [1].

Суть явления преемственности в системе «школа-ВУЗ» можно спроецировать как вектор развития личности обучающегося от жизненного определения Я к профадаптации, формированию мировоззрения и нравственных качеств будущего специалиста [2]. Таким образом, процесс освоения профессиональных знаний и навыков должен опираться на те знания, навыки и элементы характера, которые были заложены до поступления в вуз [3].

При переходе из одной образовательной среды в другую прежде всего наблюдаются внутренние конфликты: естественные (ученик становится студентом) и искусственные (несогласованность педагогических действий школы и вуза). В связи с этим, необходим всесторонний комплексный подход к решению проблемы преемственности

образовательного процесса, являющийся одновременно системным и технологическим с одной стороны и личностно ориентированным и интерактивным с другой [4].

Рассмотрим некоторые аспекты данной проблемы.

1) Общеобразовательная программа школы и образовательная программа ВУЗа плохо совмещаются между собой. По окончании школы выпускникам необходимо сдать испытания в виде Единого Государственного Экзамена. Учащиеся сталкиваются с единовременным большим объемом информации, которая зачастую выходит за рамки школьного предмета. ГИА имеет свою специфику, которой так же необходимо следовать. Выпускники вынуждены подстраиваться под эту систему, теряя при этом определенные компетенции, которые могут пригодиться при дальнейшем обучении. К сожалению, данная проблема существует с самого момента введения ЕГЭ. В настоящее время разработчики экзаменационных заданий пытаются решить ее, убирая закрытые задания и больше делая акцент на открытых заданиях, но моментального результата от этих нововведений ждать не следует.

2) Делая акцент на подготовку к экзаменам определенного профиля старшеклассники уже не заинтересованы в положительных оценках по другим предметам. Но в ВУЗе, будучи студентами, они вновь сталкиваются с этими дисциплинами. Здесь же играет роль и смена «классно-урочной» системы на «лекционно-семинарскую» и необходимость адаптации к ней. Результатом всего этого является то, что на первых порах обучения преподаватели вынуждены восполнять пробелы у большей части студентов.

3) Переходя на новую ступень образования учащиеся не имеют опыта работы в ней. Как говорилось выше, меняется система образования, меняется и способы получения знаний. Школьники в рамках ФГОС 2-ого поколения на каждом уроке сталкиваются с таким понятием, как «системно-деятельностный подход» и «проблемное обучение», в рамках которого постепенно привыкают к самостоятельному поиску информации, работе с различными источниками и т.д. Учитель в данном случае выступает в роли «дирижера», руководящего «оркестром» (классом) и приходя на помощь только по необходимости. Это в идеальной задумке. К сожалению, реалии таковы, что все дети разные, и не каждому подойдет такая система обучения. Учителю приходится каждый раз придумывать новые методики, чтобы донести нужную информацию. В связи с этим, только часть выпускников в полной мере овладевает способностью к самостоятельному обучению, а большинству все так же необходимо «тщательно разжевывать» знания. Так же сказывается и отсутствие тотального контроля, постоянной проверки домашнего задания – эти факторы дарят ощущение «полной свободы» и снижают уровень ответственности у студентов.

С другой стороны, с введением в школах ФГОС, учащиеся познакомились с таким понятием как «школьный проект». С начальной школы ученики овладевают навыками написания работ (начиная с примитивных тем и заканчивая полноценными работами, например, на тему «Лихеноидникация»). В учебный план средней школы введен предмет «Индивидуальный проект», на котором учащиеся под руководством учителя выполняют исследовательские работы. Переходя на новую ступень образования навыки, приобретенные на занятиях такого формата, пригождаются для написания курсовых и научных работ.

Выводы. Сущность преемственности между общим и высшим образованием должна сводиться к тому, что абитуриент, переходя на более высокую ступень образования, должен быть готовым к новой социальной роли, приспособлен к образовательному процессу в вузе, иметь уровень знаний и навыков в области выбранной специальности, достаточный для формирования профессиональных компетенций. Высокий уровень специалистов напрямую зависит от эффективности модели организации практической подготовки не только студентов, но и школьников, основанной на принципах непрерывности и преемственности, на глубокой интеграции теоретических знаний и практической деятельности общего и высшего образования.

Список литературы:

1. Попов А.А. Известия Самарского научного центра Российской академии наук, т. 17, №1(2), 2015
2. Мачулис В.В. Роль новых информационных технологий в обеспечении преемственности естественнонаучного образования в средней и высшей школе: дис. канд. пед. наук. – Тюмень, 2002. – 137 с.
3. Матвеева И.В., Марсянова Ю.А. Биология как фундамент и теоретическая база в преподавании биологической химии // Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием "Биология в высшей школе: актуальные вопросы науки, образования и междисциплинарной интеграции", Рязань, 11–12 апреля 2019 года / Под ред. О.В. Баковецкой. – Рязань: Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, 2019. – С. 187-188.
4. Киселева Е.С., Овчаренко Е.Н. Современные подходы к обеспечению преемственности обучения (на примере физики в школе и вузе) // Известия Южного федерального университета. Педагогические науки. – 2011. – № 3. – С. 113-120.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ И ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ БИОМЕДХИМИЯ.....	3
POU6F1 transcription factor mediates crh-dependent plasticity in the brain, M.Y. Kochukov, C.K. McClard, I. Herman, Z. Liu, A. Eblimit, Y. Moayedi, J. Ortiz-Guzman, D. Colchado, B. Pekarek, S. Panneerselvam, G. Mardon, B.R.Arenkiel	3
Роль транскрипционного фактора NRF-2 в регуляции Р-гликопротеина в условиях эндогенного окислительного стресса, Ю.В.Абаленихина, П.Д.Ерохина, А.В.Щулькин, Е.Н.Якушева, М.Ю.Пшенникова, О.Б.Кравченко	5
Молекулярно-биологические механизмы дизрапторного действия металлов на состояние эндокринной системы на примере рецепторов к эстрогенам, Т.В. Боева	8
Влияние разной интенсивности дополнительных респираторных сопротивлений на показатели крови, 11 Ю.Ю.Бяловский, И.С. Ракитина	11
Вклад MAO-B в карбонилирование митохондриальных белков <i>in vitro</i> , П.К. Винель	14
Влияние комплекса ресвератрола и карнитина на транскриптом печени крыс с индуцированным рационом ожирением, И.В.Гмошинский, Н.В.Трусов, В.А.Шипелин	17
Бивалентные ДНКзимы для эффективного расщепления целевых РНК, М.В. Дубовиченко, Д.М. Колпащиков	20
Изменение активности цистеиновых протеиназ и окислительной модификации белков под действием L-карнитина в иммунокомпетентных клетках крыс, Н.В. Ененков, А.И. Судаков, Е.А. Судакова.	23
Оценка параметров железо-индуцированной хемилюминесценции при экспериментальном синдроме отмены этанола в условиях применения структурного аналога окисленного глутатиона, Е.С. Ефременко	25
Пероксинитрит как сигнальная молекула и цитотоксический агент при воздействии на сосудистый эндотелий <i>in vitro</i> , А.С. Захаров, Н.В. Короткова, Н.Д. Мжаванадзе, А.В. Щулькин	28
Влияние экзогенного L-аргинина на уровень карбонилирования белков митохондрий головки и хвоста эпидидимиса крыс при экспериментальной гипергомоцистеинемии, В.И.Звягина, Э.С.Бельских, Ю.А.Марсянова, С.Р.Ахмедова	32

Карбонильная модификация липопротеидов низкой плотности как ключевой фактор повреждения стенки сосудов при атерогенезе и дисфункции эндотелия, В.З.Ланкин, А.К.Тихазе, В.Я.Косач, М.К.Осяева	36
Применение синтетических аналогов мелатонина при экспериментальной кислород-индуцированной ретинопатии у крыс, Л.А. Катаргина, Н.Б. Чеснокова, Н.А. Лозинская, О.В. Безнос, Н.А. Осипова, А.Ю. Панова, А.М. Ефремов	41
Определение местного и системного уровня ТБК-активных продуктов и карбонильных групп при термических ожогах роговицы кроликов, А.В.Колесников, И.В.Кирсанова, Т.Д.Гришина	44
Антигликирующее действие нитроксильного аниона в экспериментальных системах с метилглиоксалем, О.В. Космачевская, Э.И. Насыбуллина, К.Б. Шумаев, А.Ф. Топунов	47
Изменение функциональной активности семенных пузырьков в условиях модуляции синтеза NO, Ю.А. Марсянова, В.И. Звягина	50
Оценка состояния окислительного карбонилирования белков ткани легких под воздействием изопропиламинной соли глифосата, Д.И. Мирошникова, В.А. Кирюшин, Т.В. Моталова	52
Ингибиторы межклеточной коммуникации бактерий в качестве антимикробных препаратов нового поколения, А.В. Моисеева	56
Динитрозильные комплексы железа — протекторы гемоглобина в условиях окислительного стресса, Э.И. Насыбуллина, О.В. Космачевская, К.Б. Шумаев, А.Ф. Топунов	58
Современные методы в изучении межмолекулярных взаимодействий и структуры сывороточных белков, Д.М. Никулина	61
Динамика изменения уровня мышечных белков на этапах дифференцировки клеток C2C12, М.О. Порошина, Ю.В. Абаленихина, П.Д. Ерохина, А.В. Щулькин	64
Баланс катионов крови, тканей брюшной аорты, сердца и вязкость крови животных при гипертензии, А.П.Пустовалов, Т.Г.Авачёва, О.А.Милованова, А.А. Кривушин	66
Способность хитин-меланинового комплекса регулировать гормональную активность гипертиреоидных крыс при действии трутневого расплода, Е.А. Рязанова, Д.В. Митрофанов, А.С. Лизунова	69

Влияние хронического эмоционального стресса на фракционный состав коллагена в тканях крыс, Н.В.Савинова, С.Е.Переведенцева, О.В.Данилова	72
Влияние продуктов окислительного и нитрозативного стресса на количество конститутивного андростанового рецептора, А.А. Сеидкулиева, Ю.В. Абаленихина, Е.А. Судакова, А.В. Щулькин, Е.Н. Якушева.....	74
Оценка влияния электромагнитного излучения на содержание металлов переменной валентности в плазме крови крыс, А.Д. Селин, Н.А. Терехина, Г.А. Терехин	77
Влияние нитрозоглутатиона на функционирование белка-транспортера гликопротеина-R, Е.А.Судакова, Ю.В.Абаленихина, А.А.Сеидкулиева, А.В.Щулькин	80
Гемоглобин – белок для науки и для жизни, А.Ф. Топунов, О.В. Космачевская	82
Влияние белка-транспортера vsrp на транспорт метотрексата через билипидную мембрану клеток линии Сасо-2, Ю.С. Транова, А.В. Щулькин, И.В. Черных, Е.Н. Якушева	84
Характеристика супероксиддисмутазной активности раневого отделяемого в условиях модельного эксперимента по формированию повреждения кожи, А.А. Ходосевич, Е.С. Ефременко	86
Применение гидросорб геля при ранозаживлении, Т.М. Черданцева, А.В. Федосеев, А.А. Качкуркина, М.С. Некрасова, П.П. Бакланов, А.Ю. Мансур	89
Исследование согласованности изменений биохимических и гистохимических тестов надпочечников при длительном ограничении подвижности, И.П. Чернов, Т.М. Черданцева, Р.К. Воронина	91
Антиоксидантное действие динитрозильных комплексов железа в различных моделях свободнорадикального окисления, К.Б. Шумаев, О.В. Космачевская, Д.И. Грачев, В.А. Медведева, А.Ф. Топунов, В.З. Ланкин, Э.К. Рууге	94
БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА ЗАБОЛЕВАНИЙ В КЛИНИЧЕСКИХ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ.....	98
Недостаток витамина Д при доброкачественном пароксизмальном позиционном головокружении: результаты собственного исследования, А.С. Беденко.....	98
Метаболические особенности состава слюны при раке молочной железы,	

Л.В. Бельская, Е.А. Сарф	100
Исследование цитотоксических свойств конъюгатов наноалмазов с противоопухолевыми препаратами (доксорубицин, диоксадэт), Г.М. Бердичевский	102
Биохимические изменения в тканях полости рта у больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности, Т.П. Вавилова, А.В. Минаев, И.Г. Островская, Г.И. Алекберова	105
Влияние биохимических показателей крови на остеоинтеграцию дентальных имплантатов у стоматологических пациентов, А.В. Гуськов, А.А. Никифоров, Г.А. Гуськов	108
Особенности сорбции пирувата на препарате гидролизного лигнина в норме и при сахарном диабете, Н.Л. Зобнина, П.И. Цапок.....	111
Содержание витамина В12 в спермоплазме у пациентов с хроническим простатитом и астенозооспермией, А.Ф. Иштулин, Н.В. Короткова, Е.Н. Федяева, И.В. Минаев, П.М. Полякова.....	116
Две волны апоптоза после проведения артериальных реконструкций на магистральных артериях нижних конечностей, Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, Э.А. Климентова, Ю.А. Марсянова.....	118
Состояние про-антиоксидантной системы ротовой жидкости пациентов со вторичной адентией при йоддефиците, Ф.Х. Камилов, С.В. Аверьянов, Р.Р. Юнусов, И.А. Меньшикова, А.Ф. Алтынова	121
Гипотиреоз, полость рта, мелатонин слюны (обзор литературных данных), Л.А. Каминская	123
Биомаркеры апоптоза при атеросклеротическом поражении сосудистой стенки, Э.А. Климентова, А.В. Шулькин, И.Н. Шанаев, П.Д. Ерохина, М.Р. Афенов, И.Ю. Суров	126
Полиморфизм гена VDR как предиктор развития осложнений у больных с уролитиазом на фоне приема статинов, А.В. Коваленко, В.Б. Бородулин, В.В. Никитина	129
Определение концентрации селектина L при варикозной болезни вен нижних конечностей, Н.В. Короткова, Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, М.М. Упоров	132
Биохимические маркеры повреждения головного мозга в остром периоде геморрагического инсульта,	

И.С. Курепина, А.А. Косолапов, О.В. Евдокимова, Р.А. Зорин, Т.М. Гусева.....	135
Количественная и функциональная характеристика липидов грудного молока, И.В. Мачнева, Е.Н. Лебедева, И.В. Карнаухова.....	138
Биохимические маркеры клеток и пептиды в комплексной индивидуализированной диагностике и геропротективной терапии, В.Н. Мещанинов, В.С. Мякотных, И.В. Гаврилов, О.В. Лимановская, Д.Л. Щербаков, М.С. Благодарева, У.В. Зведенинова, А.В. Даниловцева, Е.А. Андреева.....	140
Зависимость подвижности сперматозоидов от активности катепсина Н у пациентов с бесплодием, И.В.Минаев, П.М.Полякова, А.Ф.Иштулин, Н.В.Короткова, И.В.Матвеева	143
Особенности хронического воспаления в мягких тканях полости рта в области операционных ран вследствие экстракции зубов у стоматологических пациентов, А.А. Олейников, О.С. Гуйтер, А.В. Гуськов	146
Течение новой коронавирусной инфекции COVID-19 у пациентов с сопутствующими хроническими заболеваниями, С.Н. Райцев.....	149
Использование биохимических показателей для оценки эффективности лечения герпетического стоматита, С.Э. Реук, Н.А. Терехина.....	152
Исследование полиморфизмов генов системы гемостаза и фибринолиза у пациентов с инфарктом миокарда, А.В. Саратовцев, Н.Ю. Русецкая, В.Б. Бородулин	155
Анализ ИМТ и некоторых показателей липидного спектра у пациентов с атеросклеротическим поражением коронарных артерий, Е.К. Соловей, А.И. Онощенко, А.М. Густинович.....	156
Биохимические маркеры острого почечного повреждения (обзор литературы), Д.А. Соловых, Р.С. Кавгиев	159
Биохимические механизмы развития SARS-COV2 ассоциированной внебольничной пневмонии, Л.В. Спирина, Д.А. Дьяков, О.Е. Акбашева, И.Ю. Шувалов, А.Е. Кебекбаева, В.Н. Масунов, Н.В. Масунова	164
Значение метода иммунофлуоресценции в неонатальном скрининге, Е.И. Шумская, Н.В. Рубан, О.Б. Серебрякова.....	166

Влияние альфа-липоевой кислоты на систему гемостаза при новой коронавирусной инфекции, В.А. Щелконогов, А.М. Иншакова, Е.С. Дарнотук, А.В. Шипелова, Н.С. Шастина, А.А. Юшина, О.А. Баранова, А.В. Чеканов, К.Д. Казаринов, С.С. Суховольская, В.П. Мудров, Э.Ю. Соловьева, А.И. Федин.....	169
ПРИКЛАДНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В РАЗВИТИИ ЗДОРОВЬЕСБЕРЕГАЮЩИХ И ПРИРОДООХРАННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ.....	172
Анализ о факторах риска сахарного диабета, осведомлённости о растительных сахаропонижающих препаратах. Профилактика, А. Амангельдинова, Р.Р. Олжаева, Г. Кизатова, И. Абдулкаримов, Н. Хабибуллаев, А. Санаткызы.....	172
Биологически активная добавка к пище «Стальника сироп ЭКОлаб», К.В.Баландина, С.В.Холодков	175
Гигиеническая оценка качества питьевой воды, И.А.Борисов, В.А. Кирюшин, Е.В.Костюкова, Т.В. Моталова, Д.С.Хренова, А.В.Чернокошкин.....	177
Изучение стабильности биологических свойств ДНК аптамера ингибитора тромбина при длительном хранении, О.А. Волошан, Д.А. Горшков.....	180
Микроэлементозы: причины, распространение, клинические признаки, терапия и профилактика микроэлементозов (обзор литературы), А.А. Дощенко, Ю.А. Марсянова.....	182
Биохимические аспекты специализированного питания и врачебного контроля бывших спортсменов, А.В. Еликов, Р.А. Ханферьян.....	187
Изучение состава биологически активных добавок, С.И. Зыкова, А.С. Воронков, Т.В. Иванова	190
Биодоступность и механизмы адаптогенного действия пищевой добавки на основе дигидрокверцетина, Л.А. Лысенко, Н.П. Канцерова, И.С. Суховская, Н.Н. Фокина.....	193
Оценка диагностической ценности определения фракции незрелых тромбоцитов (IPF) и индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца с различной лечебной стратегией, С.П. Казаков, П.Г. Шахнович, Г.К. Тагирова.....	196
Диагностика инфекционных заболеваний – это подготовка к войне или мирному сосуществованию? В.А. Киселева, В.В. Помазанов, Т.В. Попова, С.И. Зыкова.....	199

Отечественный рынок иммунохимических диагностикумов. Состояние и перспективы развития, С.Г. Марданлы	201
Диагностика герпесвирусных инфекций на фоне коронавирусной пандемии, С.С. Марданлы, С.И. Зыкова, А.М. Затевалов	204
Формирование регистрационного досье на лекарственный препарат по правилам ЕАЭС на примере «Ибупрофен плюс ЭКОлаб», гель для наружного применения, 5%+3%, Е.М.Матолыгина.....	207
Стероидные гормоны: промышленный синтез, биологические эффекты, применение в медицинской и немедицинской практике (обзор литературы), С.А. Мокроусова, А.Ю. Селезнёва, Ю.А. Марсянова	210
Современные методы изготовления наноструктур с целью иммобилизации в них лекарственных препаратов, В.В. Оверченко, Г.М. Кремнева, Л.В. Романова, Э.Р. Матвиенко, А.Д. Оверченко.....	213
Современные аспекты питания школьников, Г.П. Пешкова, Е.В. Карпова, О.С. Косоротова	216
Продукты питания = биологически активные добавки = лекарственные препараты, В.В. Помазанов, В.А. Киселева.....	219
Проблема выбора оптимальной тест-системы для определения токсичности поллютантов, Ю.А.Поминчук, О.В. Баковецкая, А.А. Терехина	222
Механизмы формирования резистентности паразитических насекомых к препаратам-инсектицидам и пути их преодоления на примере <i>Pediculus Humanus</i> , А.А. Терехина, О.В. Баковецкая, Т.А. Калыгина.....	225
Разработка иммуноферментной тест-системы для количественного выявления антител класса G к поверхностному гликопротеину S SARS-COV-2, Н.Н. Шершнева, П.В. Самосадова, Ж.А. Токмакова	228
Микропластик сегодня, А.М. Шитикова	231
ВОПРОСЫ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ И ПРЕПОДАВАНИЯ БИОХИМИИ В МЕДИЦИНСКОМ ВУЗЕ.....	234
Практико-ориентированный подход в обучении студентов медико-биологического факультета,	

Е.В. Бондаренко, Е.В. Зыкова, О.В. Островский	234
Роль биохимии в формировании клинического мышления у студентов педиатрического факультета, М.Г. Енгальчева	236
Цифровая трансформация преподавания биохимии иностранным студентам в условиях on-line обучения, Е.И. Ерлыкина, А.А. Анашкина, П.П. Загоскин, Л.М. Обухова, О.В. Баринаова, А.Б. Языкова, В.П. Французова	241
Консолидация знаний по латинскому языку для изучения биохимической терминологии, Л.В. Ефремова.....	243
Формирование командной деятельности студентов первого курса в условиях дистанционноо учебного процесса, Л.А. Каминская	247
Интеграция и инновационные методы обучения в преподавании биохимии, Р.Р. Олжаева, Г.Р. Олжаева, Ж.К. Смаилова, Д.Д. Муртазина, К.Т. Сыдыкова, Б.С. Советов	249
Внедрение изучения биохимических основ механизма действия фитоэкдистероидов сем. Гвоздичных на кафедре фармакогнозии РязГМУ им. акад. И. П. Павлова Минздрава России, Т.О. Острикова, С.В. Дармограй, В.Н. Дармограй, В.А. Морозова, Н.С. Ерофеева, А.С. Лизунова, Е.В. Акульшина	252
Использование педагогических инструментариев в организации образовательного процесса, О.В. Полякова, А.Н. Жолудова	254
Некоторые аспекты онлайн преподавания и изучения биохимии, А.В. Сгибнев, М.М. Павлова, Е.Н. Лебедева, Л.В. Амелина, С.Н. Афолина, И.В. Карнаухова, И.В. Мачнева, Н.В. Зобкова, Е.И. Глушихина, К.Н. Игнатьева	258
Преимственность учебно-воспитательного процесса в системе «школа-вуз», О.А.Тимохина	260

Научное издание

**Биохимические научные чтения
памяти академика РАН
Е.А. Строева:
сборник материалов Всероссийской
научно-практической конференции
с международным участием**

Рязань, 26-27 января 2022 г.

Подписано в печать 21.02.2022. Дата выхода в свет 07.03.2022.

Формат 60x84/16. Усл. печ. л. 15,69. Уч.-изд. л. 15,22.

Бумага ксероксная. Печать ризографическая. Тираж 100 экз.

ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России
390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9

Отпечатано в типографии Book Jet
390005, г. Рязань, ул. Пушкина, д. 18
Сайт: <http://bookjet.ru> e-mail: info@bookjet.ru
Тел.: +7(4912) 466-151