

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ  
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
КАФЕДРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

# БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В МЕДИЦИНЕ

Сборник материалов Международной научной конференции, посвященной  
100-летию кафедры биологической химии БГМУ

(Минск, 6 октября 2023 г.)



Под редакцией А. Д. Тагановича, Н.Н.Ковганко, Д.И.Мурашко

Минск БГМУ 2023

УДК 57(043.2)  
ББК 28  
Ф48

Редакционная коллегия: заведующий кафедрой биологической химии, д.м.н., профессор А. Д. Таганович;  
к.х.н., доцент Н.Н.Ковганко; Д. И. Мурашко.

**Биохимические исследования в медицине: сборник статей участников**  
Ф48 Международной научной конференции, посвященной 100-летию кафедры  
биологической химии БГМУ (Минск, 6 октября 2023 г) / под ред.  
А.Д.Тагановича, Н.Н.Ковганко, Д.И.Мурашко. – Минск : БГМУ, 2023. – 292 с.  
ISBN 978-985-21-0945-1.

Представленные результаты исследований относятся к области медицинской биологической химии.  
Предназначено для широкого круга научных работников.

УДК 57(043.2)  
ББК 28

ISBN 978-985-21-1395-3

© УО «Белорусский государственный  
медицинский университет», 2023

СОДЕРЖАНИЕ

Аль Меселмани М. А. <b>СТИМУЛЯЦИЯ ПОГЛОЩЕНИЯ КИСЛОРОДА В ТКАНЯХ СЕМЕННИКОВ КРЫС НА СОРОК СУТОК ПОСЛЕ ОБЩЕГО ОДНОКРАТНОГО <math>\gamma</math>-ОБЛУЧЕНИЯ</b>	9
Андреева И.Н., Михаленко Е.П., Кузьминова Е.И., Байда А.В., Кильчевский А.В. <b>ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ХОЛЕСТЕРОЛА И ТРИГЛИЦЕРИДОВ У ЛЮДЕЙ СТАРШЕ 60 ЛЕТ</b>	14
Байроченко Д.С. <b>ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЫБОРА МЕТОДА МОДЕЛИРОВАНИЯ ТРЕТИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ИЗОФОРМЫ P00749-2 УРОКИНАЗЫ</b>	22
Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Смирнов В.Ю., Дорошенко Е.М., Разводовский Ю.Е., Кохан Н.В. <b>ПОСМЕРТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ АМИНОКИСЛОТ В ТЕМЕННОЙ ДОЛЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС</b>	28
Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Смирнов В.Ю., Дорошенко Е.М., Разводовский Ю.Е., Кохан Н.В. <b>ТОТАЛЬНАЯ ЦЕРЕБРАЛЬНАЯ ИШЕМИЯ ГИППОКАМПА ВЫЗЫВАЕТ ИЗМЕНЕНИЯ ПУЛА АМИНОКИСЛОТ БЕСПОРОДЫХ БЕЛЫХ КРЫС</b>	33
Бородулин Я. В., Бобылева Е. В., Проскурнина Е. В. <b>ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ДАФС-25 (1,5-ДИФЕНИЛ-3-СЕЛЕНПЕНТАДИОНА-1,5) И НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА НА ДЕФОРМИРУЕМОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ</b>	38
Бородулин Я. В., Бобылева Е. В., Проскурнина Е. В. <b>МОДЕЛИРОВАНИЕ РАДИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА ДАФС-25 (1,5-ДИФЕНИЛ-3-СЕЛЕНПЕНТАДИОНА-1,5) И НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА</b>	43
Волченкова У.В., Дембский В.В., Принькова Т.Ю. <b>МОДУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКОВ-ИНГИБИТОРОВ АПОПТОЗА КАК СПОСОБ ПРЕОДОЛЕНИЯ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ РАКОВЫХ КЛЕТОК</b>	48

Галюк Е.Н., Ринейская О.Н. <b>МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИОННОЙ СИЛЫ РАСТВОРА НА ПЛАВЛЕНИЕ ДНК</b>	54
Голяк Н. С., Шантар Н. Н. <b>ВЫСВОБОЖДЕНИЕ ПРОПРАНАЛОЛА IN VITRO ИЗ МЯГКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ</b>	60
Готько О.В., Державец Л.А. <b>ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРЕДИКТОРЫ ВЫЖИВАЕМОСТИ ДО ПРОГРЕССИРОВАНИЯ РАКА ЯИЧНИКОВ У ПАЦИЕНТОК С НОРМАЛИЗАЦИЕЙ УРОВНЯ СА125 ПОСЛЕ 3 КУРСОВ АДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ</b>	65
Григорьева Д.В., Михальчик Е.В., Панаснко О. М., Балабушевич Н. Г, Соколов А. В. Горудко И. В. <b>ВЛИЯНИЕ МИКРОЧАСТИЦ ВАТЕРИТА, СУЛЬФАТИРОВАННЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ И МУЦИНА НА АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ</b>	69
Губич О. И., Титенкова Е., Янкун И. <b>АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОРРЕКЦИИ БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ВОДНЫМ ЭКСТРАКТОМ ЦИКЛОПИИ (CYCLOPIA SPP.)</b>	75
Данченко Е.О. <b>БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В СУДЕБНОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЕ: ЗНАЧЕНИЕ, ОСНОВНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ</b>	81
Девина Е. А., Ванда А. С., Малькевич Л. А., Осипова И. С. <b>БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ У ПАЦИЕНТОВ С КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ</b>	86
Кадушкин А. Г., Таганович А. Д., Колесникова Т. С., Ходосовская Е. В. <b>ИЗМЕНЕНИЕ ХЕМОТАКСИСА СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ ПОД ВЛИЯНИЕМ НОРТРИПТИЛИНА</b>	92
Камышников В. С. <b>СТАНОВЛЕНИЕ МИНСКОЙ ШКОЛЫ СПЕЦИАЛИСТОВ КЛИНИЧЕСКОЙ ХИМИИ: ВКЛАД В ЕЕ ФОРМИРОВАНИЕ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ КАФЕДР МЕДИЦИНСКОГО ФАКУЛЬТЕТА БГУ, МГМИ и БелМАПО</b>	97

<p>Канунникова Н.П., Лукиенко Е.П., Гуринович В.А., Катковская И.Н., Титко О.В., Мойсеенок А.Г.  <b>ВЛИЯНИЕ СРЕДСТВ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА СДВИГИ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО БАЛАНСА В ПЕЧЕНИ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ</b></p>	105
<p>Клачёк В. С., Рябцева Т. В., Селицкая П. С.  <b>СВОБОДНАЯ ЭНЕРГИЯ СВЯЗЫВАНИЯ ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 С ОЛИГОПЕПТИДАМИ</b></p>	112
<p>Коваль А. Н.  <b>НАХОЖДЕНИЕ НЕКАНОНИЧЕСКИХ МОТИВОВ В МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК МЕТОДАМИ БИОИНФОРМАТИКИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ПАКЕТА GQUAD ДЛЯ ПРОГРАММНОГО ОКРУЖЕНИЯ R</b></p>	117
<p>Козел В. А., Побойнев В. В.  <b>ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН НА СТАБИЛЬНОСТЬ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА ЧЕЛОВЕКА</b></p>	121
<p>Комлач І. А., Лахвіч Т. Т.  <b>ПРЫРОДА ВЫСОКАЙ АФІННАСЦІ АНТЫБАКТЭРЫЯЛЬНЫХ ЛЕКАВЫХ СРОДКАЎ ГРУПЫ АКСАЗАЛІДЗІНОНАЎ ДА ГЛЮКАКІНАЗЫ</b></p>	127
<p>Краецкая О.Ф.  <b>ИЗУЧЕНИЕ IN SILICO БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГЛИФЛОЗИНОВ В ОТНОШЕНИИ <math>\beta</math>1-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ У ПАЦИЕНТОВ С СД2 И ВЫСОКИМ РИСКОМ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ</b></p>	133
<p>Лахвич Ф. Ф., Ринейская О. Н.  <b>ВАЛИДАЦИЯ МОДЕЛЬНЫХ МИШЕНЕЙ ГРУППЫ АЦИЛТРАНСФЕРАЗ В ПОИСКЕ НОВЫХ ИНГИБИТОРОВ СИНТЕЗА МИКОЛОВЫХ КИСЛОТ</b></p>	139
<p>Лебедева Е. И., Щастный А. Т., Бабенко А. С.  <b>ФАКТОРНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ФИБРОГЕНЕЗЕ ПЕЧЕНИ</b></p>	145
<p>Макаревич В. В., Пикуза А. Р.  <b>ПОЛИМОРФНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ TNF-<math>\alpha</math> И IL-10 И РАЗВИТИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ</b></p>	151

Макаревич Д. А., Рябцева Т. В., Дусь Д. Д. <b>НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ АДСОРБЦИЯ БЕЛКА КАПИЛЛЯРАМИ ПОЛИСУЛЬФОНА В УСЛОВИЯХ ДИНАМИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА</b>	157
Матвееенко М. А., Шолух М. В. <b>ВЛИЯНИЕ ЛИПИДОВ НА АГРЕГАЦИЮ ИНСУЛИНА И ЕГО ДАЛЬНЕЙШУЮ ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ</b>	162
Мурашко Д. И., Таганович А.Д., Ковганко Н. Н., Миневиц Т. Д. <b>КОНЦЕНТРАЦИЯ CXCL5, CXCL8, ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ CXCR1, CXCR2 И CD44V6 В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С АДЕНОКАРЦИНОМОЙ ЛЕГКОГО I СТАДИИ</b>	168
Нечипуренко Н.И., Пашковская И.Д., Сидорович Р.Р., Ахремчук А.И., Рубин О.Г. <b>БИОХИМИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ОТСРОЧЕННОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ПОСЛЕ ВНУТРИЧЕРЕПНОГО КРОВОИЗЛИЯНИЯ И ОПЕРАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ АНЕВРИЗМ</b>	174
Никитина И.А. <b>ВЛИЯНИЕ СУКЦИНАТА НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ ТИМУСА КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА</b>	180
Ринейская О. Н., Лахвич Ф. Ф., Глинник С. В. <b>ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РИВАРОКСАБАНА НА УРОВЕНЬ ГЛЮКОЗЫ У КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ</b>	186
Рутковская Ж.А., Котович И.Л., Саттаров Р.М., Матюхевич А.С., Таганович А.Д. <b>ИСПОЛЬЗОВАНИЕ N-АЦЕТИЛЦИСТЕИНА ДЛЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ИЗМЕНЕНИЙ В ЛЕГКИХ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРОКСИИ</b>	192
Рябцева Т. В., Демидовец В. А., Чиж К. А., Апанасович В. Г. <b>ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭНДОПЕПТИДАЗЫ ММП-1 В СЫВОРОТКЕ ПАЦИЕНТОВ С СИСТЕМНЫМ СКЛЕРОЗОМ</b>	198
Смурага Д. Д., Рябцева Т. В. <b>ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФНО-АЛЬФА С НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМИ ФРАГМЕНТАМИ ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ РЕЦЕПТОРА TNFRSF1B</b>	202

Таганович А.Д., Девина Е.А., Колб А.В. <b>СТАНОВЛЕНИЕ И РАЗВИТИЕ КАФЕДРЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ БЕЛОРУССКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА</b>	208
Таганович А.Д., Ковганко Н.Н., Броницкий С.К., Шумельчик В.В., Готько О.В., Прохорова В.И., Колб А.В. <b>КОНТРОЛЬ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С АДЕНОКАРЦИНОМОЙ ЛЕГКОГО (I-II СТАДИИ) НА ОСНОВАНИИ ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ</b>	213
Таганович А.Д., Ковганко Н.Н., Турута Я.Д., Струневский В.А., Готько О.В., Барабанова Е.М., Хотько Е.А. <b>ДИАГНОСТИКА РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО I-III СТАДИЙ НА ДООПЕРАЦИОННОМ ЭТАПЕ</b>	218
Таганович А.Д., Ковганко Н.Н., Броницкий С.К., Шульгенчик В.В., Готько О.В., Прохорова В.И. <b>ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ БЕЗРЕЦИДИВНОЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО (III-A-B СТАДИИ)</b>	223
Таганович А.Д., Ковганко Н.Н., Гуревич Г.Л., Новская Г.К., Будник О.А., Готько О.В. <b>БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА В ДИАГНОСТИКЕ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО</b>	228
Терпинская Т.И., Янченко Т.Л., Полукошко Е.Ф. <b>МОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ БЕТУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ЭФФЕКТ ИНГИБИТОРОВ ПРОТЕИНКИНАЗ</b>	233
Терпинская Т.И., Янченко Т.Л., Радченко А.В., Грибовская В.А., Полукошко Е.Ф., Артемьев М. В. <b>ВЛИЯНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЫ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАНОЧАСТИЦ И ИХ СВЯЗЫВАНИЕ С КЛЕТКАМИ</b>	239
Толкачева Т. А, Балаева-Тихомирова О.М., Кацнельсон Е.И., Фомичева Н.С. <b>БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ БИОТЫ БЕЛОРУССКОГО ПООЗЕРЬЯ НА КАФЕДРЕ ХИМИИ И ЕСТЕСТВЕННОНАУЧНОГО ОБРАЗОВАНИЯ ВГУ ИМЕНИ П.М. МАШЕРОВА</b>	245

Фандо Г.П. <b>ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОВ СИНТЕЗА 13,14-СЕКО АНАЛОГОВ ЭСТРОГЕНОВ</b>	251
Федорова М. В., Вознесенский В. И., Созарукова М. М., Харченко А.А., Соснова Е.А., Проскурнина Е. В. <b>АНТИОКСИДАНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ</b>	257
Хруцкий В. Ю., Едимечева И. П., Федорук А. М., Кирковский Л. В., Федорук Д. А. <b>ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПАЛЬМИТОКСИАЦЕТОНА И СТЕАРОКСИАЦЕТОНА В ОБРАЗЦАХ СЫВОРОТКИ КРОВИ, МОЧИ, ЖЕЛЧИ И ПЕЧЕНИ</b>	264
Хотько Е. А., Таганович А. Д., Шабает Г. В. <b>МЕЖГЕННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАТУСА КУРЕНИЯ</b>	269
Чиркин А.А., Данченко Е.О., Степанова Н.А., Чиркина А.А., Алтани М.С. <b>ОРГАНИЗАЦИЯ БИОХИМИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ НЕКОТОРЫХ ГРУПП НАСЕЛЕНИЯ НА КАФЕДРЕ ХИМИИ И ЕСТЕСТВЕННОНАУЧНОГО ОБРАЗОВАНИЯ НЕ МЕДИЦИНСКОГО ПРОФИЛЯ</b>	278
Романовский И. В., Ринейская О. Н., Глинник С. В., Ермоленко Е. М., Лахвич Ф. Ф. <b>СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРЕПОДАВАНИЯ БИООРАГИЧЕСКОЙ ХИМИИ В МЕДИЦИНСКОМ ВУЗЕ В УСЛОВИЯХ ПРАКТИКО-ОРИЕНТИРОВАННОГО ОБУЧЕНИЯ</b>	284



## СТИМУЛЯЦИЯ ПОГЛОЩЕНИЯ КИСЛОРОДА В ТКАНЯХ СЕМЕННИКОВ КРЫС НА СОРОК СУТОК ПОСЛЕ ОБЩЕГО ОДНОКРАТНОГО $\gamma$ -ОБЛУЧЕНИЯ

*Аль Меселмани М. А.*

*Кандидат биологических наук, доцент кафедры Биохимии и  
биоинформатики учреждения образования  
«Полесский государственный университет», Беларусь, Пинск  
drtmouhand78@inbox.ru*

**Аннотация.** С помощью полярографического метода, исследована скорость поглощения кислорода на эндогенных и экзогенных субстратах ( $V_{\text{энд}}$ ,  $V_{\text{як}}$ ,  $V_{\text{глу}}$ ,  $V_{\text{днф}}$ ) в образцах ткани семенников крыс после тотального однократного  $\gamma$ -облучения (1.0 Гр). Установлено, что на 40-е сутки ( $V_{\text{энд}}$ ,  $V_{\text{як}}$ ,  $V_{\text{глу}}$ ) возрастали соответственно на 120.7% ( $p < 0.05$ ), 124.8% ( $p < 0.05$ ) и 97.1% ( $p < 0.05$ ). Усиление поглощения кислорода сопровождалось снижением СДднф на 18.1% ( $p < 0.001$ ) в подопытной группе, что предполагало угрозу разобщения процессов окисления и фосфорилирования. Наряду с этим, на 40-е суток наблюдения содержание МДА в плазме крови увеличивались на 149.3% ( $p < 0.01$ ), это подтверждают длительную активацию процессов ПОЛ в семенниках облученных крыс.

**Ключевые слова:** семенники; митохондрии; окисление; малые дозы  $\gamma$ -излучения, крыса

## STIMULATION OF OXYGEN UPTAKE IN RAT TESTICULAR TISSUES FOR FORTY DAYS AFTER A GENERAL SINGLE $\gamma$ - IRRADIATION

*Al Meselmani M. A.*

*Ph.D in Biochemistry, Associate Professor of the department of Biochemistry  
and Bioinformatics of the Educational Institution  
"Polesky State University", Belarus, Pinsk  
drtmouhand78@inbox.ru*

**Annotation.** By using the polarographic method, the rate of oxygen uptake by endogenous and exogenous substrates ( $V_{\text{end}}$ ,  $V_{\text{suc}}$ ,  $V_{\text{glu}}$ ,  $V_{\text{dnf}}$ ) was studied in rat testicular tissue samples after total exposure to single gamma radiation (1.0 Gy). It was found that on the 40th day ( $V_{\text{end}}$ ,  $V_{\text{suc}}$ ,  $V_{\text{glu}}$ ) increased by 120.7% ( $p < 0.05$ ), 124.8% ( $p < 0.05$ ) and 97.1% ( $p < 0.05$ ), respectively. Increased oxygen uptake was accompanied with a significant decrease in  $SD_{\text{dnf}}$  by 18.1% ( $p < 0.001$ ) in the experimental group, which indicates the risk of separation of oxidation and phosphorylation processes. Along with

*this, on the 40th day of observation, the content of MDA in blood plasma increased by 149.3% ( $p < 0.01$ ), this is confirmed by prolonged activation of LPO processes in the testicles of irradiated rats.*

**Keywords:** testis; mitochondria; oxidation; low-dose  $\gamma$ -radiation; rat

Радиация является одним из наиболее опасных факторов окружающей среды, влияющих на здоровье человека, в последнее время радиационный риск повышается из-за широкого применения в самых разных областях человеческой деятельности и, особенно, в медицине, технике и промышленности. Поэтому проблема нежелательных влияний радиации на организм человека и, особенно, на его репродуктивную систему всё ещё остается актуальной для радиологии, биологии и медицины. Мамина и др, показали изменение структурно-функционального состояния семенников при условия повышенного радиационного фона, в том числе однократно внешнего облучения [1, 2].

В связи с этим, **целью** настоящего исследования явилось изучение скорости потребления кислорода тканями семенников крыс после общего однократного  $\gamma$ -облучения.

**Материалы и методы.** Опыты выполнены на беспородных половозрелых белых крысах- самцах линии Wistar массой 220-240. Крысы контрольной группы ( $n=9$ ) облучению не подвергались, крысы подопытной группы ( $n=9$ ) облучали с помощью установки «ИГУР-1» однократно. Доза облучения составляла 1.0 Гр, забой животных групп проводили по истечении сорока суток с момента облучения, извлекали семенники и измерили скорости поглощения кислорода с помощью полярографического метода и закрытым платиновым электродом Кларка в среде Хенкса при  $t=25^{\circ}\text{C}$ . Значения регистрировали в нмоль  $\text{O}_2/\text{мин}$  на 1 мг белка (измерение содержания белка в пробах проводили биуретовым методом). Измерения проводили в трех повторах на каждую экспериментальную крысу.

Скорость дыхания ткани семенников оценивали на эндогенных субстратах ( $V_{\text{энд}}$ ), а также и при экзогенных субстратах сукцината ( $V_{\text{як}}$ ), глутамата натрия ( $V_{\text{глу}}$ ) и 2,4-динитрофенола ( $V_{\text{днф}}$ ). Рассчитывали коэффициент стимулирующего действия (СД):  $\text{СД}_{\text{як}} = V_{\text{як}}/V_{\text{энд}}$ ;  $\text{СД}_{\text{глу}} = V_{\text{глу}}/V_{\text{энд}}$  и  $\text{СД}_{\text{днф}} = V_{\text{днф}}/V_{\text{глу}}$  [1]. Также мы определили в плазме крови продукта ПОЛ малонового диальдегида (МДА) по методу Н. Ohkawa (1979), И.Д. Стальной и Т.Д. Гаришвили (1977) [3, 4]. Статистическую обработку результатов выполнили с помощью компьютерной программы «Statistica» 6.0 и электронных таблиц Microsoft Excel.

**Результаты.** В ходе серии исследований установлено, что кусочки ткани семенников крыс характеризуются высоким уровнем потребления кислорода (таблица 1). Это нашло подтверждение не только в результатах исследования показателей поглощения кислорода препаратами ткани семенников, на

эндогенных субстратах ( $V_{\text{энд}}$ ), но также и при использовании экзогенных субстратов окисления – сукцината ( $V_{\text{як}}$ ) и глутамата ( $V_{\text{глу}}$ ). (таблица 1).

Таблица 1— Показатели поглощения кислорода в семенниках после  $\gamma$ -облучения в дозе 1.0 Гр на 40-е сутки (n=9)

Параметры	Скорость поглощения кислорода нМ $O_2$ / мин.мг		
	Контроль	40- е сутки	%
$V_{\text{энд}}$	3.19±0.02	7.04±2.76*	220.7
$V_{\text{як}}$	5.32 ±0.31	11.96±6.68*	224.8
$V_{\text{глу}}$	4.79±0.29	9.44±2.24*	197.1
$V_{\text{днф}}$	6.31 ±0.16	12.43±2.59*	150.6
$СД_{\text{як}}$	1.66±0.10	1.47±0.37*	88.5
$СД_{\text{глу}}$	1.46±0.09	1.21±0.05***	82.9
$СД_{\text{днф}}$	1.33±0.08	1.09±0.04***	81.9

Примечание: здесь и далее – достоверность различий по отношению к контрольной группе: \* –  $p < 0.05$ ; \*\* –  $p < 0.01$ ; \*\*\* –  $p < 0.001$ .

На 40-е сутки с момента облучения в дозе 1.0 Гр (мощность дозы 0.92 Гр/мин) наблюдалось увеличение потребления кислорода тканями семенников тканями семенников на эндогенных субстратах с  $3.19 \pm 0.02$  нмоль  $O_2$ /мин · мг белка в контроле до  $7.04 \pm 2.76$  в подопытной группе (таблица 1).

Также скорость поглощения кислорода в присутствии сукцината на 40-е сутки наблюдения была выше в два раза чем в контроле и составило  $11.96 \pm 6.68$  нмоль  $O_2$ /мин · мг белка против  $5.32 \pm 0.31$  нмоль  $O_2$ /мин · мг белка в контроле. В присутствии экзогенного субстрата глутамата скорости потребления кислорода возрастала с  $4.79 \pm 0.29$  нмоль  $O_2$ /мин · мг белка в контроле до  $9.44 \pm 2.24$  ( $p < 0.05$ ) нмоль  $O_2$ /мин · мг белка в подопытной группе.

Вместе с тем, достоверные снижения  $СД_{\text{як}}$  и  $СД_{\text{глу}}$  позволило предположить более высокую степень накопления сукцината и глутамата внутри митохондрий клеток семенников. Так, величина  $СД_{\text{глу}}$  на 40-е сутки составляла  $1.21 \pm 0.05$  ( $p < 0,001$ ) против  $1.46 \pm 0.09$  в контроле, а величина  $СД_{\text{як}}$  составляла  $1.47 \pm 0.37$  ( $p < 0.05$ ) против  $1.66 \pm 0.10$  в контроле (таблица 1).

В соответствии с полученными данными, спустя сорок суток после облучения происходило снижение показателя  $СД_{\text{днф}}$  с  $1.33 \pm 0.08$  (контроль) до

1.09±0.02 (на18.1%)( $p < 0.001$ ), что всё ещё позволяло констатировать присутствие разобщения в системе окисления и фосфорилирования.

Так как активация окислительных процессов в семенниках после однократного внешнего облучения сопровождалась увеличением содержания МДА в плазме крови(таблица 2). Концентрация МДА возростала с  $208.1 \pm 28.3$  в контроле до  $518.0 \pm 29$  ( $p < 0.05$ ) в группе животных через 40 суток с момента облучения.

Таблица 2 — Содержание МДА в плазме крови (нмоль/л) крыс после однократного  $\gamma$ -облучения в дозе 1.0 Гр

Группы	Плазма крови	%
Контроль	$208.1 \pm 28.3$	
40 сутки	$518.0 \pm 29.0^{**}$	249.3

Следует отметить, что повышение содержания МДА в плазме крови, подтверждают длительную активацию ПОЛ основной причиной бесплодных мужчин [5].

**Заключение.** Отдаленные эффекты одноразового  $\gamma$ -облучения на 40 сутки, включающие повышенное потребление кислорода при окислении сукцината, глутаминовой кислот, эндогенных субстратов и в присутствии 2,4-динитрофенола со снижением коэффициента стимулирующего действия  $СД_{днф}$ , активация дыхания протекает с признаками разобщения процессов окисления и фосфорилирования. А также изменения скорости окисления биологических субстратов в семенниках вызывают повышение уровней МДА в плазме крови крыс, подвергнутых воздействию однократного  $\gamma$ -излучения.

### Список литературы

1. Аль Меселмани, М.А. Показатели поглощения кислорода в тканях семенников под воздействием инкорпорации  $^{137}CS$  / М.А. Аль Меселмани. – Прикладные информационные аспекты медицины: научно-практический журнал, 2023– 26, (2): 92 с.
2. Мамина, В.П. Радиопротекторный эффект эраконда на сперматогенез при воздействии однократного внешнего острого  $\gamma$ -облучения /В.П. Мамина. – Медицинская радиология и радиационная безопасность, 2022 – 67, (5):18 с.
3. Стальная, И.Д, Гаришвили, Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты, Современные методы в

биохимии / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили. – Акад. мед. наук СССР. – М.: Медицина, 1977 –392 с.

4. Ohkawa, H, Ohishi, N, Yagi, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction / H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Yagi. – Analytical Biochem, 1979. – 95(2):351с.

5. Barati, E., Nikzad, H., Karimian, M. Oxidative stress and male infertility: Current knowledge of pathophysiology and role of antioxidant therapy in disease management / E. Barati, H. Nikzad, M. Karimian. – Cellular and Molecular Life Sciences, 2020 – 77(1):93с.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ХОЛЕСТЕРОЛА И ТРИГЛИЦЕРИДОВ У ЛЮДЕЙ СТАРШЕ 60 ЛЕТ

**Андреева И.Н.**

*младший научный сотрудник, аспирант лаборатории  
экологической генетики и биотехнологии  
Государственного научного учреждения  
«Институт генетики и цитологии»  
Национальной академии наук Беларуси  
г. Минск, Беларусь  
irishka14790@mail.ru*

**Михаленко Е.П.**

*кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник  
лаборатории экологической генетики и биотехнологии  
Государственного научного учреждения  
«Институт генетики и цитологии»  
Национальной академии наук Беларуси  
г. Минск, Беларусь*

**Кузьминова Е.И.**

*научный сотрудник лаборатории экологической  
генетики и биотехнологии  
Государственного научного учреждения  
«Институт генетики и цитологии»  
Национальной академии наук Беларуси  
г. Минск, Беларусь*

**Байда А.В.**

*кандидат медицинских наук, доцент кафедры  
общей врачебной практики с курсом гериатрии  
Государственного учреждения образования  
«Белорусская медицинская академия  
последипломного образования»  
г. Минск, Беларусь*

**Кильчевский А.В.**

*доктор биологических наук, профессор, научный  
руководитель лаборатории экологической  
генетики и биотехнологии  
Государственного научного учреждения  
«Институт генетики и цитологии»*

Национальной академии наук Беларуси  
г. Минск, Беларусь

**Аннотация.** У людей пожилого возраста проведена комплексная оценка параметров липидного обмена и данных молекулярно-генетических исследований полиморфных локусов rs320 гена LPL, rs1137101 гена LEPR, rs1800588 гена LIPC и rs2000813 гена LIPG. Выявлена связь полиморфных вариантов генов LIPC, LIPG и LEPR с показателями липидного обмена у лиц старше 60 лет как с избыточной, так и с нормальной массой тела.

**Ключевые слова:** продолжительность жизни; старение; долголетие; липидный обмен; генетический полиморфизм

## GENETIC FEATURES OF CHOLESTEROL AND TRIGLYCERIDE METABOLISM IN PEOPLE OVER 60 YEARS

**Andreeva I.N.**

Junior researcher, graduate student of the laboratory  
ecological genetics and biotechnology  
State scientific institution  
"Institute of Genetics and Cytology"  
National Academy of Sciences of Belarus  
Minsk, the Republic of Belarus  
e-mail: irishka14790@mail.ru

**Mikhalenko E.P.**

Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher  
laboratory of ecological genetics and biotechnology  
State scientific institution  
"Institute of Genetics and Cytology"  
National Academy of Sciences of Belarus  
Minsk, the Republic of Belarus

**Kuzminova E.I.**

Researcher, laboratory of Ecological  
genetics and biotechnology  
State scientific institution

"Institute of Genetics and Cytology"  
National Academy of Sciences of Belarus  
Minsk, the Republic of Belarus

**Baida A.V.**

Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department

*general medical practice with a course in geriatrics  
State educational institution  
"Belarusian Medical Academy  
Postgraduate Education"  
Minsk, the Republic of Belarus*

***Kilchevsky A.V.***

*Doctor of biological sciences, professor, scientific  
head of the environmental laboratory  
genetics and biotechnology  
State scientific institution  
"Institute of Genetics and Cytology"  
National Academy of Sciences of Belarus  
Minsk, the Republic of Belarus*

***Annotation.*** *In elderly people, a comprehensive assessment of lipid metabolism parameters and data from molecular genetic studies of polymorphic loci rs320 of the LPL gene, rs1137101 of the LEPR gene, rs1800588 of the LIPC gene, and rs2000813 of the LIPG gene was carried out. A relationship was found between polymorphic variants of the LIPC, LIPG, and LEPR genes and lipid metabolism in people over 60 years of age, both with overweight and with normal body weight.*

***Keywords:*** *lifespan; aging; longevity; lipid metabolism; genetic polymorphism*

Прогрессирующее старение населения, обусловленное увеличением доли людей старших возрастных групп в общей численности населения, остается одной из наиболее актуальных проблем современного общества.

В период старения происходит тенденция снижения основного обмена и понижение скорости метаболических процессов [1]. Известно, что у пожилых лиц отмечается снижение содержания мышечной массы и увеличение доли жировой ткани, снижение уровня метаболической активности в организме. Ускорение процессов атероматоза и высокий риск развития возраст ассоциированных заболеваний, наличие полиморбидной патологии связаны зачастую с усугублением нарушений липидного гомеостаза. Одним из характерных лабораторных показателей у пожилых пациентов с нарушением толерантности к углеводам или клинически диагностированным диабетом, имеющим к тому же избыточный вес и ожирение, является выраженная гипертриглицеридемия [2, 3].

Это следует учитывать в клинической практике и выделять группы лиц, у которых наблюдается неблагоприятное сочетание избыточной массы тела и дислипидемии, так как этот комплекс факторов может значительно повышать



риск сердечно-сосудистых, опухолевых, эндокринных и неврологических нарушений [2, 3].

Цель нашего исследования – изучить влияние аллельного полиморфизма генов, кодирующих ферменты липидного обмена (*LPL*, *LEPR*, *LIPC* и *LIPG*) на уровень показателей липидного обмена у людей старше 60-ти лет.

**Материалы и методы.** Всего было собрано 424 пробы биологического материала добровольцев старшей возрастной группы, в том числе 141 долгожитель Беларуси (старше 90 лет) и 283 человека в возрасте 60-89 лет, находившихся на лечении в отделениях Минского областного клинического госпиталя инвалидов Великой Отечественной Войны имени П.М. Машерова (г. Минск). Все пациенты дали информированное согласие на данное исследование. На первом этапе из нашего исследования были исключены пациенты с эндокринными заболеваниями и сахарным диабетом 2 типа, т.к. эти заболевания достоверно связаны с нарушениями липидного обмена и гормонального статуса человека. Молекулярно-генетические исследования проводились у 318 пациентов в возрасте старше 60 лет. Проведено антропометрическое исследование с расчетом индекса массы тела (ИМТ) у 297 человек. В зависимости от индекса массы тела были сформированы две группы исследования. В первую (основную) группу вошли пациенты старше 60 лет с избыточной массой тела (ИМТ  $\geq 25$ ) – 81 человек (31 мужчин и 50 женщин); во вторую (группа сравнения) – пациенты старше 60 лет с нормальной массой тела (ИМТ  $< 25$ ) – 216 человек (102 мужчин и 114 женщин).

Выделение геномной ДНК из лейкоцитов периферической венозной крови осуществляли методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование rs320 гена *LPL*, rs1137101 гена *LEPR* и rs1800588 гена *LIPC* проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим анализом длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ). Полиморфизм rs2000813 гена *LIPG* исследовали с помощью ПЦР в реальном времени.

У 163 добровольцев определены биохимические показатели крови (общий холестерин (ОХ) и его фракции - холестерин липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП), холестерин липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП), триглицериды (ТГ)) с использованием коммерческих диагностических наборов CORMAY (Польша), DIALAB (Австрия), Витал Диагностикс СПб (РФ), Erba Mannheim (Франция), Biomaxima (Польша) на биохимических анализаторах Dialab Autolyzer (Австрия), Clima MC-15 (Испания). Биохимические исследования осуществлялись в лабораториях Института физиологии НАН РБ и БелМАПО.

Статистическую обработку данных проводили с использованием онлайн-программы SNPStats ([http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats\\_web](http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats_web)) и программы

GraphPad InStat Version 3.05. При сравнении частот генотипов использовался стандартный критерий  $\chi^2$  Пирсона и отношение шансов (OR) с расчётом 95% доверительного интервала (95% CI). Проверку числовых значений на нормальность распределения проводили с помощью критерия Шапиро-Уилка. Все количественные параметры соответствовали закону нормального распределения, поэтому проводили анализ с помощью t-критерия Стьюдента и однофакторного дисперсионного анализа при межгрупповом сравнении. Количественные данные представляли в виде среднего арифметического и стандартной ошибки (Mean $\pm$ SE). Статистически значимыми являлись различия при  $p < 0,05$  независимо от метода применяемого анализа.

**Результаты.** На первом этапе исследования проанализированы частоты встречаемости полиморфных вариантов исследуемых генов у долгожителей Беларуси и лиц старшей возрастной группы (таблица 1). Среди обследованных добровольцев носители генотипов GA и GG rs1137101 гена *LEPR* достоверно чаще встречались в группе долгожителей (старше 90 лет) по сравнению с лицами младше 90 лет (OR=0,58; CI:0,33-0,99;  $p=0,043$ ).

Таблица 1 – Частоты встречаемости полиморфных вариантов исследуемых генов в группе долгожителей и старшей возрастной группе

Модель	Генотип	Долгожители (старше 90 лет)	Старшая возрастная группа (60-89 лет)	OR (95% CI)	P-value
<b>rs320 гена <i>LPL</i></b>					
Кодоминантная	T/T	50 (48,5%)	103 (53,1%)	1,00	0,36
	G/T	48 (46,6 %)	76 (39,2%)	0,77 (0,47-1,26)	
	G/G	5 (4,8%)	15 (7,7%)	1,46 (0,50-4,23)	
Доминантная	T/T	50 (48,5%)	103 (53,1%)	1,00	0,46
	G/T-GG	53 (51,5%)	91 (46,9%)	0,83 (0,52-1,34)	
<b>rs1137101 гена <i>LEPR</i></b>					
Кодоминантная	A/A	24 (23,3%)	67 (34,5%)	1,00	0,1
	A/G	63 (61,2%)	96 (49,5%)	0,55 (0,31-0,96)	
	G/G	16 (15,5%)	31 (16%)	0,69 (0,32-1,49)	
Доминантная	A/A	24 (23,3%)	67 (34,5%)	1,00	<b>0,043</b>
	A/G-G/G	79 (76,7%)	127 (65,5%)	<b>0,58 (0,33-0,99)</b>	
<b>rs2000813 гена <i>LIPG</i></b>					
Кодоминантная	C/C	57 (55,3%)	105 (54,1%)	1,00	0,95
	C/T	39 (37,9%)	74 (38,1%)	1,03 (0,62-1,71)	

	Т/Т	7 (6,8%)	15 (7,7%)	1,16 (0,45-3,02)	
Доминантная	С/С	57 (55,3%)	105 (54,1%)	1,00	0,84
	С/Т-Т/Т	46 (44,7%)	89 (45,9%)	1,05 (0,65-1,70)	
<b>rs1800588 гена LIPC</b>					
Кодоминантная	С/С	57 (55,3%)	104 (53,6%)	1,00	0,36
	С/Т	33 (32%)	74 (38,1%)	1,23 (0,73-2,07)	
	Т/Т	13 (12,6%)	16 (8,2%)	0,67 (0,30-1,50)	
Доминантная	С/С	57 (55,3%)	104 (53,6%)	1,00	0,78
	С/Т-Т/Т	46 (44,7%)	90 (46,4%)	1,07 (0,66-1,73)	

Результаты анализа полиморфных вариантов rs320, rs1137101, rs1800588 и rs2000813 у обследуемых добровольцев в зависимости от ИМТ показали отсутствие статистически значимых различий.

Предполагается, что полиморфизмы в гене *LEPR* играют важную роль в регуляции рецептора лептина и патофизиологических механизмах ожирения. Среди известных полиморфизмов гена *LEPR* полиморфизм rs1137101 (A>G, Gln223Arg) является наиболее частым и вызывает снижение функциональной активности рецептора лептина [4]. Метаанализ 11 исследований (около 5000 случаев) показал, что полиморфизм rs1137101 в значительной степени связан с диабетом 2-го типа [5].

Неоспоримым является факт, что нарушение липидного обмена играет важную роль в развитии возраст-ассоциированных заболеваний. При этом известно, что определенные патогенетические механизмы нарушения липидного обмена связаны с гормональным статусом, возрастом и генетическими особенностями человека [7]. Поэтому, несомненно, имеет большое значение поиск генетических маркеров, влияющих на липидный обмен у людей в пожилом возрасте.

Была проведена комплексная оценка параметров липидного обмена с данными молекулярно-генетических исследований. В 2-х группах сравнения в зависимости от индекса массы тела выявлены достоверные различия в уровнях показателей липидного обмена.

Установлено, что уровень ХС ЛПНП ( $4,72 \pm 0,65$ ) у женщин с избыточной массой тела и генотипом СС rs1800588 гена *LIPC* достоверно выше, чем у носительниц генотипов СТ и ТТ ( $3,66 \pm 1,13$ ), уровень значимости  $p=0,0084$ . Согласно результатам исследования INTERHEART, повышенные уровни ХС-ЛПНП и ОХ достоверно повышали риск ишемической болезни сердца (ИБС) и общую смертность [8].

Для полиморфизма rs2000813 гена *LIPG* уровни ХС ЛПВП были достоверно ниже у женщин с избыточной массой тела с генотипом СС

( $1,00 \pm 0,34$ ) по сравнению с генотипами СТ и ТТ ( $1,40 \pm 0,53$ ), уровень значимости  $p=0,035$ .

У мужчин с нормальной массой тела и генотипом СС ( $1,05 \pm 0,43$ ) rs2000813 гена *LIPG* уровень триглицеридов был достоверно ниже по сравнению с носителями генотипов СТ и ТТ ( $1,42 \pm 0,57$ ), уровень значимости  $p=0,0031$ . Также установлено, что уровень общего холестерина (ОХ) у мужчин с нормальной массой тела и генотипом АА ( $5,58 \pm 1,30$ ) rs1137101 гена *LEPR* достоверно выше, чем у генотипов АГ и GG ( $4,83 \pm 1,30$ ), уровень значимости  $p=0,028$ .

**Заключение.** Выявлена связь полиморфных вариантов генов *LIPC*, *LIPG*, *LEPR* с показателями липидного спектра (общий холестерин, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП, триглицериды) у пациентов пожилого возраста как с избыточной, так и с нормальной массой тела.

С учетом установленной роли и влияния полиморфизмов генов *LIPC*, *LIPG*, *LEPR* на липидный статус представляется целесообразным включение этих локусов в панели оценки предрасположенности к дислипидемии и заболеваниям, связанным с нарушением липидного статуса (сердечно-сосудистые и онкологические).

### Список литературы

1. Тот П.П. Нарушения липидного обмена. / Тот П.П. [и др.] // – М., – 2010.
2. Погодина А.Б. Основы геронтологии и гериатрии: учеб.пособие / А.Б. Погодина [и др.] // – Ростов н/Д: Феникс, – 2007. – 252 с.
3. Hypertriglyceridemia in the genomic era: a new paradigm /Lewis G.F. [et al.] // *Endocr Rev.* – 2015. – Vol. 36, №1. – P. 131-47.
4. *LEPR* p.Q223R Polymorphism influences plasma leptin levels and body mass index in Tunisian obese patients / Ben Ali S. [et al.] // *Arch. Med. Res.* – 2009. – Vol. 40. – P.186–190.
5. Variations in the Obesity Gene "LEPR" Contribute to Risk of Type 2 Diabetes Mellitus: Evidence from a Meta-Analysis \ Ming M.Y. [et al.] // *J. Diabetes Res. Epub.* – 2016, Apr 18.
6. Проблема ожирения в Европейском регионе ВОЗ / ВОЗ; редкол.: F. Branca [и др.] // – Копенгаген. – ВОЗ Европа. – 2009. – 392 с.
7. Ежов М.В. Российские рекомендации по диагностике и коррекции нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза /Ежов М.В.// *Российский кардиологический журнал.* – 2012. – №4 (прил. 1). – 32 с.

8. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study/ Yusuf S. [et al.] // Lancet. — 2004. — Vol. 364.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЫБОРА МЕТОДА МОДЕЛИРОВАНИЯ ТРЕТИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ИЗОФОРМЫ P00749-2 УРОКИНАЗЫ

*Байроченко Д.С.*

*Студент лечебного факультета*

*учреждения образования*

*«Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск,*

*Беларусь*

*bairon0404@gmail.com;*

***Аннотация.** Целью работы явилось сравнение качества третичных структур изоформы P00749-2 урокиназы (фермента, участвующего в процессах роста опухолей и распространении раковых клеток), полученных путем моделирования *in silico*, с использованием программ MODELLER, Phyre2, Robetta и SWISS-MODEL. После проведения сравнительного анализа на предмет качества полученных моделей сервис SWISS-MODEL был рекомендован как наиболее оптимальный для моделирования изоформ урокиназы.*

***Ключевые слова:** гомологичное моделирование; урокиназа; SWISS-MODEL; Robetta; Phyre2; MODELLER*

## PRACTICAL ASPECTS OF CHOOSING A METHOD FOR MODELING THE TERTIARY STRUCTURE OF UROKINASE ISOFORM P00749-2

*Bairachenka D.S.*

*Student of the Medical Faculty*

*of the Educational Institution*

*"Belarusian State Medical University", Minsk, Belarus*

*bairon0404@gmail.com;*

***Annotation.** The aim of the study was to compare the quality of tertiary structures of the urokinase isoform P00749-2 (urokinase is an enzyme involved in the processes of tumor growth and the spread of cancer cells), which were obtained by modeling *in silico* in MODELLER, Phyre2, Robetta and SWISS-MODEL. After carrying out a comparative analysis for the quality of the received models, the SWISS-MODEL service was recommended as the most optimal for the modeling of urokinase isoforms.*

***Keywords:** homology modelling; urokinase; SWISS-MODEL; Robetta; Phyre2; MODELLER*

В настоящее время классические методы установления третичной структуры молекул в связи с большими затратами времени на их проведение не отвечают набранному темпу биомолекулярных исследований. Вследствие чего всё более важную роль в науке играют исследования *in silico*. Использование данных методов позволяет делать прогнозы и выдвигать теории с достаточно высокой степенью достоверности; экономить человеческие и денежные ресурсы при проведении исследований.

Методы предсказания третичной структуры белковых молекул могут использоваться не только для моделирования структуры отдельных белков, но и для конструирования их изоформ, что может быть полезно при разработке высокоаффинных ингибиторов для белков-мишеней [1], а также в контексте комплексного изучения *in silico* эффективности действия потенциальных лекарственных средств.

Урокиназный активатор плазминогена (урокиназа) – это внеклеточная сериновая протеаза, состоящая из 411 аминокислотных остатков, кодируемая геном PLAU (10q22.2). Данный фермент активирует плазминоген, способен подвергать гидролизу некоторые компоненты внеклеточного матрикса. Он также активирует представителей семейства матриксных металлопротеиназ, ответственных за ремоделирование и деградацию внеклеточного матрикса, регуляцию пролиферации, миграции и дифференциации клеток [2]. В опухолевых клетках экспрессия гена PLAU может усиливаться в несколько раз [3]. Это ведет к повышению активности урокиназы и усилению процессов разрушения внеклеточного матрикса, что, в свою очередь, может способствовать прогрессированию опухолей и метастазированию [4]. Высокий уровень урокиназы коррелирует с неблагоприятным прогнозом и высокой частотой рецидивов [5].

Урокиназа является потенциальной мишенью для проведения антиопухолевой терапии. При разработке *in silico* ингибиторов урокиназы необходимо провести анализ эффективности действия предложенных лигандов в отношении изоформ фермента. Решением подобной задачи служит предсказание структур изоформ урокиназы, необходимых для последующего анализа эффективности связывания ингибиторов, например, Нафамостата и ряда его производных.

Целью данной работы явилось сравнение качества третичных структур изоформы P00749-2 урокиназы, полученных путем моделирования *in silico*, с использованием программ MODELLER, Phyre2, Robetta и SWISS-MODEL.

**Материалы и методы.** Поиск аминокислотных последовательностей изоформ урокиназы осуществлялся в ресурсе UniProt [6], содержащем данные о последовательностях белков и аннотации к ним. Изоформа P00749-2 образуется

в результате альтернативного сплайсинга, имеет длину 414 аминокислотных остатка и массу около 46,9 кДа. Было произведено построение ряда моделей в следующих высокоспециализированных программах: SWISS-MODEL, Robetta, Phyre2, MODELLER. В связи с тем, что ряд программ конструируют несколько моделей на базе одной аминокислотной последовательности, была проведена первичная оценка качества трехмерных структур, предложенных каждой из программ, с целью выбора наиболее успешных образцов (по одной от каждого сервиса) для последующего сравнительно анализа. Первичная оценка производилась посредством предлагаемых каждой программой инструментов и параметров.

Для сравнительного анализа качества 3D-структур, полученных с помощью вышеуказанных программ, использовались сервисы:

1. Инструмент Structure Assessment, SWISS-MODEL. Рассчитывает показатель QMEANDisCo, получаемый путем оценки попарных расстояний остаток-остаток с учетом пространственных ограничений. Определяет значения C $\beta$  и All Atom (потенциалы взаимодействия на основе атомов C $\beta$  и всех атомов), Solvation (эффект сольватации), Torsion (торсионный угол для 3-х последовательных аминокислот), QMEAN (описывает геометрию структур, используя вышеперечисленные параметры). Строит карту Рамачандрана с разрешением 2,5 Å.

2. UCLA-DOE LAB – SAVES v6.0. Программа использует следующие инструменты: ERRAT анализирует белковые структуры на предмет наличия несвязанных остатков, рассчитывая общий коэффициент качества; VERIFY3D сопоставляет трехмерную структуру с аминокислотной последовательностью; PROCHECK строит карту Рамачандрана с разрешением 2,0 Å.

**Результаты.** При построении карты Рамачандрана с использованием инструмента Structure Assessment лучшие результаты (наибольшее количество остатков в разрешенных регионах и наименьшее в запрещенных) соответствовали модели, сконструированной в SWISS-MODEL. По значениям QMEANDisCo и QMEAN данная модель также занимает лидирующую позицию, уступая лишь по показателям C $\beta$ , Solvation, Torsion модели Robetta. Полученные данные представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Инструмент Structure Assessment, количественные характеристики лучших моделей

Показатели	SWISS-MODEL	Robetta	Phyre2	MODELLER
Рамачандран основной регион, %	95,85	92,96	89,32	87,38



Рамачандран запрещенный регион, %	0,49	1,46	4,13	5,10
Рамачандран другие регионы, %	3,66	5,58	6,55	7,52
QMEANDisCo	0,77	0,70	0,64	0,48
QMEAN	-0,02	-0,49	-4,94	-7,00
C $\beta$	0,69	-0,38	-2,94	-5,68
All Atom	-1,87	-2,73	-5,72	-6,89
Solvation	-1,31	-0,99	-3,83	-7,96
Torsion	0,33	-0,04	-3,37	-3,77

На основании результатов Structure Assessment лучшей можно считать модель, полученную с помощью SWISS-MODEL. Для этой модели был построен график (рисунок 1) оценки локального качества каждого аминокислотного остатка. Отклонение для каждого остатка от глобального значения QMEANDisCo в большую (синий) или меньшую (красный) сторону продемонстрированы вертикальными линиями. Принято считать, что остаткам со значением ниже 0,6 присуще низкое качество структуры.

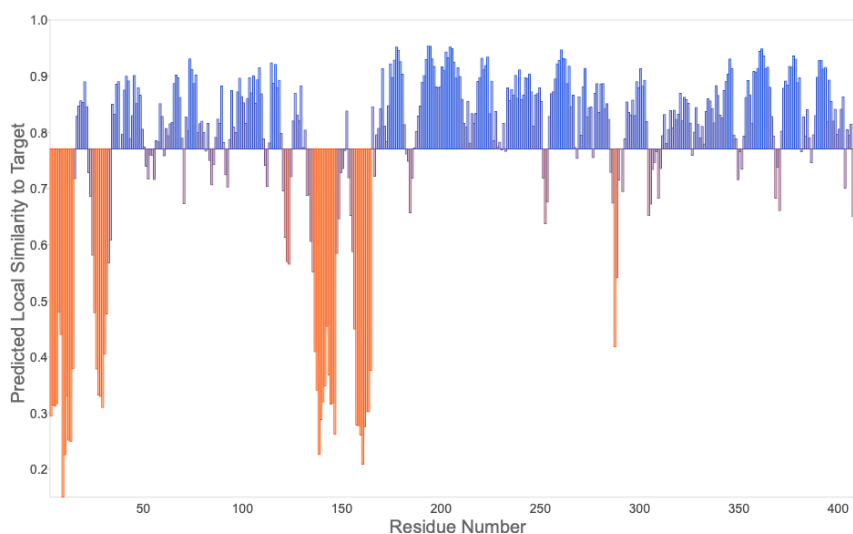


Рисунок 1 – Оценка локального качества модели SWISS-MODEL

На рисунке 2 представлен график, отражающий качество структуры SWISS-MODEL. Горизонтальная ось отражает длину белка. Вертикальная ось – значение QMEAN. Каждая точка – одна экспериментальная пространственная белковая структура, полученная из различных баз данных. Модель SWISS-MODEL обозначена красной звездочкой. Анализируемая модель относится к области с оценкой "QMEAN" в пределах одного стандартного отклонения ( $|Z$ -

score| меньше 1) от среднего значения, что говорит о достаточно высоком качестве ее структуры.

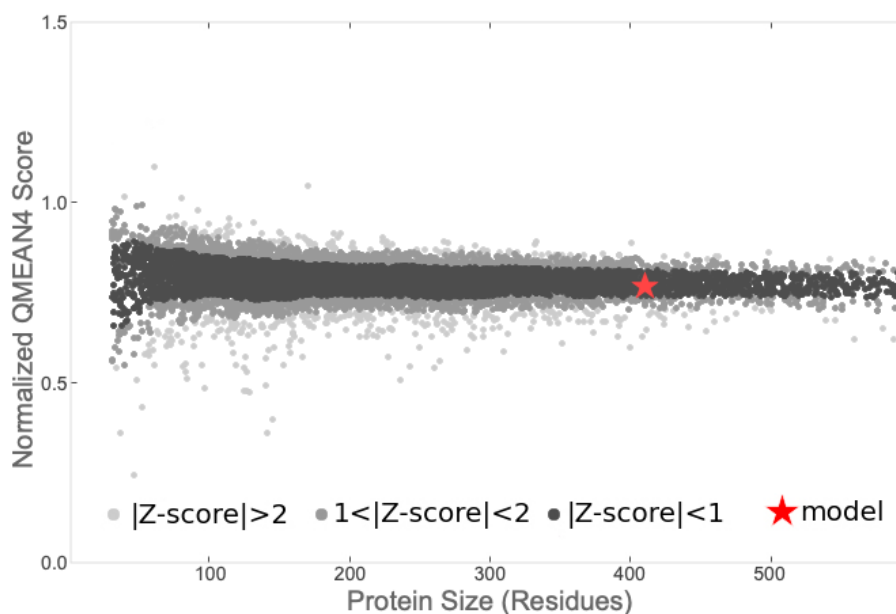


Рисунок 2 – Оценка глобального качества модели SWISS-MODEL

Далее был использован сервис SAVES v6.0 для уточнения значений в картах Рамачандрана и получения иных структурных данных для каждой из четырех моделей (таблица 2).

Таблица 2 – Инструмент SAVES v6.0, характеристики лучших моделей

Показатели	SWISS-MODEL	Robetta	Phyre2	MODELLER
ERRAT	89,26	90,5	42,47	38,48
VERIFY3D, %	70,63	73,43	76,09	59,66
Рамачандран основной, %	89,3	82,6	78,9	79,8
Рамачандран разрешенный, %	10,5	15,2	16,6	16,6
Рамачандран в целом разрешенный, %	0,3	1,7	2,8	2,2
Рамачандран запрещенный, %	0,0	0,6	1,7	1,4

По всем вышеперечисленным параметрам, кроме ERRAT и VERIFY3D, образец из SWISS-MODEL обладает лучшими значениями. Более того, данная

модель не имеет остатков, расположенных в запрещенном регионе карты Рамачандрана, что говорит в пользу высокой степени качества структуры.

**Заключение.** На основании проанализированных показателей, полученных с использованием Structure Assessment и SAVES v6.0, лучшими результатами обладает образец SWISS-MODEL.

Таким образом, для получения третичной структуры изоформы P00749-2 урокиназы целесообразно использовать сервис SWISS-MODEL.

### **Список литературы**

1. Schmidt T., Bergner A., Schwede T. Modelling three-dimensional protein structures for applications in drug design. *Drug Discov Today*. 2014;19(7):890-897. doi:10.1016/j.drudis.2013.10.027.

2. Wang X., Khalil R. Matrix Metalloproteinases, Vascular Remodeling, and Vascular Disease. *Adv Pharmacol*. 2018;81:241-330. doi:10.1016/bs.apha.2017.08.002.

3. Mahmood N, Mihalcioiu C, Rabbani SA. Multifaceted Role of the Urokinase-Type Plasminogen Activator (uPA) and Its Receptor (uPAR): Diagnostic, Prognostic, and Therapeutic Applications. *Front Oncol*. 2018;8:24. Published 2018 Feb 12. doi:10.3389/fonc.2018.00024.

4. Madunić J. The Urokinase Plasminogen Activator System in Human Cancers: An Overview of Its Prognostic and Predictive Role. *Thromb Haemost*. 2018;118(12):2020-2036. doi:10.1055/s-0038-1675399.

5. Duffy MJ, McGowan PM, Harbeck N, Thomssen C, Schmitt M. uPA and PAI-1 as biomarkers in breast cancer: validated for clinical use in level-of-evidence-1 studies. *Breast Cancer Res*. 2014;16(4):428. Published 2014 Aug 22. doi:10.1186/s13058-014-0428-4.

6. UniProt Consortium. UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023. *Nucleic Acids Res*. 2023;51(D1):D523-D531. doi:10.1093/nar/gkac1052.

## ПОСМЕРТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ АМИНОКИСЛОТ В ТЕМЕННОЙ ДОЛЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

**Бонь Е.И.**

кандидат биологических наук, доцент кафедры патологической физиологии им.  
Д.А. Маслакова, учреждения образования «Гродненский государственный  
медицинский университет», г. Гродно, Беларусь  
asphodela@list.ru;

**Максимович Н.Е.**

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической  
физиологии им. Д.А. Маслакова учреждения образования «Гродненский  
государственный медицинский университет», г. Гродно, Беларусь  
tne@grsmu.by;

**Смирнов В.Ю.**

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник  
научно-исследовательской лаборатории учреждения образования  
«Гродненский государственный медицинский университет», г. Гродно,  
Беларусь  
vit\_sm@mail.ru;

**Дорошенко Е.М.**

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник научно-  
исследовательской лаборатории учреждения образования «Гродненский  
государственный медицинский университет», г. Гродно, Беларусь,  
vit\_sm@mail.ru;

**Разводовский Ю.Е.**

кандидат биологических наук, заведующий отделом государственного  
предприятия «Институт биохимии биологически активных соединений НАН  
Беларуси», г. Гродно, Беларусь  
razvodovsky@tut.by;

**Кохан Н.В.**

студент, студент медико-психологического факультета учреждения  
образования «Гродненский государственный медицинский университет», г.  
Гродно, Беларусь  
nikita.kokhan1@gmail.com;

**Аннотация.** Данная статья посвящена посмертным изменениям  
содержания аминокислот в теменной доле головного мозга крыс. Авторами  
статьи было установлено, что при однократной тотальной ишемии  
характерны последующие изменения пула аминокислот в теменной коре:

увеличение содержания ароматических аминокислот – тирозина и триптофана, а также содержания метионина.

**Ключевые слова:** теменная кора; крыса; аминокислоты; посмертные изменения

## POSTMORTEM CHANGES IN AMINO ACID CONTENT IN THE PARIETAL LOBE OF THE RATS BRAIN

**Bon E.I.**

*Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Pathological Physiology D. A. Maslakov of the educational institutions "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus  
asphodela@list.ru;*

**Maksimovich N.Ye.**

*Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pathological Physiology named after D.A. Maslakov of the educational institution "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus  
mne@grsmu.by;*

**Smirnov V.Yu.**

*Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher research laboratory of the educational institution "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus  
vit\_sm@mail.ru;*

**Doroshenko E.M.**

*Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher of the Research Laboratory of the Educational Establishment "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus,  
vit\_sm@mail.ru;*

**Razvodovsky Yu.E.**

*Candidate of Biological Sciences, Head of the Department of the State Enterprise "Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus", Grodno, Belarus  
razvodovsky@tut.by;*

**Kokhan N.V.**

*student, student of the mental health medicine faculty of the educational institution "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus  
nikita.kokhan1@gmail.com;*

**Annotation.** This article is devoted to post-mortem changes in the content of amino acids in the parietal lobe of the brain of rats. The authors of the article found

*that with one-hour total ischemia, subsequent changes in the pool of amino acids in the parietal cortex are characteristic: an increase in the content of aromatic amino acids – tyrosine and tryptophan, as well as an increase in the content of methionine.*

**Keywords:** *parietal cortex; rat; amino acids; post-mortem changes*

Посмертные изменения головного мозга включают в себя на морфологическом уровне сморщивание и набухания нейронов, деструктивные изменения органелл (набухание митохондрий и потеря ими крист, расширение цистерн и канальцев синтетических органелл, отсутствие лизосом в цитоплазме). Неокортекс, к которому принадлежит теменная доля, является наиболее чувствительным к гипоксии и посмертные изменения развиваются в нем наиболее быстро. В связи с этим представляет интерес изменение пула аминокислот теменной доли у крыс при тотальной ишемии голоного мозга предполагающей полное выключение церебрального кровотока [1–5].

Цель – изучение посмертных изменений содержания аминокислот в теменной доле головного мозга крыс.

**Материалы и методы.** Эксперименты выполнены на 16 беспородных белых крысах-самцах массой  $260 \pm 20$  г с соблюдением требований Директивы Европейского парламента и Совета № 2010/63/ЕС от 22.09.2010 г. по защите животных, используемых в научных целях. целей.

Моделирование проводили под внутривенным тиопенталовым наркозом (40-50 мг/кг).

Тотальную церебральную ишемию (ТЦИ) моделировали декапитацией животных. Забор проб головного мозга проводили через 1 час после декапитации.

Контрольную группу составили ложно оперированные крысы того же пола и веса.

Метод исследования аминокислотного пула мозга.

После извлечения головного мозга брали фрагмент теменной коры с последующим его замораживанием в жидком азоте.

Подготовка пробы к исследованию включала гомогенизацию в 10-кратном объеме 0,2 М хлорной кислоты, центрифугирование в течение 15 мин при 13000 g при 4°C с последующим отбором надосадочной жидкости. Аминокислоты (АК) анализировали методом обращенно-фазовой хроматографии с предколоночной дериватизацией о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой в Na-боратном буфере на хроматографе Agilent 1100.

Для предотвращения систематических ошибок измерения образцы головного мозга сравниваемых контрольной и опытной групп животных исследовали в одинаковых условиях.

Были получены количественные непрерывные данные. Поскольку в эксперименте использовались небольшие выборки, имеющие аномальное распределение, анализ проводили с использованием непараметрической статистики с использованием лицензионной компьютерной программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США). Данные представлены в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана, LQ – значение нижнего квартиля; UQ – это значение верхнего квартиля. Различия между группами считались достоверными при  $p=0,046$  (непараметрический критерий Геймса-Хауэлла).

**Результаты.** По сравнению с показателями в группе «контроль», в группе «ТЦИ» длительностью 1 час в теменной доле (ТД) отмечено увеличение содержания предшественников биогенных моноаминов – ароматических АК: тирозин (на 43%,  $p=0,047$ , здесь и далее – медианы) и триптофан (на 24%,  $p=0,049$ ).

Также в ТЦИ по сравнению с контролем содержание уровня метионина увеличилось на 32% в ТД ( $p=0,046$ ). Метионин является предшественником других серосодержащих аминокислот (серина, цистатинина, цистеина). Кроме того, отмечена тенденция к повышению уровня других серосодержащих АК (цистеина, таурина), за исключением цистатинина. При ТЦИ в ТД отмечено увеличение содержания L-аргинина (на 20%,  $p=0,038$ ).

Что касается группы аминокислот с разветвленной углеводородной цепью, разветвленных углеводородных аминокислот (валин, изолейцин, лейцин), то изменения ТЦИ носили разнонаправленный характер, а именно: тенденция к повышению уровня изолейцина на 12% в ТД ( $p=0,046$ ). Уровни остальных аминокислот с разветвленной цепью не изменились ( $p=0,057$ ).

Отношение суммы уровней разветвленных углеводородных аминокислот к сумме уровней ароматических АК в ТЦИ достоверно уменьшилось с 1,4 до 1,0 в ТД ( $p=0,046$ ).

Содержание тормозного нейромедиатора глицина в ТЦИ имело тенденцию к увеличению в ТД (на 15%,  $p=0,049$ ), а уровень возбуждающих нейромедиаторов (аспартата и глутамата) не изменялся ( $p=0,058$ ).

Изменения содержания эссенциальных АК в ТЦИ в ТД: увеличилось содержание метионина на 33% ( $p=0,046$ ). В то же время коэффициент соотношения «Необязательная/Необходимая» АА в группе ТЦИ не изменился ( $p=0,053$ ).

**Заключение.** Так, в часовой ТЦИ характерны последующие изменения пула АК: увеличение содержания ароматических АК: тирозина и триптофана, содержания метионина. Наряду с этим, ТЦИ имели висячее содержание L-аргинина, тенденцию к повышенному содержанию тормозного нейротрансмиттера глицина.

### **Список литературы**

1. Bon E. Disorders of Energy Metabolism in Neurons of the Cerebral Cortex During Cerebral Ischemia / E. Bon, Ne. Maksimovich, Sm. Karnyushko, Sm. Zimatkin, Ma. Lychkovskaya. – Biomedical Journal of Scientific & Technical Research, 2021. – Т. 40. – №. 1. – 31932-31937 с.
2. Бонь Е.И. Характеристика нарушенный прооксидантно-оксидантного баланса у крыс с ишемии головного мозга / Е.И. Бонь, Н.Е. Максимович, И.К. Дремза, М.А. Носович, К.А. Храповицкая – Ульяновский медико-технический журнал, 2022. – 97–106 с.
3. Максимович Н. Е. Головной мозг крысы и его реакция на ишемию: монография / Н.Е. Максимович, Е.И. Бонь, С.М. Зиматкин – Гродно: ГрГМУ, 2020. – 238 с.
4. Разводовский Ю. Е. Содержание аминокислот и их производных в коре головного мозга крыс при его частичной ишемии / Ю.Е. Разводовский, Э.И. Троян, Е.М. Дорошенко, В.Ю. Смирнов, В.А. Переверзев, Н.Е. Максимович – Вестник Смоленской государственной медицинской академии, 2019. – Т. 18. – №. 1. – 5–9 с.
5. Bon E. Comparative Characteristics of Changes in Neuron Organelles During Two-Stage Ligation of the Common Carotid Arteries in Phylogenetically Different Sections of the Brain Cortex of Outbreed White Rats / E. Bon, Ne. Maksimovich, Sm. Zimatkin, O. Ostrovskaya, N. Kokhan – Journal of Innovations in Medical Research, 2023. – Т. 2. – №. 4. – 34-40 с.



## **ТОТАЛЬНАЯ ЦЕРЕБРАЛЬНАЯ ИШЕМИЯ ГИППОКАМПА ВЫЗЫВАЕТ ИЗМЕНЕНИЯ ПУЛА АМИНОКИСЛОТ БЕСПОРОДЫХ БЕЛЫХ КРЫС**

**Бонь Е.И.**

кандидат биологических наук, доцент кафедры патологической физиологии им. Д.А. Маслакова, учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет», г. Гродно, Беларусь  
asphodela@list.ru;

**Максимович Н.Е.**

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии им. Д.А. Маслакова учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет», г. Гродно, Беларусь  
tne@grsmu.by;

**Смирнов В.Ю.**

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет», г. Гродно, Беларусь  
vit\_sm@mail.ru;

**Дорошенко Е.М.**

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет», г. Гродно, Беларусь,  
vit\_sm@mail.ru;

**Разводовский Ю.Е.**

кандидат биологических наук, заведующий отделом государственного предприятия «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси», г. Гродно, Беларусь  
razvodovsky@tut.by;

**Кохан Н.В.**

студент, студент медико-психологического факультета учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет», г. Гродно, Беларусь  
nikita.kokhan1@gmail.com;

**Аннотация.** Гиппоксия играет важную роль в организме, отвечая за процессы обучения и памяти. Известно, что церебральная ишемия, в особенности такая тяжелая ишемия как тотальная, приводит к значительным морфофункциональным изменениям нейронов гиппокампа. Интерес

представляет и изучение пула аминокислот при данной модели церебральной ишемии.

**Ключевые слова:** тотальная одночасовая аноксия; аминокислоты; крыса; гиппокамп

## TOTAL CEREBRAL ISCHEMIA OF THE HIPPOCAMPUS CAUSES CHANGES IN THE AMINO ACID POOL IN OUTBREED WHITE RATS

**Bon E.I.**

*Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Pathological Physiology D. A. Maslakov of the educational institutions "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus  
asphodela@list.ru;*

**Maksimovich N.Ye.**

*Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pathological Physiology named after D.A. Maslakov of the educational institution "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus  
mne@grsmu.by;*

**Smirnov V.Yu.**

*Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher research laboratory of the educational institution "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus  
vit\_sm@mail.ru;*

**Doroshenko E.M.**

*Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher of the Research Laboratory of the Educational Establishment "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus,  
vit\_sm@mail.ru;*

**Razvodovsky Yu.E.**

*Candidate of Biological Sciences, Head of the Department of the State Enterprise "Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus", Grodno, Belarus  
razvodovsky@tut.by;*

**Kokhan N.V.**

*student, student of the mental health medicine faculty of the educational institution "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus  
nikita.kokhan1@gmail.com;*

**Annotation.** Hypoxia plays an important role in the body, being responsible for learning and memory processes. It is known that cerebral ischemia, especially such

*severe ischemia as total, leads to significant morphological and functional changes in hippocampal neurons. It is also of interest to study the pool of amino acids in this model of cerebral ischemia.*

**Keywords:** *total one-hour anoxia; amino acids; rat; hippocampus*

Аминокислоты (АК) играют важную роль в метаболизме и функционировании головного мозга. Это объясняется не только исключительной ролью аминокислот как источников синтеза большого числа биологически важных соединений (белков, медиаторов, липидов, биологически активных аминов). Аминокислоты и их производные участвуют в синаптической передаче в качестве нейротрансмиттеров и нейромодуляторов (глутамат, аспартат, глицин, ГАМК, таурин), а некоторые АК участвуют в образовании медиаторов нервной системы: метионин – ацетилхолин, ДОФА, дофамин; тирозин – катехоламины; серин и цистеин – таурин; триптофан – серотонин; гистидин – гистамин; L-аргинин – NO; глутаминовая кислота – глутамат [1–5].

Таким образом, представляет интерес изучение состояния аминокислотного пула при тотальной церебральной ишемии [1, 5].

Цель – оценить тотальную однокисловую аноксию и изменения пула аминокислот в гиппокампе беспородных белых крыс.

**Материалы и методы.** Эксперименты выполнены на 16 беспородных белых крысах-самцах массой  $260 \pm 20$  г с соблюдением требований Директивы Европейского парламента и Совета № 2010/63/ЕС от 22.09.2010 г. по защите животных, используемых в научных целях. целей. Моделирование проводили под внутривенным тиопенталовым наркозом (40-50 мг/кг).

Тотальную однокисловую аноксию или тотальную церебральную ишемию (ТЦИ) моделировали декапитацией животных. Забор проб головного мозга проводили через 1 час после декапитации. Контрольную группу составили ложно оперированные крысы того же пола и веса.

Метод исследования аминокислотного пула мозга.

После извлечения головного мозга брали фрагмент гиппокампа с последующим его замораживанием в жидком азоте. Подготовка пробы к исследованию включала гомогенизацию в 10-кратном объеме 0,2 М хлорной кислоты, центрифугирование в течение 15 мин при 13000 g при 4°C с последующим отбором надосадочной жидкости. Аминокислоты анализировали методом обращенно-фазовой хроматографии с предколоночной дериватизацией о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовою кислотой в Na-боратном буфере на хроматографе Agilent 1100.

Для предотвращения систематических ошибок измерения образцы головного мозга сравниваемых контрольной и опытной групп животных исследовали в одинаковых условиях.

Были получены количественные непрерывные данные. Поскольку в эксперименте использовались небольшие выборки, имеющие аномальное распределение, анализ проводили с использованием непараметрической статистики с использованием лицензионной компьютерной программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США). Данные представлены в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана, LQ – значение нижнего квартиля; UQ – это значение верхнего квартиля. Различия между группами считались достоверными при  $p=0,046$  (непараметрический критерий Геймса-Хауэлла).

**Результаты.** По сравнению с показателями в группе «контроль», в группе «ТЦИ» длительностью 1 час в гиппокампе (Гп) отмечено увеличение содержания предшественников биогенных моноаминов – ароматических АК: тирозин (40%,  $p=0,047$ , здесь и далее – медианы) и триптофан (на 23%,  $p=0,049$  соответственно).

Также в ТЦИ по сравнению с контролем содержание уровня метионина увеличилось на 27% в гиппокампе ( $p=0,056$ ). Метионин является предшественником других серосодержащих аминокислот (серина, цистатионина, цистеина). Кроме того, отмечена тенденция к повышению уровня других серосодержащих АК (цистеина, таурина), за исключением цистеинсульфиновой кислоты. При ТЦИ в гиппокампе отмечено увеличение содержания L-аргинина (на 33%,  $p=0,038$  соответственно).

Что касается группы аминокислот с разветвленной углеводородной цепью, разветвленных углеводородных аминокислот (валин, изолейцин, лейцин), то изменения ТЦИ носили разнонаправленный характер, а именно: тенденция к снижению валина на 15% в Гп ( $p=0,054$ ). Уровни остальных аминокислот с разветвленной цепью не изменились ( $p=0,057$ ).

Отношение суммы уровней разветвленных углеводородных аминокислот к сумме уровней ароматических АК в ТЦИ достоверно уменьшилось с 1,6 до 1,0 в Гп ( $p=0,039$ ).

Содержание тормозного нейромедиатора глицина в ТЦИ имело тенденцию к увеличению (на 13%,  $p=0,049$  соответственно), а уровень возбуждающих нейромедиаторов (аспартата и глутамата) не изменялся ( $p=0,058$ ).

Изменения содержания эссенциальных АК в ТЦИ: в Гп увеличилось содержание триптофана на 24% ( $p=0,047$ ).

В то же время коэффициент соотношения «Необязательная/Необходимая» АА в группе ТЦИ не изменился ( $p=0,053$ ).

**Заключение.** В гиппокампе при тотальной церебральной ишемии происходит значительное увеличение L-аргинина и глицина, на ряду с этим

наблюдается рост серосодержащей аминокислоты – метионина, а также триптофана и тирозина.

### **Список литературы**

1. Bon E. Disorders of Energy Metabolism in Neurons of the Cerebral Cortex During Cerebral Ischemia / E. Bon, Ne. Maksimovich, Sm. Karnyushko, Sm. Zimatkin, Ma. Lychkovskaya. – Biomedical Journal of Scientific & Technical Research, 2021. – Т. 40. – №. 1. – 31932-31937 с.

2. Бонь Е.И. Характеристика нарушенный прооксидантно-оксидантного баланса у крыс с ишемии головного мозга / Е.И. Бонь, Н.Е. Максимович, И.К. Дремза, М.А. Носович, К.А. Храповицкая – Ульяновский медико-технический журнал, 2022. – 97–106 с.

3. Максимович Н. Е. Головной мозг крысы и его реакция на ишемию: монография / Н.Е. Максимович, Е.И. Бонь, С.М. Зиматкин – Гродно: ГрГМУ, 2020. – 238 с.

4. Разводовский Ю. Е. Содержание аминокислот и их производных в коре головного мозга крыс при его частичной ишемии / Ю.Е. Разводовский, Э.И. Троян, Е.М. Дорошенко, В.Ю. Смирнов, В.А. Переверзев, Н.Е. Максимович – Вестник Смоленской государственной медицинской академии, 2019. – Т. 18. – №. 1. – 5–9 с.

5. Bon E. Comparative Characteristics of Changes in Neuron Organelles During Two-Stage Ligation of the Common Carotid Arteries in Phylogenetically Different Sections of the Brain Cortex of Outbred White Rats / E. Bon, Ne. Maksimovich, Sm. Zimatkin, O. Ostrovskaya, N. Kokhan – Journal of Innovations in Medical Research, 2023. – Т. 2. – №. 4. – 34-40 с.

**ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ДАФС-25 (1,5-ДИФЕНИЛ-3-СЕЛЕНПЕНТАДИОНА-1,5) И НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА НА ДЕФОРМИРУЕМОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ.**

**Бородулин Я.В.**

*научный сотрудник, лаборатории молекулярной биологии «Медико-генетического научного центра имени академика Н.П. Бочкова», г. Москва, Российская Федерация  
borodulinyv@mail.ru;*

**Бобылева Е.В.**

*кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологической химии и кафедры клинической лабораторной диагностики «Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского», г. Саратов, Российская Федерация  
elena-sgtm-70@yandex.ru;*

**Проскурнина Е.В.**

*доктор медицинских наук, доцент, главный научный сотрудник, лаборатории молекулярной биологии «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», г. Москва, Российская Федерация  
proskurnina@gmail.com*

**Аннотация.** В данной статье впервые рассматривается влияние селеноорганического соединения ДАФС-25 (1,5-дифенил-3-селенпентадиона-1,5) и наночастиц селена, полученных из данного соединения плазмохимическим и биотехнологическим методами, на морфологию эритроцитов крови белых беспородных мышей -самцов. Обнаружено изменение морфологии эритроцитов при внесении в среду препарата ДАФС-25 и его наночастиц.

**Ключевые слова:** селеноорганическое соединение; наночастицы селена; морфология эритроцитов

**INFLUENCE OF THE PREPARATION DAFS-25 (1,5-DIPHENIL-3-SELENPENTADIONE-1,5) AND SELENIUM NANOPARTICLES ON THE DEFORMABILITY OF ERYTHROCYTES IN AQUEOUS SOLUTIONS.**

**Borodulin Ya.V.**

*Researcher, Laboratory of Molecular Biology of the «Medico-Genetic Scientific Center named after Academician N.P. Bochkov», Moscow, Russian Federation  
borodulinyv@mail.ru;*

**Bobyleva E.V.**

*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Biological Chemistry and the Department of Clinical Laboratory Diagnostics of the Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russian Federation*  
*elena-sgmu-70@yandex.ru;*

**Proskurnina E.V.**

*Doctor of Medical Sciences, assistant professor, Chief Researcher, Laboratory of Molecular Biology «Academician N.P. Bochkov Medical and Genetic Research Center» of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation*  
*proskurnina@gmail.com*

**Annotatoin.** *In this article, for the first time, the effect of the organoselenium compound DAFS-25 (1,5-diphenyl-3-selenpentadione-1,5) and selenium nanoparticles obtained from this compound by plasma-chemical and biotechnological methods on the morphology of blood erythrocytes of outbred male mice is considered. A change in the morphology of erythrocytes was found when DAFS-25 and its nanoparticles were introduced into the medium.*

**Keywords:** *organoselenium compound; selenium nanoparticles; erythrocyte morphology*

Дефицит селена связывают с развитием окислительного стресса, воспалительными реакциями и онкологическими процессами, а также болезнями Keshan (кардиомиопатия) и Kashin-Beck (остеоартрит). В виде органических препаратов селен лучше усваивается живыми организмами, поэтому не исключено, что появление новых селеноорганических соединений с целью профилактики селенодефицитных состояний потребует дополнительного внимания к исследованию их биологической активности.

Известно, что сложные органические молекулы могут подвергаться биодеструкции в живых организмах до наночастиц, которые обладают большей проникающей способностью по сравнению с селеноорганическими соединениями.

Целью исследования было исследовать возможность применения селеноорганических соединений в качестве антиоксидантов и стабилизаторов клеточных мембран при развитии воспалительных реакций на примере исследования морфологии и резистентности безъядерных эукариотических клеток - эритроцитов - в присутствии препаратов селена.

**Материалы и методы.** Объектами исследования в работе являлись высокодисперсные нанопорошки, синтезированные из препарата ДАФС-25 (1,5-дифенил-3-селенпентадиона-1,5), на плазмохимическом комплексе филиала

Федерального Государственного Управления РФ «Государственный научный исследовательский институт химии и технологии элементоорганических соединений» (ФГУП РФ ГНЦ ГНИИХТЭОС г. Москва). Средний размер наночастиц колебался в пределах 40-50 нм. Бионаноконпозиты селена получены с использованием грибов-базидиомицетов [1].

Для проведения эксперимента использовались четырехмесячные беспородные самцы белых мышей массой 20-30 г. У животных производился забор крови путем декапитации. Кровь собиралась в центрифужные пластиковые пробирки со стабилизацией раствором цитрата натрия 3,8%. Экспериментальная часть работы выполнена в соответствии с протоколами Женевской конвенции и принципами надлежащей лабораторной практики [2]. С каждой концентрацией производилась инкубация 15 и 30 мин. После инкубации делали мазок крови на стекле. Морфологическое исследование эритроцитов осуществляли при помощи иммерсионной световой микроскопии при увеличении  $\times 100$ .

**Определение количества эритроцитов.** Подсчет ведется в 5 больших квадратах камеры Горяева, расположенных по диагонали, каждый из которых разделен на 16 маленьких. Количество эритроцитов в  $1\text{мм}^3$  (1 мкл) периферической крови, т.е. с учетом разведения в 200 раз, равняется  $A \times 50 \times 200 = A \times 10000$ . Практически количество эритроцитов, подсчитанное в 80 малых квадратах, умножают на 10000 [3]. Количество измененных эритроцитов подсчитывали на 8 микроскопических полях зрения, сумму клеток делили на 8 и получали среднее количество эритроцитов с различной формой. Среднее количество клеток разной формы выражали в процентах. Оценку морфологии эритроцитов проводили по классификации Новиковой И.А., [4].

Следует отметить, что соотношение субпопуляций эритроцитов в крови составляет: дискоцитов – 90-100%, эхиноцитов – 0-6%, необратимо изменённых клеток – 0-4%. Нормальный эритроцит, обычно называемый дискоцитом, представляет собой двояковогнутый диск со средним диаметром 7,2–7,9 мкм в высушенном препарате и 8,3–8,7 мкм во влажном. Площадь поверхности клетки составляет 128–160 мкм<sup>2</sup>, а объем – 76–96 мкм<sup>3</sup>. Эхиноциты – сферические клетки, на поверхности которых достаточно регулярно располагается 30-50 спикул. При этом отношение поверхности к объему остается нормальным. Стоматоциты – эритроциты в виде “спущенного мяча”. Имеют увеличенный на 20-30% объём и площадь поверхности, щелевидную форму центрального просвета. Возможно выявление стоматоцитов, как артефактов.



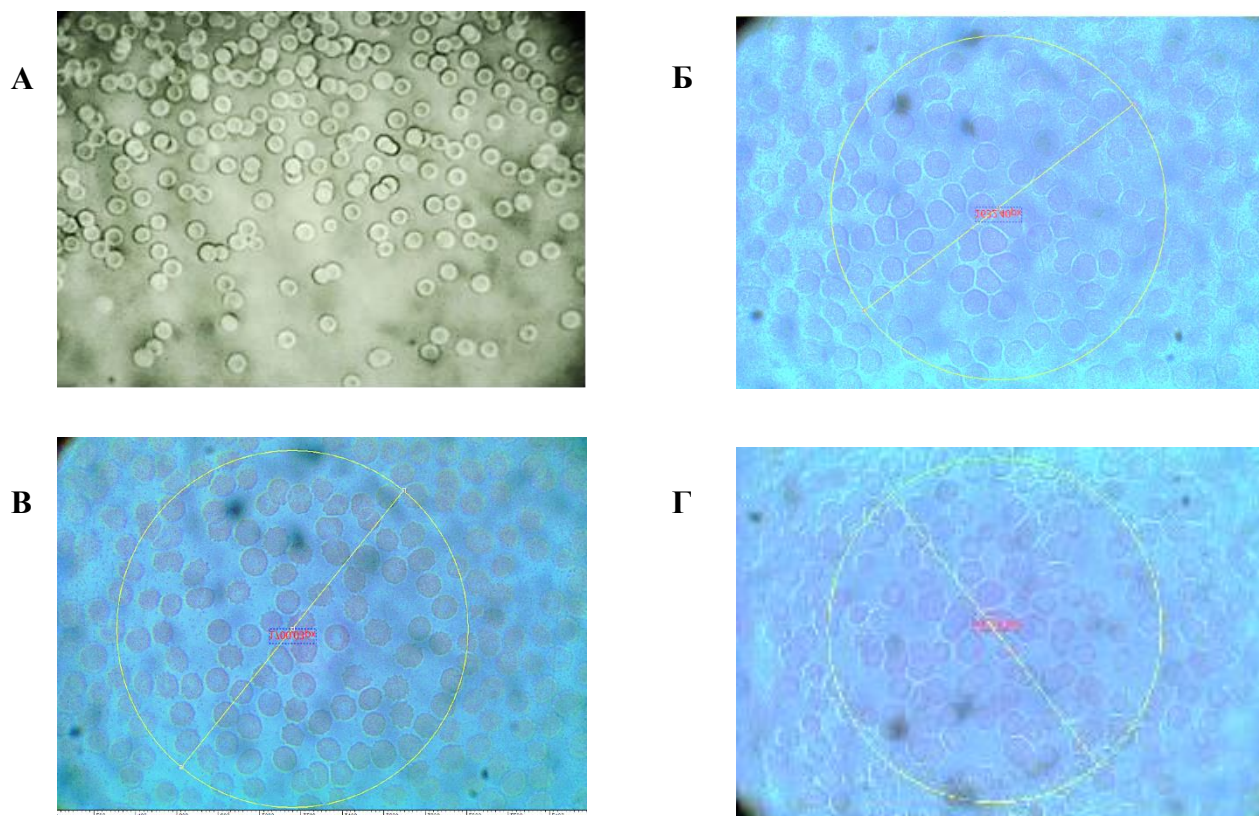


Рисунок 1 - Влияние препарата ДАФС-25 и его нанопроизводных на деформируемость эритроцитов в водных растворах. Примечание: А-контроль, Б-деформируемость эритроцитов в присутствии ДАФС-25, В-деформируемость эритроцитов в присутствии наночастиц, образованных из соединения ДАФС-25 плазмохимическим методом, Г-деформируемость эритроцитов в присутствии наночастиц, образованных из соединения ДАФС-25 биотехнологическим методом.

Таблица 1 - Деформируемость эритроцитов в присутствии ДАФС-25 и наночастиц селена

	Контроль %	ДАФС-25 50 мкг/1 мл	Наночастицы селена в концентрации 12,5 мкг/1 мл		Наночастицы селена в концентрации 25,0 мкг/1 мл		Наночастицы селена в концентрации 50,0 мкг/1 мл	
			№1*	№2*	№1*	№2*	№1*	№2*
Дискоциты	100	86	75	60	52	34	0	0
Эхиноциты	0	6	25	30	48	56	100	85
Стоматоциты	0	8	0	0	0	0	0	0

Ассоциаты	0	0	0	4	0	10	0	15
-----------	---	---	---	---	---	----	---	----

Примечание: (\*) № 1- Плазмохимический метод, № 2- Биотехнологический метод  
№1 – наночастицы, полученные плазмохимическим способом, №2 – наночастицы, полученные биотехнологическим способом.

### **Заключение.**

1. Наименьшая деформируемость эритроцитов обнаруживается при внесении в раствор крови препарата ДАФС-25.
2. При внесении в раствор наночастиц селена, образованных плазмохимическим способом, появляются эритроциты с изменённой поверхностью в виде шиповатых отростков.
3. При внесении в раствор наночастиц селена, образованных биотехнологическим способом, появляются ассоциаты эритроцитов, что, по всей видимости, связано с присутствием полисахарида в суспензии наночастиц.

### **Список литературы**

1. Патент № RU 2700267 С2 РФ, положительное решение о выдаче патента от 19.04.2019, «Способ получения бионаноккомпозитов селена», Цвилева О.М., Кофтин О.В., Бородулин В.Б., Свистунов А.А., Бородулина Е.В., Саратцев А.В., Бородулин Я.В.
2. [Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200075972/> - дата доступа 22.08.2023].
3. Зупанец И.А. и др., 2005;
4. [Режим доступа: [www.clinlab.info/Hemocytology/](http://www.clinlab.info/Hemocytology/) - дата доступа 15.08.2023].

**МОДЕЛИРОВАНИЕ РАДИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ  
ПРЕПАРАТА ДАФС-25 (1,5-ДИФЕНИЛ-3-СЕЛЕНПЕНТАДИОНА-1,5) И  
НАНОЧАСТИЦ СЕЛЕНА**

**Бородулин Я.В.**

*научный сотрудник, лаборатории молекулярной биологии «Медико-генетического научного центра имени академика Н.П. Бочкова», г. Москва, Российская Федерация  
borodulinyv@mail.ru;*

**Бобылева Е.В.**

*кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологической химии и кафедры клинической лабораторной диагностики «Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского», г. Саратов, Российская Федерация  
elena-sgmi-70@yandex.ru;*

**Проскурнина Е.В.**

*доктор медицинских наук, доцент, главный научный сотрудник, лаборатории молекулярной биологии «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», г. Москва, Российская Федерация  
proskurnina@gmail.com*

**Аннотация.** В данной статье впервые рассматриваются радиопротекторные свойства селеноорганического соединения ДАФС-25 (1,5-дифенил-3-селенпентадиона-1,5) и наночастиц селена, полученных из данного соединения плазмохимическим методом, в модельном эксперименте с использованием в качестве генератора радикалов гидроксила реакции Фентона и тест – системы в виде эритроцитов крови белых беспородных мышей -самцов. Обнаружены радиопротекторные свойства препарата ДАФС-25 и его наночастиц.

**Ключевые слова:** селеноорганическое соединение; реакция Фентона; наночастицы селена; эритроциты

**MODELING OF THE RADIOPROTECTIVE EFFECT OF THE DRUG DAFS-25 (1,5-DIPHENYL-3-SELENPENTADIONE-1,5) AND SELENIUM NANOPARTICLES**

**Borodulin Ya. V.**

*Researcher, Laboratory of Molecular Biology of the «Medico-Genetic Scientific Center named after Academician N.P. Bochkov», Moscow, Russian Federation  
borodulinyv@mail.ru;*

**Bobyleva E.V.**

*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Biological Chemistry and the Department of Clinical Laboratory Diagnostics of the Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russian Federation*  
*elena-sgmu-70@yandex.ru;*

**Proskurnina E.V.**

*Doctor of Medical Sciences, assistant professor, Chief Researcher, Laboratory of Molecular Biology «Academician N.P. Bochkov Medical and Genetic Research Center» of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation*  
*proskurnina@gmail.com*

**Annotation.** *In this article, for the first time, the radioprotective properties of the organoselenium compound DAPS-25 (1,5-diphenyl-3-selenpentadion-1,5) and selenium nanoparticles obtained from this compound by plasmochemical method are considered in a model experiment using the Fenton reaction as a hydroxyl radical generator and a test system in the form of blood erythrocytes of white mongrel male mice. The radioprotective properties of the drug DAFS-25 and its nanoparticles were discovered.*

**Keywords:** *organic selenium compound; Fenton reaction; selenium nanoparticles; erythrocytes*

Исследованию селеноорганических препаратов посвящены многочисленные обзоры и научные работы [1,2]. Изучено ранее участие селена в окислительно-восстановительном гомеостазе живых систем, в том числе в защите клеток от окислительного стресса [3].

Снижение уровня селена в сыворотке крови является характерной реакцией организма на облучение. Окислительный стресс, вызванный облучением, можно уменьшить, используя селенсодержащие БАД, которые восстанавливают нормальное распределение селена в организме и в тканях облученных. Ранее проведена серия экспериментов, показавших эффективное действие селена при селенодифиците и опухолевых заболеваниях [4]. Однако, до недавнего времени в литературе отсутствовали данные о влиянии различных соединений селена на устойчивость к воздействию ионизирующей радиации и защите тканей при возникновении радиационно-индуцированных опухолей.

Известно, что действие радиации на биологические объекты приводит к радиолизу молекул воды, в том числе, на гидроксильный радикал,  $\text{OH}\cdot$ , протон,  $\text{H}^+$ , и сольватированный электрон или на радикал гидроксила,  $\text{OH}\cdot$ , и радикал атома водорода,  $\text{H}\cdot$  ( $\text{H}_2\text{O} = \text{H}\cdot + \text{OH}\cdot$ ). Хорошо известно, что биологические организмы на 70% состоят из воды. Системой, моделирующей подобные процессы может быть реакция Фентона ( $\text{Fe}^{+2} + \text{H}_2\text{O}_2 = \text{Fe}^{+3} + \text{OH}\cdot + \text{OH}\cdot$ ), которая

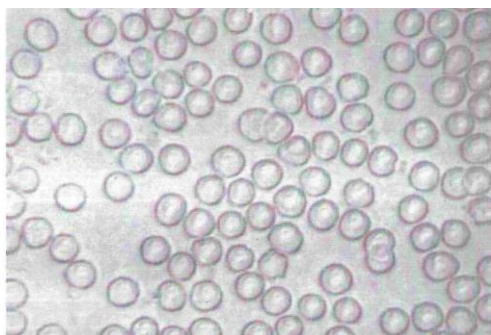
протекает с образованием гидроксид – иона и радикала гидроксила, являющегося на сегодняшний день самым сильным мутагеном из известных радикальных частиц.

Цель исследования - в модельных исследованиях выявить радиопротекторное действие соединения ДАФС-25.

**Материалы и методы.** Объектами исследования в работе являлись высокодисперсные нанопорошки, синтезированные из препарата ДАФС-25 (1,5-дифенил-3-селенпентадиона-1,5), на плазмохимическом комплексе филиала Федерального Государственного Управления РФ «Государственный научный исследовательский институт химии и технологии элементоорганических соединений» (ФГУП РФ ГНЦ ГНИИХТЭОС г. Москва). Средний размер наночастиц колебался в пределах 40-50 нм.

Для проведения эксперимента использовались четырехмесячные беспородные самцы белых мышей массой 20-30 г. У животных производился забор крови путём декапитации. Кровь собиралась в центрифужные пластиковые пробирки со стабилизацией раствором цитрата натрия 3,8%. Экспериментальная часть работы выполнена в соответствии с протоколами Женевской конвенции и принципами надлежащей лабораторной практики [5]. Оценку морфологии эритроцитов проводили по классификации Новиковой И.А., [6].

**Результаты.** Представленные результаты показали, что селеноорганическое соединение ДАФС-25 может являться радиопротектором при действии «модельной радиации» на организм, что создает определенную перспективу для использования данного соединения в качестве радиопротектора. Наночастицы, образованные из ДАФС-25 плазмохимическим методом, также обладали радиопротекторным действием, хотя оно оказалось несколько ниже по сравнению с препаратом ДАФС-25 (данные представлены на рис. 1-4).



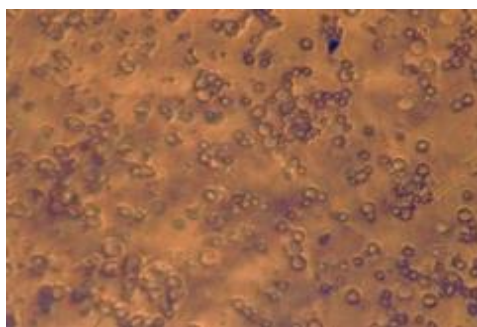
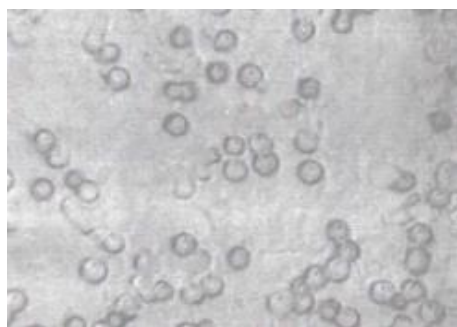
**А**



**Б**

Рисунок 1 – Контрольная фотография эритроцитов: А – увеличение \*90, Б – увеличение \*40

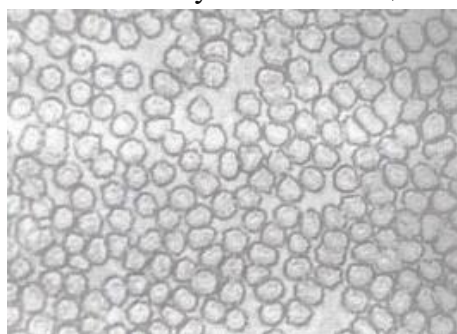




**В**

**Г**

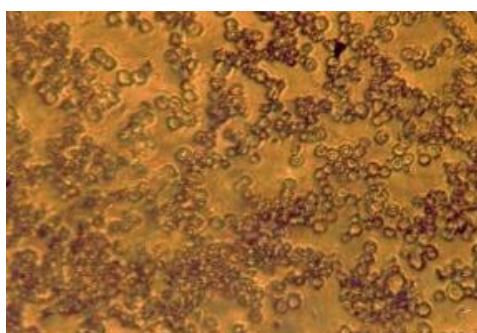
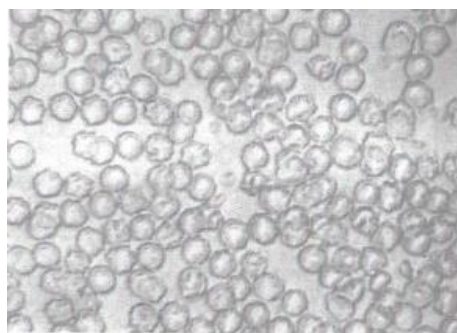
Рисунок 2 – Реакция Фентона: В – увеличение \*90, Г – увеличение \*40



**Д**

**Е**

Рисунок 3 – Реакция Фентона в присутствии ДАФС-25: Д – увеличение \*90, Е – увеличение \*40



**Ж**

**З**

Рисунок 4 – Реакция Фентона в присутствии наночастиц селена, синтезированных плазмохимическим способом из соединения ДАФС-25: Ж – увеличение \*90, З – увеличение \*4

Таблица 1 - Деформируемость и разрушение эритроцитов при проведении реакции Фентона в присутствии препарата ДАФС-25 и наночастиц, полученных плазмохимическим способом

	Контроль %	Реакция Фентона	ДАФС-25 12,5 мкг/1 мл	Наночастицы селена, полученные плазмохимическим методом 12,5 мкг/1 мл
Нормоциты (Дискоциты)	100	5	70	50
Деформированные эритроциты	0	0	30	40
Разрушенные эритроциты	0	75	0	10
Ассоциаты	0	20	0	13

В норме соотношение субпопуляций эритроцитов в крови составляет: дискоцитов – 90-100%, необратимо измененных клеток – 0-4%.

### Список литературы

1. Amit Khurana, Sravani Tekula, Mohd Aslam Saifi, Pooladanda Venkatesh. Chandraiah Godugu Therapeutic applications of selenium nanoparticles Biomedicine and Pharmacotherapy. 2019;111;802–812.;
2. Amini SM. Preparation of antimicrobial metallic nanoparticles with bioactive compounds. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2019 Oct;103.;
3. Brigelius-Flohé R, Maiorino M. Glutathione peroxidases. Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj. 2013;1830;3289–3303.;
4. Dennert G, Zwahlen M, Brinkman M, Vinceti M, Zeegers MP, Horneber M. Selenium for preventing cancer. Cochrane Database Syst. Rev. 2012;5; CD005195. [Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200075972/> - дата доступа 22.08.2023].
5. [Режим доступа: [www.clinlab.info/Hemocytology/](http://www.clinlab.info/Hemocytology/) - дата доступа 15.08.2023].

**МОДУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКОВ-ИНГИБИТОРОВ АПОПТОЗА  
КАК СПОСОБ ПРЕОДОЛЕНИЯ МНОЖЕСТВЕННОЙ  
ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ РАКОВЫХ КЛЕТОК**

**Волченкова У.В.**

*студентка лечебного факультета учреждения образования «Белорусский  
государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь  
volchyana@gmail.com*

**Дембский В.В.**

*студент лечебного факультета учреждения образования «Белорусский  
государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь  
vladdembski@yandex.by*

**Принькова Т.Ю.**

*кандидат биологических наук, доцент кафедры биологической химии  
учреждения образования «Белорусский государственный медицинский  
университет», г. Минск, Беларусь  
tatiana.prinkova@gmail.com*

***Аннотация.** С использованием различных биоинформатических платформ и программ была изучена множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) раковых клеток, а также механизмы ее формирования. В качестве потенциальной мишени для таргетной терапии МЛУ был выбран белок сурвивин и его белки-регуляторы, в частности гистоновая деацетилаза HDAC1. Подобраны потенциальные молекулы-ингибиторы белка HDAC1.*

***Ключевые слова:** апоптоз; множественная лекарственная устойчивость (МЛУ); рак; сурвивин; HDAC1*

**MODULATION OF THE EXPRESSION OF APOPTOSIS INHIBITOR  
PROTEINS AS A WAY TO OVERCOME THE MULTIDRUG RESISTANCE  
OF CANCER CELLS**

**Volchenkova U.V.**

*Student of the medical faculty of the Educational Institution  
«Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus  
volchyana@gmail.com*

**Dembski V.V.**

*Student of the medical faculty of the Educational Institution  
«Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus  
vladdembski@yandex.by*



**Prinkova T.Yu.**

*Candidate of Biology, Associate Professor of the Department of Biological Chemistry of the Educational Institution «Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus  
tatiana.prinkova@gmail.com*

**Annotation.** *Using various bioinformatic platforms and programs, the multidrug resistance (MDR) of cancer cells, as well as the mechanisms of its formation, were studied. Survivin protein and its regulatory proteins, in particular histone deacetylase HDAC1, were selected as the potential targets for therapy of MDR. Potential HDAC1 protein inhibitor molecules have been identified.*

**Keywords:** *apoptosis; multidrug resistance (MDR); cancer; survivin; HDAC1*

Ежегодно онкологические заболевания становятся причиной около 10 млн летальных исходов, являясь одной из ведущих причин смерти в мире. В настоящее время в медицинской практике для лечения пациентов онкологического профиля применяются различные хирургические вмешательства, гормональная и генная терапия, иммуно-, радио- и лазеротерапия, а также комбинированные подходы. Однако химиотерапия остается самым популярным и перспективным терапевтическим методом. Несмотря на прорывы в области противораковой терапии, классические и современные препараты для лечения онкологических пациентов в ряде случаев оказываются неэффективными или же малоэффективными из-за приобретения клетками злокачественных опухолей множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), что приводит к рецидиву опухолей и летальному исходу [1]. Лекарственная устойчивость раковых клеток была отмечена практически ко всем группам химиопрепаратов, используемых при лечении наиболее агрессивных онкологических заболеваний [2]. В частности, сложности, связанные с МЛУ, часто встречаются при лечении пациентов с раком молочной железы, легких, предстательной железы, а также с колоректальным раком [3].

Одним из факторов, обеспечивающих МЛУ, является нарушение регуляции апоптоза. Повышенная устойчивость к апоптозу, приобретаемая раковыми клетками, представляет особую важность, поскольку в большинстве случаев главной целью терапии онкологических заболеваний является индукция клеточной гибели посредством апоптоза [2]. Среди белков, задействованных в реализации данного механизма, – белки внутреннего пути запуска апоптоза, включая суперсемейства белков Bcl-2 и белки-ингибиторы апоптоза (Inhibitors of Apoptosis, IAPs), а также регуляторы их экспрессии и функциональной активности (Рис. 1).

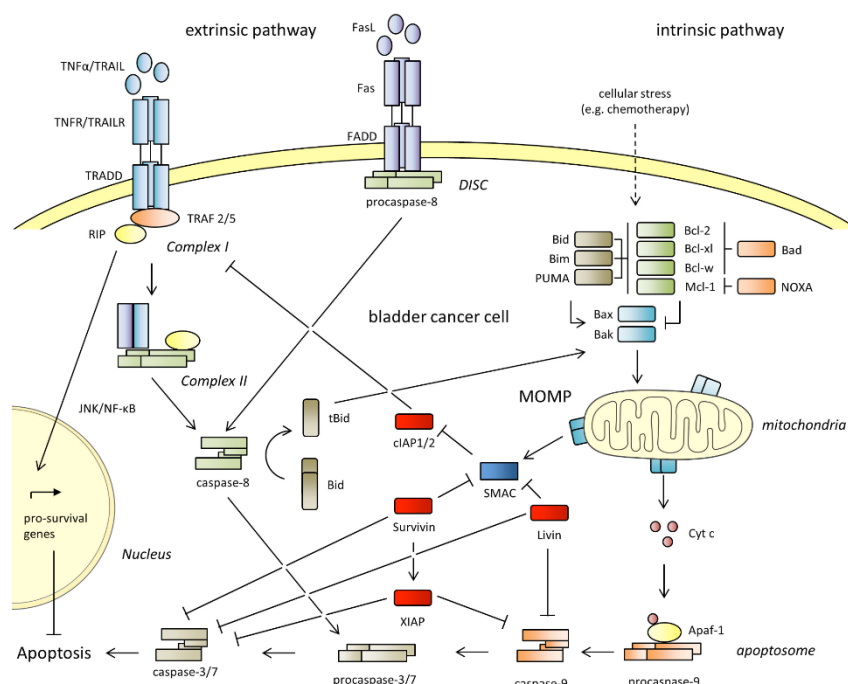


Рисунок 1 – Схема механизмов запуска апоптоза.

Учитывая негативное влияние МЛУ на исход лечения пациентов с онкологическими заболеваниями и преимущества разработки и применения методов, позволяющих преодолеть МЛУ, актуальным является изучение механизмов, лежащих в основе МЛУ, и новых способов подавления этой способности раковых клеток.

Целью исследования изучить апоптоз и роль нарушения его регуляции в развитии МЛУ у раковых клеток, найти потенциальные мишени и сформировать стратегии ингибирования избегания апоптоза для преодоления МЛУ.

**Материалы и методы.** Для сбора информации использовали: данные научных исследований множественной лекарственной устойчивости, базы данных ChEMBL, PDB и NCBI, научные статьи на соответствующую тематику. Визуализация взаимодействия белков и их регуляторов получена с использованием биоинформатической платформы Cytoscape с расширением GeneMania, а также онлайн-версии GeneMania. Молекулярный докинг проводили в программах AutoDoc Vina, DeepSite, Kdeep, PlexDoc, AceDock. Моделирование структуры молекул-лигандов производили с помощью алгоритма Rocket2Mol, использующего графические нейронные сети. Также использовали генератор химических графов Surge.

**Результаты.** В ходе изучения научных статей, посвященных проблеме МЛУ у раковых клеток, было обнаружено, что повышенная экспрессия белков суперсемейства IAPs наиболее часто коррелирует с резистентностью к химиотерапии [1]. Это связано с тем, что IAPs способны связывать и ингибировать каспазы, «выключая» внутренний и внешний пути активации

апоптоза. В частности, к данному суперсемейству относятся такие белки, как сурвивин (Survivin), XIAP, с-IAP1, с-IAP2, BRUCE/Apollon, NAIP, ILP-2 и Livin.

В качестве цели для разрабатываемого препарата был выбран сурвивин, так как, согласно данным научных исследований, его повышенная экспрессия в раковых клетках не только запускает пути избегания апоптоза, но и обеспечивает активацию путей «выживания» клетки [3]. Кроме того, лабораторные и клинические испытания находящихся в разработке веществ, препятствующих функционированию сурвивина, оказались довольно успешны, хотя имеющиеся стратегии не лишены определенных недостатков [1, 2, 3].

Среди белков-регуляторов синтеза сурвивина была выбрана гистоновая деацетилаза 1 (HDAC1), так как замечено, что ингибиторы различных классов HDAC нормализуют профиль ацетилирования гистонов, проявляют выраженный противораковый и антипролиферативный эффект, снижая экспрессию IAPs (Рис. 2).

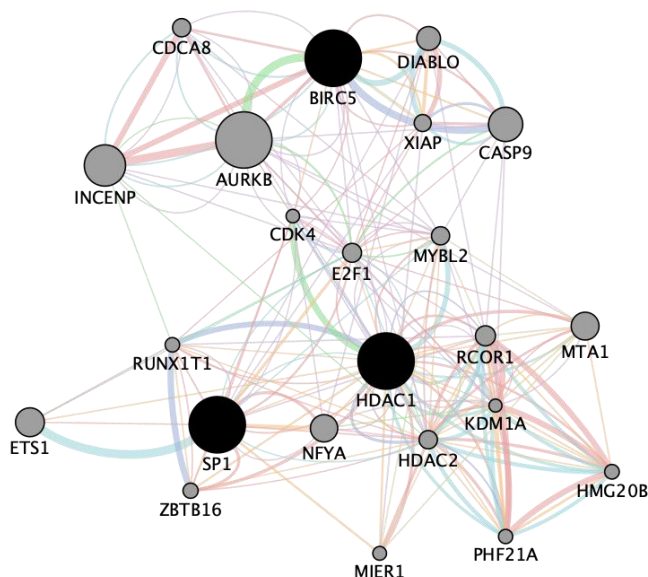


Рисунок 2 – Визуализация взаимодействий сурвивина и некоторых его регуляторов (Cytoscape)

При помощи веб-приложения DeepSite были найдены сайты связывания потенциальных ингибиторов с HDAC1, на основании чего с использованием алгоритма Rocket2Mol были сгенерированы молекулы, способные связываться с HDAC1 в предсказанном участке и ингибировать его активность. Далее был проведен молекулярный докинг для молекулы белка HDAC1 и потенциальных молекул-ингибиторов с целью выявления потенциального препарата, обладающего наибольшей аффинностью (Docking Score) к целевому белку. Таким образом, были выбрана молекула пиримидина с молекулярной формулой  $C_{23}H_{28}N_4O_4$  (Рис. 3).

Таким образом, полученное потенциальное лекарственное вещество в перспективе можно использовать в качестве вспомогательного средства (элемент комбинированной химиотерапии злокачественных опухолей). Препарат потенциально способен снизить вероятность развития МЛУ и, следовательно, повысить эффективность химиотерапии. В качестве наиболее эффективного способа доставки вещества в раковые клетки перспективным кажется использование липосом, поскольку это позволит повысить специфичность действия лекарственного средства, а также предотвратит его структурные изменения при контакте с другими веществами.

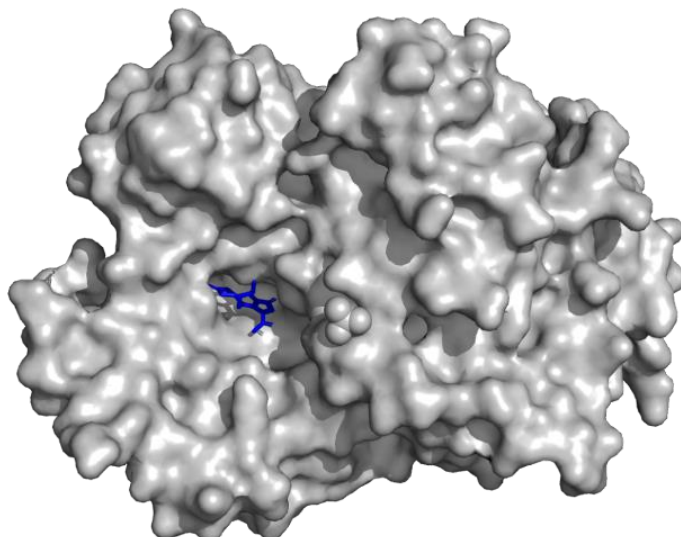


Рисунок 3 – Визуализация взаимодействия HDAC1 и потенциального ингибитора  $C_{23}H_{28}N_4O_4$ .

### **Заключение.**

1. Нарушение регуляции апоптоза является одним из центральных механизмов формирования МЛЮ у раковых клеток.
2. Сурвивин, а также регуляторы его экспрессии (в частности, HDAC1), – перспективные цели для разработки таргетной терапии МЛЮ.
3. На основании этого с помощью методов биоинформатики были подобраны молекулы, ингибирующие HDAC1 и способствующие подавлению экспрессии сурвивина, приводя к индукции апоптоза в раковых клетках с МЛЮ.

### **Список литературы**

4. Arnt, C. The saintly side of Smac/DIABLO: giving anticancer drug-induced apoptosis a boost / C. Arnt, S. Kaufmann // Cell Death Differ. – 2003. – Vol. 10. – P. 1118-1120.
5. Choi, E. A248, a novel synthetic HDAC inhibitor, induces apoptosis through the inhibition of specificity protein 1 and its downstream proteins in human prostate cancer cells / E. S. Choi, H. Gyoonee, H. Song-Kyu // Molecular Medicine Reports. – 2013. – Vol. 8. – P. 195-200.
6. Liston, P. The inhibitors of apoptosis: there is more to life than Bcl2 / P. Liston, W. G. Fong, R. G. Korneluk // Oncogene. – 2003. – Vol. 22, № 53. – P. 85-100.

## МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИОННОЙ СИЛЫ РАСТВОРА НА ПЛАВЛЕНИЕ ДНК

**Галюк Е.Н.**

кандидат химических наук, ведущий лаборант кафедры биоорганической химии  
учреждения образования «Белорусский государственный университет»,  
г. Минск, Беларусь  
elenagalyuk5@gmail.com

**Ринейская О.Н.**

кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой биоорганической  
химии учреждения образования «Белорусский государственный университет»,  
г. Минск, Беларусь  
ryneiskaya@mail.ru

**Аннотация.** В данной статье исследуется влияние ионной силы раствора на особенности плавления ДНК и изменение тонкой структуры кривых плавления с помощью разработанного ранее метода математической обработки дифференциальных кривых плавления ДНК.

**Ключевые слова:** ДНК; дифференциальные кривые плавления; математическое моделирование; тонкая структура; ионная сила раствора

## MATHEMATICAL PROCESSING OF THE SOLUTION IONIC STRENGTH INFLUENCE ON DNA MELTING

**Galyuk E.N.**

Candidate of Chemistry, leading laboratory assistant of the Department of  
Bioorganic Chemistry of the Educational Institution "Belarusian State University",  
Minsk, Belarus  
elenagalyuk5@gmail.com

**Ryneiskaya O.N.**

Candidate of Medical sciences, Associated Professor, the Head of the Department of  
Bioorganic Chemistry of the Educational Institution "Belarusian State University",  
Minsk, Belarus  
ryneiskaya@mail.ru

**Annotation.** The article deals with investigation of ionic strength influence on DNA melting and changes of fine structure of melting curves by using of previously developed mathematical processing of DNAs differential melting curves.

**Key words:** DNA; differential melting curves; mathematical processing; fine structure; ionic strength

Многие лекарственные средства осуществляют свое биологическое действие путем сильного координационного или электростатического связывания с ДНК. Примерами могут служить противоопухолевые соединения платины, такие как цисплатин, карбоплатин и олигоплатин, образующие ковалентные связи с ДНК. Поэтому важно понимать воздействие внешних условий, в частности, состава среды, при связывании таких соединений с ДНК. Для этих целей используют плавление ДНК при различных ионных силах.

Метод дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) широко используется для исследования как нативной ДНК, так и ее комплексов с различными соединениями. В результате его использования получают термограмму - дифференциальную кривую плавления (ДКП), температурную зависимость дополнительной мощности нагревателя ячейки с образцом относительно нагревателя ячейки сравнения с растворителем. На термограмме ДНК выявляется широкий основной пик и следующие за ним 4 пика тонкой структуры, соответствующей плавлению сателлитных ДНК, которые в основном находятся в центромерах хромосом [1]. Нами был разработан метод первичной математической обработки ДСК кривых, позволяющий четко выявлять особенности тонкой структуры ДКП [2]. Для этого использовалась вторая производная ДКП с последующим ее сглаживанием путем аппроксимации  $p$  последовательных точек полиномом степени  $n$ , используя метод наименьших квадратов, и смещения центральной точки. Изменяя степень полинома, число точек, по которым проводится сглаживание, число повторных сглаживаний, можно варьировать степень сглаживания. Чем сильнее сглаживание, тем больше вероятность избавиться от высокочастотных шумов. Однако при слишком сильном сглаживании происходит искажение полезного сигнала [2].

С помощью этого метода мы исследовали влияние ионной силы раствора на характер плавления ДНК.

**Материалы и методы.** В данной работе использовали ДНК из тимуса теленка (Sigma-Aldrich). Дифференциальные кривые плавления ДНК получали с помощью сканирующего нано-калориметра CSC 6300 (Nano-Differential Scanning Calorimeter III (model CSC 6300)). Плавление ДНК проводили в растворах, содержащих NaCl, 0,001M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0,01M NaClO<sub>4</sub>, 5·10<sup>-5</sup>M EDTA при общей концентрации ионов натрия, равной 0,01, 0,03, 0,06, 0,11 и 0,21M, pH ~7. Концентрация ДНК составляла 0,7 мг/мл. Переход спираль-клубок ДНК вызывает появление пика в области 63-90°C.

На рисунке 1А представлены термограммы и их отрицательные вторые производные для ДНК из тимуса теленка, зарегистрированные при различных концентрациях ионов Na<sup>+</sup> от 0,01 до 0,21 M. Из рисунка видно, что при увеличении [Na<sup>+</sup>] термостабильность ДНК растет. Кроме того, при снижении

ионной силы ухудшается разрешение тонкой структуры кривой плавления ДНК. В целом изменение формы (тонкой структуры) калориметрических кривых гораздо лучше видно на кривых отрицательных вторых производных (рисунок 1В). Четыре пика, соответствующих сателлитным ДНК, разрешены гораздо лучше, и хорошо видна специфика их изменения при уменьшении ионной силы раствора.

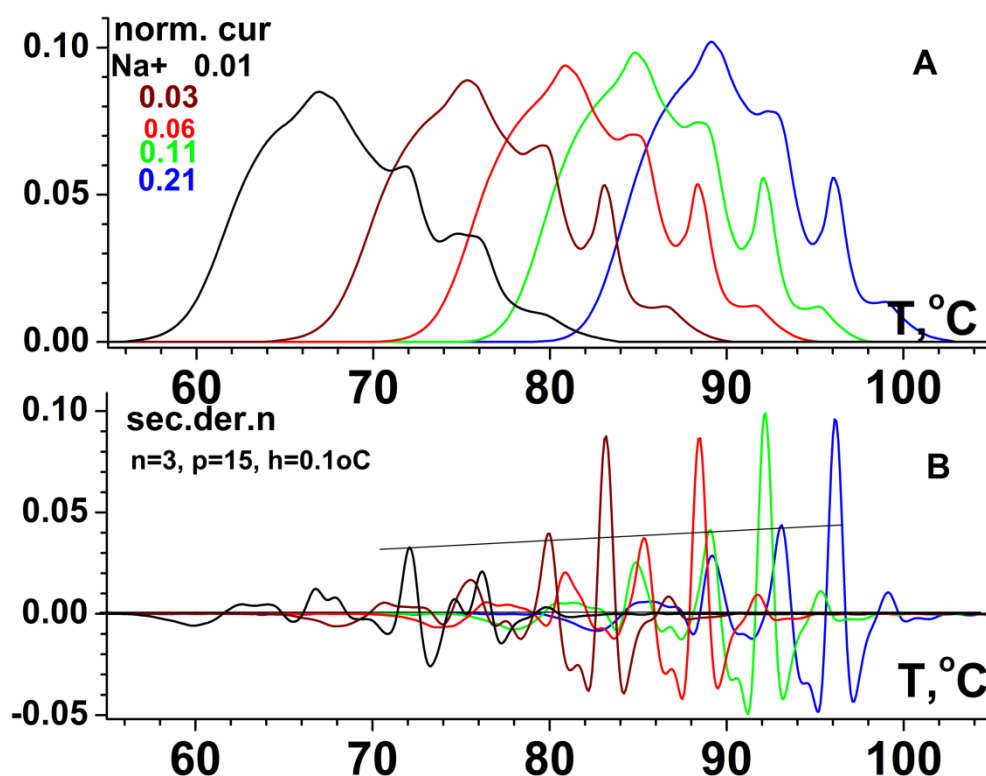


Рисунок 1 - Калориметрические кривые (А) и их отрицательные вторые производные (В) для ДНК из тимуса теленка, полученные при различных ионных силах, указанных на рисунке

Чтобы изучить относительное изменение положения пиков и их формы, следует сдвинуть кривые таким образом, чтобы один из четырех пиков совпадал по положению. Рисунок 1В позволяет выбрать такой пик. На кривых отрицательной второй производной пик 3 является самым высоким. Однако он не подходит в качестве пика совмещения, поскольку при снижении  $[Na^+]$  от 0,03 до 0,01 М происходит резкое изменение его формы, вызванное его разделением на 2 составляющие. Вторым по высоте пик 2 является более устойчивым по форме к изменению ионной силы раствора. Поэтому он подходит для совмещения всех кривых по его положению. За точку совмещения примем положение пика 2 ( $T_{max2}$ ) при концентрации ионов  $Na^+$ , равной 0,01 М.



На рисунке 2 представлены смещенные кривые отрицательной второй производной. Становятся очевидными изменения отдельных пиков и формы кривой плавления в целом. При снижении ионной силы все пики становятся ниже. Однако резкое уменьшение амплитуды и изменение формы некоторых из них происходит при изменении концентрации  $\text{Na}^+$  от 0,03 до 0,01 М: Пики 1 и 3 раздваиваются, а пик 4 резко уменьшает амплитуду. Полный интервал плавления возрастает примерно на  $4^\circ\text{C}$  при изменении  $[\text{Na}^+]$  от 0,21 до 0,01 М. Ширина температурного интервала плавления ( $\Delta T$ ), измеренная как удвоенная разность температур  $T_{0,75} - T_{0,25}$ , соответствующих степеням денатурации  $\vartheta$ , равным 0,75 и 0,25, равна  $11,4$  и  $13,8^\circ\text{C}$  при 0,21 М и при 0,01 М. Две максимально удаленные характерные точки на кривой второй отрицательной производной - это первый (низкотемпературный) минимум и пик 4. Расстояние между ними при 0,21 М и при 0,01 М соответственно равно  $16,48$  и  $20,0^\circ\text{C}$ .

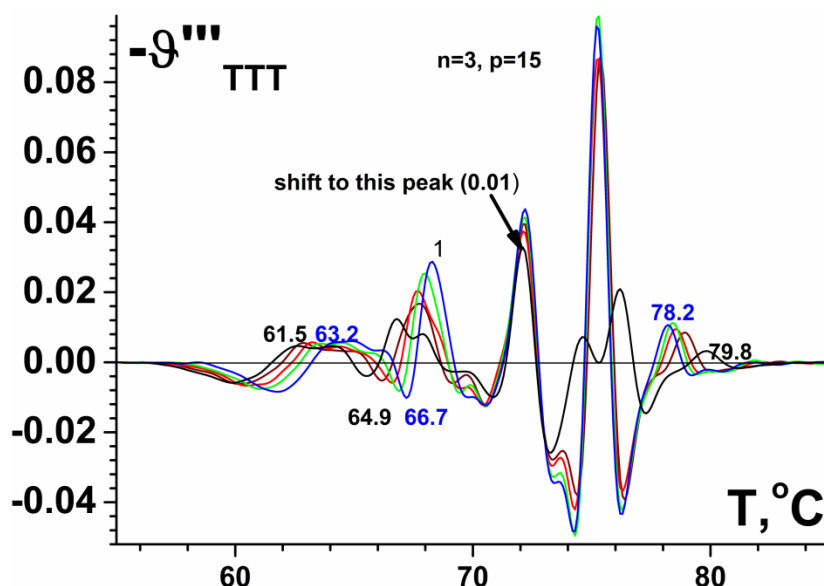


Рисунок 2 - Кривые, представленные на рисунке 1В, после их смещения по температурной шкале на величину, указанную в Таблице 1.  $n=3, p=15$

Таблица 1 - Исходное положение пика 2 и величина смещения его отрицательных вторых производных при различных режимах сглаживания

$[\text{Na}^+]$ , М	0,01	0,03	0,06	0,11	0,21
$T_{\text{max}2}$ ( $n=3, p=15$ )	72,11	79,94	85,33	89,09	93,10
Температурный сдвиг, $^\circ\text{C}$	0	-7,83	-13,22	-16,98	-20,89
$T_{\text{max}2}$	71,92	79,81	85,15	88,88	92,90

(n=3, p=31)					
Температурный сдвиг, °С	0	-7,89	-13,23	-16,96	-20,98
$T_{\max 2}$ (n=3, p=21)	71,90	79,76	85,08	88,78	92,86
Температурный сдвиг, °С	0	-7,86	-13,18	-16,88	-20,96

На рисунке 3 представлены результаты расчета вторых отрицательных производных при более сильном режиме сглаживания ( $n=2, p=21$ ). Исчезают многие детали, проявляющиеся при слабом сглаживании. Поэтому эффекты ионной силы проявляются более простым образом. Вместе с тем, как следует из таблицы 1, усиление сглаживания не искажает положений пиков и других характерных точек. Однако, как следует из сравнения рисунков 2 и 3, этот режим ( $n=2, p=21$ ) имеет недостаток. Он немного уменьшает значение минимума и максимума в части кривой, соответствующей главному пику.

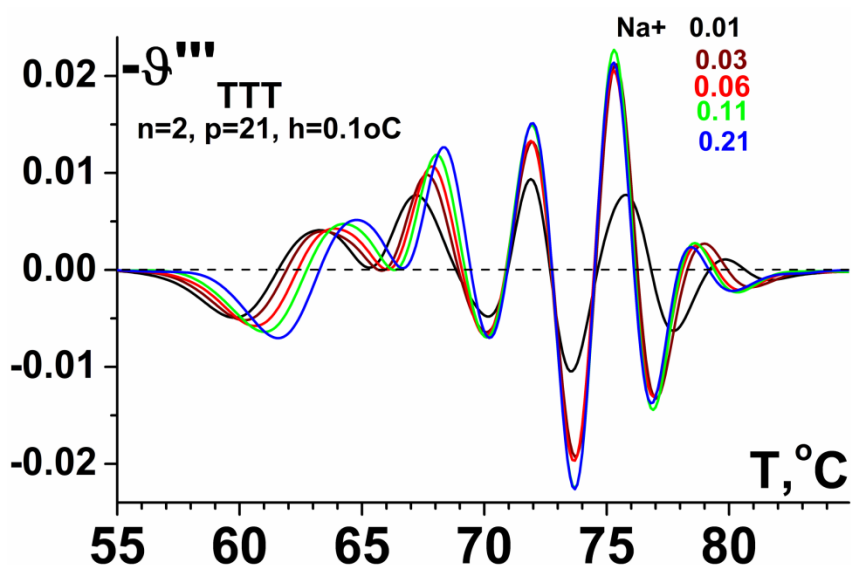


Рисунок 3 - Кривые смещенных отрицательных вторых производных, представленные на рисунке 2, при более сильном сглаживании ( $n=2, p=21$ )

Таким образом, проведенное исследование позволяет избирательно выявить изменения, затрагивающие различные участки ДНК. Это актуально при изучении механизмов связывания ДНК с противоопухолевыми соединениями платины. Наши исследования показали, что в ходе взаимодействия ДНК с цисплатином наблюдается исчезновение сателлитных пиков [1].

### Список литературы

1. Lando, D.Y. Cisplatin and transplatin selectively destroy melting peaks of centromeric DNA / D.Y. Lando, Chun-Ling Chang, A.S. Fridman, E. Süleymanoğlu, E.N. Galyuk, Chin-Kun Hu //Международная научная конференция “Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем” и XI съезд Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков: сб. статей. - Мн., 2014. - С. 169-171.

2. Галюк, Е.Н. Первичная математическая обработка кривых плавления комплексов ДНК с противоопухолевым препаратом цисплатин и его неактивным аналогом трансплатином, полученных методом дифференциальной сканирующей калориметрии / Е.Н. Галюк, О.Н. Ринейская // Сб. материалов Международной научной конференции «Современные проблемы медицинской биохимии». – БГМУ. -25.01.2022. – Минск, Беларусь. – С. 50-55.

## ВЫСВОБОЖДЕНИЕ ПРОПРАНОЛОЛА IN VITRO ИЗ МЯГКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ

**Голяк Н. С.**

*Кандидат фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой  
фармацевтической технологии Белорусского государственного медицинского  
университета, г. Минск, Беларусь  
goliakns@mail.ru*

**Шантар Н. Н.**

*Акушер-гинеколог РНПЦ «Мать и Дитя», г. Минск, Беларусь  
nataliash711@gmail.com*

**Аннотация.** Целью исследования явилось изучение влияния вспомогательных веществ и технологии изготовления на высвобождение пропранолола из мягких лекарственных форм в опытах *in vitro*. Установлено, что мазь на гидрофобной основе (вазелине) и мазь на абсорбционной основе (вазелин: ланолин безводный 9:1) обеспечивают низкий процент высвобождения пропранолола гидрохлорида всего около 10 % за 6 часов. Для крема и геля этот показатель составляет 70% и 90 %. Таким образом, лучшим из четырех исследованных составов является гель на основе гидроксиэтилцеллюлозы в концентрации 1,5 % (м/м), содержащий 25 % пропиленгликоля.

**Ключевые слова:** пропранолол; равновесный диализ; гель; крем; мазь; высвобождение *in vitro*

## IN VITRO PROPRANOLOL RELEASE FROM SOFT DOSAGE FORMS

**Golyak N. S.**

*Ph.D. in Pharmacy, Head of Pharmaceutical Technology Department of  
Belarusian State Medical University, Minsk  
goliakns@mail.ru*

**Shantar N.M.**

*obstetrician-gynecologist  
Republican scientific and practical center "Mother and Child", Minsk  
nataliash711@gmail.com*

**Annotation.** The research objective was to study home remedies and technologies for the production of propranolol from soft dosage forms in *in vitro* experiments. It was found that a hydrophobic ointment (Vaseline) and an absorption-based ointment (Vaseline: Lanolin Anhydrous 9:1) provide a low release rate of propranolol hydrochloride of only about 10% in 6 hours. For cream and gel this figure

is 70% and 90%. Thus, the best of the four formulations tested was a 1.5 % (w/w) hydroxyethylcellulose gel containing 25% propylene glycol.

**Keywords:** *propranolol; equilibrium dialysis; gel; cream; ointment; in vitro release*

**Введение.** Пропранолол используется для лечения инфантильных гемангиом (ИГ). Это сосудистое новообразование встречается в 5-10 % у детей первого года жизни и в 30 % у недоношенных детей [1]. На фармацевтическом рынке есть пероральные лекарственные формы пропранолола: таблетки и раствор для приема внутрь. Так как пропранолол является неселективным  $\beta$ -адреноблокатором, то пероральное применение сопровождается нежелательными реакциями, такими как брадикардия, гипотензия, гипогликемия, гиперкалиемия и бронхоспазм. Наружное использование пропранолола не вызывает подобных явлений [2,3,4]. Однако, одобренных к применению лекарственных форм пропранолола для местного применения не существует. Известно, что вспомогательные вещества и технология изготовления существенно влияют на высвобождение действующего вещества из лекарственной формы [5].

Цель работы - исследование влияния вспомогательных веществ и технологии изготовления на высвобождение пропранолола из мягких лекарственных форм в опытах *in vitro*.

**Материалы и методы.** Готовили мягкие лекарственные формы пропранолола с разным составом вспомогательных веществ. Составы представлены в концентрации по массе (м/м) и приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Составы мягких лекарственных форм пропранолола (м/м)

Компонент	Состав 1 (мазь на гидрофобной основе)	Состав 2 (мазь на абсорбционной основе)	Состав 3 (крем)	Состав 4 (гель)
Пропранолола гидрохлорид	3,00	3,00	3,00	3,00
Вазелин	97,00	87,30	-	-
Ланолин безводный	-	9,70	30,0	-
Подсолнечное масло	-	-	10,0	-

Пропиленгликоль	-	-	-	25,00
Гидроксиэтилцеллюлоза	-	-	-	1,50
Вода очищенная	-	-	57,0	70,50
Общее содержание	100,00	100,00	100,00	100,00

При изготовлении мазей, пропранолол гидрохлорид вводили в мазевую основу суспензионно. При изготовлении геля и крема, пропранолола гидрохлорид предварительно растворяли в воде очищенной.

Высвобождение пропранолола гидрохлорида *in vitro* оценивали методом равновесного диализа через полупроницаемую мембрану Visking dialysis tubing диаметром 49 мм. Использовали мембрану из регенерированной целлюлозы с диаметром пор 25 Å. Мембрану разрезали на прямоугольники размером 60x49 мм, предварительно замачивали в воде, очищенной на 10 минут. На мембрану помещали образец мягкой лекарственной формы в количестве 1,0 г и плотно закрепляли на диализную трубку диаметром 4 см. Трубку помещали в емкость с диализной средой на глубину 2-4 мм. Среда высвобождения — фосфатный буферный раствор с pH=7,4, температура — 32±0,5 °С. Температуру диализной среды поддерживали с помощью водяной бани. Объем среды высвобождения 100 мл. Диализ проводили в течение 6 ч. Частота отбора проб 1ч; 2ч; 3 ч, 6 ч. Объем отбора 5 мл. Отобранный объем восполняли таким же объемом фосфатного буферного раствора с pH=7,4. Полученные пробы при необходимости разбавляли. Количество пропранолола гидрохлорида, перешедшее в среду растворения, определяли спектрофотометрически. Измеряли оптическую плотность раствора при 290±2нм в кюветах с толщиной рабочего слоя 10 мм на спектрофотометре Varian Cary®50. Концентрацию пропранолола гидрохлорида, определяли по калибровочному графику. Каждый образец исследовали трижды.

Статистический анализ полученных данных осуществляли с помощью программного пакета Statistica 10.0. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения (Mean ± sd).

### **Результаты и их обсуждение.**

Калибровочный график зависимости оптической плотности раствора от концентрации пропранолола гидрохлорида, представлен на рис. 1.

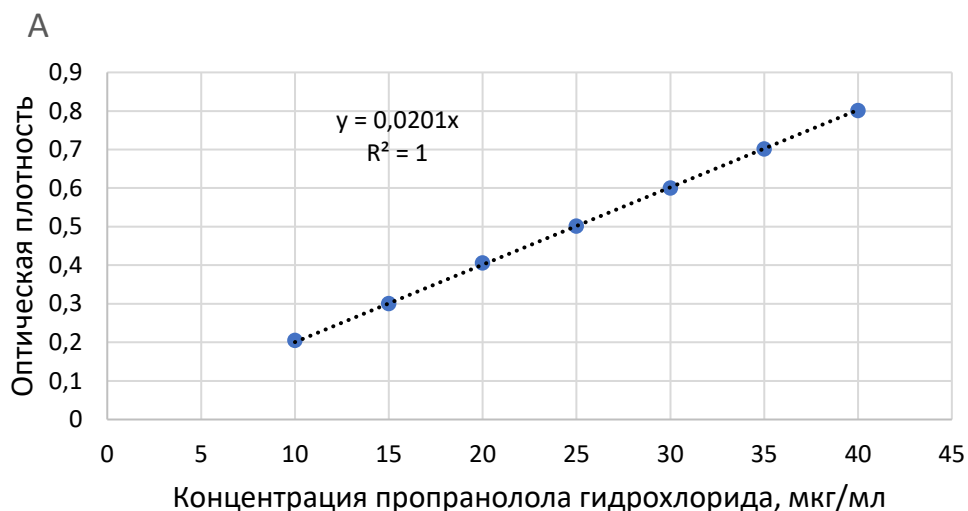


Рисунок 1 – Калибровочный график зависимости оптической плотности раствора от концентрации пропранолола гидрохлорида.

Коэффициент достоверности аппроксимации  $R^2 = 0,9998$  подтверждает высокую степень соответствия оптической плотности раствора в диапазоне концентраций пропранолола гидрохлорида от 10 до 40 мкг/мл.

Степень высвобождения пропранолола из приготовленных мягких лекарственных форм представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Степень высвобождения пропранолола гидрохлорида из мягких лекарственных форм

Время высвобождения	Состав 1	Состав 2	Состав 3	Состав 4
	Количество пропранолола гидрохлорида, перешедшее в среду растворения, %			
1 час	1,8±1,4	1,9±1,2	14,7±1,9	25,1±1,8
2 часа	3,9±2,3	4,2±1,5	34,9±2,3	45,2±2,3
3 часа	5,8±1,6	6,3±2,1	46,2±2,1	61,2±2,5
4 часа	10,3±1,9	10,8±2,2	70,2±2,9	91,1±3,2

Как видно из таблицы 2, достоверных различий между составом 1 и 2 нет, то есть мазь на вазелине и мазь на абсорбционной основе обеспечивают одинаковый профиль высвобождения пропранолола гидрохлорида около 10 % за

6 часов. Такую низкую степень высвобождения можно объяснить не только природой основы, но и тем, что пропранолол не растворен в мазевой основе, а введен суспензионно. Процент высвобождения действующего вещества из крема и геля через 6 часов составляет 70% и 90 % соответственно. Такую высокую степень высвобождения можно объяснить тем, что пропранолол находится в этих лекарственных формах в растворенном состоянии, однако лучшее высвобождение обеспечивает гель на основе гидроксиэтилцеллюлозы в концентрации 1,5 (м/м), содержащий 25 % пропиленгликоля.

**Заключение.** По результатам исследования влияния вспомогательных веществ и технологии изготовления на высвобождение пропранолола из мягких лекарственных форм методом равновесного диализа *in vitro* установлено, что мазь на гидрофобной основе (вазелине) и мазь на абсорбционной основе (вазелин: ланолин безводный 9:1) обеспечивают низкий процент высвобождения пропранолола гидрохлорида всего около 10 % за 6 часов. Для крема и геля этот показатель составляет 70% и 90 %. Таким образом, лучшим из четырех исследованных составов является гель на основе гидроксиэтилцеллюлозы в концентрации 1,5 (м/м), содержащий 25 % пропиленгликоля.

### Список литературы

1. Хачатрян, Л.А. Новые подходы к решению старой проблемы / Л.А. Хачатрян и соавт. // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. - 2022.- 21 (1). - С.122–135.
2. Price, A. Topical propranolol for infantile haemangiomas: a systematic review / A.Price [et al.] // Journal Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 2018 (32). – P. 2083-2089.
3. Kashiwagura, Y. Topical Formulations of Propranolol for Infantile Hemangiomas: Characteristics of Formulations and Three Cases of Infants Administered Topical Propranolol Cream / Y. Kashiwagura [et al.] // Chemical and Pharmaceutical Bulletin. – 2022. – №70. – P. 277-282.
4. Nagata, E. Efficacy and safety of propranolol cream in infantile hemangioma: A prospective pilot study / E. Nagata [et al.] // Journal of Pharmacological Sciences. – 2022. – №149. – P. 60-65.
5. Padula, C. The influence of formulation and excipients on propranolol skin permeation and retention / C. Padula [et al.] // Biomed. Res. Int. 2018.



**ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРЕДИКТОРЫ ВЫЖИВАЕМОСТИ ДО  
ПРОГРЕССИРОВАНИЯ РАКА ЯИЧНИКОВ У ПАЦИЕНТОК С  
НОРМАЛИЗАЦИЕЙ УРОВНЯ СА125 ПОСЛЕ 3 КУРСОВ  
АДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ**

**Готько О.В.**

*РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова  
Минск, Беларусь  
babuka\_05@mail.ru; L-Dzerzhavets@mail.ru*

**Державец Л.А.**

*РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова  
Минск, Беларусь  
babuka\_05@mail.ru; L-Dzerzhavets@mail.ru*

**Аннотация.** Приведены данные исследования уровня секреторного белка 4 эпидидимиса человека (HE4) при раке яичников до начала и в динамике лечения. Установлено, что концентрация HE4 в крови может использоваться для мониторинга терапии и оценки прогноза у пациенток с нормализацией уровня СА125 после 3 курсов адьювантной полихимиотерапии.

**Ключевые слова:** рак яичников; опухолевые маркеры; адьювантная полихимиотерапия; выживаемость до прогрессирования

**LABORATORY PREDICTORS OF SURVIVAL TO PROGRESSION OF  
OVARIAN CANCER IN PATIENTS WITH NORMALIZATION OF CA125  
LEVELS AFTER 3 COURSES OF ADJUVANT CHEMOTHERAPY**

**O.V. Gotko**

*N.N. Alexandrov National Cancer Centre, Minsk, Belarus  
babuka\_05@mail.ru; L-Dzerzhavets@mail.ru*

**L.A. Derzhavets**

*N.N. Alexandrov National Cancer Centre, Minsk, Belarus  
babuka\_05@mail.ru; L-Dzerzhavets@mail.ru*

**Annotation.** The data of the study of the level of secretory protein 4 of human epididymis (HE4) ovarian cancer before and during treatment are presented. It has been established that the concentration of HE4 in the blood of patients with OC can be used to monitor therapy and assess the prognosis in patients with normalization of CA125 levels after 3 courses of adjuvant chemotherapy.

**Keywords:** ovarian cancer; tumor markers; adjuvant polychemotherapy; progression-free survival

Повышение эффективности лечения рака яичников (РЯ) по-прежнему остаются главными проблемами в онкогинекологии [1]. Стратегия лечения РЯ включает хирургический компонент и химиотерапию (чувствительность к цитостатикам составляет около 75%). Внедрение в практику новых схем химиотерапии приводит к увеличению общей и безрецидивной выживаемости. Несмотря на достигнутые успехи, поиск путей оптимизации и индивидуализации противоопухолевой терапии РЯ продолжается [2]. Подбор адекватного комплекса количественных критериев оценки эффективности терапии в процессе ее проведения на основе изучения клинических, инструментальных, лабораторных характеристик является важным и актуальным [3].

Опухолевый маркер СА125 по-прежнему остается основным лабораторным показателем для диагностики, мониторинга и контроля за эффективностью лечения РЯ. Однако некоторые авторы указывают на снижение чувствительности маркера после курсов химиотерапии, что затрудняет мониторинг заболевания у этой категории пациенток [4, 5].

Для повышения точности диагностики РЯ предложен новый маркер HE4, Мета-анализ 45 исследований, проведенных в различных странах в 2008–2013 гг., показал достаточно высокую чувствительность и специфичность HE4 как на поздних (88,0% и 86,0%), так и на ранних стадиях РЯ (65,0% и 85,0% соответственно) [6]. Данные литературы свидетельствуют и о стимулирующей роли HE4 в пролиферации и резистентности к карбоплатину опухоли яичника, что подразумевает его ценность для прогнозирования устойчивости к химиотерапии на основе платины при лечении РЯ [5].

Целью исследования было определить прогностическую ценность маркера HE4 у пациенток с нормализацией уровня СА125 после 3 курсов адьювантной полихимиотерапии.

**Материалы и методы.** Исследование проводили у 150 пациенток с впервые установленным диагнозом РЯ, получавших специальное лечение в РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова в период с 2011 по 2015 гг. Критерием включения пациенток в исследование являлся уровень СА125 после 3 курсов адьювантной полихимиотерапии (АПХТ) <35 Е/мл. Диагноз устанавливался согласно стандартам, с обязательной морфологической верификацией. Средний возраст пациенток составил 52,9 (25–86) лет.

Всем пациенткам проведено комбинированное лечение, включающее на первом этапе хирургическое вмешательство, а на втором — проведение курсов АПХТ с включением препаратов платины и производных таксанов. Определение уровня маркеров СА125 и HE4 в сыворотке крови проводили до начала специального лечения и в динамике проводимой цитостатической терапии.

Исследование проводилось иммунохемилюминесцентном методом на автоматическом анализаторе Cobas e411 «Roche».

Статистическую обработку полученных данных выполняли непараметрическими методами с использованием программы STATISTICA12.0. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты.** В исследовании выявлено статистически значимое снижение уровня обоих маркеров (СА125 и НЕ4) в динамике противоопухолевой терапии ( $p_{\text{Friedman}} < 0,001$ ). Уровень маркера СА125 после 3 курсов АПХТ снизился до нормальных значений в 100% случаев, а концентрация в крови НЕ4 после проведения 3 курсов АПХТ не превышала возрастную норму у 70 (46,7%) пациенток, у 80 (53,3%) — оставалась выше возрастной нормы.

Далее был проведен анализ взаимосвязи содержания НЕ4 в крови после 3 курсов АПХТ с выживаемостью до прогрессирования (ВДП). На основании данных клинико-инструментального обследования прогрессирование опухолевого процесса выявлено у 92 (61,3%) из 150 пациенток, 58 (38,7%) пациенток находились в ремиссии. Из 70 пациенток, у которых уровень НЕ4 после 3 курсов АПХТ не превышал возрастную норму, у 54 (77,1%) наблюдалась ремиссия, у 16 (22,9%) диагностировано прогрессирование после проведенного лечения. У 76 (95,0%) из 80 пациенток с повышенным уровнем НЕ4 после 3 курсов АПХТ выявлено прогрессирование опухолевого процесса. Только 4 (5,0%) из 80 пациенток с повышенным уровнем НЕ4 находились в ремиссии. Период наблюдения составил более 5 лет.

Анализ показателей ВДП в зависимости от уровня НЕ4 после 3 курсов АПХТ выявил статистически значимые различия 1-, 3- и 5-летней ВДП в сравниваемых группах ( $p_{\text{log-rank}} < 0,001$ ) (таблица 1).

Таблица 1 — Показатели ВДП у пациенток с нормальными уровнями СА125 после 3 курсов АПХТ в зависимости от значений НЕ4

Уровень НЕ4 после 3 курсов АПХТ	1-летняя ВДП	3-летняя ВДП	5-летняя ВДП
НЕ4 в норме (n = 70)	98,7±1,3%	91,0±3,3%	71,3±5,6%
НЕ4 выше нормы (n = 80)	61,7±5,4%	18,0±4,3%	6,0±2,9%
$p_{\text{log-rank}}$	<0,001	<0,001	<0,001

В группе с нормальным уровнем НЕ4 после 3 курсов АПХТ 1-, 3- и 5-летняя ВДП составила 98,7%, 91,0% и 71,3% соответственно, в группе пациенток с повышенным уровнем маркера — 61,7%, 18,0% и 6,0% соответственно. Полученные данные свидетельствуют о неблагоприятном прогнозе у пациенток

с повышенными уровнями HE4 после 3 курсов химиотерапии при нормальных значениях маркера СА125.

**Заключение.** Повышенный уровень HE4 после 3 курсов АПХТ у пациенток с нормализацией уровня СА125 позволяет говорить о неблагоприятном прогнозе. Установленная взаимосвязь уровня HE4 после 3 курсов АПХТ с прогнозом заболевания позволяет говорить о возможности его использования для мониторинга пациенток с нормализацией уровня СА125 после 3 курсов химиотерапии.

### **Список литературы**

1. Макаров, О. В. Современное состояние проблемы ранней диагностики рака яичников и пути ее решения (обзор литературы) / О. В. Макаров [и др.] // Опухоли жен. репродуктивной сист. — 2015. — Т. 11, № 1. — С. 76–82. DOI: 10.17650/1994-4098-2015-1-76-82.

2. Ерменбаев, Д. Е. Диагностика и лечение рака яичников / Д. Е. Ерменбаев, Ж. А. Раманкулова, А. М. Кожабаева // Вестник КазНМУ. — 2019. — № 1. — С. 135–137.

3. Liest, A-L. Prospective study of the role of HE4 and CA125 in treatment and follow-up in ovarian cancer patients / A-L. Liest [et al.] // Obstet Gynecol Int J. — 2020. — Vol. 11, № 3. — P. 185–190. DOI: 10.15406/ogij.2020.11.00507.

4. Bairi, K. Is HE4 Superior over CA-125 in the Follow-up of Patients with Epithelial Ovarian Cancer? / K. Bairi, S. Afqir, M. Amrani // Current Drug Targets. — 2020. — Vol. 21, Issue 10. — P. 1026–1033. DOI: 10.2174/1389450121666200425211732.

5. Wang, H. Promotive role of recombinant HE4 protein in proliferation and carboplatin resistance in ovarian cancer cells / H. Wang [et al.] // Oncol Rep. — 2015. — Vol. 33, № 1. — P. 403–412. DOI: 10.3892/or.2014.3549.

6. Macedo, A. C. Accuracy of serum human epididymis protein 4 in ovarian cancer diagnosis: a systematic review and meta-analysis / A. C. Macedo [et al.] // Int J Gynecol Cancer. — 2014. — Vol. 24, № 7. — P. 1222–1231. DOI: 10.1097/IGC.0000000000000192.

## **ВЛИЯНИЕ МИКРОЧАСТИЦ ВАТЕРИТА, СУЛЬФАТИРОВАННЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ И МУЦИНА НА АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ**

**Григорьева Д.В.**

*кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биофизики  
Белорусского государственного университета, г. Минск, Беларусь  
dargr@tut.by;*

**Михальчик Е.В.**

*доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела биофизики  
ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. ЛОПУХИНА ФМБА России, г. Москва, Россия  
lemik2007@yandex.ru;*

**Балабушевич Н.Г.**

*доктор химических наук, старший научный сотрудник химического  
факультета Московского государственного университета  
им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия  
nbalab2008@gmail.com;*

**Панасенко О.М.**

*доктор биологических наук, профессор, член-корр. РАН, заведующий отделом  
биофизики ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. ЛОПУХИНА ФМБА России, г. Москва,  
Россия  
o-panas@mail.ru;*

**Соколов А.В.**

*доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией  
биохимической генетики отдела молекулярной генетики ФГБНУ «Институт  
экспериментальной медицины», г. Санкт-Петербург, Россия  
biochemsokolov@gmail.com;*

**Горудко И.В.**

*кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биофизики  
Белорусского государственного университета, г. Минск, Беларусь  
irinagorudko@gmail.com*

**Аннотация.** *Исследовано влияние сульфатированных полисахаридов, муцина и ватерита на агрегационную активность тромбоцитов. Установлено, что фукоидан, гепарин и декстран сульфат (при внесении в обогащенную тромбоцитами плазму) и муцин (при добавлении к изолированным тромбоцитам) индуцировали агрегацию клеток. Пектин дозо-зависимым образом ингибировал АДФ- и тромбин-индуцированную агрегацию, муцин подавлял агрегацию тромбоцитов при действии АДФ, а декстран сульфат и хондроитин сульфат – при действии тромбина. Ватерит в концентрации 500-*

1000 мкг/мл ингибировал агрегацию тромбоцитов при действии АДФ и тромбина.

**Ключевые слова:** тромбоциты; агрегация; микрочастицы ватерита; сульфатированные полисахариды; муцин

## **EFFECT OF VATERITE MICROPARTICLES, SULFATED POLYSACCHARIDES AND MUCIN ON PLATELET AGGREGATION**

**Grigorieva D.V.**

*PhD in Biology, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Biophysics, Belarusian State University, Minsk, Belarus  
dargr@tut.by;*

**Mikhalchik E.V**

*Doctor of Biology, Leading Researcher of the Department of Biophysics, Lopukhin FRCC PCM, Moscow, Russia  
lemik2007@yandex.ru;*

**Balabushevich N.G.**

*Doctor of Chemistry, Senior Researcher of Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia  
nbalab2008@gmail.com;*

**Panasenko O.M.**

*Doctor of Biology, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of Department of Biophysics, Lopukhin FRCC PCM, Moscow, Russia  
o-panas@mail.ru;*

**Sokolov A.V.**

*Doctor of Biology, Professor, Head of the Laboratory of Biochemical Genetics, Department of Molecular Genetics, FSBSI «Institute of Experimental Medicine», Saint Petersburg, Russia  
biochemsokolov@gmail.com;*

**Gorudko I.V.**

*PhD in Biology, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Biophysics, Belarusian State University, Minsk, Belarus  
irinagorudko@gmail.com*

**Annotation.** *The effects of sulfated polysaccharides, mucin and vaterite on platelets aggregation activity were studied. It has been established that fucoidan, heparin and dextran sulfate (when added to platelet-rich plasma) and mucin (when added to isolated platelets) induced cell aggregation. Pectin inhibited ADP- and*

*thrombin-induced aggregation in a dose-dependent manner, mucin suppressed platelet aggregation under the action of ADP, dextran sulfate and chondroitin sulfate – under the action of thrombin. Vaterite at a concentration of 500-1000 µg/ml inhibited platelet aggregation under the action of ADP and thrombin.*

**Keywords:** *platelets; aggregation; vaterite microparticles; sulfated polysaccharides; mucin*

Разработка новых технологий получения биомедицинских препаратов является актуальной задачей, связанной, в первую очередь, с поиском новых форм доставки лекарственных соединений, позволяющих увеличить их биодоступность и обеспечить целевую направленность. Среди перспективных средств мукозальной доставки можно выделить карбонат кальция в виде микрочастиц ватерита, обладающих идеальными механическими, физическими и химическими свойствами для включения лекарственных препаратов, однако, в то же время, не лишенных недостатков, к которым можно отнести низкую стабильность, небольшое включение и быстрое высвобождение положительно заряженных молекул, а также перекристаллизацию в более динамически устойчивые формы карбоната кальция [1]. Вышеупомянутые недостатки могут быть устранены дополнительным введением в структуру микрочастиц ватерита природных биополимеров, например, полисахаридов, что приведет к возрастанию площади поверхности, пористости и увеличению включения и удерживания катионных молекул, например, секреторных белков нейтрофилов, проявляющих противомикробные и иммунорегуляторные свойства.

При использовании функционализированных полисахаридами микрочастиц ватерита необходимо учитывать их влияние на клетки, участвующие в регуляции иммунных и воспалительных реакций. Не смотря на то, что тромбоциты являются клетками, обеспечивающими, в первую очередь, поддержание гемостаза, они также способны участвовать в иммунных реакциях [2].

В связи с вышесказанным целью данной работы явилось изучение влияния микрочастиц ватерита, муцина и свободных полисахаридов (пектин, фукоидан, гепарин, декстран сульфат, хондроитин сульфат) на основную—функцию тромбоцитов – агрегацию.

Микрочастицы ватерита получали путем смешивания 0,05 М трис-буфера (рН 7,0) и раствора 1 М CaCl<sub>2</sub> как это было описано ранее [3]. В работе использовали фукоидан из *Fucus vesiculosus*, пектин из яблок, хондроитин сульфат А из бычьей трахеи и муцин (тип III) из желудка свиньи фирмы «Sigma-Aldrich»; декстран сульфат фирмы «Fluka» и гепарин фирмы «Spofa». Агрегацию тромбоцитов в обогащенной тромбоцитами плазме (ОТП) при действии АДФ и

агрегацию изолированных тромбоцитов при действии тромбина оценивали турбодиметрическим методом по изменению величины светопропускания суспензии с применением анализатора агрегации AP2110 («СОЛАР», Минск, Беларусь) как это было описано ранее [4].

Установлено, что такие полисахариды как фукоидан, гепарин и декстран сульфат индуцировали агрегацию тромбоцитов в ОТП; пектин, муцин, хондроитин сульфат и микрочастицы ватерита не обладали такой способностью. Наиболее сильным активатором агрегации тромбоцитов в плазме оказался фукоидан (рис. 1 а), при внесении которого в диапазоне концентраций 100-1000 мкг/мл величина светопропускания клеточной суспензии составляла  $75 \pm 20$  %. Гепарин обладал меньшей агрегационной активностью в отношении тромбоцитов (величина светопропускания  $40 \pm 15$  %). Добавление в ОТП декстран сульфата (1000 мкг/мл) приводило к увеличению степени агрегации до  $17 \pm 4$  %. При изучении влияния муцина, пектина, хондроитин сульфата и микрочастиц ватерита на АДФ-индуцированную агрегацию было выявлено, что пектин (рис. 1 б) и муцин концентрационно-зависимым образом ингибировали АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов. На рис. 1 в приведена зависимость степени АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов от концентрации тестируемых соединений. Видно, что максимальный эффект регистрировался при внесении препаратов в концентрации 1000 мкг/мл: подавление агрегации на  $49 \pm 22$  % при использовании пектина и на  $35 \pm 16$  % при использовании муцина. Хондроитин сульфат и микрочастицы ватерита в диапазоне концентраций 100-500 мкг/мл не влияли, а в концентрации 1000 мкг/мл снижали ~ на 20 % в случае хондроитин сульфата и ~ на 45 % в случае микрочастиц ватерита АДФ-индуцированную агрегацию клеток.

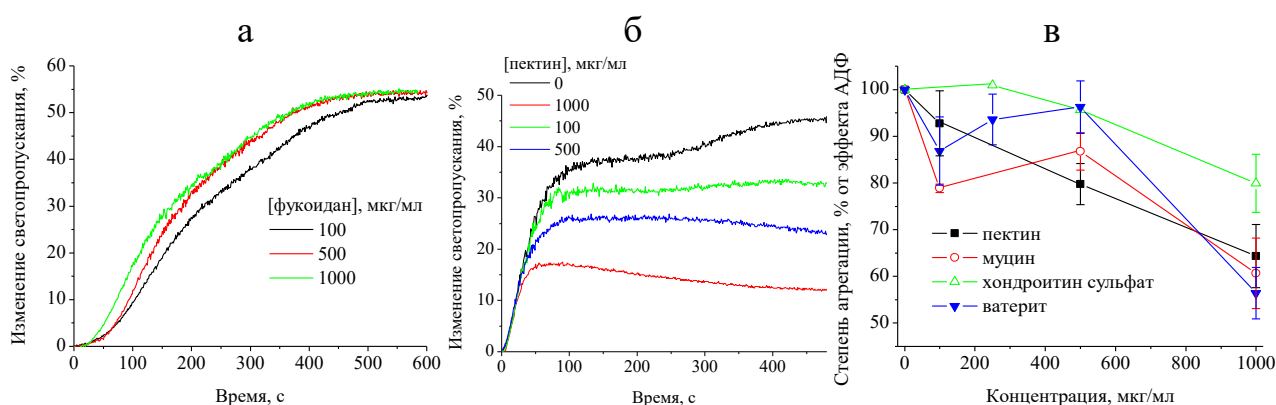


Рисунок 1 – Влияние фукоидана, пектина, муцина, хондроитин сульфата и микрочастиц ватерита на агрегацию тромбоцитов в ОТП: а и б – типичные кинетические кривые агрегации тромбоцитов в ОТП, инициируемой внесением фукоидана в различных концентрациях (а) и АДФ (2,5 мкМ) в присутствии различных концентраций пектина (б); в – зависимость степени АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов от концентрации тестируемых соединений



Показано, что добавление к изолированным тромбоцитам муцина (рис. 2 а), фукоидана (рис. 2 б) и гепарина приводило к их агрегации; хондроитин сульфат, декстран сульфат, пектин и микрочастицы ватерита не вызывали такого эффекта. Установлено, что наиболее сильными индукторами агрегации являлись муцин и фукоидан. Гепарин и муцин (рис. 2 а) вызывали концентрационно-зависимое усиление агрегации тромбоцитов, для фукоидана наблюдалась противоположная зависимость: с увеличением концентрации его способность инициировать агрегацию тромбоцитов снижалась (рис. 2 б). При изучении тромбин-индуцированной агрегации тромбоцитов было выявлено концентрационно-зависимое ингибирующее действие хондроитин сульфата (рис. 2 в), декстран сульфата, пектина и микрочастиц ватерита. Практически 100 %-ое подавление тромбин-индуцированной агрегации клеток регистрировалось при использовании хондроитин сульфата и пектина в концентрации 500 мкг/мл, а декстран сульфата – 250 мкг/мл. В присутствии микрочастиц ватерита в концентрации 500-1000 мкг/мл было выявлено 50 %-ое ингибирование тромбин-индуцированной агрегации тромбоцитов.

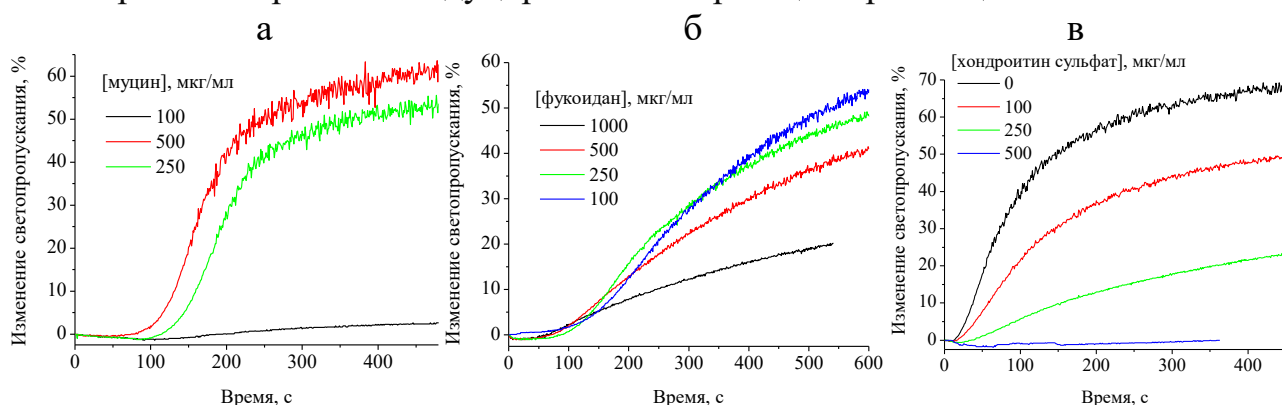


Рисунок 2 – Влияние тестируемых соединений на агрегацию изолированных тромбоцитов: а и б – типичные кинетические кривые агрегации изолированных тромбоцитов, инициируемой внесением муцина (а) и фукоидана (б) в различных концентрациях, а также тромбина (0,25 мкг/мл) в присутствии различных концентраций хондроитин сульфата (в)

Таким образом, можно заключить, что при разработке средств доставки целевых препаратов на основе микрочастиц ватерита, сульфатированных полисахаридов и муцина необходимо учитывать их способность модулировать агрегационную активность тромбоцитов, что может быть полезным при разработке бифункциональных препаратов, дополнительным механизмом действия которых является коррекция функциональных свойств тромбоцитов.

Работа выполнена при финансовой поддержке совместного гранта БРФФИ (Б23РНФ-093) и РНФ (23-45-10026).

### **Список литературы**

1. Trushina, D. B. CaCO<sub>3</sub> vaterite microparticles for biomedical and personal care applications / D. B. Trushina, T. V. Bukreeva, M. V. Kovalchuk, M. N. Antipina // Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl. – 2014. – Vol. 45. – P. 644–658.
2. Kaiser, R. Neutrophil-platelet interactions as novel treatment targets in cardiovascular disease / R. Kaiser, R. Escaig, J. Erber, L. Nicolai // Front. Cardiovasc. Med. – 2022. – Vol. 8. – P. 824112.
3. Balabushevich, N. G. Hybrid mucin-vaterite microspheres for delivery of proteolytic enzyme chymotrypsin / N. G. Balabushevich, E. A. Kovalenko, L. Y. Filatova, E. A. Kirzhanova, E. V. Mikhalchik, D. Volodkin, A. S. Vikulina // Macromol. Biosci. – 2022. – Vol. 22(7). – P. e2200005.
4. Gorudko, I. V. Structure-biological activity relationships of myeloperoxidase to effect on platelet activation / I. V. Gorudko, D. V. Grigorieva, E. V. Shamova, N. P. Gorbunov, A. U. Kokhan, V. A. Kostevich, V. B. Vasilyev, O. M. Panasenko, N. V. Khinevich, H. V. Bandarenka, A. A. Burko, A. V. Sokolov // Arch. Biochem. Biophys. – 2022. – Vol. 728. – P. 109353.

**АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОРРЕКЦИИ БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ВОДНЫМ ЭКСТРАКТОМ ЦИКЛОПИИ (CYCLOPIA SPP.)**

**Губич О. И.**

*к.б.н., доцент, Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

*Hubich\_Oksana@tut.by*

**Титенкова Е.**

*студент 3 курса, Белорусский государственный университет, Минск Беларусь*

*elizaveta\_titenkova@mail.ru*

**Янкун И.**

*студент 3 курса, Белорусский государственный университет, Минск Беларусь*

*ira.yankun2@gmail.com*

**Аннотация.** Работа посвящена анализу возможности коррекции углеводного обмена отваром циклопии (*Cyclopia spp.*) в модели экспериментального сахарного диабета. Установлено, что циклопия стабилизирует углеводный обмен при диабете, превосходя действие классического сахароснижающего фитопрепарата – грецкого ореха, использованного в качестве препарата сравнения. Данный эффект может быть обусловлен наличием в составе циклопии биофлавоноидов и таннинов, обладающих антиоксидантным действием, а также терпенов и гликозидов, повышающих проницаемость клеточных мембран для глюкозы.

**Ключевые слова:** экспериментальный сахарный диабет; циклопия; аллокса; глюкоза; углеводный обмен; сахароснижающее действие; перекисное окисление липидов

**THE ANALYSIS OF THE EFFICIENCY OF CARBOHYDRATE METABOLISM BIOCHEMICAL PARAMETERS CORRECTION IN LABORATORY RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS BY WATER EXTRACT OF CYCLOPIA SPP.**

**Hubich A.**

*PhD, Associate Professor, Belarusian State University, Minsk*

*Hubich\_Oksana@tut.by*

**Tsitsiankova L.**

*3rd year student, Belarusian State University, Minsk*

*elizaveta\_titenkova@mail.ru*

**Yankun I.**

*3rd year student, Belarusian State University, Minsk*

*ira.yankun2@gmail.com*

**Annotation.** *The work is devoted to the analysis of the possibility of correcting carbohydrate metabolism with a decoction of Cyclopia spp. in a model of experimental diabetes mellitus. It has been established that Cyclopia stabilizes carbohydrate metabolism under diabetes, surpassing the effect of the classic hypoglycemic phytopreparation - walnut, used as a reference drug. This effect may be due to the presence of bioflavonoids and tannins in Cyclopia, which have an antioxidant effect, as well as terpenes and glycosides, which increase the permeability of cell membranes for glucose.*

**Keywords:** *experimental diabetes mellitus; Cyclopia spp.; alloxan, glucose; carbohydrate metabolism; hypoglycemic effect; lipid peroxidation*

Как известно, сегодня в медицинской практике используются свыше 18 тысяч лекарственных средств, среди которых 40% производится из растительного сырья [1]. Широкое использование фитосредств обусловлено характерным для них мягким эффектом, почти полным отсутствием побочных действий, в том числе аллергических реакций, возможностью их использования у пациентов крайних возрастных групп, а также отличной сочетаемостью с синтетическими лекарственными средствами и усилением терапевтического индекса последних [2].

Особое значение фитотерапия имеет в лечении сахарного диабета. Несмотря на то, что в настоящее время традиционная схема лечения данной патологии предполагает использование заместительной терапии инсулином, оральных антидиабетических препаратов и средств, уменьшающих активность противоинсulinарных внепанкреатических факторов, нормализовать все виды обмена веществ у пациентов не всегда бывает возможным. Вторичная резистентность к таблетированным препаратам является следствием снижения массы  $\beta$ -клеток поджелудочной железы и (или) увеличения инсулинорезистентности [3].

Достоинством фитотерапевтического метода лечения сахарного диабета в этих условиях является многофакторное положительное влияние на организм, причем для лечения диабета II типа фитотерапия может применяться как самостоятельно, так и в сочетании с таблетированными препаратами, что позволяет уменьшить их дозу. В доступной литературе описано более 150 видов растений, обладающих экспериментально подтвержденной гипогликемической активностью [3]. Многие из этих лекарственных растений признаны научной медициной в качестве средств, оказывающих положительное влияние на углеводный обмен (аралия высокая, маньчжурская, аир болотный, айва продолговатая, барбарис обыкновенный, родиола розовая, одуванчик

лекарственный, галега лекарственная лимонник китайский, хвощ полевой, цикорий обыкновенный, элеутерококк колючий, каллизия душистая и другие). Их противодиабетическое действие определяется присутствием в их составе инсулиноподобных соединений, производных гуанидина, аргинина, левулезы, преимуществом которых является их небелковая природа, невозможность переваривания и инактивации в желудочно-кишечном тракте и эффективность при пероральном приеме [2]. Поиск новых эффективных фитотерапевтических средств для стабилизации обмена веществ у пациентов с сахарным диабетом продолжается.

Особый интерес в этой связи привлекают растительные препараты, содержащие в своем составе компоненты, обладающие антиоксидантным действием и снижающие свободно-радикальное окисление в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы; адаптогенными свойствами, обеспечивающими нормализацию обмена веществ; мочегонным эффектом, необходимым для выведения избытка глюкозы из организма. При этом, каждый из потенциальных фитопрепаратов требует всестороннего изучения для обеспечения достаточного уровня доказательности полученных результатов.

В нашей работе мы остановились на исследовании способности водного экстракта листьев циклопии (*Cyclopia spp.*) нормализовать основные параметры углеводного обмена лабораторных крыс с экспериментальным сахарным диабетом. Выбор данного растения был обусловлен несколькими факторами: уникальным химическим составом, полностью лишенным кофеина и чрезвычайно богатым биофлавоноидами; его доступностью для отечественного потребителя; наличием у отвара циклопии ряда экспериментально и клинически подтвержденных биологических эффектов: антиоксидантного, антимуtagenного, антимикробного [4, 5].

Работа выполнена на беспородных белых крысах-самцах массой 180-200 г. Все эксперименты выполняли в соответствии с этическими нормами обращения с животными. В работе использовали коммерческий препарат *Cyclopia spp.* (ООО "TeaShop", РФ), отвар которого готовили из расчета 50 мг листьев/200 мл воды и предоставляли для питья соответствующим группам экспериментальных животных вместо питьевой воды. Постановка экспериментальной модели сахарного диабета осуществлялась как описано нами ранее [6, 7].

В качестве препарата сравнения в данной работе использовали аптечный препарат "Перегородки грецкого ореха" (ООО "Хорст", РФ), отвар которого готовили в соответствии с прилагающейся инструкцией и предоставляли лабораторным крысам для питья вместо питьевой воды в течение 7 суток.

По истечении указанного времени животных выводили из эксперимента путем декапитации и проводили измерение величин основных биохимических

маркеров изучаемой патологии. Определение активности  $\alpha$ -амилазы проводили по методу Каравея, пирувата – модифицированным методом Умбрайта, содержание глюкозы – глюкозоксидазным методом с помощью коммерческого набора реагентов. Для статистических расчетов использовали лицензионный пакет программ Stadia 6.0.

В соответствии с полученными результатами, развитие сахарного диабета у подопытных животных, вызванного разрушением  $\beta$ -клеток поджелудочной железы 5% аллоксаном, прогнозируемо вызывало повышение концентрации глюкозы в сыворотке крови на 73,8%, содержания пирувата – на 47,3%. Фиксировалось снижение активности панкреатической амилазы – на 29,6%, что часто наблюдается при тяжелых панкреатических поражениях.

Замена же питьевой воды на отвар циклопии в рационе животных сроком на 1 неделю позволил стабилизировать измеряемые показатели: концентрация глюкозы и активность амилазы достигли значений, статистически неотличимых от интактной серии, содержание пирувата снизилось на 14,6% по сравнению с крысами, страдающими диабетом, но не получавшими данный препарат. Обращаясь к химическому составу данного растения, необходимо заметить, что наблюдаемые эффекты могут быть связаны с высоким содержанием в нем соединений с антиоксидантной активностью: ксантонов (магниферин, изомагниферин), флавононов (гемперидин, нарингенин, эриоцитрин) и их гликозидов, флавонов и изофлавонов, флавонолов и танинов, а также терпенов и гликозидов, повышающих проницаемость клеточных мембран для глюкозы [4, 5, 8].

Таким образом, отвар листьев циклопии, в соответствии с нашими результатами, действительно способен значительно улучшать показатели углеводного обмена крыс с экспериментальным диабетом.

В качестве препарата сравнения в нашей работе использовался отвар перегородок грецкого ореха, чьи антиоксидантные, антидиабетические, гиполипидемические свойства хорошо известны [9]. Клинические исследования убедительно подтверждают его эффективность для снижения риска развития сахарного диабета у женщин, улучшения липидного профиля у пациентов с сахарным диабетом 2 типа, предупреждения развития характерных осложнений (поражение сетчатки глаза, нейропатии) [10, 11]. Показано также, что экстракты грецких орехов ингибируют  $\alpha$ -амилазу [9]. Подобные эффекты связывают с содержанием в перегородках и кожуре грецких орехов пентациклических тритерпенов, сесквитерпенов, нафтоквинонов, фенольных кислот, флавоноидов, а также (+)-дегидровомифолиола, (6R,9R)-9- гидроксимегастигман-4-ен-3-она, блуменола В, (4S)-4-гидрокси-1-тетралона [12].

Как свидетельствуют полученные нами данные, использованный препарат сравнения действительно значительно (но не до уровня, характерного для интактной серии) нормализует изучаемые параметры у лабораторных животных. Установлено, что в его присутствии концентрация глюкозы у крыс, страдающих сахарным диабетом, снизилась на 60%, активность  $\alpha$ -амилазы – на 14,6%, концентрация пирувата – на 22%.

Таким образом, отвары перегородок грецкого ореха и листьев циклопии оказывали выраженное нормализующее действие при использовании в модели сахарного диабета, вызванного введением аллоксана, однако эффект циклопии был выражен сильнее. Принимая во внимание отсутствие в составе данного растения кофеина, можно рассматривать его как потенциально перспективный сахароснижающий препарат, пригодный для использования в том числе и для пациентов крайних возрастных групп.

### Список литературы

1. Батырханов, Ш.К., Имамбаева, Т.М., Каримханова, А.Т. Роль фитотерапии в современной медицине / Ш.К. Батырханов, Т.М. Имамбаева, А.Т. Каримханова // Медицина Кыргызстана. – 2015. – № 4. – с. 30-32.
2. Соколов, С. Я. Фитотерапия и фармакология / С. Я. Соколов. – М.: Мед. информ. агентство, 2000. – 976 с.
3. Матковская, А.Н. Фитотерапия в комплексном лечении сахарного диабета / А. Н. Матковская, Т. Е. Трумпе // Проблемы эндокринологии. – 1991. – Т. 37, № 4. – с. 35–38.
4. De Beer, D., Schulze, A. E., Joubert, E. Food ingredient extract of *Cyclopia subternata* (Honeybush): variation in phenolic composition and antioxidant capacity / D. de Beer, A. E. Schulze, E. Joubert // *Molecules*. – 2012. – Vol. 17. – P. 14602-14624.
5. Ros-Santaella, J.L., Kadles, M., Pintus, E. Pharmacological activity of honeybush (*Cyclopia intermedia*) in boar spermatozoa during semen storage and under oxidative stress / J.L. Ros-Santaella, M. Kadles, E. Pintus // *Animals*. – 2020. – Vol. 463. № 10. – P. 463-476.
6. Губич, О.И., Капанева, А.П., Бурак, Е.В. Сравнительная эффективность регуляции природными адаптогенами углеводного обмена крыс с экспериментальным сахарным диабетом / О.И. Губич, А.П. Капанева, Е.В. Бурак // Журнал Белорусского государственного университета. Биология. – 2018. – № 3. – с. 14-20.
7. Губич, О.И., Бандык, Я.А., Залеская, Н.А. Исследование адаптогенных, сахароснижающих и гепатопротекторных свойств клитории тройчатой (*Clitoria ternatea L.*) на экспериментальных моделях *in vivo* / О.И.

Губич, Я.А. Бандык, Н.А. Залеская // Журнал Белорусского государственного университета. Биология. – 2020. – № 1. – с. 27-38.

8. Joubert, E., Joubert, M.E., Bester, C. Honeybush (*Cyclopia spp.*): From local cottage industry to global markets – the catalytic and supporting role of research / E. Joubert, M.E. Joubert, C. Bester // South Afric. J. Botany. – 2011. – Vol. 77. – P. 887-907.

9. Джафарова, Р.Е., Гараев, Г.Ш., Джафаркулиева, З.С. Антидиабетическое действие экстракта *Juglans regia L.* / Р.Е. Джафарова, Г.Ш. Гараев, З.С. Джафаркулиева // Грузинские мед. новости. – 2009. – т. 170. – с. 110-114.

10. Хайриева, М.Ф. Грецкий орех и метаболические нарушения (обзор) / М.Ф. Хайриева // Биология и интегративная медицина. – 2018. – № 8. – с. 29-40.

11. Hosseini, S., Jamshidi, L., Mehrzadi, S. Effects of *Juglans regia L.* leaf extract on hyperglycemia and lipid profiles in type two diabetic patients: a randomized double-blind, placebo-controlled clinical trial / S. Hosseini, L. Jamshidi, S. Mehrzadi // J. Ethnopharmacol. – 2014. – Vol. 152. – P. 451-456.

12. Ahmad, H., Khan, I., Wahid, A. Antiglycation and antioxidation properties of *Juglans regia* and *Calendula officinalis*: possible role in reducing diabetic complications and slowing down ageing / H. Ahmad, I. Khan, A. Wahid // J. Tradit. Chin. Med. – 2012. – Vol. 32. – P. 411-414.



## БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В СУДЕБНОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЕ: ЗНАЧЕНИЕ, ОСНОВНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

**Данченко Е.О.**

*Доктор медицинских наук, профессор,  
Государственный комитет судебных экспертиз Республики Беларусь по  
Витебской области,  
г. Витебск, Беларусь  
elena.danch@gmail.com*

**Аннотация.** В данной статье рассмотрены вопросы использования биохимических исследований при производстве судебных медицинских экспертиз, их значимость, факторы, влияющие на результаты, а также перспективы развития данной сферы судебно-медицинской экспертизы. Биохимические исследования используются в судебной медицине для выявления наличия заболеваний или метаболических нарушений, имеющих место накануне наступления смерти. Однако, при интерпретации полученных результатов необходимо учитывать факторы, которые могут исказить получаемые результаты. К ним относятся: место отбора крови, время между смертью и вскрытием, наличие гемолиза, изменение свойств крови, влияние посмертных процессов на биохимические показатели. Для нивелирования влияния этих факторов рекомендуется использовать, помимо крови, другие биологические жидкости, которые характеризуются большей стабильностью показателей метаболизма (стекловидное тело, спинномозговая жидкость, перикардальная жидкость), а также определять специфические биохимические маркеры при различной патологии.

**Ключевые слова:** судебная биохимия, судебная медицинская экспертиза, сыворотка крови, биохимические параметры

## BIOCHEMICAL RESEARCH IN FORENSIC MEDICAL EXAMINATION: SIGNIFICANCE, MAIN PROBLEMS AND PROSPECTS OF USE

**Danchenko E.O.**

*Doctor of Medical Sciences, Professor, State Committee of Forensic  
Examinations of the Republic of Belarus in the Vitebsk region, Vitebsk, Belarus  
elena.danch@gmail.com*

**Annotation.** This article discusses the use of biochemical studies in the production of forensic medical examinations, their significance, factors affecting the

*results, as well as prospects for the development of this field of forensic medical examination. Biochemical studies are used in forensic medicine to detect the presence of diseases or metabolic disorders present before the death. However, when interpreting the results obtained, it is necessary to take into account factors that may distort the results obtained. These include: the place of blood sampling, the time between death and autopsy, the presence of hemolysis, changes in blood properties, the influence of postmortem processes on biochemical parameters. To neutralize the influence of these factors, it is recommended to use, in addition to blood, other biological fluids that are characterized by greater stability of metabolic parameters (vitreous, cerebrospinal fluid, pericardial fluid), as well as to determine specific biochemical markers for various pathologies.*

**Keywords:** *forensic biochemistry; forensic medical examination; blood serum; biochemical parameters*

Судебная биохимия относится к одной из развивающихся технологий при проведении судебных медицинских экспертиз. В 1993 году Сое опубликовал статью «Postmortem Chemistry Update: Emphasis on Forensic Application», в которой обобщил имеющиеся данные по судебной биохимии за предыдущие 15 лет [1]. Сое определил судебную биохимию как «одну из наиболее важных вспомогательных процедур для судебного патолога». Maeda и соавт. дали следующее определение судебной (постмортальной) биохимии: «Главная цель использования постмортальной биохимии и молекулярной биологии – исследование систематических патофизиологических изменений, которые обычно не определяются морфологическими методами. Эти изменения могут быть названы «pathophysiological vital reactions». Данные методы могут использоваться для подтверждения патологических признаков путем «визуализации» функциональных изменений, необходимы для патогномичной оценки причины смерти и процесса умирания и являются частью рутинных лабораторных исследований...» [2].

В Республике Беларусь биохимические исследования в судебной медицине начали выполняться более 20 лет назад с определения небольшого количества параметров — концентрации глюкозы, мочевины, креатинина и активности холинэстеразы. Сейчас спектр определяемых биохимических показателей значительно расширен и биохимические исследования выполняются во всех областных отделах судебно-химических экспертиз.

Основная цель биохимических исследований в судебной медицинской практике заключается в установлении наличия заболевания, которое могло стать непосредственной причиной смерти или способствовать ее наступлению, а также нарушений метаболизма, имеющих накануне наступления смерти. Роль

биохимических исследований в судебной медицине возрастает в случаях, когда отсутствуют видимые макроскопические и микроскопические изменения.

Значимость биохимических исследований в судебной медицине нередко подвергается сомнению. Это обусловлено, прежде всего, пониманием того, что на получаемые результаты оказывают влияние различные факторы. К ним относятся: 1) изменение свойств крови после наступления смерти (гемолиз, сгущение), что делает невозможным определение некоторых показателей метаболизма (билирубин, активность ферментов и др.); 2) различные значения биохимических параметров в разных отделах кровеносной системы (правое и левое сердце, периферическая кровь); 3) влияние посмертных процессов (снижение рН среды, повышение проницаемости мембран, протеолиз, перераспределение жидкости и др.) на концентрацию некоторых метаболитов (например, креатинина, активность ферментов); 4) зависимость уровня метаболитов от продолжительности посмертного периода. Одна из основных проблем в судебной медицине — это определение референтных значений биохимических показателей. Эта проблема остается не до конца решенной, что обусловлено сложностью определения выборки для определения норм и влиянием продолжительности агонального и посмертного периода на биохимические показатели. Для некоторых биохимических показателей (мочевина, креатинин, мочевая кислота, общий белок, альбумин, билирубин) используются те же референтные значения, что и в клинической практике. Эти константы метаболизма характеризуются достаточной стабильностью и практически не подвержены влиянию вышеуказанных факторов [3].

Основным объектом при производстве судебных биохимических экспертиз является кровь. Однако, как было выше сказано, кровь относится к достаточно нестабильным объектам, что обусловлено влиянием многих факторов на ее физическое состояние и показатели метаболизма. Поэтому в последние годы в практике судебной медицинской экспертизы для определения биохимических параметров используются другие биологические жидкости: стекловидное тело, перикардальная жидкость, спинномозговая жидкость. Стекловидное тело идеально подходит для выполнения биохимических исследований, т.к. оно относительно изолировано от других жидкостей организма, менее подвержено влиянию изменений водного баланса организма и более устойчиво к гнилостным процессам [4]. Однако, в стекловидном теле возможно определение небольшого количества биохимических показателей — глюкозы, мочевины, креатинина, хлоридов, натрия, а также этилового алкоголя [5]. Перикардальная жидкость — наиболее подходящий объект для определения специфических маркеров повреждения миокарда — тропонина I, миоглобина и креатинкиназы МВ, поскольку их концентрация в крови меняется

непредсказуемо, и оценить их истинное повышение от посмертных изменений не представляется возможным.

С точки зрения технических возможностей, выполнение рутинных биохимических исследований не представляет сложностей. Методы, используемые для рутинных биохимических исследований биологических жидкостей (кровь, моча) аналогичны методам, используемым в клинической лабораторной диагностике с использованием стандартных диагностических наборов [6] и стандартного оборудования любой химической или биохимической лаборатории.

Наибольшую информативную значимость биохимические исследования имеют для диагностики сахарного диабета (глюкоза в крови и стекловидном теле, гликозилированный гемоглобин), диабетического и алкогольного кетоацидозов ( $\beta$ -гидроксибутират), патологии почек (мочевина, креатинин, мочевая кислота) и печени (общий белок, альбумин, билирубин).

Тем не менее, следует отметить, что рутинные биохимические показатели не являются строго специфичными для поражения только одного определенного органа или ткани. Поэтому результаты биохимических исследований следует рассматривать только в совокупности с результатами других лабораторных (в частности, гистологических) исследований, данных анамнеза и результатов вскрытия.

В последнее десятилетия оценивается судебное-медицинское значения определения более специфичных биохимических маркеров: С-реактивного белка как маркера длительного воспалительного процесса до смерти, тиреоглобулина для постмортальной диагностики внешней компрессии шеи; электролитов – для диагностики ишемических нарушений миокарда. Для судебно-медицинской диагностики ценным может оказаться определение некоторых гормонов, особенно биогенных аминов, появление большого количества которых в период агонии характерно для некоторых видов смерти, в частности от удушья. Однако определение таких показателей имеет скорее научный интерес. Внедрение методик определения специфических биохимических маркеров экономически и технически нецелесообразно, поскольку потребность в их определении возникает нечасто, но требует наличия специфического оборудования и дорогостоящих реактивов.

Тем не менее, несмотря на существующие трудности и ограничения, судебно-биохимическое исследование трупной крови и тканей возможно и актуально, а результаты судебно-биохимической экспертизы должны использоваться в комплексной оценке причины смерти. Дальнейшее развитие исследований в этой области должно идти по направлению поиска

специфических биохимических тестов для различных патологических состояний и более широкого использования тканей для оценки метаболизма.

### **Список литературы:**

1. Coe, J.I. Postmortem chemistry update. Emphasis on forensic application / J.I. Coe // *Am. J. Forensic Med. Pathol.* – 1993. – Vol. 14. – P. 91-117.

2. Maeda, H. Forensic biochemistry for functional investigation of death: concept and practical application / H. Maeda, T. Ishikawa, T. Michiue // *Leg. Med. (Tokyo)*. – 2011. – Vol. 13. – P. 55-67.

3. Данченко, Е.О. Значимость определения концентрации мочевины, креатинина и мочевой кислоты в биологических жидкостях трупов / Е.О. Данченко // *Судебная экспертиза Беларуси*. – 2020. - № 2(11). – С. 70-76.

4. Martinis, V. S. De. Alcohol distribution in different postmortem body fluids / V. S. De Martinis // *Hum Exp. Toxicol.* – 2006. – Vol. 25. – P. 93-97.

5. Данченко, Е.О. Стекловидное тело как объект судебно-биохимических экспертиз / Е.О. Данченко, А.М. Тетюев // *Вопросы криминологии, криминалистики и судебной экспертизы: сб. науч. тр. / Государственное учреждение «Научно-практический центр государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь*. – Минск, 2015. – С. 156-163.

6. Методы клинических и лабораторных исследований: учебник / В.С. Камышников [и др.]; под ред. В.С. Камышникова – 2-е изд. – Мн.: Бел.наука, 2003. – 775 с.

## БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ У ПАЦИЕНТОВ С КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

**Девина Е. А.**

кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологической химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь  
devinal@mail.ru

**Ванда А. С.**

ассистент кафедры медицинской реабилитации и физиотерапии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь  
medreab@bsmi.by

**Малькевич Л. А.**

кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой медицинской реабилитации и физиотерапии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь  
medreab@bsmi.by

**Осипова И. С.**

студентка 3 курса лечебного факультета учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь

**Аннотация.** Выявлена особенность изменений биохимических показателей крови у пациентов с коронавирусной инфекцией. Дана оценка функционального состояния печени в различные периоды заболевания COVID-19. У пациентов с коронавирусной инфекцией в крови обнаружено увеличение уровня фибриногена, D-димеров, С-реактивного белка. Активность щелочной фосфатазы, уровень общего билирубина, мочевины не изменяется и находится в пределах нормы. Активность аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы изменяется в зависимости от срока заболевания.

**Ключевые слова:** коронавирусная инфекция; печень; биохимические показатели

## BIOCHEMICAL PARAMETERS OF THE FUNCTIONAL STATE OF THE LIVER IN PATIENTS WITH CORONAVIRUS INFECTION

**Devina E.A.**

*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of biochemistry of the Educational Institution "Belarusian State Medical University",  
Minsk, Belarus,  
devinal@mail.ru*

**Vanda A.S.**

*Assistant of the Department of Medical Rehabilitation and Physiotherapy of the Educational Institution "Belarusian State Medical University", Minsk, Belarus  
medreab@bsmu.by*

**Malkevich L.A.**

*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Medical Rehabilitation and Physiotherapy of the Educational Institution "Belarusian State Medical University", Minsk, Belarus  
medreab@bsmu.by*

**Osipova I.S.**

*3rd year student of the medical faculty of the educational institution "Belarusian State Medical University", Minsk, Belarus*

**Annotation.** *A feature of changes in blood biochemical parameters in patients with coronavirus infection was revealed. An assessment of the functional state of the liver in various periods of COVID-19 disease was given. In patients with coronavirus infection, an increase in the level of fibrinogen, D-dimers and C-reactive protein was found in the blood. The activity of alkaline phosphatase, the level of total bilirubin, urea does not change and is within the normal range. The activity of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase varies depending on the duration of the disease.*

**Keywords:** *coronavirus infection; liver; biochemical indicators*

Биохимический анализ крови относится к дополнительной лабораторной диагностике COVID-19. Несмотря на то, что COVID-19 является, преимущественно, инфекцией дыхательных путей, новые данные указывают на то, что его следует рассматривать как системное заболевание, затрагивающее сердечно-сосудистую, иммунную и пищеварительную системы.

Одна из выявленных особенностей течения COVID-19 – это повышение в сыворотке крови активности трансаминаз (аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы), что, по мнению некоторых авторов, отражает повреждение клеток печени вирусом SARS-CoV-2 [1]. Однако на сегодняшний день причины и молекулярный механизм повреждения печени при коронавирусной инфекции не известны. Полагаем, что мониторинг функционального состояния печени у пациентов в различные периоды

заболевания COVID-19 при помощи биохимических маркеров поможет внести вклад в изучение этой проблемы.

Целью нашего исследования стал мониторинг изменений биохимических маркеров, отражающих функциональное состояние печени у пациентов с коронавирусной инфекцией в различные периоды заболевания.

**Материалы и методы.** Исследовали сыворотку крови 76 пациентов (из них 48% мужчин и 52% женщин), средний возраст – 54 года, находившихся на лечении в инфекционном отделении УЗ «4-я городская клиническая больница им. Н.Е. Савченко». ПЦР-тест подтвердил инфицирование SARS-CoV-2. В сыворотке крови в динамике (5, 14 и 21 сутки) от начала заболевания оценивали уровень билирубина, мочевины, общего и С-реактивного белка (СРБ), фибриногена, активность щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ). Измерения проводились на биохимическом анализаторе ACL TOP 300. Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica10.0. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха, различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Мы обнаружили, что у пациентов с коронавирусной инфекцией (среднее и среднетяжелое течение) на 5 день заболевания в крови повышается уровень С-реактивного белка, фибриногена и продуктов его деградации — D-димеров. Содержание фибриногена в крови составило 5,87 (4,9-6,8 г/л); D-димеров – 352,6 (155,0-425,0 нг/мл), С-реактивного белка – 50,6 мг/л,  $p < 0,05$ .

Фибриноген - белок плазмы крови. При активации системы свёртывания крови фибриноген подвергается ферментативному расщеплению тромбином с образованием нитей фибрина, которые формируют тромб. Как известно, одним из характерных проявлений COVID-19 являются нарушения в системе гемостаза, приводящие к тромбозу [2]. Однако фибриноген не только участвует в процессе свертывания крови, но, и как СРБ является неспецифическим маркером активного воспаления [3]. Оба этих белка синтезируются в печени.

Полагают, что повреждение гепатоцитов связано с воздействием S-белка вируса SARS-CoV-2 на мембранные рецепторы ангиотензинпревращающего фермента (ACE-2), которые экспрессируются на мембране большинства клеток, в их числе, эндотелий сосудов и эпителий слизистой кишечника, клетки печени, канальцев почек, бронхов [4]. Проникновение вируса SARS-CoV-2 в клетку инициирует каскад реакций с выбросом значительного количества провоспалительных цитокинов. Гиперактивация иммунного пути и воспаление, связанные с цитокиновым штормом при инфекции SARS-CoV-2, могут



повредить клетки кишечника и печени через Т-клетки Th17 и CD8 и активацию воспалительных реакций [5].

Кроме того, провоспалительные цитокины (интерлейкин-1, интерлейкин-6, фактор некроза опухоли и др.) способны активировать синтез С-реактивного белка, фибриногена, что и приводит к повышению их уровня в крови. На это указывают обнаруженные нами ранее и сейчас, повышенные концентрации маркеров воспаления (С-реактивного белка, фибриногена, D-димеров).

В литературе дискутируются различные предполагаемые механизмы повреждения печени при коронавирусной инфекции.

Уровень билирубина, мочевины, активность АЛТ, АСТ, щелочной фосфатазы у 95,1 % обследуемых нами пациентов на 5 день заболевания был в пределах возрастных референтных значений. Только у 4,9% пациентов были выявлены отклонения от нормы функциональных тестов печени.

На 14 день заболевания у 69,6% пациентов в сыворотке крови отмечалась повышенная активность АСТ и АЛТ. Увеличение активности данных ферментов в плазме крови свидетельствует о повреждении мембран гепатоцитов, вплоть до их полного разрушения.

Ряд авторов наблюдали такую же тенденцию у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, при этом повышенная активность АСТ отмечалась чаще, чем АЛТ. Мы обнаружили обратную закономерность: активность АЛТ была увеличена в 6 раз и составила (198,2:167,5-268,4 Ед/л), а активность АСТ в 2,3 раза, составив (70,8: 56,2 - 98,7) Ед/л.

Можно предположить токсическое воздействие на гепатоциты лекарственных препаратов, применяемых для лечения коронавирусной инфекции. Было показано, что при приеме внутрь в больших дозах ацетаминофен (парацетомол) может быть токсичным. С помощью изофермента цитохрома P450 из ацетаминофена образуется токсичное промежуточное соединение N-ацетил-п-бензохинонимин (NAPQI) — опасный и нестабильный метаболит, способный повреждать клеточные белки и приводить к гибели гепатоцита.

Со временем активность АСТ, АЛТ в крови постепенно снижалась, но активность АЛТ оставалась повышенной, вплоть до 21 дня от начала заболевания, в то время как, активность АСТ возвращалась к норме. Снижение уровня С-реактивного белка отмечалось на 10 день заболевания (медиана 17,52 мг/л). Активность щелочной фосфатазы, концентрация общего билирубина 11,7 (9,5–13,9) мкмоль/л, мочевины не изменялись и были в пределах нормы в течение наблюдаемого периода (с 5 по 21 день заболевания). Не обнаружили мы и достоверного снижения концентрации общего белка. Однако ряд исследователей сообщает о нарушении белоксинтезирующей функции печени при тяжелой

форме коронавирусной инфекции - гипоальбуминемии (уровень альбумина составил 30,4 г/л). Даже при летальных исходах заболевания печеночная недостаточность не наблюдалась. В нескольких исследованиях сообщалось, что тяжелые случаи ковид-19 чаще сопровождались тяжелым поражением печени по сравнению с легкими случаями.

Обнаруженные нами данные свидетельствуют о вовлечении клеток печени в патологический процесс при коронавирусной инфекции. Это ставит перед специалистами системы здравоохранения задачи, связанные не только с быстрой диагностикой и лечением, но и оказанием качественной медицинской помощи, включающей реабилитационные мероприятия после и во время заболевания. Объем назначаемых средств медицинской реабилитации при новой коронавирусной инфекции, определяется тяжестью течения инфекции и состоянием пациента с учетом степени поражения легких, и/или наличием у него развившихся осложнений и сопутствующих заболеваний.

### **Выводы.**

1. У пациентов с коронавирусной инфекцией (среднее и среднетяжелое течение) в 69,7% случаях изменяются биохимические показатели крови (увеличивается концентрация С-реактивного белка, фибриногена, D-димеров, возрастает активность аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы. Это свидетельствует о вовлечении печени в патологический процесс.

2. Изменения функционального состояния печени при коронавирусной инфекции (среднее и среднетяжелое течение) носят временной характер.

### **Список литературы**

1. Galanopoulos M, Gkeros F, et al. COVID-19 pandemic: Pathophysiology and manifestations from the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol.* – 2020; P. 4579 – 4588.

2. Miesbach W, Makris M. COVID-19: Coagulopathy, Risk of Thrombosis, and the Rationale for Anticoagulation. *Clin Appl ThrombHemost.* – 2020. doi: 10.1177/1076029620938149

3. Stringer D., Braude P., Myint P. K. et al. The role of C-reactive protein as a prognostic marker in COVID-19. *International Journal of Epidemiology*, Vol. 50 (2). – 2021, P. 420–429.

4. Jiandong Shi, Jing Sun. Enteric involvement of SARS-CoV-2: Implications for the COVID-19 management, transmission, and infection control. *Virulence.* – 2020; 11(1), P. 941–944.

4. Chai X., Hu L., Zhang Y., Han W., Lu Z., Ke A. Specific ACE2 expression in cholangiocytes may cause liver damage after 2019-nCoV infection. *bioRxiv.* 2020 doi: 10.1101/2020.02.03.931766.

5. Xu L, Liu J, Lu M, Yang D, Zheng X. Liver injury during highly pathogenic human coronavirus infections. *Liver Int.* – 2020; 40, P. 998–1004.

## ИЗМЕНЕНИЕ ХЕМОТАКСИСА СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ ПОД ВЛИЯНИЕМ НОРТРИПТИЛИНА

**Кадушкин А. Г.**

кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры биологической химии, учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь  
kadushkinah@bsmu.by;

**Таганович А. Д.**

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биологической химии, учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь  
taganovich@bsmu.by;

**Колесникова Т. С.**

старший научный сотрудник, учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь  
tanyakolesnikova@list.ru;

**Ходосовская Е. В.**

старший научный сотрудник, учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь  
leno4ka\_579@mail.ru

**Аннотация.** Влияние нортриптилина (1 и 10 мкМ), будесонида (10 нМ) и их комбинации на миграцию субпопуляций лимфоцитов крови пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) к хемокинам CCL5 и CXCL10 изучено с помощью метода проточной цитометрии. Нортриптилин (10 мкМ), самостоятельно и в сочетании с будесонидом, подавлял миграцию к CCL5 и CXCL10 Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов, NK-клеток и В-лимфоцитов. Сочетание нортриптилина (1 мкМ) и будесонида превосходило способность одного будесонида подавлять хемотаксис субпопуляций лимфоцитов к CXCL10, но не к CCL5. Комбинация нортриптилина (10 мкМ) и будесонида супрессировала миграцию к обоим хемокинам субпопуляций лимфоцитов более значительно, чем один будесонид. Результаты исследования демонстрируют способность нортриптилина потенцировать эффекты будесонида в отношении миграции субпопуляций лимфоцитов периферической крови пациентов с ХОБЛ.

**Ключевые слова:** нортриптилин; ХОБЛ; хемотаксис; CCL5; CXCL10

**EFFECT OF NORTRIPTYLINE ON THE CHEMOTAXIS OF BLOOD LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE**

**Kadushkin A. G.**

*PhD (Medicine), Associate Professor, Associate Professor of Biological Chemistry Department, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus  
kadushkinah@bsmu.by;*

**Tahanovich A. D.**

*PhD, MD (Medicine), Professor, Head of Biological Chemistry Department, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus  
taganovich@bsmu.by;*

**Kolesnikova T. S.**

*Senior Researcher, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus  
tanyakolesnikova@list.ru;*

**Khadouskaya E. V.**

*Senior Researcher, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus  
leno4ka\_579@mail.ru*

**Annotation.** *The effect of nortriptyline (1 and 10  $\mu$ M), budesonide (10 nM), and their combinations on the migration of blood lymphocyte subpopulations from patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) to chemokines CCL5 and CXCL10 was studied using flow cytometry. Nortriptyline (10  $\mu$ M), alone and in combination with budesonide, inhibited the migration of T-helper cells, cytotoxic T-lymphocytes, NK-cells and B-lymphocytes to CCL5 and CXCL10. The combination of nortriptyline (1  $\mu$ M) and budesonide was superior to the ability of budesonide alone to suppress the chemotaxis of lymphocyte subpopulations to CXCL10, but not to CCL5. The combination of nortriptyline (10  $\mu$ M) and budesonide suppressed the migration of lymphocyte subpopulations to both chemokines more significantly than budesonide alone. The results of the study demonstrate the ability of nortriptyline to potentiate the effects of budesonide in relation to the migration of peripheral blood lymphocyte subpopulations in patients with COPD.*

**Keywords:** *nortriptyline; COPD; chemotaxis; CCL5; CXCL10*

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является социально значимым заболеванием, что обусловлено ее высокой распространенностью, значительной инвалидностью и смертностью пациентов. Глобальная распространенность ХОБЛ среди лиц старше 40 лет составляет 13,1% [1]. Ежегодно это заболевание уносит жизни более 3 миллионов пациентов [2].

Нарастание выраженности воспалительной реакции у пациентов с ХОБЛ вовлекает моноциты/альвеолярные макрофаги (АМ), лимфоциты и нейтрофилы. Эти клетки играют определяющую роль в регуляции легочного и системного воспаления путем секреции хемокинов, цитокинов, факторов роста и протеаз. Вместе с тем они оказались резистентными к действию глюкокортикоидов, лекарственных средств с противовоспалительным механизмом действия [3].

Предпринимаются попытки повысить стероидочувствительность при наличии устойчивости к этой группе препаратов. Результаты экспериментальных исследований указывают на то, что трициклический антидепрессант нортриптилин может оказаться эффективным в преодолении стероидорезистентности [4]. Однако способность этого препарата потенцировать эффекты глюкокортикоидов, связанные с угнетением миграции субпопуляций лимфоцитов, ранее не изучалась.

Целью исследования явилось оценить способность комбинации нортриптилина и будесонида влиять на перемещение субпопуляций лимфоцитов крови пациентов с ХОБЛ к хемокинам CCL5 и CXCL10.

В исследовании приняли участие 8 пациентов с ХОБЛ (6 мужчин и 2 женщины) со стабильным течением заболевания, II-III степенью тяжести (в соответствии с критериями GOLD, Глобальной инициативы по хронической обструктивной болезни легких) и индексом курящего человека более 10 пачка/лет. Возраст обследованных лиц составил 61,5 (59,0–68,3) лет. Из исследования исключались пациенты с другими хроническими заболеваниями бронхолегочной системы, онкологическими и аутоиммунными заболеваниями, нарушениями свертывающей системы крови, а также пациенты, принимавшие системные глюкокортикоиды последние 6 недель до проведения исследования.

Венозную кровь у пациентов забирали утром натощак в объеме 15 мл в пробирку, содержащую гепарин натрия в качестве антикоагулянта. Мононуклеарные клетки периферической крови выделяли из периферической крови путем центрифугирования в градиенте плотности 1,077, используя раствор Lymphopure (Biolegend, США). Клетки ресуспендировали в концентрации  $1 \times 10^6$ /мл в культуральной среде RPMI 1640 (Gibco, США) с добавлением 1% фетальной телячьей сыворотки (ФТС, Capricorn Scientific, Германия).

В чистые пробирки помещали 1 мл суспензии клеток ( $1 \times 10^6$  мононуклеарных клеток крови) и инкубировали с глюкокортикоидом будесонидом (10 нМ) (Glentham Life Sciences Ltd, Великобритания), трициклическим антидепрессантом нортриптилином (1 и 10 мкМ) (Sigma-Aldrich, США), или их сочетанием в увлажненной 5% CO<sub>2</sub> при 37°C. Через 1 час 100 мкл суспензии клеток переносили в верхние камеры планшета с порами диаметром 5 мкм (Costar Corning, США). В нижние камеры планшета добавляли

600 мкл хемотаксического буфера, состоящего из культуральной среды RPMI 1640, обогащенной 1% ФТС и хемокинами CCL5 (10 нМ, R&D systems, США) или CXCL10 (10 нМ, Gibco, США). Планшеты инкубировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. По окончании 2 часов клетки, мигрировавшие в нижнюю камеру, собирали, отмывали при помощи фосфатного солевого буфера (ФСБ, Cell Wash, BD Biosciences, Польша) и ресуспендировали в ФСБ. Вносили моноклональные антитела CD3-FITC / CD19-ECD / CD4-PerCP-Cy5.5 / CD56-PC7 / CD8-APC / CD45-APC Alexa Fluor 750 (Beckman Coulter, Франция; Exbio, Чехия; BD Biosciences, США), после чего клетки инкубировали в темноте в течение 20 минут при температуре 4°C. Затем клетки отмывали при помощи 3 мл ФСБ, содержащего 0,2% бычий сывороточный альбумин (BD Biosciences, США), и фиксировали путем добавления 300 мкл 1% раствора параформальдегида. На проточном цитометре Navios (Beckman Coulter, США), настроенном на среднюю скорость потока клеток, в течение 100 секунд подсчитывали количество клеток.

Для анализа образцов использовали программное обеспечение Kaluza (Beckman Coulter). Т-хелперы идентифицировали как CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> клетки, цитотоксические Т-лимфоциты – CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, В-лимфоциты – CD45<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>, НК-клетки – CD45<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>.

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программы GraphPad Prism версия 7.00 (GraphPad Software, США). Оценку результатов исследования проводили методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим апостериорным попарным сравнением показателей с помощью критерия Тьюки. При всех видах статистического анализа критическое значение уровня значимости принимали как равное 5%.

В настоящей работе будесонид подавлял миграцию к CCL5 цитотоксических Т-лимфоцитов, НК-клеток и В-лимфоцитов, а к CXCL10 – НК-клеток и В-лимфоцитов, но не влиял на перемещение цитотоксических Т-лимфоцитов к CXCL10 и Т-хелперов к CCL5 и CXCL10 (таблица).

Таблица – Влияние нортриптилина и будесонида на хемотаксис субпопуляций лимфоцитов крови пациентов с ХОБЛ в направлении CCL5 и CXCL10

Тип клеток	Контроль	Буд	Нт 1 мкМ	Нт 10 мкМ	Буд + Нт 1 мкМ	Буд + Нт 10 мкМ
% клеток, мигрировавших к CCL5						
Тх	100,0±0,0	81,6±7,0	76,5±5,4* <sup>#</sup>	38,4±6,6* <sup>♦</sup>	64,7±8,1*	35,4±6,1* <sup>♦</sup>
ЦТЛ	100,0±0,0	76,6±5,8*	80,7±3,4* <sup>#</sup>	34,4±3,7* <sup>♦</sup>	72,0±6,6* <sup>β</sup>	27,4±3,5* <sup>♦#</sup>
НК	100,0±0,0	70,3±5,9*	73,0±6,7* <sup>#</sup>	21,5±1,5* <sup>♦</sup>	50,4±7,0* <sup>β</sup>	12,1±1,0* <sup>♦#</sup>
В-лимф.	100,0±0,0	67,4±5,9*	53,5±6,2*	37,5±4,2* <sup>♦</sup>	45,0±6,1*	25,7±4,3* <sup>♦</sup>

% клеток, мигрировавших к CXCL10						
Тх	100,0±0,0	96,9±10,4	70,1±4,9* <sup>#</sup>	35,7±4,2* <sup>♦</sup>	58,8±5,4* <sup>♦β</sup>	35,2±5,7* <sup>♦</sup>
ЦТЛ	100,0±0,0	87,3±8,7	80,5±6,7 <sup>#</sup>	24,5±6,0* <sup>♦</sup>	49,5±4,7* <sup>♦§β</sup>	24,2±5,0* <sup>♦</sup>
НК	100,0±0,0	81,8±4,5*	80,2±3,5* <sup>#</sup>	20,4±1,4* <sup>♦</sup>	62,2±3,5* <sup>♦§β</sup>	13,3±1,6* <sup>♦#</sup>
В-лимф.	100,0±0,0	76,1±6,0*	64,2±6,5* <sup>#</sup>	26,2±5,6* <sup>♦</sup>	34,9±3,7* <sup>♦§</sup>	17,9±3,0* <sup>♦</sup>

Примечание: Буд – будесонид (10 нМ), В-лимф. – В-лимфоциты; Нт – нортриптилин, Тх – Т-хелперы, ЦТЛ – цитотоксические Т-лимфоциты. Результаты представлены в виде среднего ± стандартная ошибка среднего; n=8. \* – p<0,05 по сравнению с контролем (клетками крови с хемокином, но без лекарственных средств); ♦ – p<0,05 по сравнению с Буд 10 нМ; # – p<0,05 по сравнению с Нт 10 мкМ; § – p<0,05 по сравнению с Нт 1 мкМ; β – p<0,05 по сравнению с Буд 10 нМ + Нт 10 мкМ.

В концентрации 1 мкМ нортриптилин снижал хемотаксис к CXCL10 Т-хелперов, НК-клеток и В-лимфоцитов, а к CCL5 – Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов, НК-клеток и В-лимфоцитов, но не изменял перемещение цитотоксических Т-лимфоцитов к CXCL10. Комбинация этого препарата (1 мкМ) с будесонидом более существенно, чем один будесонид, подавляла миграцию к CXCL10 субпопуляций лимфоцитов. В концентрации 10 мкМ нортриптилин, самостоятельно и в сочетании с будесонидом, ингибировал миграцию к CCL5 и CXCL10 Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов, НК-клеток и В-лимфоцитов. Комбинация нортриптилина (10 мкМ) и будесонида обладала более выраженным ингибирующим действием на миграцию субпопуляций лимфоцитов крови к CCL5 и CXCL10, чем один будесонид.

#### Список литературы

1. Geographic distribution of COPD prevalence in the world displayed by Geographic Information System maps / I. Blanco [et al.] // Eur. Respir. J. – 2019. – Vol. 54, № 1 (1900610). – P. 1–3.
2. Triple Therapy in COPD: Can We Welcome the Reduction in Cardiovascular Risk and Mortality? / P. Solidoro [et al.] // Front. Med. – 2022. – Vol. 9, № 816843. – P. 1–9.
3. Role of inflammatory cells in airway remodeling in COPD / Y. Wang [et al.] // Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. – 2018. – Vol. 13. – P. 3341–3348.
4. Nortriptyline enhances corticosteroid sensitivity of blood T cells from patients with chronic obstructive pulmonary disease / A. Kadushkin [et al.] // J. Physiol. Pharmacol. – 2021. – Vol. 72, № 5. – P. 793–805.



**СТАНОВЛЕНИЕ МИНСКОЙ ШКОЛЫ СПЕЦИАЛИСТОВ  
КЛИНИЧЕСКОЙ ХИМИИ: ВКЛАД В ЕЕ ФОРМИРОВАНИЕ  
ДЕЯТЕЛЬНОСТИ КАФЕДР МЕДИЦИНСКОГО ФАКУЛЬТЕТА БГУ,  
МГМИ и БелМАПО**

***Камышников В. С.***

*доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики  
Белорусской медицинской академии последипломного образования, г.Минск*

***Аннотация.** В статье дано основное представление о вкладе белорусских ученых в становление клинической биохимии как одного из основных разделов специальности «клиническая лабораторная диагностика». Отражена роль в этом процессе «великих медиков» - первых заведующих кафедрами клинического профиля медицинского факультета БГУ, Минского государственного медицинского института и Белорусской медицинской академии последипломного образования, а также белорусских ученых-биохимиков в становлении клинической биохимии.*

**FORMATION OF THE MINSK SCHOOL OF CLINICAL CHEMISTRY  
SPECIALISTS: CONTRIBUTION TO ITS FORMATION OF THE ACTIVITIES  
OF THE DEPARTMENTS OF MEDICAL FACULTY OF BSU, MGMI AND  
BelMAPO**

***Kamyshnikov V.S.***

*Doctor of Medical Sciences, Professor,  
Head of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Belarusian  
Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk*

***Annotation.** The article gives a basic idea of the contribution of Belarusian scientists to the development of clinical biochemistry as one of the main sections of the specialty “clinical laboratory diagnostics”. The role of “great doctors” in this process is reflected - the first heads of clinical departments of the Faculty of Medicine of the BSU, Minsk State Medical Institute and the Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, as well as Belarusian biochemist scientists in the development of clinical biochemistry.*

В лабораторной практике медицинских учреждений Республики Беларусь на долю выполнения клинико-биохимических исследований приходится 20-25

млн. анализов в год. С учетом этого обстоятельства, а также значимости патохимических изменений в организме для формирования наследственно обусловленных и приобретенных заболеваний, клиническая биохимия по праву рассматривается как фундаментальная основа лабораторной медицины.

С самого начала утверждения в Республике Беларусь советской власти Минским губернским отделом здравоохранения уделялось весьма большое внимание становлению и дальнейшему совершенствованию деятельности службы клинической лабораторной диагностики. Так, сразу же после освобождения г. Минска от интервентов (1920 г.) на основании первого его приказа (№ I от 12 августа 1920 г.) выполнение обязанностей по производству биохимических и других лабораторных анализов было возложено на Пастеровскую станцию, остро заразную больницу и 1-ую губернскую больницу. В тот период времени – разрухи, эпидемий, распространения туберкулеза и венерических заболеваний – малочисленными лабораториями выполнялся лишь минимальный объем и спектр лабораторных, в том числе, клинко-биохимических исследований, что весьма неблагоприятно сказывалось на постановке уточненного клинического диагноза пациентам лечебно-профилактических учреждений. В устранении сложившейся неблагоприятной ситуации особенно важной оказалась миссия первых руководителей (профессоров и доцентов) кафедр клинического профиля, состоящая в создании при них биохимических групп, на которые возлагалось освоение и внедрение в клинко-лабораторную практику необходимых (по мнению преподавателей клинических кафедр) методов клинко-биохимического исследования пациентов. В этом отношении особенно значимой оказалась деятельность «великих медиков»: первого заведующего кафедрой госпитальной терапии медицинского факультета БГУ (1924 – 1930) и Белорусского (Минского) медицинского института (1930 – 1941) академика АН БССР (1933), доктора медицинских наук, профессора, заслуженного деятеля науки БССР Гаусмана Федора Оскаровича (1968 – 1944) и первого заведующего кафедрой факультетской терапии медицинского факультета БГУ (1922 – 1930) и Белорусского (Минского) медицинского института (1930 – 1941) член-корреспондента АН БССР доктора медицинских наук, профессора, заслуженного деятеля науки Мелких Сергея Михеевича (1877 – 1952).

Профессор Гаусман Ф.О., явившийся основателем госпитальной терапевтической клиники медицинского факультета БГУ, вырабатывал у учеников стремление к объективизации диагноза на основании широкого использования методов клинической химии. Работая в 1901 г. в г. Орел, он использовал домашнюю лабораторию, где им были разработаны: проба на билирубин в моче, микроскопическая реакция на крахмал в пустом желудке,

метод обнаружения палочек Коха. В г. Тула Гаусман Ф.О., будучи врачом-терапевтом, заведовал химико-бактериологической (клинико-диагностической) лабораторией в губернской земской больнице. В минский же период времени он занимался методикой исследования желчи.

Профессор Мелких С.М., будучи врачом-клиницистом, открыл в 1-й Советской больнице г. Минска клиническую и люминесцентную лаборатории. Опыт их деятельности был отражен в статьях, опубликованных в журнале «Архив патологии и клинической медицины»: «Клиническое значение криоскопии мочи» и «Применение люминесцентного метода исследования мочи для диагностики злокачественных опухолей». Широко известный в стране и далеко за ее пределами врач-педиатр, академик АН БССР, доктор медицинских наук, профессор заслуженный деятель науки БССР, Леонов В.А. (1889-1972), будучи первым заведующим кафедрой детских болезней медицинского факультета БГУ (1924-1930) и Белорусского (Минского) медицинского института (1930-1941, 1943-1970), развил новое направление в лабораторной медицине – клиническую химию, состоявшую в использовании эмиссионного анализа для определения содержания микроэлементов в разных биологических объектах (волосах, сыворотке крови, моче и др.). Герой гражданской войны, академик АН БССР А. Я. Прокопчук, организовавший (1930) кафедру дерматовенерологии, в своей практической и научно-педагогической деятельности широко использовал клинико-биохимические и серологические методы исследования.

Активное участие этих и ряда других известных специалистов клинического профиля в решении вопросов лабораторно-диагностического исследования пациентов позволило полагать, что становление лабораторной медицины и, прежде всего, клинической биохимии приходится на 1922 г. – год создания медицинского факультета Белорусского государственного университета. Первые же этапы организации системы выполнения клинико-лабораторного исследования пациентов в больничных учреждениях БССР относятся к периоду начала 30-х годов прошлого столетия, когда после реорганизации медицинского факультета БГУ в 1930 г. в медицинский институт лабораторная база клиник расширилась и упрочилась, а сотрудники клинических кафедр стали уделять большое внимание внедрению в практику обследования пациентов современных, перспективных к использованию лабораторных методов исследования.

В послевоенный период времени биохимические группы были созданы и при ряде других кафедр МГМИ, в том числе, пропедевтики внутренних болезней (заведующий – академик И. Д. Мишенин), факультетской терапии (заведующий

– академик Б. И. Трусевич), психиатрии (заведующий – профессор М.А.Чалисов).

Существенный вклад в развитие клинической лабораторной диагностики внесли и белорусские ученые-биохимики - профессора А. П. Бестужев, Г. В. Дервиз, М. Ф. Мережинский, доцент В. А. Бандарин, академик Ю. М. Островский и многие другие.

Первый заведующий кафедрой фармакологии и биохимии медицинского факультета БГУ (1923-1930 гг.), выпускник Московского государственного университета, профессор А.П.Бестужев наряду с осуществлением образовательной деятельности выполнял клинико-биохимические исследования, посвященные выяснению механизмов развития отеков, действия на организм некоторых лекарственных растений, возбуждающего эффекта угольной кислоты. Заложенная им традиция была продолжена приглашенным в г.Минск на заведование кафедрой биохимии (с 1930 по 1933 гг.) а затем – общей химии Минского государственного медицинского института профессором Г.В.Дервизом (1897-1980), изучавшим систему гемостаза с использованием физико-химических методов исследования. Эта традиция сохранилась и в послевоенный период времени. Весьма ярко она проявилась с 1950 по 1970 гг. – в период руководства кафедрой профессором М. Ф. Мережинским (1906 – 1970). Выполняемые по его инициативе исследования были посвящены изучению метаболических реакций организма при разного повреждениях тканей разной этиологии, а также механизма действия и биологической роли витаминов, нарушений метаболизма при различных состояниях щитовидной железы и др.

В 1956 г. вышла книга проф. М. Ф. Мережинского «Клиническая биохимия» (Москва, 200 000 экз.), явившаяся первым отечественным руководством по этому важному разделу клинической лабораторной диагностики, в 1961 г. – книга профессоров Л. С. Черкасовой и М. Ф. Мережинского «Обмен жиров и липидов», в 1965 г. – М. Ф. Мережинского и Л.С.Черкасовой «Основы клинической биохимии» (Москва. Издательство «Медицина»), а также «Витамины и их участие в осуществлении процессов обмена веществ» (М. Ф. Мережинский, 1954), «Нарушения углеводного обмена при заболеваниях человека (М. Ф. Мережинский, 1967)

Весьма большой вклад в подготовку специалистов в области клинической химии (начиная со времени их обучения на первом и втором курсах пребывания в институте) был внесен кафедрой общей химии МГМИ, возглавлявшейся В. А. Бандариным (1909 – 1985). С 1946 г. на базе созданного при кафедре научного студенческого кружка систематически готовились будущие специалисты в области биохимии и лабораторной медицины. Среди них: академик НАН РБ, профессор Ю. М. Островский (Гродно); академик НАН Б профессор Е. Ф.

Конопля; заслуженный деятель науки Республики Беларусь профессор В. Г. Колб; профессор кафедры биохимии БГУ А. Н. Разумович; бывший заведующий кафедрой биохимии БГМУ заслуженный деятель науки Республики Беларусь, проф. В. К. Кухта; заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики БелМАПО, профессор В. С. Камышников; заведующий кафедрой биохимии БГМУ, профессор А. Д. Таганович, заведующий кафедрой общей химии БГМУ, лауреат Государственной премии – профессор Е. В. Барковский; профессор Е. П. Иванов; профессор кафедры биохимии БГМУ, лауреат Государственной премии Республики Беларусь, Т. С. Морозкина; профессор Л. Г. Барабанов – заведующий кафедрой дерматовенерологии БелМАПО; заведующий кафедрой детских инфекционных болезней – профессор А.А. Астапов; профессор Н. Н. Войтенко (специалист в области молекулярной гематологии) и многие другие.

Научные труды учеников В. А. Бандарина во многом способствовали созданию и широкому внедрению в медицинскую практику новых технологий клинико-биохимического лабораторно-диагностического исследования. Об этом, в частности, свидетельствуют защищенные в начале 70-х годов прошлого столетия диссертационные работы бывших студентов-кружковцев кафедры общей химии МГМИ: В. Н. Чумакова - «К биохимической характеристике острой и хронической коронарной недостаточности у больных атеросклерозом венечных артерий», А. Е. Ситкевич – «Некоторые показатели обмена биогенных аминов и меди у больных Витилиго до и после лечения допегитом».

Существенный вклад в развитие медико-биологических исследований при радиационных поражениях организма животных внес специалист с медицинским образованием, заведующий кафедрой биохимии БГУ, профессор А. Т. Пикулев. Результаты выполнявшихся им на протяжении 30 лет исследований биохимических сдвигов в центральной нервной системе под действием малых доз ионизирующего излучения приобрели особую актуальность в связи с происшедшей катастрофой на ЧАЭС.

В январе 1967 г. при МЗ БССР была введена должность главного внештатного специалиста республики по клинической лабораторной службе. Главным внештатным врачом-лаборантом республики был назначен руководитель биохимической лаборатории НИИ туберкулеза МЗ РБ, кандидат медицинских наук, В. Г. Колб.

3 декабря 1968 г. в г.Минске состоялась Учредительная конференция Республиканского научно-практического общества врачей-лаборантов, широко использующих в своей практической деятельности методы клинико-биохимического исследования.

В 1970 г. впервые в системе МЗ БССР была создана кафедра клинической лабораторной диагностики БелГИУВ, основателем которой явился доктор медицинских наук, профессор В. Г. Колб. Первые преподаватели кафедры – В. Г. Колб, В. С. Камышников, Е. П. Иванов – сформировались в научной школе доцента В.А. Бандарина, внесшего существенный вклад в подготовку специалистов по «связыванию» химии с медициной. В образовательном процессе кафедры клинической лабораторной диагностики нашел отражение опыт научно-практической деятельности его сотрудников – Е. П. Иванова по гемостазиологии (коагулологии) и В. С. Камышникова – по исследованию системы обмена биогенных аминов.

Со времени создания кафедры клинической лабораторной диагностики 20 апреля 1970 г. клиническая биохимия стала общепризнанным разделом клинической лабораторной диагностики, которая как медико-диагностическая специальность обладает:

- научным теоретическим базисом, позволяющим осмыслить обнаруживаемые изменения в аспекте их роли в патогенезе болезней (клиническая патобиология);
- методическим арсеналом, обеспечивающим доступ к изучению различных компонентов биологического материала (клиническая аналитика) и
- концептуальным аппаратом оценки диагностической значимости обнаруживаемых изменений (клинико-лабораторная информатика).

Клиническая биохимия как один из основных разделов специальности «клиническая лабораторная диагностика» включает в себя клиническую коагулологию, клиническую энзимологию, клиническую гормонологию, клиническую нейрохимию, клиническую химию тканевых регуляторов, клиническую витаминологию и ряд других.

Основным в советский период деятельности кафедры клинической лабораторной диагностики явилось использование, апробация и внедрение унифицированных клинико-лабораторных методов исследования. Их освоению и трактовке полученных результатов во многом способствовали вышедшие в свет руководства по клинической биохимии сотрудников кафедры БелГИУВ. Среди них «Клиническая биохимия» (В. Г. Колб, В. С. Камышников (1976, Беларусь, 42 000 экз.), «Справочник по клинической химии» В. Г. Колб, В. С. Камышников (1982, Беларусь, 30 000 экз.), «Диагностика нарушений гемостаза» (Е. П. Иванов. Мн.: Беларусь, 1983. – 222 с., ил. 12 000 экз.). В нем, в частности, отмечено, что начало выполнения исследований по коагулологии было положено доцентом В. А. Бандариным и его учениками с изучения третьей фракции свертывания крови, открытой советским гематологом И. И. Данилиным в 1943 г. В 1952—1962 гг. Ю. С. Сапун и Е. П. Иванов провели ряд исследований

по изучению механизма образования третьей фракции и созданию микрометодов определения ее величины. Для выполнения коагулологических исследований Е.П.Ивановым (1965) был разработан и внедрен в практику лабораторных исследований прибор гемокоагулометр, позволяющий определять семь факторов свертывания крови.

В становлении клинической коагулологии (как одного из разделов клинической биохимии) в БССР большую роль сыграли исследования, проведенные на кафедре терапии Минского государственного медицинского института, возглавлявшейся профессором Г. Х. Довгялло. Результаты исследований сотрудников кафедры были обобщены в вышедших в свет в 1960 и 1973 гг. книгах: «Практическое руководство по исследованию свертывающей системы крови в клинике», «Система гемостаза в норме и патологии» (Г. Х. Довгялло и В. Л. Крыжановский, 1969, 1973).

Многие вопросы клинико-биохимического исследования были обсуждены на 1-й республиканской конференции (1968) врачей-лаборантов и 1-м республиканском съезде врачей-лаборантов (1975), а также на проведенных в последующем других многочисленных конференциях, съездах и конгрессах по клинической лабораторной диагностике.

После распада СССР лабораторная медицина Беларуси продолжала развиваться на прочной платформе исторически сложившихся традиций и тесных творческих связей специалистов клинической лабораторной диагностики Белоруссии и России. Сохранилась и практика совместного участия ведущих специалистов в области лабораторной медицины, организаторов деятельности службы клинической лабораторной диагностики в проводимых в России и Белоруссии конференциях и съездах, в настоящее время – уже в рамках Союзного государства Россия-Беларусь.

### **Список литературы**

1. Камышников В.С. Медицинская биохимия как фундаментальная основа клинической лабораторной диагностики: направления ее развития в Республике Беларусь (краткий исторический экскурс). Современные проблемы биохимии = current problems in biochemistry : сб, науч. ст./ НАН Беларуси [и др.]; редкол.: Л.И.Надольник (гл. ред.) и [и др.]. – Гродно: ЮрСаПринт, 2016. – Ч. 1. с.127—133. – 340 с. (Сборник научных статей – Ч. 1)
2. Камышников В.С. Клиническая биохимия как междисциплинарная наука, интегрирующая направления фундаментальных и прикладных клико-лабораторных исследований.
3. Современные проблемы биохимии и молекулярной биологии : сборник статей II Белорусского биохимического конгресса (г.Гродно, 17-18 мая

2018 г.) / НАН Беларуси; РНИКУП «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси»; под общ. ред. И.Н.Семенени, А.Г.Мойсеенка. – Минск : ИВЦ Минфина, 2018, стр. 188 – 194, всего 705 с.

4. Камышников В.С. История развития лабораторной медицины в Республике Беларусь. Международный научно-практический журнал «Лабораторная диагностика. Восточная Европа», 2018, Том 7 №2, стр159-170.

5. Становление лабораторной медицины в Республике Беларусь / В.С.Камышников. – Минск.: БелМАПО, 2021. – 177 стр.



**ВЛИЯНИЕ СРЕДСТВ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА СДВИГИ  
ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО БАЛАНСА В ПЕЧЕНИ  
КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

**Канунникова Н.П.,**

*доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры технологии,  
физиологии и гигиены питания учреждения образования «Гродненский  
государственный университет имени Я.Купалы», г. Гродно, Беларусь;  
n.kanunnikova@grsu.by*

**Лукиенко Е.П.,**

*кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник  
государственного предприятия “Институт биохимии биологически  
активных соединений НАН Беларуси”, г. Гродно, Беларусь;  
lukgrodno@mail.ru*

**Гуринович В.А.,**

*кандидат биологических наук, старший научный сотрудник  
государственного предприятия “Институт биохимии биологически  
активных соединений НАН Беларуси”, г. Гродно, Беларусь;  
gva77@list.ru*

**Катковская И.Н.,**

*научный сотрудник государственного предприятия “Институт биохимии  
биологически активных соединений НАН Беларуси”, г. Гродно, Беларусь;  
inna\_katkovskaya@mail.ru*

**Титко О.В.,**

*научный сотрудник государственного предприятия “Институт биохимии  
биологически активных соединений НАН Беларуси”, г. Гродно, Беларусь;  
o.titko@mail.ru*

**Мойсеенок А.Г.,**

*доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент НАН Беларуси,  
заведующий отделом витаминологии и нутрицевтики государственного  
предприятия “Институт биохимии биологически активных соединений НАН  
Беларуси”, г. Гродно, Беларусь;  
andrey.moiseenok@tut.by*

**Аннотация.** *Нами показано, что в печени крыс с экспериментальным сахарным диабетом (высокожировая диета + стрептозотоцин) увеличивается содержание продуктов свободнорадикального окисления, снижается восстанавливающая способность системы глутатиона и снижается содержание кофермента А. Введение лактоферрина, пантенола, витамина D или наночастиц селена, цинка и хрома приводит к частичному восстановлению*

окислительно-восстановительного баланса и повышению содержания кофермента А.

**Ключевые слова:** сахарный диабет; редокс-баланс; пантенол; лактоферрин; витамин D; микроэлементы

## INFLUENCE OF METABOLIC THERAPY ON REDOX SHIFTS IN THE LIVER OF RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

**Kanunnikova N.P.,**

*Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor of the Department of Technology, Physiology and Hygiene of Nutrition of the Educational Institution «Yanka Kupala»s Grodno State University», Grodno, Belarus;*  
*n.kanunnikova@grsu.by*

**Lukiyenko E.P.,**

*Candidate of Medicine, Senior Researcher, State Institution “Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances, National Academy of Sciences”, Grodno, Belarus;*  
*Lukgrodno@mail.ru*

**Gurinovich V.A.,**

*PhD, Senior Researcher, State Institution “Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances, National Academy of Sciences”, Grodno, Belarus;*  
*gva77@list.ru*

**Katkovskaya I.N.,**

*Researcher, State Institution “Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances, National Academy of Sciences”, Grodno, Belarus;*  
*inna\_katkovskaya@mail.ru*

**Titko O.V.,**

*Researcher, State Institution “Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances, National Academy of Sciences”, Grodno, Belarus;*  
*o.titko@mail.ru*

**Moiseenok A.G.,**

*Doctor of Biological Sciences, Professor, Corresponding Member of National Academy of Sciences, Head of Department of Vitaminology and Nutraceuticals, State Institution “Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances, National Academy of Sciences”, Grodno, Belarus;*  
*andrey.moiseenok@tut.by*

**Annotation.** *We have shown that in the liver of rats with experimental diabetes mellitus (high-fat diet + streptozotocin), the content of free radical oxidation products increases, the reducing ability of the glutathione system decreases, and the content of*

*coenzyme A decreases. The introduction of lactoferrin, panthenol, vitamin D or selenium, zinc and chromium nanoparticles lead to a partial restoration of the redox balance and an increase in the content of coenzyme A.*

**Keywords:** *diabetes mellitus; redox balance; panthenol; lactoferrin; vitamin D; trace elements*

Сахарный диабет (СД) — хроническое неинфекционное заболевание, медико-социальная значимость которого становится все более существенной в современных условиях [1]. Наряду с наличием каскада воспалительных реакций в стенках сосудов, нарушений углеводного и липидного обменов, важное место в патогенезе метаболических нарушений при СД, занимает сдвиг окислительно-восстановительного баланса в клетках. Целью данной работы являлось изучение способности средств метаболической терапии противодействовать отклонениям редокс-баланса в печени в экспериментальной модели СД.

Эксперимент проводили на 70 крысах-самках линии Wistar массой 160-240г. Животных разделили на 6 экспериментальных групп: 1 группа – интактные животные, содержащиеся на стандартном рационе вивария; 2 группа – животные, получавшие высокожировую диету (ВЖД) *ad libitum* в течение 62 дней, а также введение стрептозотоцина (СТ) 2-кратно в/бр в дозе 20 мг/кг на 48 и 49 сутки эксперимента; 3-6 группам в/желудочно в течение 6 дней на фоне ВЖД+СТ вводили пантенол (ПЛ, 200 мг/кг, 3 гр.), лактоферрин (ЛФ, 100 мг/кг, 4 гр.), витамин D (5000 МЕ/кг, 5 гр.) и комбинации наноSe (1 мг/кг)+нано-Zn-Cr (Zn 0,5 мг/кг, Cr 1 мг/кг) (6 гр.). Контрольной группе животных вводили в/ж 0,9% раствор хлорида натрия параллельно с введением препаратов опытным группам. В экспериментальные группы отбирали животных, у которых уровень глюкозы после 7 дней введения СТ на фоне ВЖД превышал 15,7 ммоль/л.

В ткани печени были изучены показатели окислительного стресса: содержание соединений, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС) [2], которые характеризуют интенсивность образования свободнорадикальных продуктов, и активность антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы (СОД) [3] и каталазы [4]. Исследовали содержание восстановленной (GSH) и окисленной (GSSG) форм глутатиона как основного фактора поддержания редокс-баланса в клетках [5], активность глутатионпероксидазы (ГПО) [6], глутатионтрансферазы (ГСТ) [7] и глутатионредуктазы (ГР) [8], содержание S-глутатионилированных белков [9]. Измеряли также содержание кофермента А (КоА) и ацетил-КоА [10].

Нами установлено, что содержание ТБКРС увеличилось, тогда как активность СОД и каталазы достоверно не изменялась в печени животных на фоне ВЖД+СТ (таблица 1). Введение ПЛ, ЛФ, витамина D или микроэлементов

привело к снижению уровня ТБКРС до значений в контрольной группе и не оказало влияние на активность ферментов.

Таблица 1 – Содержание ТБКРС в печени крыс с ВЖД+СТ после введения лактоферрина, витаминов и микроэлементов (M±SD)

Группы	ТБКРС, нмоль/мг белка	СОД, Ед/мг белка	Каталаза, ммоль/мин/мг белка
Контроль	0,20±0,01	12,63±1,82	0,76±0,12
ВЖД+СТ	0,29±0,02*	14,56±1,52	1,03±0,75
ВЖД+СТ+ЛФ	0,23±0,02#	13,15±0,64	0,75±0,20
ВЖД+СТ+ПЛ	0,21±0,09#	13,77±2,88	0,75±0,18
ВЖД+СТ+витамин D	0,20±0,04#	13,07±1,28	0,85±0,06
ВЖД+СТ+наноSe+нано-Zn-Cr	0,20±0,07#	12,52±1,58	0,79±0,15

Примечания в таблицах 1-3: \* – p<0,05 по отношению к контролю, # – p<0,05 по отношению к ВЖД+СТ

Содержание GSH в печени крыс достоверно снизилось на фоне ВЖД+СТ и оставалось сниженным при действии наночастиц хрома, цинка и селена, тогда как при введении ЛФ, ПЛ или витамина D уровень GSH несколько повысился (таблица 2). Содержание GSSG оказалось повышенным лишь при введении ПЛ или наночастиц микроэлементов. В результате соотношение GSH/GSSG и редокс-потенциал глутатиона были достоверно снижены во всех экспериментальных группах. Содержание S-глутатионилированных белков во всех экспериментальных группах не изменилось.

Таблица 2 – Показатели редокс-статуса системы глутатиона в печени крыс с ВЖД+СТ после введения лактоферрина, витаминов и микроэлементов, (нмоль/мг белка, M±SD)

Группы	GSH	GSSG	GSH/GSSG	Eh, мВ
Контроль	39,93±5,91	0,473±0,080	84,91±6,74	-202,10±2,30
ВЖД+СТ	25,79±5,84*	0,413±0,106	62,73±2,47*	-192,90±2,11*

ВЖД+СТ+ЛФ	29,48±9,26	0,474±0,117	61,66±9,61*	-193,50±5,45*
ВЖД+СТ+ПЛ	32,27±7,60	0,597±0,124#	54,05±4,95*#	-192,00±3,32*
ВЖД+СТ+витамин D	30,76±4,39	0,490±0,043	62,88±7,87*	-195,50±3,02
ВЖД+СТ+наноSe+нано-Zn-Cr	25,77±3,34*	0,527±0,109#	50,11±9,11*#	-189,50±3,24*

На фоне сахарного диабета произошло повышение активности ГТ на 55% при отсутствии изменений активности ГПО и ГР. ПЛ и витамин D способствовали нормализации активности ГТ. ПЛ привел также к повышению активности ГПО на 19%, тогда как наночастицы повысили активность ГР.

В печени крыс наблюдалось достоверное снижение концентрации свободного КоА-SH при отсутствии изменений уровня ацетил-КоА (таблица 3). Введение лактоферрина привело к повышению уровня и свободного КоА, и его смешанных дисульфидов выше значений в контроле, но снижению содержания ацетил-КоА.

Таблица 3 – Содержание КоА и ацетил-КоА в печени крыс с ВЖД+СТ после введения лактоферрина, витаминов и микроэлементов (нмоль/г, М±SEM)

Группы	КоА-SH	КоА-SH+ДТТ	Ацетил-КоА	Ацетил-КоА/ КоА-SH
Контроль	100,90±5,70	138,70±5,67	51,33±2,83	0,51
ВЖД+СТ	82,14±11,09*	131,00±11,58	58,73±4,19	0,71
ВЖД+СТ+ЛФ	114,00±8,51#	165,10±8,41*#	42,17±4,07*#	0,37
ВЖД+СТ+ПЛ	83,90±5,92*	166,50±12,29*#	44,97±2,49*#	0,54
ВЖД+СТ+витамин D	141,90±10,36*#	208,90±8,10*#	49,31±3,34#	0,35
ВЖД+СТ+наноSe+ нано-Zn-Cr	77,56±8,7*	134,30±6,57	57,79±2,27	0,75

При действии ПЛ также отмечалось увеличение содержания смешанных дисульфидов КоА и снижение уровня ацетил-КоА. На фоне действия витамина D содержание свободного КоА оказалось выше значений в контроле на 41%, а

смешанных дисульфидов КоА – на 50%, тогда как содержание КоА соответствовало значениям в контроле. При действии наночастиц микроэлементов ниже значений в контроле было содержание свободного КоА. В группах с введением лактоферрина и витамина D отмечено активное включение в метаболизм ацетил-КоА, что видно из соотношения фракций ацетил-КоА/КоА-SH.

Таким образом, наши результаты свидетельствуют, что в печени крыс с экспериментальным сахарным диабетом увеличивается содержание продуктов свободнорадикального окисления, снижается восстанавливающая способность системы глутатиона и снижается содержание КоА. Введение лактоферрина, пантенола, витамина D или наночастиц селена, цинка и хрома приводит к частичному восстановлению окислительно-восстановительного баланса и повышению содержания КоА.

### **Список литературы**

1. American Diabetes Association 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes – 2018 // *Diabetes Care*. – 2018. – Vol. 41 (Suppl 1). – P. 13–27.
2. Comparison of spectrophotometric and HPLC methods for determination of lipid peroxidation products in rat brain tissues / M. Ďurfinová [et al.] // *Chem. Pap.* – 2007. – Vol. 61, № 4. – P. 321–325.
3. Сирота, Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы / Т.В. Сирота // *Вопр. мед. химии*. – 1999. – Т. 45. – Вып. 3. – С. 263-272.
4. Hadwan, M.H., Abed, H.N. Data supporting the spectrophotometric method for the estimation of catalase activity / M.H. Hadwan, H.N. Abed // *Data Brief*. – 2016. – No. 6. – P. 194–199.
5. Rahman, I. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method / I. Rahman, A. Kode, S. K. Biswas // *Nat. Protoc.* – 2006. – Vol. 1, № 6. – P. 3159–3165.
6. Flohé, L., Günzler, W.A. Assays of glutathione peroxidase / L. Flohé, W. A. Günzler // *Methods Enzymol.* – 1984. – Vol. 105. – P. 114–121.
7. Habig, W. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation / W. Habig, M. Pabst, W. Jakoby // *J. Biol. Chem.* – 1974. – Vol. 249, № 22. – P. 7130–7139.
8. Smith, I. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) / I. Smith, T. Vierheller, C. Thorne // *Anal. Biochem.* – 1988. – Vol. 175. – P. 408–413.

9. Menon, D. A fluorometric method to quantify protein glutathionylation using glutathione derivatization with 2,3-naphthalenedicarboxaldehyde / D. Menon, P. G. Board // *Anal. Biochem.* – 2013. – Vol. 433. – P. 132–136.

10. Tsuchiya, Y. Methods for measuring CoA and CoA derivatives in biological samples / Y. Tsuchiya, U. Pham, I. Gout // *Biochem. Soc. Trans.* – 2014. – Vol. 42. – P. 1107–1111.

## СВОБОДНАЯ ЭНЕРГИЯ СВЯЗЫВАНИЯ ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 С ОЛИГОПЕПТИДАМИ

**Клачѣк В. С.**

ассистент кафедры биологической химии учреждения образования  
«Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь  
meri.blut@mail.ru

**Рябцева Т. В.**

к.б.н., ассистент кафедры биологической химии учреждения образования  
«Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Беларусь

**Селицкая П. С.**

студент 3-го курса учреждения образования  
«Белорусский государственный медицинский университет»  
г. Минск, Беларусь

**Аннотация.** В данной статье представлены результаты расчета и анализа свободной энергии связывания интерлейкина-6 с синтетически созданными олигопептидными лигандами. В ходе исследования были сформированы группы олигопептидов отличающиеся по качественному и количественному составу. Из полученных результатов следует, что для снижения концентрации интерлейкина-6 в плазме крови целесообразно использовать искусственно сконструированные тетрапептиды имеющие в своем составе ароматические аминокислоты.

**Ключевые слова:** цитокиновый шторм; интерлейкин-6; олигопептиды; свободная энергия

## FREE ENERGY OF INTERLEUKIN-6 BINDING WITH OLIGOPEPTIDES

**Klachok V. S.**

Assistant of the Department of Biological Chemistry of  
the Educational Institution «Belarusian State Medical University»,  
Minsk, Belarus  
meri.blut@mail.ru

**Ryabtseva T. V.**

Candidate of Biological Sciences, Assistant of the Department of Biological  
Chemistry of the Educational Institution «Belarusian State Medical University»,  
Minsk, Belarus



*Selitskaya P. S.*

*3 rd year student, of the Educational «Belarusian State Medical University»,  
Minsk, Belarus*

**Annotation.** *This article presents the results of calculation and analysis of the free energy of interleukin-6 binding with synthetically created oligopeptide ligands. In the course of the study, groups of oligopeptides differing in qualitative and quantitative composition were formed. From the obtained results, it follows that to reduce the concentration of interleukin-6 in blood plasma, it is advisable to use artificially constructed tetrapeptides containing aromatic amino acids.*

**Keywords:** *cytokine storm; interleukin-6; oligopeptides; free energy*

Интерлейкин 6 (ИЛ-6) – гликопротеид, который относится к важным провоспалительным цитокинам, участвующим в развитии цитокинового шторма [2]. Цитокиновый шторм является результатом гиперактивации иммунной системы, влечет за собой системные нарушения и развитие заболеваний различной этиологии, что нередко приводит к необратимым последствиям [5]. На сегодняшний день для подавления цитокинового шторма и системной воспалительной реакции применяются кортикостероидные препараты, а также лекарственные средства на основе моноклональных антител [1,6]. Однако применение такого рода терапии сопровождается развитием ряда побочных эффектов и практически полным подавлением иммунитета [4]. На данный момент ведется активный поиск безопасных методов, позволяющих снизить долю цитокинов в биологической жидкости. Одно из актуальных направлений – конструирование синтетических олигопептидных лигандов иммобилизованных на полимерном носителе, которые способны избирательно связывать и удалять провоспалительные цитокины, в частности интерлейкин-6, из крови человека [3].

Визуализация молекулярных комплексов, работа с pdb-файлами и оценка свободной энергии связывания олигопептидов с цитокинами проводилась с помощью программного обеспечения Chimera 1.14 с утилитой AutoDockVina. Для молекулярного докинга использовали pdb-файлы IL6R, IL6ST и 1IL6.

Обработка полученных результатов осуществлялась непараметрическими методами статистики с использованием пакетов статистического анализа данных Statistica 10.0. Для представления результатов рассчитывали медиану и интерквартильный размах, Me (25 %; 75 %).

**Результаты и их обсуждение.** Для оценки свободной энергии связывания было сконструировано 36 олигопептидов, которые являются структурными аналогами цитокинсвязывающей области рецепторов для ИЛ-6.

Среди дипептидов максимальной по модулю энергией связывания обладал Phe-Val ( $|5,9 (5,7; 6,1)|$  ккал/моль), который является структурной частью комплекса IL6-gp130, а для IL6-RIL6 – Tyr-Arg ( $|5,7 (5,525; 5,9)|$  ккал/моль). Из дипептидов, являющихся структурными аналогами IL6-gp130, минимальной по модулю энергией связывания обладает Ser-Val ( $|4,6 (4,475; 4,825)|$  ккал/моль), а для комплекса IL6-RIL6 минимальный модуль энергии связывания был у Leu-Ser со значением  $|4,7 (4,5; 4,825)|$  ккал/моль (таблица 1).

Таблица 1 - Свободная энергия связывания ИЛ-6 с дипептидами

Дипептиды	Модуль свободной энергии связывания, ккал/моль
Lis-Phe	5,5 (5,275; 5,6)
Thr-His	4,9 (4,8; 5,2)
Trp-Ala	5,7 (5,5; 5,825)
Val-Ise	5,15 (4,775; 5,3)
Ser-Val	4,6 (4,475; 4,825)
Ser-Ile	4,8 (4,6; 4,925)
Phe-Val	5,9 (5,7; 6,1)
Val-Tyr	5,85 (5,6; 6,2)
Ser-Phe	5,3 (5,2; 5,525)
Tyr-Arg	5,7 (5,525; 5,9)
Asp-Leu	5,0 (4,9; 5,225)
Leu-Ser	4,7 (4,5; 4,825)

Среди трипептидов максимальной по модулю энергией связывания с IL-6 обладал Tyr-Phe-Val ( $|6,6 (6,4; 6,8)|$  ккал/моль), а минимальной – Ser-Val-Ile со значением ( $|5,0 (4,775; 5,025)|$  ккал/моль) (таблица 2).

Таблица 2 - Свободная энергия связывания ИЛ-6 с трипептидами

Трипептиды	Модуль свободной энергии связывания, ккал/моль	Трипептиды	Модуль свободной энергии связывания, ккал/моль
Lys-Phe-Ala	5,65 (5,5; 5,825)	Tyr-Arg-Leu	5,65 (5,2; 5,8)
Ala-Thr-His	5,3 (5,1; 5,5)	Ser-Phe-Tyr	6,15 (5,75; 6,425)
Glu-Trp-Ala	5,9 (5,8; 6,3)	Phe-Tyr-Arg	5,8 (5,7; 5,925)

Ser-Val-Ile	5,0 (4,775; 5,025)	Lys-Asp-Leu	5,1 (5,0; 5,2)
Ser-Ile-Lys	5,0 (5,0; 5,1)	Asp-Leu-Gln	5,5 (5,425; 5,6)
Tyr-Phe-Val	6,6 (6,4; 6,8)	Pro-Leu-Ser	5,0 (4,775; 5,425)
Ser-Thr-Val	5,15 (5,0; 5,4)	Phe-Gln-Asn	6,3 (6,125; 6,4)
Ser-Ser-Phe	5,8 (5,7; 6,075)	Val-Pro-Glu	5,55(5,4; 5,6)
Phe-Glu-Gly	5,7 (5,5; 5,9)		

Из тетрапептидов максимальная по модулю энергия связывания ИЛ-6 была у Trp-Ala-Thr-His (|6,35 (6,075; 6,625)| ккал/моль), минимальная – Ser-Pro-Leu-Ser (|5,3 (5,2; 5,4)| ккал/моль) (таблица 3).

Таблица 3 - Свободная энергия связывания ИЛ-6 с тетрапептидами

Тетрапептиды	Модуль свободной энергии связывания, ккал/моль
Trp-Ala-Thr-His	6,35 (6,075; 6,625)
Val-Tyr-Phe-Val	6,05 (5,8; 6,425)
Lys-Asp-Leu-Gln	5,4 (5,2; 5,5)
Ser-Pro-Leu-Ser	5,3 (5,2; 5,4)
Glu-Glu-Phe-Gly	5,95 (5,5; 6,3)
Glu-Phe-Gly-Gln	5,35 (5,3; 5,425)
Phe-Gly-Gln-Gly	6,1 (5,975; 6,225)

Среди исследуемых олигопептидов максимальной по модулю энергией связывания (|6,05 (5,7; 6,2)| ккал/моль) с ИЛ-6 обладают сконструированные тетрапептиды содержащие ароматические аминокислоты (Trp, Phe, Tyr), радикалы которых обеспечивают прочность связывания за счет гидрофобного взаимодействия (таблица 4).

Таблица 4 - Свободная энергия связывания ИЛ-6 с олигопептидами различного аминокислотного состава

Олигопептиды	Модуль свободной энергии связывания, ккал/моль	
	Содержат ароматические аминокислоты	Не содержат ароматические аминокислоты
Ди-	5,7 (5,5; 5,9)	4,8 (4,7; 5,05)
Три-	5,75 (5,7; 6,2)	5,05 (5,0; 5,4)
Тетра-	6,05 (5,7; 6,2)	5,35 (5,2; 5,5)

В результате анализа полученных данных было установлено, что наибольшей связывающей способностью обладает тетрапептид Trp-Ala-Thr-His, который в дальнейшем может стать основой для снижения интерлейкина-6 в плазме крови.

### **Список литературы**

1. Василевский, И. В. Роль цитокинов при инфекции SARS-Co V-2 и пути блокады цитокинового шторма / И. В. Василевский // *Здравоохранение*. – 2020. – № 3. – С. 31–41.
2. Галактионов, В. Г. Иммунология : учебник / В. Г. Галактионов. – М.: Издательство МГУ, 1998. – 480 с.
3. Лейтрагин подавляет экспрессию цитокинов, включая интерлейкин-6, в модели «цитокинового шторма» у мышей линии C57BL/6Y с индуцированным острым респираторным дистресс-синдромом / В. Н. Каркищенко, И. А. Помыткин, Н. В. Петрова, М. С. Нестеров [и др.] // *Биомедицина*. – 2020. – № 4. – С. 34–43.
4. Потапнев, М. П. Цитокиновый шторм: причины и последствия / М. П. Потапнев // *Иммунология*. – 2021. – № 2. – С.175–188.
5. Шипилов, М. В. Молекулярные механизмы «цитокинового шторма» при острых инфекционных заболеваниях / М. В. Шипилов // *Лечебное дело*. – 2013. – № 1. – С. 81–85.
6. Comparative survival analysis of immunomodulatory therapy for Coronavirus disease 2019 cytokine storm / S. Narain, D. G. Stefanov, A. S. Chau et al. // *CHEST journal*. – 2021. – Vol. 159. – P. 933–948.

## НАХОЖДЕНИЕ НЕКАНОНИЧЕСКИХ МОТИВОВ В МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК МЕТОДАМИ БИОИНФОРМАТИКИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ПАКЕТА GQUAD ДЛЯ ПРОГРАММНОГО ОКРУЖЕНИЯ R

*Коваль А. Н.*

*кандидат биологических наук, доцент, УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель  
akovalj@ya.ru*

**Аннотация.** В статье описан подход к изучению структуры митохондриальной ДНК со скользящими нитями с помощью пакета *gquad*. Обнаружены 63 последовательности, которые могут быть чувствительными к мутагенезу, приводящему к развитию ряда митохондриальных патологий. Данный метод применим для оценки как митохондриального, так и ядерного генома, что может быть использовано в митохондриальной медицине.

**Ключевые слова:** митохондрии; ДНК; митохондриальная патология; неканонические мотивы; G4; скользящие нити

## FINDING NON-CANONICAL MOTIFS IN MITOCHONDRIAL DNA BY BIOINFORMATICS METHODS USING THE GQUAD PACKAGE FOR THE R SOFTWARE ENVIRONMENT

*Koval Alexander Nikolaevich*

*PhD Biological Sciences, Associate Professor, Gomel State Medical University,  
Gomel  
akovalj@ya.ru*

**Annotation.** The article describes the approach to studying the structure of mitochondrial DNA with sliding strands using the *gquad* package. 63 sequences were detected, which may be sensitive to mutagenesis leading to the development of a number of mitochondrial pathologies. This method is applicable to the evaluation of both mitochondrial and nuclear genome, which can be used in mitochondrial medicine.

**Keywords:** mitochondria; DNA; mitochondrial pathology; non-canonical motifs; G4; sliding strands.

Образование энергии в митохондриях является исключительно важным для функционирования органов и систем любого живого организма. Митохондриальная ДНК (мтДНК) кодирует лишь небольшую часть энергообразующего аппарата митохондрий, но повреждение этих участков приводит к развитию патологий, известных как митохондриальные болезни. В строении митохондриальной ДНК имеются особенности, нехарактерные для

ядерного генома. Эта кольцевая молекула ДНК состоит из 16569 пар нуклеотидов (пн), кодирует 13 белков, входящих в электронтранспортную цепь митохондрий, а также 22 тРНК и 2 рРНК. Плотность записи информации в мтДНК гораздо выше: отсутствуют интроны, отмечается перекрывание генов, а также наличие повторяющихся последовательностей, которые могут образовывать нестандартные структуры. Такие неканонические структуры как прямые повторы (direct repeats, DR), G4 и гуаниновые триплексы, и т.д. (Persson et al., 2019, цит. по [1]), могут иметь повышенную подверженность мутациям, дестабилизируя процесс репликации за счет образования стабильных вторичных структур [1].

**Материалы и методы.** Нахождение нестандартных мотивов в митохондриальной ДНК возможно с применением пакета gquad [2] для программного окружения R (ver. 3.4.1). Методика нахождения G4 в мтДНК была описана ранее [3].

Нахождение участков ДНК со скользящими нитями производится аналогично с помощью команды slipped.

**Результаты.** Были обнаружены 63 последовательности мтДНК со скользящими нитями разной длины, локализующихся по всей длине молекулы, приведены в таблице 1. Для компактности таблицы сами последовательности не приводятся.

Таблица 1 - Локализация и длина последовательностей мтДНК со скользящими нитями.

№	Положение последовательности	Длина последовательности, п.н.
1	2	16
2	18	139
3	157	248
4	406	253
5	660	139
6	800	161
7	962	418
8	1380	425
9	1806	175
10	1982	164
11	2148	322
12	2470	451
13	2924	452

14	3385	241
15	3626	173
16	3799	413
17	4213	83
18	4296	267
19	4563	290
20	4854	493
21	5347	138
22	5485	253
23	5740	174
24	5917	365
25	6282	506
26	6789	422
27	7211	190
28	7401	492
29	7897	120
30	8022	224
31	8250	146
32	8396	311
33	8707	65
34	8772	312
35	9085	189
36	9274	249
37	9523	284
38	9810	372
39	10183	433
40	10616	224
41	10840	294
42	11134	269
43	11404	414
44	11825	437
45	12264	492
46	12757	129
47	12888	450
48	13338	110
49	13448	142
50	13596	111
51	13709	131

52	13840	161
53	14001	151
54	14152	342
55	14494	106
56	14602	14
57	14616	102
58	14726	343
59	15070	185
60	15256	254
61	15512	309
62	15822	414
63	16236	329

Возможно, локализация в этих участках G4, DR и других неканонических структур может приводить к нарушению стабильности мтДНК и повышению мутагенности, являющейся основой развития митохондриальной патологии при старении и других патологических состояниях.

**Заключение.** С помощью пакета `gquad` и языка `R` было найдено 63 участка со скользящими нитями, что может использоваться для предварительного анализа мтДНК у пациентов с митохондриальными патологиями.

1. Использование методов биоинформатики для анализа мтДНК является перспективным для исследований в области митохондриальной медицины.

### Список литературы

1. Pabis K. Triplex and other DNA motifs show motif-specific associations with mitochondrial DNA deletions and species lifespan. *Mech Ageing Dev.* 2021 Mar;194:111429. doi: 10.1016/j.mad.2021.111429. Epub 2021 Jan 7. PMID: 33422563.

2. Ajoge, H.O., `Gquad: Prediction of G Quadruplexes and Other Non-B DNA Motifs / package`, ver. 2.1-2, date 2022-11-29. – Source: <https://cran.r-project.org/package=gquad>. Access date: 25.08.2023.

3. Грицук, А. И. Роль гуаниновых квадруплексов как возможной мишени воздействия на митохондриальную ДНК при инкорпорации  $^{137}\text{Cs}$  / А. И. Грицук, А. Н. Коваль // Радиобиология: актуальные проблемы : Материалы международной научной конференции, Гомель, 27–28 сентября 2018 года / Национальная академия наук Беларуси; Государственное научное учреждение «Институт радиобиологии национальной академии наук Беларуси; Международный научный центр минимизации радиационных рисков. – Гомель: Институт радиобиологии национальной академии наук Беларуси, 2018. – С. 50-53.



## ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН НА СТАБИЛЬНОСТЬ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА ЧЕЛОВЕКА

**Козел В. А.**

*студент 4 курса лечебного факультета учреждения образования  
«Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Беларусь  
vladislavk200302@gmail.com*

**Побойнев В. В.**

*ассистент кафедры общей химии учреждения образования  
«Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Беларусь  
dremozzew@mail.ru*

**Аннотация.** В данной статье проанализировано влияние 437 аминокислотных замен на стабильность вторичной структуры эпидермального фактора роста человека (ЭФРЧ) и на способность ЭФРЧ к структурным переходам с помощью оригинального алгоритма PentUnFOLD. В ходе проведенных *in silico* экспериментов были отобраны аминокислотные замены M21R и M21K, которые вызывают появление IDPRs в ЭФРЧ. Появление IDPRs должно способствовать лучшему взаимодействию белка с его рецептором, что подтверждается термодинамическими расчётами.

**Ключевые слова:** аминокислотная замена; эпидермальный фактор роста человека; синдром диабетической стопы; алгоритм PentUnFOLD.

## EVALUATION OF THE EFFECT OF AMINO ACID SUBSTITUTION ON THE STABILITY OF THE HUMAN EPIDERMAL GROWTH FACTOR

**Kozel V. A.**

*the 4<sup>th</sup> year student of the faculty of general medicine of the  
Educational Institution "Belarusian State Medical University",  
Minsk, Belarus  
vladislavk200302@gmail.com*

**Poboinev V. V.**

*assistant professor of the Department of General chemistry  
of the Educational Institution «Belarusian State Medical University»,  
Minsk, Belarus  
dremozzew@mail.ru;*

*In this article we have analyzed the effect of 437 amino acid substitutions on the stability of the secondary structure of human epidermal growth factor (human EGF) and on the ability of human EGF to structural shifts using the original PentUnFOLD algorithm. As the results of the conducted in silico experiments the amino acid substitutions M21R and M21K were selected, which cause the appearance of IDPRs in human EGF. The appearance of IDPRs should contribute to a better interaction of the protein with its receptor, which is also confirmed by thermodynamic calculations.*

**Key words:** *amino acid substitution; human epidermal growth factor; diabetic foot syndrome; PentUnFOLD algorithm*

В Республике Беларусь на 1 января 2021 г. на диспансерном учёте находилось 356 945 пациентов с сахарным диабетом (СД), в том числе с СД 1 типа – 18 110 человек, СД 2 типа – 330 957 человек. В общей структуре распространённости в Беларуси СД 2-го типа занимает 94% [1]. Заболеваемость сахарным диабетом в Беларуси ежегодно увеличивается на 8-10%. Синдром диабетической стопы (СДС) – патология с выраженными поражениями мягких и костных тканей. В результате поражения периферических нервов и сосудов происходят некротические процессы, проявляющиеся трофическими язвами на поверхности кожи, изменениями в суставах и гнойно-некротическими процессами в мягких и костных тканях. Синдром является осложнением СД и развивается не менее чем у 15% больных [2]. Если своевременно не предпринять меры по лечению СДС, то сильно возрастает риск развития гангрены. На данный момент в мире существует единственный препарат применяемый в лечении СДС – Неберprot-P, содержащий рекомбинантный ЭФРЧ. Использование данного препарата ускоряет заживление глубоких и сложных язв, как ишемических, так и нейропатических, и уменьшает количество ампутаций, связанных с диабетом. Клинические испытания Неберprot-P у пациентов с язвами диабетической стопы показали, что повторная местная инфльтрация этим продуктом может улучшить безопасное и эффективное заживление хронических ран. Однако данный препарат способствует заживлению язв не у всех пациентов, а длительность лечения может продолжаться несколько месяцев. Введение аминокислотной замены (одной или нескольких), увеличивающих аффинность ЭФРЧ к его рецептору, может увеличить его эффективность.

Целью данного исследования является анализ аминокислотных на предмет способности увеличивать вероятность перехода эпидермального фактора роста человека во внутренне неупорядоченное состояние.

**Материалы и методы.** Объектом исследования в данной работе является аминокислотная последовательность ЭФРЧ, которая была взята из PDB (PDB ID: 1IVO: C) [3]. Влияние аминокислотных замен на стабильность вторичной структуры определяли с помощью алгоритма PentUnFOLD [4]. Алгоритм PentUnFOLD представляет собой принципиально новый вероятностный метод, с помощью которого можно определить фрагменты белка, склонные к различным структурным переходам, в том числе и во внутренне неупорядоченное состояние (IDPRs). Данный алгоритм может работать как с файлом PDB, так и с аминокислотной последовательностью белка. *In silico* мутагенезу подверглись 23 аминокислотных остатка ЭФРЧ, а именно L15, H16, D17, G18, V19, M21, Y22, I23, E24, A25, L26, D27, K28, Y29, Q43, Y44, R45, D46, L47, K48, W49, W50, E51. Указанные аминокислотные остатки менялись на другие 19 возможных варианта, т.е. были проанализированы 437 аминокислотных замен.

**Результаты и их обсуждение.** Все аминокислотные замены можно разделить на 2 большие группы: первая включает те замены, которые повышают стабильность вторичной структуры белка, а вторая – содержит аминокислотные замены, понижающие его стабильность. Из 437 аминокислотных замен 44 не вызывают абсолютно никаких изменений в стабильности структуры ЭФРЧ при использовании алгоритма PentUnFOLD. К первой группе относится подгруппа аминокислотных замен, повышающих стабильность имеющихся бета-тяжей. Нами было выявлено 76 таких аминокислотных замен. К первой группе мы также отнесли и подгруппу аминокислотных замен, которые повышают стабильность ЭФРЧ за счёт уменьшения вероятности структурного перехода в IDPRs. Таких замен было выявлено 159. В первую группу мы также отнесли аминокислотные замены, которые способствуют структурному переходу койла (петли) в бета-тяж, что также может способствовать не только увеличению стабильности ЭФРЧ, но и его амилоидогенного потенциала. Таких замен обнаружено 107.

Ко второй группе относятся аминокислотные замены, понижающие стабильность бета-тяжей (замены, способствующие переходу стабильного бета-тяжа в нестабильный). Нами было выявлено 53 таких аминокислотных замен: Y22Q, Y22S, Y22T, Y22R, Y22E, Y22N, Y22H, Y22K, Y22D, I23Q, I23S, I23T, I23E, I23N, I23H, I23K, D27G, Y29Q, Y29S, Y29T, Y29N, Y29E, Y29N, Y29H, Y29K, Y29D, Y44G, Y44A, Y44L, Y44P, Y44P, Y44Q, Y44W, Y44S, Y44T, Y44R, Y44E, Y44N, Y44H, Y44K, Y44D, D46P, D46Q, D46R, L47Q, L47S, L47T, L47R, L47E, L47N, L47H, L47K, L47D. К возможному структурному переходу бета-тяжа в койл приводят 22 аминокислотные замены: M21Q, M21T, M21R, M21E, M21H, M21K, M21D, Y29G, Q43G, Q43A, Q43V, Q43I, Q43M, Q43Y,

Y44P, Y44T, Y44R, Y44E, Y44N, Y44H, Y44K, Y44D. Возможности структурного перехода бета-тяжей в IDPRs способствуют 16 аминокислотных замен: L26G, L26A, L26P, K28D, Y29G, Y29A, Y29Q, Y29R, Y29T, Y29E, Y29M, Y29K, Y29D, Y44G, Y44A, R45D. 97 аминокислотных замен уменьшают способность койла к структурному переходу в бета-тяж: L15G, L15A, L15P, L15F, L15Q, L15S, L15T, L15R, L15E, L15N, L15H, L15K, L15D, H16P, Q43G, Q43A, Q43V, Q43L, Q43I, Q43P, Q43F, Q43W, Q43C, Q43M, Y44A, Y44L, Y44P, Y44F, Y44Q, Y44S, Y44T, Y44R, Y44E, Y44N, Y44C, Y44M, Y44H, Y44K, Y44D, R45A, D46A, D46L, D46P, D46Q, D46E, D46N, D46M, D46K, L47G, L47A, L47P, L47Q, L47S, L47T, L47R, L47E, L47N, L47H, L47K, L47D, K48G, K48A, K48V, K48P, K48F, K48N, K48M, K48D, W49G, W49A, W49V, W49L, W49P, W49F, W49Q, W49S, W49T, W49R, W49E, W49N, W49M, W49H, W49K, W49D, W50G, W50A, W50L, W50P, W50F, W50Q, W50S, W50R, W50E, W50N, W50M, W50K, W50D.

По нашей гипотезе введение аминокислотной замены в структуру ЭФРЧ должно увеличивать вероятность перехода имеющихся бета-тяжей в петли и/или в IDPRs, что может увеличивать средство ЭФРЧ к его рецептору а, соответственно, усилить терапевтическое действие лекарственного средства на основе ЭФРЧ. Таких замен было выявлено 30, так как одна и та же аминокислотная замена может одновременно увеличивать склонность бета-тяжей к переходу в койл и в IDPRs: L15S, L15E, M21Q, M21T, M21R, M21E, M21H, M21K, M21D, L26G, L26A, L26P, L26S, L26T, L26D, K28D, Y29G, Y29A, Y29Q, Y29T, Y29R, Y29E, Y29M, Y29K, Y29D, Y44G, Y44A, R45D, L47S, L47D. Из приведенных выше 30 аминокислотных замен всего 3: M21R, M21K, M21Q повышают аффинность ЭФРЧ к рецептору согласно программе mCsM-PPI2 [5].  $\Delta\Delta G$  аминокислотной замены M21R составляет 0,515 ккал/моль, M21K – 0,244 ккал/моль и M21Q – 0,02 ккал/моль. Учитывая результаты работы алгоритма PentUnFOLD и программы mCsM-PPI2, можно предположить, что только аминокислотные замены M21R и M21K из 437 проанализированных увеличивают вероятность формирования IDPRs в ЭФРЧ, что может приводить к увеличению аффинности данного белка к его рецептору.

Таблица 1 – Стабильность структуры эпидермального фактора роста человека, определённая алгоритмом PentUnFOLD

Нативный ЭФРЧ				M21K/Q		M21R	
№	АК	DSSP	PentUnFOLD 2D	АК	PentUnFOLD 2D	АК	PentUnFOLD 2D
5	Е			Е		Е	
6	С			С		С	
7	Р	С		Р		Р	

8	L	C		L		L	
9	S	C		S		S	
10	H	C		H		H	
11	D	C		D		D	
12	G	C		G		G	
13	Y	C	CE	Y	CE	Y	CE
14	C	E	CE	C	CE	C	CE
15	L	E		L		L	
16	H	C		H		H	
17	D	C		D		D	
18	G	C		G		G	
19	V	C	EN	V	EN\D	V	EN\D
20	C	E	ES	C	ES\D	C	ES\D
21	M	E	ES	K/Q	ES	R	ES
22	Y	E	ES	Y	ES	Y	ES\D
23	I	H	ES\D	I	ES	I	ES
24	E	H		E		E	
25	A	H		A		A	
26	L	H	CH	L	CH	L	CH
27	D	H	CH	D	CH	D	CH
28	K	H	ES\D	K	ES\D	K	ES\D
29	Y	H	EN\D	Y	EN\D	Y	EN\D
30	A	H	EN	A	EN	A	EN
31	C	E	ES	C	ES	C	ES
32	N	E	ES	N	ES	N	ES
33	C	E	ES	C	ES	C	ES
34	V	E	CE	V	CE	V	CE
35	V	E	CE	V	CE	V	CE
36	G	E	CE	G	CE	G	CE
37	Y	E	ES	Y	ES	Y	ES
38	I	C	ES	I	ES	I	ES
39	G	E		G		G	
40	E	E		E		E	
41	R	C		R		R	
42	C	H	CE	C	CE	C	CE
43	Q	H	CE	Q	CE	Q	CE
44	Y	H	ES\D	Y	ES\D	Y	ES\D
45	R	H	ES	R	ES	R	ES

46	D	H	CH	D	CH	D	CH
47	L	H		L		L	
48	K	H	CE	K	CE	K	CE
49	W	H		W		W	
50	W			W		W	
51	E			E		E	

**Заключение.** Аминокислотные замены M21R и M21K в эпидермальном факторе роста человека увеличивают вероятность формирования IDPRs, что должно приводить к увеличению сродства лиганда к его рецептору. Предлагаемая гипотеза подтверждается и термодинамическими расчётами.

### Список литературы

1. Всемирный день борьбы против диабета [Электронный ресурс] / Минский городской клинический наркологический центр. – Электрон. дан. – Режим доступа: <https://gknd.by/edinye-dni-zdorovya-v-2022-godu/913-14-noyabrya-2022-goda-vsemirnyj-den-borby-protiv-diabeta> (дата обращения: 07.08.23).
2. Синдром диабетической стопы [Электронный ресурс] / МЕДИКПРО. – Электрон. дан. – Режим доступа: <https://medicpro-kaluga.ru/services/endocrinology/sindrom-diabeticheskoy-stopy/> (дата обращения: 08.08.23).
3. The Protein Data Bank / H. M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng [et al] // Nucleic Acids Research. – 2000. – Vol. 28. – P. 235–242.
4. The PentUnFOLD algorithm as a tool to distinguish the dark and the light sides of the structural instability of proteins / V. V. Poboinev, V. V. Khrustalev, T. A. Khrustaleva [et al] // Amino Acids. – 2022. – Vol. 54. – P. 1155–1171.
5. Аминокислотные замены M21R и K48R увеличивают сродство эпидермального фактора роста человека к его рецептору [Электронный ресурс] / В. В. Побойнев, В. А. Козел, А. Р. Козел // Физико-химическая биология как основа современной медицины : мат. докл. междунар. науч. конф., Минск, 28 октября 2022 г. / Белорус. гос. мед. ун-т ; редкол.: В. В. Хрусталёв [и др.]. – Минск, 2022. – С. 230–235.

**ПРЫРОДА ВЫСОКАЙ АФІННАСЦІ АНТЫБАКТЭРЫЯЛЬНЫХ  
ЛЕКАВЫХ СРОДКАЎ ГРУПЫ АКСАЗАЛІДЗІНОНАЎ ДА  
ГЛЮКАКІНАЗЫ**

**Комлач І. А.**

*студэнтка 3 курса фармацэўтычнага факультэта ўстановы адукацыі  
“Беларускі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт”, г. Мінск,  
innakomlac@gmail.com*

**Ляхвіч Т. Т.**

*кандыдат хімічных навук, дацэнт кафедры біяарганічнай хіміі ўстановы  
адукацыі “Беларускі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт”, г. Мінск,  
lakhvichtt@gmail.com*

**Анотацыя.** Пры дапамозе метадаў малекулярнага докінгу вывучана *in silico* ўзаемадзеянне оксазалідзінонаў з глюкакіназай для прагназавання ўплыву оксазалідзінонавых лекавых сродкаў на вугляводны абмен. Былі прааналізаваны комплексы лігандаў з пратэінам у аластэрычным цэнтры, які адказвае за дзеянне актыватараў глюкакіназы. Устаноўлена, што будова оксазалідзінонаў забяспечвае іх высокую афіннасць да глюкакіназы. Прааналізаваны тыпы і тапалогія ўзаемадзеяннях фрагментаў лігандаў з пратэінам.

**Ключавыя словы:** аластэрычны цэнтр; афіннасць; глюкакіназа; малекулярны докінг; оксазалідзіноны; цукровы дыябет

**NATURE OF THE HIGH AFFINITY OF OXAZALIDINONE  
ANTIBACTERIALS TO GLUCOKINASE**

**Komlach I. A.**

*3rd year student of the Pharmaceutical faculty of the educational institution  
“Belarusian State Medical University”,  
Minsk, innakomlac@gmail.com*

**Lakhvich T. T.**

*Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor of the Department of  
Bioorganic Chemistry of the educational institution  
“Belarusian State Medical University”,  
Minsk, lakhvichtt@gmail.com*

**Annotation.** The interaction of oxazalidinones with glucokinase was studied *in silico* using molecular docking methods to predict the effect of oxazalidinone antibacterials on carbohydrate metabolism. Complexes of ligands with a protein in the allosteric center, which is responsible for the action of glucokinase activators, were

analyzed. It was found that the structure of oxazolidinones effects to their high affinity to glucokinase. The types and topology of interactions of ligand fragments with protein were analyzed.

**Keywords:** allosteric center; affinity; glucokinase; molecular docking; oxazolidinones; diabetes mellitus

Оксазалидзіноны выкарыстоўваюцца для лячэння цяжкіх інфекцыйных захворванняў, якія выклікаюцца антыбіётыкарэзістэнтнымі грампазітыўнымі бактэрыямі [1]. N-арылоксазалидзінонавы фрагмент з'яўляецца ключавой структурнай асаблівасцю малекул і забяспечвае біялагічную актыўнасць [2]. Таму Лінезалід і яго роднасныя злучэнні з антыбактэрыяльнай актыўнасцю вядомыя як оксазалидзінонавыя антыбіётыкі. У адрозненні ад іншых антыбіётыкаў, якія падаўляюць этап элангацыі, оксазалидзіноны прыгнятаюць сінтэз бялку на стадыі ініцыяцыі [3].

Структурны аналіз паказаў, што оксазалидзіноны маюць падабенствы з будовай актыватараў глюкакіназы (ГК), якія ўзаемадзейнічаюць з аластарычным цэнтрам бялку. Глюкакіназа з'яўляецца ключавым ферментам у рэгуляцыі метабалізму глюкозы [4]. Такім чынам, можна меркаваць, што рэчывы дадзенай групы могуць праяўляць гіпаглікемічную актыўнасць, акрамя асноўнага антыбактэрыяльнага дзеяння.

Мэта работы – мадэляванне і аналіз *in silico* эфектыўнасці звязвання оксазалидзінонаў з глюкакіназай, а таксама вылучэнне розных тыпаў узаемадзеяння лігандаў з амінакіслотнымі фрагментамі бялку-мішэні.

**Матэрыялы і метады.** Малекулярны докінг злучэнняў ажыццяўляўся з дапамогай камп'ютарнай праграмы AutoDock 4. Дызайн мадэляў для даследавання праводзілі з дапамогай праграмных рэсурсаў ChemOffice і OpenBabelGUI. Усяго было адабрана для аналізу пяць структур ЛС оксазалидзінонавага шэрагу (Лінезалід, Пазізалід, Тэдзізалід, Радзізалід і Кантэзалід). У якасці рэцэптара быў абраны бялок глюкакіназа. Інфармацыя аб трохмернай структуры фермента (код пратэіну 4RCH) узятая з банка дадзеных 3D структур бялкоў і нуклеінавых кіслот PDB [5]. Для вывучэння тапалогіі комплексаў і характару ліганд-бялковых узаемадзеянняў выкарыстоўваліся вэб-серверы PLIP і Protein-Plus. Праграма LigPlot дазволіла згенерыраваць двухмерныя дыяграмы ўзаемадзеяння ліганд-бялок і вызначыць уплыў функцыянальных груп на эфектыўнасць звязвання з ГК у аластарычным цэнтры. З дапамогай праграмы PyMOL ствараліся высакаякасныя трохмерныя выявы.

**Вынікі.** Сляпы докінг оксазалидзінонаў да пратэіну паказаў магчымасць узаемадзеяння лігандаў у межах аластарычнага цэнтра (малюнак 1).



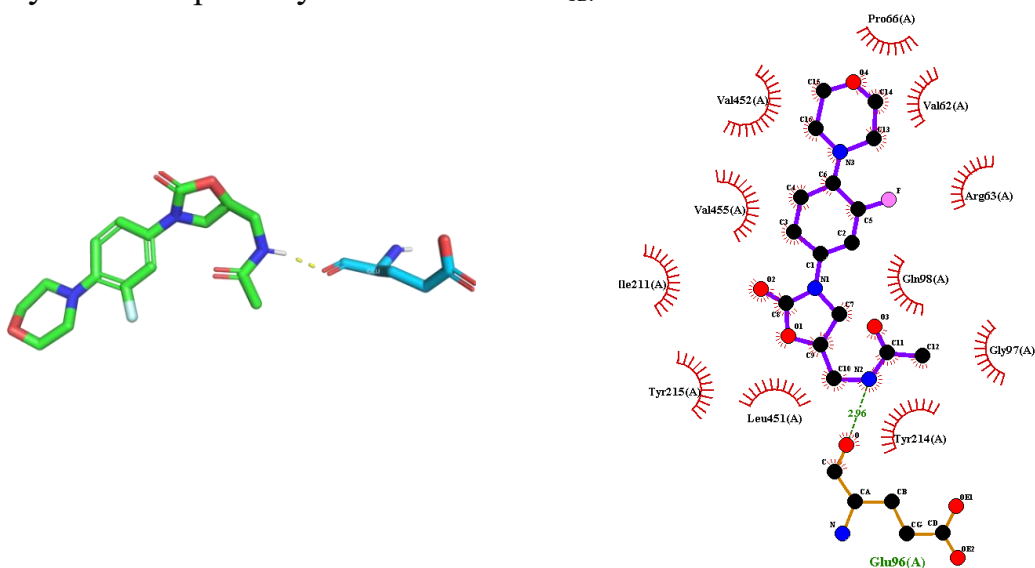


### Малюнак 1 – Цэнтр звязвання лігандаў з GK

Афіннасць ацэньвалася па мінімальнай энергіі звязвання. Намі былі разгледжаны кластары з найбольшай афіннасцю ліганда да пратэіну (менш за - 10 ккал/моль) і з колькасцю прабегаў не менш за 10.

Комплексы з мінімальнымі энергіямі былі візуалізаваны і прааналізаваны з дапамогай анлайн-сэрвісаў PLIP, Protein-Plus, а таксама праграм PyMOL і LigPlot.

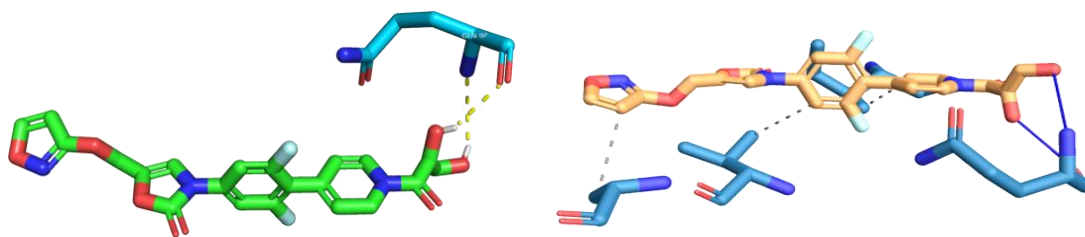
Пры малекулярным мадэляванні Лінезаліду вылучылі 29 варыянтаў стыкоўкі з 200 прабегаў. Мінімальная  $E_{зв}$  склала - 11.53 ккал/моль.



### Малюнак 2 – Узаемадзеянні Лінезаліду з фрагментамі АК пратэіну

Пры вывучэнні вадародных сувязяў (малюнак 2) было выяўлена, што Лінезалід утварае адну вадародную сувязь за кошт аміднай групы. Адлегласць паміж вадародам аміднай групы і кіслородам глутамінавай кіслаты пратэіну складае 2,96 Å. Адпаведна, можна зрабіць выснову, што вадародныя сувязі, утвораныя дадзеным лігандам і Glu96, галоўным чынам маюць электростатычны характар.

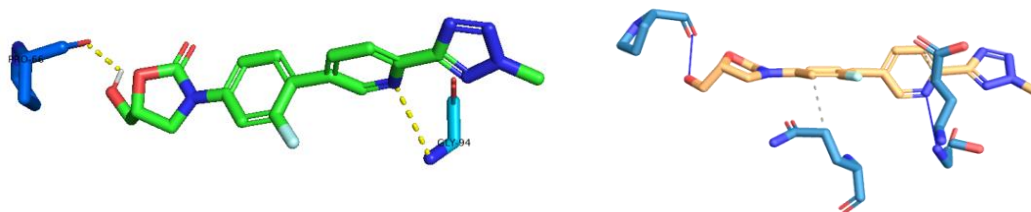
Пры докінгу Пазізаліду было выяўлена, што толькі адзін кластар прадэманстравалі высокую заселеннасць (19 прабегаў у межах кластара). Мінімальная  $E_{св}$  склала -14.36 ккал/моль, сярэдняя – -13.06 ккал/моль.



Малюнак 3 – Узаемадзеянні Пазізаліду з фрагментамі АК пратэіну

Малекула Пазізаліду (малюнак 3) ўтварае дзве вадародныя сувязі праз узаемадзеянне гідраксільных груп з амінакіслатай (АК) Gln98 пратэіна. Даўжыня вадароднай сувязі з кіслародам карбаксільнай групы складае 2,1 Å, а з азотам амінагрупы – 2,7 Å. Такім чынам, вадародная сувязь паміж гідраксільнай групай ліганда і карбаксільнай групы GK больш моцная, мае ў вялікай ступені характар кавалентнай.

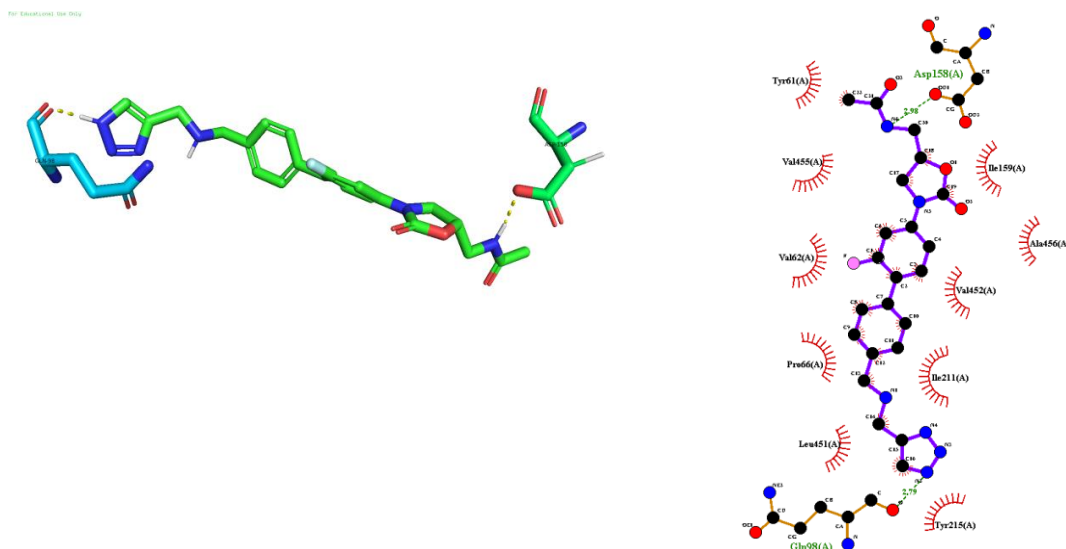
Пры малекулярным мадэляванні Тэдзізаліду вылучылі 29 варыянтаў стыкоўкі. Мінімальнае  $E_{зв}$  складала -9.43 ккал/моль.



Малюнак 4 – Узаемадзеянні Тэдзізаліду з фрагментамі АК пратэіну

Тэдзізалід утварае з GK у аластарычным цэнтры дзве вадародныя сувязі (малюнак 4), якія адрозніваюцца па энергіі звязвання. З АК Pro66 ліганд звязваецца больш моцна, утвараючы вадародную сувязь на адлегласці 2,4 Å. А паміж пірыдзінавым азотам ліганда і вадародам амінагрупы Gly64 глюкокіназы ўзнікае слабая вадародная сувязь з даўжынёй 3,5 Å, якая носіць электростатычны характар.

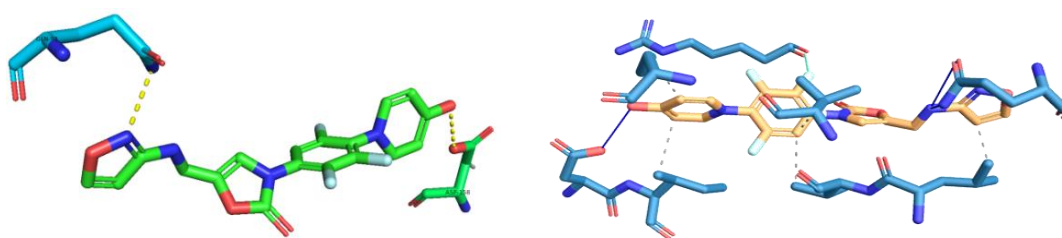
Афіннасць Радзізаліду да аластэрычнага цэнтра глюкокіназы складала 12.87 ккал/моль. Пры гэтым аналізаваўся адзін кластар з колькасцю прабегаў 10.



Малюнак 5 – Узаемадзеянні Радзіваліду з фрагментамі АК пратэіну

Малекула Радзіваліду (малюнак 5) утварае дзве вадародныя сувязі з пратэінам за кошт звязвання з АК Asp158 і Gln98; яны маюць пераважна электростатычны характар. Даўжыня сувязі складае 2,98 і 2,79 Å адпаведна.

Найбольш эфектыўнаму звязванню Кантэзаліду з ГК адпавядае  $E_{зв}$  - 14.89 ккал/моль, найменш эфектыўнае –  $E_{зв}$  - -9.56 ккал/моль.



Малюнак 6 – Узаемадзеянні Кантэзаліду з фрагментамі АК пратэіну

Аналіз вадародных сувязяў (малюнак 6) паказаў, што Кантэзалід утварае 2 вадародныя сувязі за кошт атама азоту ў ізаказолавым фрагменце і атама кіслароду дыгідропірыдзінону. Адлегласць паміж кіслородам дыгідропірыдзінону і вадародам АК Asp158 складае 3,45 Å, а паміж азотам ізаказолу ліганда і вадародам АК Gln98 – 3,24 Å. Такім чынам, сувязі носяць слабы электростатычны характар.

### Заклучэнне.

На падставе вынікаў малекулярнага мадэлявання намі былі зроблены наступныя высновы:

1. Будова оксазалідзінонаў забяспечвае іх высокую афіннасць да аластэрычнага цэнтру ГК.
2. Ва ўсіх прааналізаваных лігандах вылучаецца ўзаемадзеянне N-

арылоксазалидзінонавага фрагменту з Tyr214. Гэта ўзгадняецца з вынікамі папярэдніх даследаванняў па дызайне актыватараў глюкакіназы розных класаў. Акрамя гэтага, усе ліганды звязваюцца з амінакіслотнымі астаткамі Arg63, Ile211, Val455 і Val452, якія таксама былі пацверджаны ў даследаваннях для іншых актыватараў глюкакіназы.

### Спісак літаратуры

1. Hashemian, SMR. Linezolid: a review of its properties, function, and use in critical care. / SMR Hashemian, M. Farhadi, T. Ganjparvar. // Drug Des. Devel. Ther. – 2018. – Vol. 12. – P. 1759-1767. <https://doi.org/10.2147/dddt.s164515>.
2. Gregory W. Antibacterials. Synthesis and structure-activity studies of 3-aryl-2-oxoimidazolidines. / W. Gregory [and etc.] // J. Med Chem – 1990 – Vol. 32, № 7 – P. 1673-1681.
3. 3. Livermore, D. M. Linezolid in vitro: mechanism and antibacterial spectrum / M. D. Livermore // J Antimicrob Chemother. – 2003. – 51. – P. 9-16.
4. Кулебякин, К.Ю., Механизмы транскрипционного контроля обмена глюкозы в печени. / К.Ю. Кулебякин, Ж.А. Акопян, Т.Н. Кочегура, Д.Н. Пеньков // Сахарный диабет. – 2016. – Vol. 8. – P. 190-198. <https://doi.org/10.14341/DM2003436-40>. Agius L. Glucokinase and molecular aspects of liver glycogen metabolism. / L. Agius // Biochem. J. - 2008. – V. 414. – P. 1–18.
5. Berman, H. M. The Protein Data Bank / H. M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng [et al] // Nucleic Acids Research. – 2000. – Vol. 28. – P. 235-242

**ИЗУЧЕНИЕ IN SILICO БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ  
ГЛИФЛОЗИНОВ В ОТНОШЕНИИ  $\beta_1$ -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ У  
ПАЦИЕНТОВ С СД2 И ВЫСОКИМ РИСКОМ СЕРДЕЧНО-  
СОСУДИСТЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ**

**Краецкая О.Ф.**

*Кандидат химических наук, доцент кафедры  
биоорганической химии учреждения образования «Белорусский  
государственный университет», г. Минск, Беларусь  
kot-oksi@yandex.ru*

**Аннотация.** У пациентов с сахарным диабетом 2 типа (СД2) наблюдается повышенный риск развития сердечно-сосудистых осложнений. Хотя гипергликемия способствует развитию и прогрессированию атеросклероза и сердечной недостаточности, существующие до настоящего времени подходы по нормализации уровня глюкозы не оказывали заметного влияния на снижение кардиоваскулярного риска. Ингибиторы натрий-глюкозного котранспортера 2 (SGLT2) типа – глифлозины – представляют собой новый класс антигипергликемических препаратов, которые улучшают как гликемический контроль, так и кардиоренальные исходы и число госпитализаций по причине ХСН и ИМ. В данной статье рассмотрены особенности биологической активности *in silico* четырех современных препаратов из группы глифлозинов по отношению к  $\beta_1$ -адренорецептору (7BVQ). В исследованиях *in silico* показано, что все четыре препарата проявляют аффинность к 7BVQ. Лучшие показатели связывания с  $\beta_1$ -адренорецептором были получены для эртуглифлозина ( $G_i = -5.23$  kcal/mol).

**Ключевые слова:** глифлозины; сахарный диабет 2 типа (СД2); негликемические эффекты;  $\beta_1$ -адренорецепторы;  $\beta_1$ -адреноблокаторы

**IN SILICO STUDY OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF GLIFLOZINES  
AGAINST  $\beta_1$ -ADRENORECEPTORS IN PATIENTS WITH DM2 AND HIGH  
RISK OF CARDIOVASCULAR COMPLICATIONS**

**Kraetskaya O.F.**

*Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor  
of the Department bioorganic chemistry educational  
institution "Belarusian State University", Minsk, Belarus*

kot-oksi@yandex.ru

**Annotation.** *Patients with type 2 diabetes mellitus (DM2) have an increased risk of developing cardiovascular complications. Although hyperglycemia contributes to the development and progression of atherosclerosis and heart failure, the current approaches to normalize glucose levels have not had a noticeable effect on reducing cardiovascular risk. Sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2) type inhibitors represent a new class of antihyperglycemic drugs that improve both glycemic control and cardiorenal outcomes and the number of hospitalizations due to CHF and MI. This article discusses the features of the biological activity in silico of four modern drugs from the group of gliflozines in relation to the  $\beta_1$ -adrenoreceptor (7BVQ). In silico studies have shown that all four drugs exhibit affinity for 7BVQ. The best binding rates with the  $\beta_1$ -adrenoreceptor were obtained for ertugliflozin ( $G_i = -5.23$  kcal/mol).*

**Keywords:** *glyphlozines; type 2 diabetes mellitus (DM2); non-glycemic effects;  $\beta_1$ -adrenergic receptors;  $\beta_1$ -adrenoblockers*

Известно, что у пациентов с сахарным диабетом 2 типа (СД2) риск инвалидизации и преждевременного летального исхода часто связан с сердечно-сосудистыми (СС) осложнениями [1, 2]. На сегодняшний день достаточно актуальным является новый подход к лечению СД2, основанный на назначении препаратов, сочетающих в себе как гипогликемические, так положительные негликемические эффекты [3-5]. Это связано с тем, что применение  $\beta$ -адреноблокаторов для лечения СС осложнений у пациентов с СД2 может вызывать отрицательные метаболические эффекты: нарушение толерантности к глюкозе вследствие снижения чувствительности тканей к инсулину и уменьшения его секреции поджелудочной железой, что может рассматриваться в качестве антигликемического эффекта при лечении СД2 [2]. В последнее время в научной литературе все чаще появляется информация о том, что при выборе в качестве препаратов первой линии – глифлозинов (ингибиторов натрий-глюкозного котранспортера 2 типа (SGLT2)) у пациентов с СД2 значительно снижается частота госпитализации в связи с декомпенсацией хронической сердечной недостаточности (ХСН) и инфарктом миокарда (ИМ) [3-5]. В качестве возможного механизма положительного влияния глифлозинов на сердечно-сосудистые (СС) осложнения нами рассмотрена возможность связывания этой группы противодиабетических средств с  $\beta_1$ -адренорецепторами.

Цель работы: установить in silico наличие у лекарственных препаратов из группы глифлозинов сродства к  $\beta_1$ -адренорецепторам.

**Материалы и методы.** Выбор белка  $\beta_1$ -адренорецептора 7BVQ проведен из банка данных 3D-структур белков RSCB PDB. 3D-модели селективного  $\beta_1$ -адреноблокатора (цианопиндолола), 4 глифлозинов (дапаглифлозина,

эртуглифлозина, эмпаглифлозина, канаглифлозина) созданы с помощью специализированных программ пакета Chemoffice. Молекулярный докинг *in silico* осуществлен с помощью электронного ресурса Dockingserver [6] с использованием полуэмпирического метода расчётов квантовой химии PM6, метода геометрической оптимизации MMFF94 при значении рН 7.0, количество пробегов – 20.

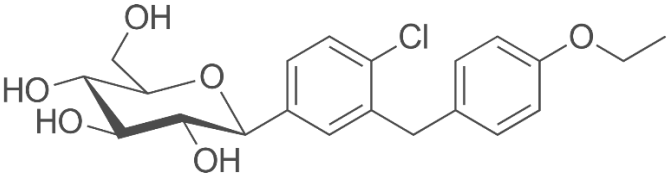
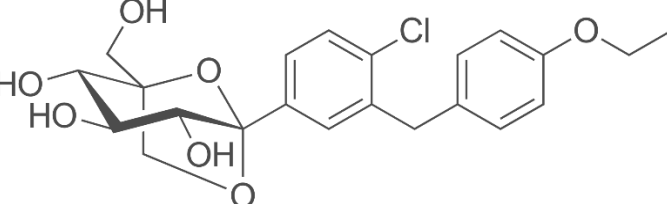
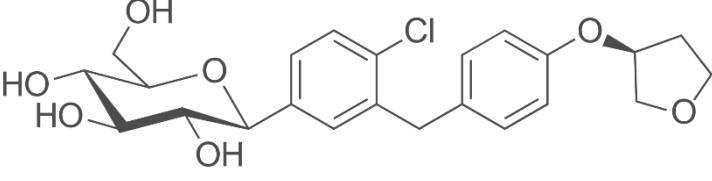
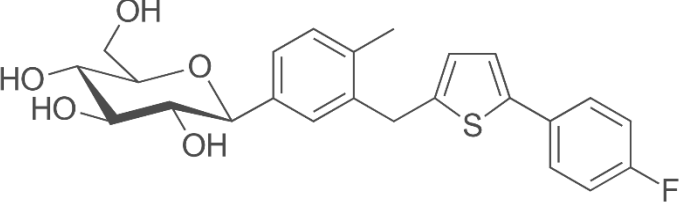
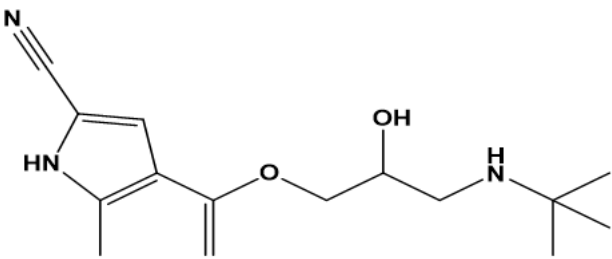
Взаимодействие лиганда и белка (аффинность) оценивалось при помощи характеристик, полученных в результате докинга: энергии связывания и константы ингибирования. В настоящей работе энергией связывания считали наименьшее значение изменения свободной энергии Гиббса при переходе комплекса лиганд-протеин из несвязанного состояния в связанное.

**Результаты и их обсуждение.** Был проведен молекулярный докинг четырех современных и часто назначаемых пациентам с СД2 ингибиторов SGLT2 (дапаглифлозина, эртуглифлозина, эмпаглифлозина, канаглифлозина) с селективным  $\beta_1$ -адреноблокатором цианопиндалолом (цепь  $\alpha$ ).

Более низкое значение свободной энергии связывания ( $E_{св.}$ ) для лиганда должно свидетельствовать о его более высокой аффинности к анализируемому белку. Энергия связывания эртуглифлозина с белком оказалась несколько ниже, по сравнению с другими глифлозинами и была сопоставима с энергией связывания селективного  $\beta_1$ -адреноблокатора цианопиндола (табл.):

Таблица - Результаты молекулярного докинга глифлозинов и цианопиндола с  $\beta_1$ -адренорецептором

Вещество (лиганд)	Формула	Свободная энергия связывания, $E_{св.}$ , ккал/моль
----------------------	---------	---

Дапаглифлозин		-3.14
Эртуглифлозин		-4.07
Эмпаглифлозин		-3.07
Канаглифлозин		-2.98
Цианопиндолол		-3.97



Структура центров связывания селективного  $\beta_1$ -адреноблокатора цианопиндолола [7] и производного эртуглифлозина также, на наш взгляд, имеет сходство по отдельным аминокислотам, участвующих в формировании полярных взаимодействий с лигандом – в них преобладают неполярные взаимодействия (рис.).

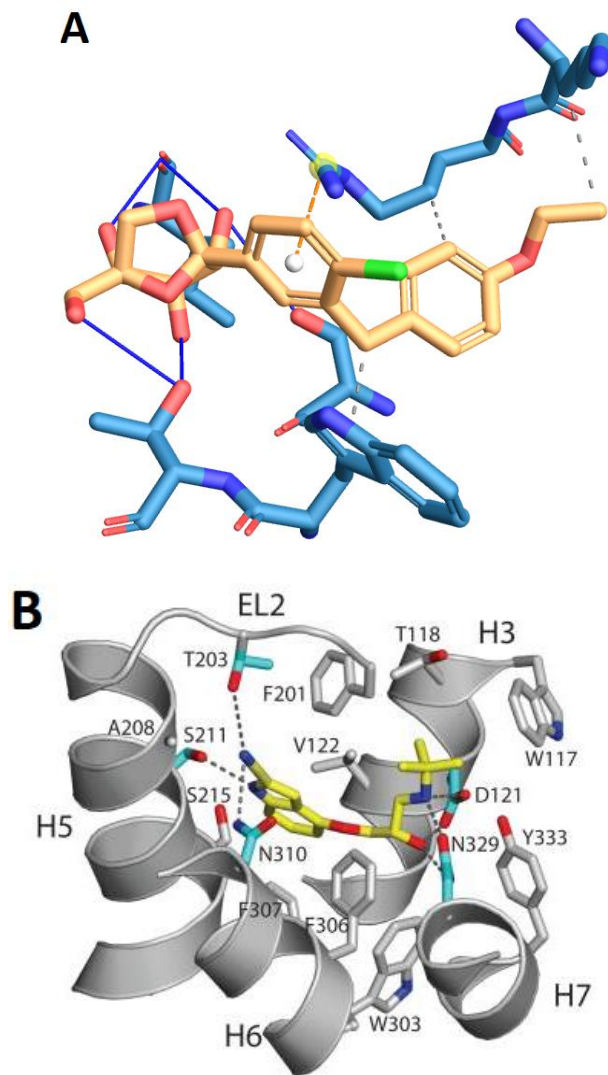


Рисунок – Центр связывания эртуглифлозина (А) и цианопиндолола (В) с  $\beta_1$ -адренорецептором

**Выводы:** в ходе проведенного исследования *in silico* выявлено наличие сродства у глифлозинов к  $\beta_1$ -адренорецептору (7BVQ). Данные свободной энергии связывания с рецептором совпадают с аналогичными для селективного  $\beta_1$ -адреноблокатора – цианопиндолола. На основании этого можно предполагать, что механизм снижения кардиоваскулярных рисков у пациентов с СД2, принимающих глифлозины обусловлен наличием у данной группы препаратов негликемического эффекта  $\beta_1$ -адреноблокатора. Однако полученный вывод все-

таким образом требует подтверждения в дополнительных рандомизированных исследованиях.

#### Список литературы

1. Oliver, E Beta-blockers: Historical Perspective and Mechanisms of Action // E/ Oliver, F.Ir Mayor / Rev Esp . Cardiol (Enge Ed), – 2019. - №10 – P. 853-862.
2. Ниберилидзе, Д.В. Актуальные вопросы применения бета-адреноблокаторов в различных клинических ситуациях // Д.В. Ниберилидзе / Кардиология. – 2018. – С. 12-19.
3. Шестакова, М.В., Глифлозины: особенности сахароснижающего действия и негликемические эффекты нового класса препаратов // М.В. Шестакова, О.Ю. Сухарева / Клиническая фармакология и терапия. 2016. Т. 25, № 2. С. 65–71.
4. Salukhov, V.V. Empagliflozin as a new strategy for managing outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus and high cardiovascular risk Salukhov // V.V. Salukhov, T.Yu Demidova / Diabetes mellitus. — 2016. — Vol.19. — № 6. P. 494-510.
5. Bayrasheva V.K., Pchelin I.Yu., Arefyeva A.N., Andoskin P.A., Vasilkova O.N., Lebedev D.A., Cefu S.G. New prospects for the use of sodium-glucose transporter 2 inhibitors in diabetes mellitus // V.K Bayrasheva, I.Yu. Pchelin I.Yu. et al . / Juvenis Scientia. 2017. № 5. P. 13-19.
6. DockingServer [Electronic resource] / DockingServer, 2006. – Mode of access: <https://www.dockingserver.com/web>. (access: 01.06.2022).
7. Warne, T. Structure of a  $\beta_1$ -adrenergic G protein-coupled receptor // T. Warne, M.J. Serrano-Vega, J.G. Baker / Nature. 2008. P. 486-491.

**ВАЛИДАЦИЯ МОДЕЛЬНЫХ МИШЕНЕЙ ГРУППЫ  
АЦИЛТРАНСФЕРАЗ В ПОИСКЕ НОВЫХ ИНГИБИТОРОВ СИНТЕЗА  
МИКОЛОВЫХ КИСЛОТ**

**Лахвич Ф. Ф./**

*Кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры биоорганической химии Белорусского государственного медицинского университета, г. Минск  
lakhvichtt@gmail.com*

**Ринейская О. Н.**

*Кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой биоорганической химии Белорусского государственного медицинского университета, г. Минск  
ryneiskaya@mail.ru*

**Аннотация.** Целью исследования явилась сравнительная оценка эффективности связывания Ривароксабана с  $\beta$ -кетацил[АСР]синтазами I и III *in silico*. При помощи методов молекулярного докинга и компьютерных средств визуализации были определены параметры и топология комплексов Ривароксабана с мутантными  $\beta$ -кетацил[АСР]синтазой I (Cys171Gln) и  $\beta$ -кетацил[АСР]синтазой III (Cys112Ala), которые имитируют открытую конформацию соответствующих ферментов, участвующих в синтезе миколовых кислот. Рекомендуется использовать данные модели в качестве мишеней для последующих экспериментов *in silico* по поиску новых ингибиторов биосинтеза жирных кислот микобактерий и изучению механизма их действия.

**Ключевые слова:** аффинность;  $\beta$ -кетацил[АСР]синтаза I;  $\beta$ -кетацил[АСР]синтаза III; миколовые кислоты; молекулярный докинг; Ривароксабан

**VALIDATION OF ACYLTRANSFERASE MODEL TARGETS FOR THE  
DEVELOPMENT OF THE MYCOLIC ACID BIOSYNTHESIS INHIBITORS**

**Lakhvich T. T.**

*Ph.D. in Chemistry, Associate Professor of Bioorganic Chemistry Department  
of Belarusian State Medical University, Minsk  
lakhvichtt@gmail.com*

**Ryneiskaya V. M.**

*Ph.D. in Medicine, Head of Bioorganic Chemistry Department of Belarusian  
State Medical University, Minsk*

**Summary.** The research objective was to estimate the efficiency of binding Rivaroxaban to  $\beta$ -ketoacyl[ACP]synthase I and III in silico. Using molecular docking methods and computer visualization tools, the parameters as well as topology of Rivaroxaban complexes with mutant  $\beta$ -ketoacyl[ACP]synthase I (Cys171Gln) and  $\beta$ -ketoacyl[ACP]synthase III (Cys112Ala) were determined, the latter mimic the open conformation of the corresponding enzymes involved in the synthesis of mycolic acids. It is recommended to use these models as targets for subsequent in silico experiments to search for new inhibitors of mycobacterial fatty acid biosynthesis and to study their mechanism of action.

**Keywords:** affinity,  $\beta$ -ketoacyl[ACP]synthase III;  $\beta$ -ketoacyl[ACP]synthase I; molecular docking; mycolic acids; Rivaroxaban

Среди наиболее популярных мишеней в поиске и разработке новых лекарственных средств (ЛС) можно выделить компоненты клеточной стенки микобактерий, которые включают пептидогликан, арабиногалактан и миколовые кислоты [1]. В миколовых кислотах, специфичных для микобактерий, длинная меромиколатная цепь ( $C_{42}$ – $C_{62}$ ) имеет разветвление в  $\alpha$ -положении (насыщенный фрагмент  $C_{24}$ – $C_{26}$ ) и содержит в  $\beta$ -положении гидроксильную группу, которая обеспечивает связывание с арабиногалактаном. Формирование такой специфической структуры протекает через ряд стадий в присутствии представителей семейств ацилтрансфераз, редуктаз, дегидратаз, поликетидсинтаз и др [2].

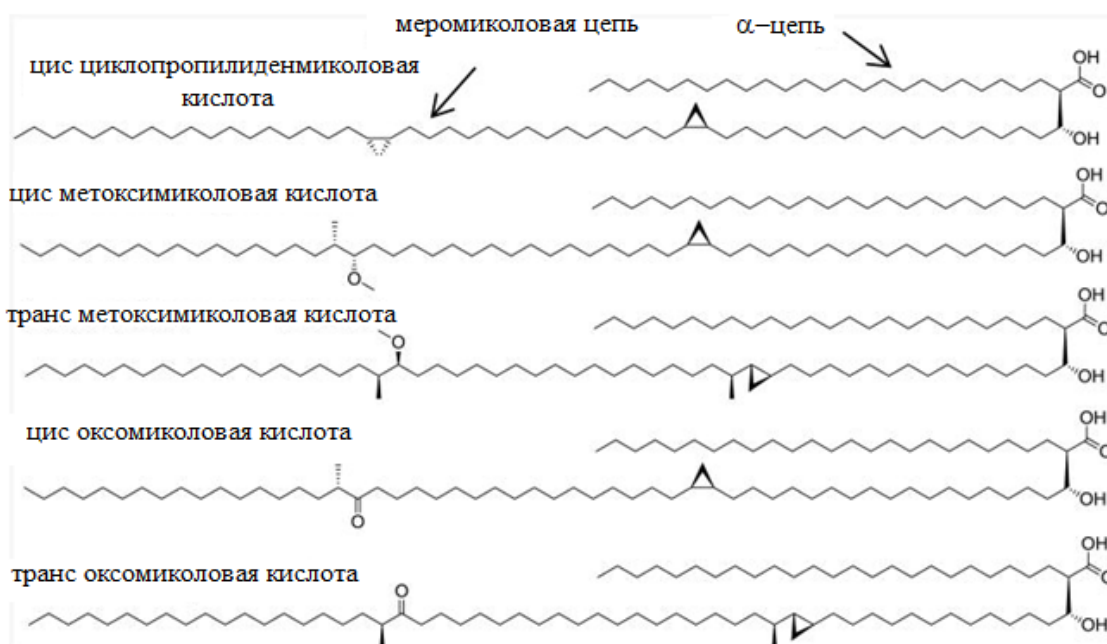


Рисунок 1 – Классификация и строение миколовых кислот

Среди эссенциальных для биосинтеза миколовых кислот ацилтрансфераз в качестве перспективных биологических мишеней выделяют  $\beta$ -кетоацил[ACP]синтазы I и III (или KAS I и KAS III соответственно), которые катализируют ключевые стадии синтеза меромиколовых кислот.

Ранее нами в экспериментах *in silico* [3-7] и *in vitro* [4,7] была изучена активность различных классов соединений (производных изонипекотиновых кислот, альдонамидов, оксазолидинонов) по отношению к KAS I и KAS III. Нами было высказано предположение [6], что мутантные варианты нативных ферментов, моделирующих открытую конформацию  $\beta$ -кетосинтаз, позволяют более эффективно проводить скрининг соединений в поиске лидера.

Цель работы - валидация мутантных вариантов  $\beta$ -кетоацил[ACP]синтазы I (Cys171Gln) и  $\beta$ -кетоацил[ACP]синтазы III (Cys112Ala) в качестве модельных мишеней в поиске новых ингибиторов синтеза миколовых кислот.

**Материалы и методы.** Информация о трехмерной структуре мутантных вариантов  $\beta$ -кетоацил[ACP]синтазы I (Cys112Ala; 2WGF, цепь A), далее KASI(Cys171Ala);  $\beta$ -кетоацил[ACP]синтазы III (Cys112Ala; 1U6E, цепь A), далее KAS III(Cys112Ala), получена с сайта <https://www.rcsb.org>.

Для молекулярного докинга *in silico* и визуализации полученных комплексов использовали ряд специализированных программ: программный пакет ChemOffice, AutoDock Tools 1.5.7, PyMol, OpenBabelGUI, онлайн-серверы Protein-Ligand Interaction Profiler (PLIP) (<https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>) и Protein-Plus (<https://proteins.plus>).

В Autodock применяли генетический алгоритм поиска глобального минимума Ламарка (LGA) с числом прогонов 100, размером популяции 300 для жесткого рецептора и гибкого лиганда. Лиганд - (S)-5-хлор-N-((2-оксо-3-(4-(3-оксоморфолино)фенил)оксазолидин-5-ил)метил)тиофен-2-карбоксамид (МНН Ривароксабан). Взаимодействие лиганда и протеина оценивали по энергии связывания ( $E_{\text{связ.}}$ ), под которой в данной работе подразумевается наименьшее значение изменения свободной энергии Гиббса (ккал/моль) при переходе комплекса лиганд-протеин из несвязанного состояния в связанное.

**Результат.** Мутантные варианты ферментов KASI(Cys171Ala) и KAS III(Cys112Ala) моделирует топологию открытой конформации, в которой фермент осуществляет ацилирование. Поскольку конечной целью нашего исследования является валидация моделей для скрининга кандидатов-ингибитора  $\beta$ -кетоацилсинтаз, установление большего сродства лиганда к ферменту в открытой конформации может прогнозировать противотуберкулезную активность для большего числа кандидатов ЛС.

Рисунок 2 демонстрирует суперпозиции лигандов по отношению к каталитическим триадам, характерным для нативных ферментов: (Cys171Gln,

His311 и His345) для KAS I и (Cys112Ala, His244 и Asn274) для KAS III. Эксперимент *in silico* с мутантными вариантами фермента подтверждает наше предположение о том, что торможение Ривароксабаном роста микобактерий может быть связано с высокой аффинностью лиганда к активному центру  $\beta$ -кетоацилсинтаз I и III. В обоих случаях молекула лиганда занимает туннелеподобное пространство активного сайта мутантного фермента, соответствующего открытой конформации, находясь в непосредственной близости от каталитической триады. Поскольку мы рассматриваем потенциальное ингибирующее действие кандидата-ЛС, отсутствие взаимодействия с аминокислотами (АК) каталитической триады является закономерным; при этом наблюдаемая аффинность характеризуется низким значением энергии связывания: -10,26 и -10,19 ккал/моль для KAS I(Cys171Ala) и KAS III(Cys112Ala) соответственно.

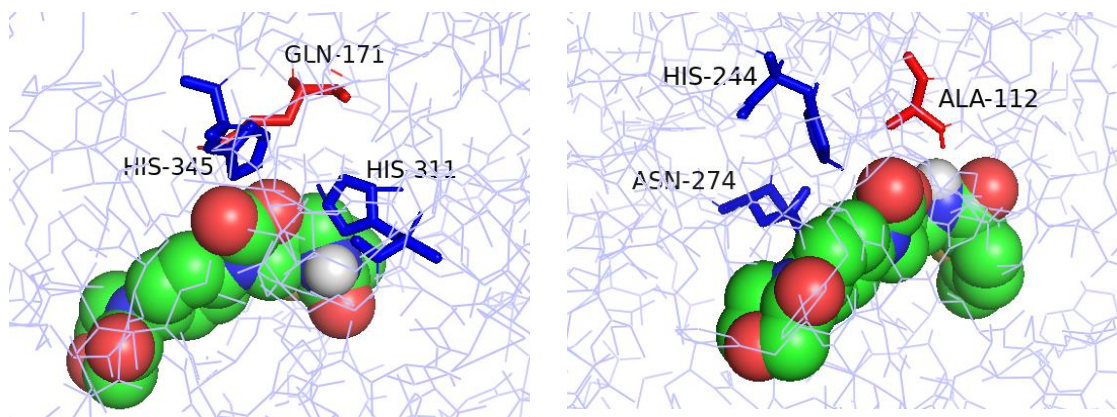


Рисунок 2 – Слева – комплекс Ривароксабан-KASI(Cys171Ala), справа – комплекс Ривароксабан-KASIII(Cys112Ala). Красным цветом выделены АК замены

Нами также были проанализированы типы взаимодействий, которые стабилизируют суперпозиции Ривароксабана по отношению к ферменту при образовании его комплексов с мутантными протеинами (рисунок 3).



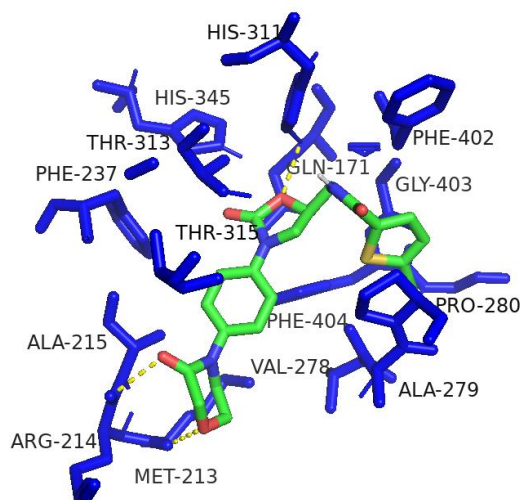


Рисунок 3 – АК окружение (в пределах 4 Å) молекулы Ривароксабана в комплексе с мутантами KAS I(Cys171Ala) слева и KAS III(Cys112Ala) справа

Для взаимодействия Ривароксабана с остатками АК протеинов, моделирующих открытую конформацию, исключительно важную роль играют гидрофобные взаимодействия. Так, для мутанта KAS III(Cys112Ala), фрагменты Leu142, Phe157, Ile189, Gln191, Trp195, Val205, Leu207, Val212, Phe213, Ala246, Ala306 (топологически можно выделить канал от Leu207 до Ala306) формируют протяженную гидрофобную матрицу, вдоль которой «вытягивается» молекула Ривароксабана с изгибом в области хлортиофенового кольца. Аналогичная топология была характерна для суперпозиции Ривароксабана в активном центре мутантного фермента, моделирующего открытую конформацию  $\beta$ -кетоацилсинтазы I, в которой молекула вытянута вдоль канала, образованного остатками гидрофобных фрагментов Ala215, Pro218, Phe402, Phe404. Гидрофильные взаимодействия лиганда с His311 для KASI(Cys171Gln) и с Ser276, Asn247 и Tyr304 для KAS III(Cys112Ala) стабилизируют ориентацию оксазолидинонового цикла. Дополнительно положение оксазинонового фрагмента в KASI(Cys171Gln) стабилизируется водородными связями с Arg214 и Met213, а ковшевидная конформация карбамоилхлортиофенового фрагмента KASIII(Cys112Ala) обеспечивается взаимодействием с Asn81 и Ala112. Вытянутая структура лиганда способствует образованию нескольких водородных связей со всеми гетероциклическими фрагментами. Можно предположить, что конкретная позиция лиганда в пределах данных карманов может меняться в рамках реализации одного механизма, обеспечивающего физиологический отклик, а также, что незначительные изменения характеристик среды (рН, присутствие ионов и пр.) приведут к переходу от энергетически и статистически доминирующих кластеров к минорным; при этом может изменяться физиологический отклик. Последнее предположение требует экспериментальной валидации в последующих экспериментах *in vitro* и *in vivo*.

**Заключение.** В результате исследования проведена валидация выбранных по результатам предыдущих исследований двух мутантных  $\beta$ -кетоацилсинтаз, которые участвуют в разных этапах биосинтеза миколовых кислот микобактерий. KASI(Cys171Ala) и KASIII(Cys112Ala) являются перспективными модельными мишенями для скрининговых исследований по поиску новых ингибиторов синтеза миколовых кислот.

### Список литературы

1. Abrahams, K. Mycobacterial cell wall biosynthesis: a multifaceted antibiotic target. / K. Abrahams // *Parasitology*. – 2018. – V.145, N2. – P. 116-133.
2. North, E.J. New approaches to target the mycolic acid biosynthesis pathway for the development of tuberculosis therapeutics. / E.J. North, M. Jackson, R.E. Lee // *Curr Pharm Des*. – 2014 – V. 20, N27. P. 4357-78.
3. Лахвич, Ф. Ф. Исследование сродства альдонамидов к рецепторам KASA в контексте разработки противотуберкулезных препаратов / Ф. Ф. Лахвич, М.И. Борова // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики: сборник научных трудов / Минск: БГМУ, 2021. - Вып. 11. С. 518-523.
4. Получение и сравнительное изучение биологической активности производных гидроксиизонипекотиновых кислот *in vitro* и *in silico*: разработка модели молекулярного докинга в поиске новых противотуберкулезных средств / Ф. Ф. Лахвич и соавт. // *Вестник Мозырского государственного педагогического университета им. И.П. Шамякина*. – 2018. – № 1(51). – С. 36-43.
5. Ринейская, О.Н. *In silico* исследование аффинности ривароксобана к  $\beta$ -кетоацил[АСР]синтазе 3 / О.Н. Ринейская, Ф.Ф. Лахвич // *Физико-химическая биология как основа современной медицины*. – Мн.: БГМУ, 2022. – С. 279-284.
6. Лахвіч, Т.Т. Афіннасьць Рывараксабану *in silico* да  $\beta$ -кэтаацыл[АСР] сінтазы I: пошук новага фармакафора / Т.Т. Лахвіч, В.М. Рынейская // *Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук*. – 2023. – Т. 59, No 1. С. 42–48.
7. Исследование противотуберкулезной активности ривароксабана *in silico* и *in vitro* / Ф. Ф. Лахвич [и др.] // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси*. – 2023. – Т. 67, № 3. – С. 207–213.



## ФАКТОРНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ФИБРОГЕНЕЗЕ ПЕЧЕНИ

**Лебедева Е. И.**

кандидат биологических наук, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», г. Витебск, Беларусь  
lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru

**Щастный А. Т.**

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной хирургии с курсом ФПК и ПК учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», г. Витебск, Беларусь  
rectorvsmi@gmail.com

**Бабенко А. С.**

кандидат химических наук, доцент кафедры биоорганической химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь  
labmdbt@gmail.com

**Аннотация.** В работе представлены данные о динамике уровня мРНК ключевых генов, вовлекаемых в процессы инициации и развития фиброза печени с использованием модельной системы (крысы линии Wistar, токсический фиброз, тиоацетамид). Проведенный анализ факторов динамики уровня мРНК генов, связанных с процессами ангиогенеза, дифференцировки и миграции клеток, развития воспаления, разрушения белков внеклеточного матрикса и пр. показал, что со стороны молекулярно-генетических событий фиброгенез не является однородным или линейным и одни и те же молекулярные мишени в зависимости от стадии фиброза могут вовлекаться в различные процессы, что в большинстве случаев не отражается на уровне морфологических изменений. Для понимания молекулярных и клеточных механизмов инициации и развития фиброза требуется проведение дополнительных исследований с обязательным подробным рассмотрением всех стадий процесса на клеточном и молекулярном уровне.

**Ключевые слова:** фиброз печени; токсическая модель; тиоацетамид; мРНК; факторный анализ; гены

## FACTOR ANALYSIS OF GENE EXPRESSION IN EXPERIMENTAL LIVER FIBROGENESIS

**Lebedeva E. I.**

*PhD, associate professor*

*Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Belarus*

*lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru*

**Shchastniy A. T.**

*MD, PhD, full professor*

*Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Belarus*

*rectorvsmu@gmail.com*

**Babenka A. S.**

*PhD, associate professor*

*Belarussian State Medical University, Minsk, Belarus*

*labmdbt@gmail.com*

**Annotation.** *Data on the dynamics of mRNA levels of key genes involved in the processes of initiation and development of liver fibrosis are presented. A model system was used (Wistar rats, toxic fibrosis, thioacetamide). The analysis of the factors of the dynamics of the mRNA level of genes associated with the processes of angiogenesis, differentiation and migration of cells, the development of inflammation, the destruction of extracellular matrix proteins, etc. showed that from the side of molecular genetic events, fibrogenesis is not homogeneous or linear and the same molecular targets depending on the stage of fibrosis, they can be involved in various processes, which in most cases is not reflected in the level of morphological changes. To understand the molecular and cellular mechanisms of initiation and development of fibrosis, additional studies are required with a mandatory detailed consideration of all stages of the process at the cellular and molecular level.*

**Keywords:** *liver fibrosis; toxic model; thioacetamide; mRNA; factor analysis; genes*

**Введение.** В процессы инициации и прогрессирования фиброза печени вовлекаются многие молекулярные сигнальные пути. Благодаря использованию технологии высокопроизводительного секвенирования обнаружены гены, уровень мРНК которых статистически значимо изменяется в ответ на воздействие индукторами фиброза. Однако, этих данных все еще недостаточно для понимания всех аспектов процесса, что требует более подробного изучения как отдельных этапов фиброгенеза, так и взаимосвязей между генами, вовлекаемыми в эти процессы.

Анализ литературных источников показал, что гены *notch1*, *notch2*, *yap1*, *tweak* (*tnfsf12*), *fn14* (*tnfrsf12a*), *ang*, *vegfa*, *cxcl12* (*sdf*), *nos2* и *mmp-9* очень часто называются ключевыми в процессе фиброгенеза, так как их экспрессия связана с

процессами синтеза и деградация белков внеклеточного матрикса, ангиогенезом, развитием воспаления и миграцией клеток предшественников из костного мозга к очагам повреждения печени [1-6].

Цель работы: выявить взаимосвязи между уровнем мРНК генов *notch1*, *notch2*, *yap1*, *tweek (tnfsf12)*, *fn14 (tnfrsf12a)*, *ang*, *vegfa*, *cxcl12 (sdf)*, *nos2* и *mmp-9* в динамике тиацетамид-индуцированного фиброза печени крыс Вистар.

**Материалы и методы.** Фиброгенез печени у крыс-самцов Вистар моделировали раствором тиацетамида, который вводили интрагастрально через зонд в дозе 200 мг/кг массы тела 2 раза в нед. Крысы контрольной группы ( $n=12$ ) получали воду без ТАА в аналогичном объеме. Животных рандомизировали на 4 группы ( $n=12$  в каждой) в зависимости от длительности воздействия ТАА: 3, 5, 7, 9 нед. Дизайн эксперимента был одобрен на заседании Комиссии по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными при учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» (протокол № 6 от 03.01.2019 г). Все манипуляции с животными проводили в соответствии с рекомендациями Конвенции Совета Европы по охране позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях от 18.03.1986, Директиве Совета ЕЭС от 24.11.1986 и рекомендациям FELASA Working Group Report (1994-1996).

Для выявления соединительной ткани срезы печени окрашивали по методу Маллори. Гистологические препараты исследовали с использованием компьютерных программ ImageScope Color и cellSens Standard на базе микроскопа Olympus BX51 (Япония). Степень фиброза определяли с использованием полуколичественной шкалы K.G. Ishak. Уровень мРНК *notch1*, *notch2*, *yap1*, *tweek (tnfsf12)*, *fn14 (tnfrsf12a)*, *ang*, *vegfa*, *cxcl12 (sdf)*, *nos2* и *mmp-9* в печени выявляли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Экспериментальная модель и оценка уровня экспрессии мРНК генов детально представлен в исследованиях Лебедевой Е.И. и соавт, 2023 [7]. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics 23.0 (An IBM Company, 28.0.1, США). Изучение взаимосвязи между исследуемыми переменными проводили с помощью факторного анализа, в качестве критерия успешного завершения факторного анализа использовали показатель меры адекватности выборки Кайзера-Майера-Олкина ( $KMO \geq 0,5$ ), коэффициенты корреляции выше 0,499 и ниже -0,499. Для выявления статистически значимых отличий между уровнем мРНК генов-мишеней использовали критерий Манна-Уитни.

**Результаты.** Уровень мРНК всех генов-мишеней статистически значимо изменился во всех контрольных точках (0 нед./3 нед., 0 нед./5 нед. и т.д. 3 нед./5 нед., 3 нед./7 нед. и т.д.). Однако изменения носили разный характер. Уровень

мРНК большинства генов-мишеней: *tweak (tnfsf12)*, *notch1*, *yap1*, *vegfa* и *cxcl12 (sdf)* снизился менее чем на порядок. В то время как в случае гена *ang* зафиксировано снижение в 10 и более раз по сравнению с контрольной точкой 0 нед. Четыре мишени показали рост уровня мРНК, из них три (*mmp-9*, *nos2*, *notch2*) в пределах 2 раз и один – *fn14 (tnfrsf12a)* более чем в 5 раз по сравнению с контрольной точкой 0 нед. соответственно. Результаты факторного анализа позволили выделить несколько групп генов в каждой контрольной точке.

В контрольной точке 0 нед. (морфологически не изменённая ткань печени) выявлено 4 фактора: первый – *tweak (tnfsf12)*, *notch1*, *yap1* и *cxcl12 (sdf)*, второй – *mmp-9* и *notch2*, третий – *ang* и *vegfa*, четвертый – *nos2* и *fn14*.

На 3 неделе эксперимента выявили умеренное формирование фиброзной соединительной ткани в портальных зонах – стадия фиброза F1. Наблюдалось перераспределение генов по факторам. Число факторов сократилось до 3. В состав первого фактора добавился *fn14* (рецептор *tweak*), при этом уровень его мРНК увеличился в 5 раз на фоне снижения уровня мРНК лиганда *tweak* на 40%. Второй фактор – *ang* и *vegfa*, снижение уровня обеих мишеней в пределах 5 раз. Третий фактор вобрал в себя все остальные мишени *mmp-9*, *notch2* и *nos2*.

На 5 неделе эксперимента в паренхиме печени установили портальный, мостовидный, местами центрлобулярный и диффузный перицеллюлярный фиброз со степенью F2/F3. При этом снова наблюдается перегруппировка генов-мишеней по факторам. Сохраняется их общее число – 3 фактора. В составе первого на этом этапе остаются *notch1*, *yap1* и *cxcl12 (sdf)*, при этом добавляются *ang* и *vegfa*. В свою очередь *fn14* и *tweak* формируют третий фактор. Второй фактор – повторяет третий из предыдущей контрольной точки (3 нед). В его составе *mmp-9*, *notch2* и *nos2*.

На 7 неделе эксперимента (степень фиброза F3/F4) сохраняется принцип организации первого фактора *notch1*, *yap1* и *cxcl12 (sdf)*, однако в его состав снова входит *tweak*. Мишени *ang* и *vegfa* формируют 4 фактор, *notch2* и *nos2* третий. Интересно, что на этом этапе в отдельный второй фактор выделены *mmp-9* и *fn14*.

На 9 неделе эксперимента в области отдельных портальных зон наблюдали единичные ложные печеночные доли, формирование которых отражает начало процесса трансформация фиброза печени в цирроз F4/F5. Сформировано только два фактора. При этом в составе первого наконец наблюдается объединение сигнального пути *notch (notch1, notch2, yap1)*, а также *tweak/Fn14*.

В ответ на повреждения в печени запускаются процессы регенерации. Известно, что удаление поврежденных клеток, их компонентов и белков внеклеточного матрикса является необходимым этапом восстановления и сопровождает процесс, вплоть до его завершения. По мере образования зон

некроза после токсического поражения, освобождается ряд цитокинов и иных биологически активных регуляторных молекул способных привлекать клетки иммунной системы и, в частности, нейтрофилы. Они в свою очередь выделяют во внеклеточное пространство большое количества белков семейства матриксных металлопротеиназ – ММП. Мателлопротеиназы разрушают как белки внеклеточного матрикса, так и белки внутри самих клеток, тем самым активно вовлекаясь в регуляцию регенерации. Параллельно может нарастать воспаление, что привлекает еще большее количество клеток иммунной системы к очагам поражения. По мере обеспечения требуемых условий и подготовки соответствующих ниш, становится возможным дифференцировка клеток-предшественников и формирование новых гепатоцитов и клеток эндотелия сосудов. На этом этапе организму сложно обеспечивать баланс (синтез/деградация) белков внеклеточного матрикса, что приводит к прогрессированию фиброза [8].

Проведенный нами анализ факторов динамики уровня мРНК генов, связанных с процессами ангиогенеза, дифференцировки и миграции клеток, развития воспаления, разрушения белков внеклеточного матрикса и пр. показал, что со стороны молекулярно-генетических событий фиброгенез не является однородным или линейным и одни и те же молекулярные мишени в зависимости от стадии фиброза могут вовлекаться в различные процессы, что в большинстве случаев не отражается на уровне морфологических изменений.

Таким образом, для понимания молекулярных и клеточных механизмов инициации и развития фиброза требуется проведение дополнительных исследований с обязательным подробным рассмотрением всех стадий процесса.

### **Список литературы**

1. Duan JL, Ruan B, Yan XC, Liang L, Song P, Yang ZY, Liu Y, Dou KF, Han H, Wang L. Endothelial Notch activation reshapes the angiocrine of sinusoidal endothelia to aggravate liver fibrosis and blunt regeneration in mice. *Hepatology*. 2018 Aug;68(2):677-690. doi: 10.1002/hep.29834. Epub 2018 Apr 26. PMID: 29420858; PMCID: PMC6099357.PMID: 29420858
2. Wilhelm A, Shepherd EL, Amatucci A, Munir M, Reynolds G, Humphreys E, Resheq Y, Adams DH, Hübscher S, Burkly LC, Weston CJ, Afford SC. Interaction of TWEAK with Fn14 leads to the progression of fibrotic liver disease by directly modulating hepatic stellate cell proliferation. *J Pathol*. 2016 May;239(1):109-21. doi: 10.1002/path.4707. Epub 2016 Mar 29. PMID: 26924336; PMCID: PMC4949530.
3. Tsomidis I, Notas G, Xidakis C, Voumvouraki A, Samonakis DN, Koulentaki M, Kouroumalis E. Enzymes of Fibrosis in Chronic Liver Disease.

Biomedicines. 2022 Dec 8;10(12):3179. doi: 10.3390/biomedicines10123179. PMID: 36551935; PMCID: PMC9776355.

4. Cai C, Zeng D, Gao Q, Ma L, Zeng B, Zhou Y, Wang H. Decreased ferroportin in hepatocytes promotes macrophages polarize towards an M2-like phenotype and liver fibrosis. *Sci Rep.* 2021 Jun 28;11(1):13386. doi: 10.1038/s41598-021-92839-z. PMID: 34183746; PMCID: PMC8239022.

5. Manco M, Panera N, Crudele A, Braghini MR, Bianchi M, Comparcola D, De Vito R, Maggiore G, Alisi A. Angiotensin-2 levels correlates with disease activity in children with nonalcoholic fatty liver disease. *Pediatr Res.* 2022 Jun;91(7):1781-1786. doi: 10.1038/s41390-021-01666-5. Epub 2021 Jul 30. PMID: 34331020.

6. Wu X, Qian L, Zhao H, Lei W, Liu Y, Xu X, Li J, Yang Z, Wang D, Zhang Y, Zhang Y, Tang R, Yang Y, Tian Y. CXCL12/CXCR4: An amazing challenge and opportunity in the fight against fibrosis. *Ageing Res Rev.* 2023 Jan;83:101809. doi: 10.1016/j.arr.2022.101809. Epub 2022 Nov 25. PMID: 36442720.

7. Lebedeva EI, Babenka AS, Shchastniy AT. *literammp-9* mRNA Expression and Bridging Fibrosis Progression in Toxic Liver Injury. *Acta Naturae.* 2023 Apr-Jun;15(2):50-58. doi: 10.32607/actanaturae.17856. PMID: 37538808; PMCID: PMC10395773.

8. Morsy MA, Abdel-Gaber SA, Mokhemer SA, Kandeel M, Sedik WF, Nair AB, Venugopala KN, Khalil HE, Al-Dhubiab BE, Mohamed MZ. Pregnenolone Inhibits Doxorubicin-Induced Cardiac Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis-Role of Matrix Metalloproteinase 2 and NADPH Oxidase 1. *Pharmaceuticals (Basel).* 2023 Apr 28;16(5):665. doi: 10.3390/ph16050665. PMID: 37242448; PMCID: PMC10223417.

## ПОЛИМОРФНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ TNF- $\alpha$ И IL-10 И РАЗВИТИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

**Макаревич В. В.**

ассистент кафедры биологической химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь,  
vasilinamkrvch@gmail.com;

**Пикуза А. Р.**

студент педиатрического факультета учреждения образования «Белорусский государственный университет», г. Минск, Беларусь,  
nastyu.pikuza1612@gmail.com;

**Аннотация.** В статье приведен анализ взаимосвязи полиморфизмов rs1800629 гена цитокинового рецептора фактора некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ) и rs1800896 гена интерлейкина 10 (IL-10) с риском развития хронической обструктивной болезни легких среди населения Республики Беларусь. Носительство генотипа GG полиморфизма rs1800629 гена TNF- $\alpha$  уменьшает риск развития ХОБЛ в 4 раза, а генотипа AG увеличивает вероятность возникновения ХОБЛ в 2,78 раза у курящих лиц. Генотип AA полиморфизма rs1800896 гена IL-10 у белорусов ассоциирован с повышенным риском развития ХОБЛ в 2,72 раза. У курящих лиц данный показатель увеличивается до 2,89 раз. Полиморфный вариант GG снижает вероятность развития ХОБЛ в 2,38 раз.

**Ключевые слова:** хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), полиморфизм, IL-10, TNF- $\alpha$ .

## TNF- $\alpha$ AND IL-10 GENE POLYMORPHISMS AND THE DEVELOPMENT OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

**Makarevich V.V.**

Assistant of the Department of Biological Chemistry of the Educational Institution "Belarusian State Medical University", Minsk, Belarus,  
vasilinamkrvch@gmail.com;

**Pikuza A.R.**

student of the Faculty of Pediatrics of the Educational Institution "Belarusian State Medical University", Minsk, Belarus,  
nastyu.pikuza1612@gmail.com;

**Annotation.** *This article introduces the association analysis between rs1800629 polymorphism of the cytokine receptor tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) gene and the rs1800896 polymorphism of the interleukin-10 with the risk of developing chronic obstructive pulmonary disease in residents of the Republic of Belarus. Carrying the GG genotype of the rs1800629 polymorphism of the TNF- $\alpha$  gene reduces the risk of developing COPD by 4 times, and the AG genotype increases the risk of developing COPD by 2.78 times in smokers. The AA genotype of the rs1800896 polymorphism of the IL-10 gene in Belarusians is associated with a 2.72-fold increased risk of developing COPD and by 2.89-fold increased risk in smokers. The GG polymorphic variant reduces the risk of developing COPD by 2.38 times.*

**Keywords:** *chronic obstructive pulmonary disease (COPD), polymorphism, IL-10, TNF- $\alpha$ .*

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) — распространенное неизлечимое гетерогенное заболевание, характеризующееся персистирующим воспалением дыхательных путей и необратимым ограничением скорости воздушного потока. Это хроническое воспалительное заболевание с высокими показателями инвалидности и смертности во всем мире: ежегодно фиксируется около 3 миллионов летальных случаев [1].

Позитивным эффектом на купирование воспаления и уменьшение повреждения паренхимы легких обладает интерлейкин 10 (IL-10) [2]. Однако при ХОБЛ отмечается снижение выработки данного противовоспалительного цитокина [3]. При этом повышена концентрация фактора некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ) — ключевого медиатора воспаления и индуктора выработки провоспалительных цитокинов [2], приводящего к склерозированию и эмфиземе.

Также к факторам риска развития ХОБЛ относят курение, которое вызывает локальное хроническое легочное воспаление [4]. По имеющимся данным, у курильщиков отмечается повышение уровня TNF- $\alpha$  и снижение уровня IL-10 по сравнению с группой некурящих пациентов [5].

По причине высокой распространённости и тяжести протекания ХОБЛ, TNF- $\alpha$  и IL-10 являются перспективными прогностическими биологическими индикаторами при ХОБЛ. Изучение полиморфизма указанных цитокинов перспективно в целях прогнозирования ХОБЛ и разработки методов анализа генетических маркеров риска развития хронических респираторных заболеваний.

Цель - изучение связи полиморфизма rs1800896 гена IL-10 и rs1800629 гена TNF- $\alpha$  с развитием ХОБЛ среди населения Республики Беларусь.

**Материалы и методы.** Были рассмотрены полиморфизмы rs1800629 гена TNF- $\alpha$  и rs1800896 гена IL-10. Клиническое обследование и диагностика



проводились в учреждении здравоохранения «Минский консультационно-диагностический центр» с участием 95 пациентов с установленным диагнозом ХОБЛ и 95 клинически здоровых лиц. Для генотипирования использовали Taq-Map зонды (ООО «ТестГен»). Пакетом программ Microsoft Excel изучались отклонения частот генотипов от равновесия Харди-Вайнберга. Сравнение выборок происходило с использованием таблиц сопряженности и критерия хи-квадрат. При помощи отношения шансов (ОШ) оценивалась ассоциация развития ХОБЛ в зависимости от полиморфизма. В значения доверительного интервала 95% (ДИ95%) не входила 1. Статистическая значимость определялась при результатах с  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Распределение частот генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF- $\alpha$  репрезентативно, так как выборки контрольной группы здоровых лиц и группы пациентов с ХОБЛ соответствуют распределению Харди-Вайнберга. Группа пациентов с ХОБЛ имеет значимые отличия по сравнению с контрольной группой, что может быть обусловлено существенным вкладом одной из аллелей в развитие болезни.

Определена частота аллелей А и G и генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF- $\alpha$  в группе пациентов с ХОБЛ и здоровых лиц (табл. 1).

Таблица 1 – Частота аллелей и генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF- $\alpha$  у обследуемых лиц

Носительст во аллелей и генотипов	Пациенты с ХОБЛ, n (%)	Здоровые лица, n (%)	$\chi^2$	P	ОШ	95% ДИ
A	45 (11,7%)	30 (8,0%)	3,19	1,33	1,33	0,8- 2,23
G	163 (42,5%)	145 (37,8%)			0,75	0,45- 1,25
AA	9 (9,5%)	3 (3,2%)	4,86	0,16	3,18	0,84- 12,25
AG	27 (28,4%)	21 (22,1%)			1,4	0,73- 2,7
GG	59 (62,1%)	71 (74,7%)			1,8	1,64- 2,96

Обнаружено, что наличие аллели G характернее для пациентов с ХОБЛ – 42,5%. Также в группе здоровых лиц преобладают носители генотипа GG – 74,7%, а генотип AA характернее для пациентов с ХОБЛ – 9,5 %, что не

позволяет установить наличие взаимосвязи между определенным вариантом генотипа и риском развития ХОБЛ.

При сравнении риска развития ХОБЛ у обследуемых лиц в зависимости от статуса курения обнаружено следующее: существует ассоциация носительства гомозиготного генотипа AG у курящих лиц с увеличением вероятности возникновения ХОБЛ в 2,78 раза ( $p=0,2$ ; ОШ=2,7; 95%ДИ=1,1-6,4) (табл. 2).

Таблица 2 – Носительство генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF- $\alpha$  у обследуемых лиц в зависимости от курения

Курение	Генотип	Статус		$\chi^2$	p	ОШ	95% ДИ
		Пациенты с ХОБЛ, n (%)	Здоровые лица, n (%)				
Курящие	AA	0 (0%)	6 (9,2%)	12,17	0,2	-	-
	AG	9 (15,3%)	21 (32,3%)			2,7	1,1-6,4
	GG	50 (84,7%)	38 (58,5%)			0,25	0,1-0,6
Некурящие	AA	16 (53,3%)	10 (27,8%)	1,47	0,12	0,5	0,16-1,55
	AG	9 (30%)	13 (36,1%)			1,22	0,23-6,6
	GG	5 (16,7%)	13 (36,1%)			1,67	0,55-4,64

В отношении носительства генотипа GG у курящих лиц определено статистически значимое уменьшение с риска развития ХОБЛ в 4 раза ( $p=0,28$ ; ОШ= 0,25; 95%ДИ=0,1-0,6).

Далее был рассмотрен полиморфизм rs1800896 гена IL-10. При анализе распределения частот генотипов полиморфизма rs1800896 IL-10 выявлено, что контрольная группа здоровых лиц и группа пациентов с ХОБЛ соответствует распределению Харди-Вайнберга, так как действительное распределение генотипов статистически значимо не отличалось от ожидаемого ( $p>0,05$ ) в обеих группах.

Определена частота аллелей А и G и генотипов полиморфизма rs1800896 гена IL-10 в группе пациентов с ХОБЛ и здоровых лиц (табл. 3).

Таблица 3 – Частота аллелей и генотипов полиморфизма rs1800896 гена IL-10 у обследуемых лиц

Носительство аллелей и генотипов	Пациенты с ХОБЛ, n (%)	Здоровые лица, n (%)	$\chi^2$	P	ОШ	95% ДИ
A	117 (30,8%)	81 (21,3%)	13,80	0,0002	2,16	1,43-3,25
G	73 (19,2%)	109 (28,7%)			0,21	0,30-0,70
AA	40 (42,1%)	20 (21,0%)	12,00		2,72	1,43-5,17

AG	37 (39,0%)	41 (43,2%)	0,002	0,84	0,47-1,49
GG	18 (18,9%)	34 (35,8%)		0,42	0,2-0,81

Среди пациентов с ХОБЛ обнаружено преобладание носителей аллели А – 30,8% и генотипа АА – 42,1%. Расчет показателя ОШ показал, что носительство гомозиготного генотипа АА цитокинового рецептора IL-10 повышает риск развития ХОБЛ в 2,72 раза ( $p=0,002$ ; ОШ=2,72; 95%ДИ>1). Среди здоровых лиц доминирует носительство аллели G – 28,7%, носительство генотипа GG уменьшает вероятность развития ХОБЛ в 2,38 раз ( $p=0,002$ ; ОШ=0,42; 95%ДИ>1). Сравнивался риск развития ХОБЛ в зависимости от статуса курения (табл. 4).

Таблица 4 – Носительство генотипов rs1800896 гена IL-10 у обследуемых лиц в зависимости от курения

Курение	Генотип	Статус		$\chi^2$	p	ОШ	95% ДИ
		Пациенты с ХОБЛ, n (%)	Здоровые лица, n (%)				
Курящие	AA	24 (36,90%)	10 (16,90%)	7,55	0,02	2,89	1,23-6,68
	AG	28 (43,10%)	28 (47,50%)			0,83	0,41-0,70
	GG	13 (20,0%)	21 (35,60%)			0,45	0,20-1,0
Некурящие	AA	16 (53,3%)	10 (27,8%)	5,26	0,07	2,97	1,06-8,26
	AG	9 (30%)	13 (36,1%)			0,75	0,26-2,13
	GG	5 (16,7%)	13 (36,1%)			0,35	0,11-1,15

У курящих лиц носительство гомозиготного генотипа АА было ассоциировано с увеличением вероятности возникновения ХОБЛ в 2,89 раза ( $p=0,02$ ; ОШ=2,89; 95%ДИ=1,23-6,68). Статистически значимой связи носительства генотипа GG у с риском развития ХОБЛ у курящих лиц не определено ( $p=0,02$ ; ОШ= 0,45; 95%ДИ=0,20-1,0). Ассоциации между носительством генотипов исследуемого полиморфизма среди некурящих здоровых лиц и пациентов с ХОБЛ в исследуемой подгруппе выявлено не было ( $p>0,05$ ).

**Выводы:**

1. Носительство генотипа AG rs1800629 полиморфизма гена TNF- $\alpha$  у курящих лиц увеличивает вероятность возникновения ХОБЛ в 2,78 раза ( $p=0,195$ ; ОШ=2,652; 95%ДИ=1,1-6,4). Носительство генотипа GG уменьшает риск развития ХОБЛ в 4 раза ( $p=0,28$ ; ОШ= 0,253; 95%ДИ=0,1-0,61).

2. Гомозиготный генотип AA полиморфизма rs1800896 гена IL-10 у белорусов ассоциирован с повышенным риском развития ХОБЛ в 2,72 раза. У курящих лиц носительство генотипа AA связано с увеличением частоты возникновения ХОБЛ в 2,89 раза ( $p=0,023$ ; ОШ=2,89; 95%ДИ=1,23-6,68). Полиморфный вариант GG снижает вероятность развития ХОБЛ в 2,38 раз.

### **Список литературы**

1. Ma R. Association Between IL-17 and Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis [Text] / R. Ma, H. Su // International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. – Vol. 2023: 18. – 2023. – P. 1681-1690.
2. Yang D. Correlation between hs-CRP, IL-6, IL-10, ET-1 and Chronic Obstructive Pulmonary Disease Combined with Pulmonary Hypertension [Text] / D. Yang, L. Wang // Journal of Healthcare Engineering. Developments in Optimization Algorithms for Smart Healthcare. – Vol. 2022. – 2022. – ID: 3247807.
3. Kim E.Y. Immunomodulation of autoimmune arthritis by pro-inflammatory cytokines [Text] / K. D. Moudgil, E.Y. Kim // Cytokine. – Vol. 98. – 2017. – P. 87-96.
4. Vestbo J. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease [Text] / J. Vestbo, S. Hurd, A. Agusti // Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). – 2019. – P. 139.
5. Mosrane Y. Systemic inflammatory profile of smokers with and without COPD [Text] / Y. Mosrane, M. Bougrida // Revue de Pneumologie Clinique. – 2017. – № 83. – P. 188–198.

**НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ АДСОРБЦИЯ БЕЛКА КАПИЛЛЯРАМИ  
ПОЛИСУЛЬФОНА В УСЛОВИЯХ ДИНАМИЧЕСКОГО  
ЭКСПЕРИМЕНТА**

**Макаревич Д. А.**

*Кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник МНПЦ  
хирургии, трансплантологии и гематологии, demkarevich@yandex.ru*

**Рябцева Т. В.**

*Кандидат биологических наук, ассистент кафедры биологическая химия  
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,  
ta-yana@yandex.ru*

**Дусь Д. Д.**

*Заведующий отделением экстракорпоральной детоксикации ГУ «МНПЦ  
хирургии, трансплантологии и гематологии»*

**Аннотация.** Целью данного исследования являлось изучение неспецифической адсорбции белков плазмы крови нитями полисульфона в условиях стендового эксперимента. Проведены динамические эксперименты с использованием нитей полисульфона, упакованных в гемосорбционные колонки, и плазмы крови человека, полученной после проведения среднеобъемного плазмафереза. Анализ изменения концентрации общего белка, альбумина и глобулина в плазме крови при проведении динамического эксперимента свидетельствовал о низкой неспецифической адсорбции белков нитями полисульфона. Таким образом, данный полимерный материал может быть использован для разработки отечественных гемосорбентов.

**Ключевые слова:** полисульфон; гемосорбенты; плазма крови; общий белок; альбумин; сорбция

**NON-SPECIFIC PROTEIN ADSORPTION BY POLYSULPHONE  
STRAINS DURING THE DYNAMIC EXPERIMENT**

**Makarevich D. A.**

*PhD in Biology, scientist "Minsk Scientific and Practical Center for Surgery,  
Transplantology and Hematology", demkarevich@yandex.ru*

**Ryabtseva T. V.**

*PhD in Biology, Belarusian State Medical University,  
ta-yana@yandex.ru*

**Dus D. D.**

*Head of the Department of Extracorporeal Detoxification, State Institution  
"Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and  
Hematology"*

**Annotation.** *The purpose of this study was to investigate the nonspecific plasma proteins adsorption by polystyrene threads in a bench experiment. We carried out these experiments using the polysulfone filaments packed in hemosorption columns and human blood plasma obtained after medium-volume plasmapheresis. Analysis of the concentration of total protein, albumin and globulin in plasma during the dynamic experiment indicated low nonspecific adsorption of proteins by polystyrene threads. Thus, this polymeric material can be used to develop specific hemosorbents.*

**Keywords:** *polysulfone, hemosorbents, blood plasma, total protein, albumin, sorption*

Полисульфон (ПС) - является классическим материалом для синтеза пористых полимерных мембран. ПС - аморфный термопласт, состоящий из ароматических соединений (фениленов), дополненный сульфоновыми, изопропилиденовыми или эфирными фрагментами [1, 2]. Одним из способов применения ПС является гемодиализ. В гемодиализе полисульфон заменил применяемые ранее целлюлозные мембраны, так как медицинский полисульфон отвечает основным требованиям, применяемым к изделиям медицинского назначения – стерилизуемость, гидролитическая стабильность, нетоксичность, химическая и биологическая инертность [3]. ПС обладают высокой удельной поверхностью, что обусловлено их микропористой структурой (толщина от 15 до 100 мкм) [4]. Поэтому ПС может быть использован для разработки специфических гемосорбентов. Существует два подхода для функционализации полисульфона. Первый предполагает введение активных группировок на стадии полимеризации, второй – после образования полимера. Имобилизация лиганда возможна только после соответствующей функционализации полисульфона [5].

При производстве отечественных гемосорбентов в качестве полимерной матрицы-носителя лиганда используют полиакриламидный гидрогель [6]. Однако применение данной матрицы связано с риском попадания в кровь остатков реакционноспособных функциональных групп, мономеров и других побочных продуктов полимеризации полиакриламидного геля [7]. В зарубежных гемосорбентах (Китай, Россия, Швеция, Япония, США) используют сополимеры полистирола-дивинилбензола, модифицированного полистирена, а также стирен-дивинилбензола. Основными недостатками данных матриц является высокая стоимость конечного продукта и неспецифическая адсорбция белков плазмы и лекарственных препаратов [8].

Целью данного исследования являлся анализ неспецифической адсорбции белков плазмы крови нитями полисульфона в условиях стендового эксперимента.

**Материалы и методы.** Для проведения динамических экспериментов использовали капиллярные фильтры полисульфона, помещенные в цилиндрический корпус из поликарбоната объемом 230 мл, предоставленные ПУП «ФреБор» (Беларусь). Упаковка полисульфоновых капиллярных фильтров проводилась в двух модификациях (с фиксацией обеих сторон полиуретановой заливкой и без фиксации). Первый способ упаковки позволял плазме проходить только между внешними поверхностями нитей. При втором способе упаковки плазма проходила через колонку, контактируя как внешней, так и с внутренней поверхностью нитей полисульфона.

Плазму использовали в объеме 500 мл. Поток плазмы через колонку обеспечивали перистальтическим насосом. Скорость потока – 100 мл/мин. Пробы собирали до и после контакта плазмы с полисульфоном. Дополнительные объемы проб для исследования набирали сразу после полного погружения полимерного материала в плазму и после прохождения всего объема плазмы по контуру.

Для определения количества белка, неспецифически адсорбированного на поверхности нитей полисульфона, проводили элюирование 0,9% раствором NaCl объемом 500 мл и 1000 мл.

Определение концентрации общего белка в плазме проводили колориметрическим методом, основанном на образовании биуретового комплекса фиолетового цвета, который образуется при связывании пептидных связей белков с двухвалентными ионами меди. В методе используют биуретовый реактив, состоящий из KOH, CuSO<sub>4</sub> и цитрата натрия. Оптическую плотность раствора (прямо пропорциональную концентрации пептида) определяли при 540–560 нм. Чувствительность метода – 2–10 мг/мл.

Определение концентрации альбумина проводили по реакции с бромкрезоловым зеленым. Концентрацию альбумина рассчитывали по калибровочному графику исходя из оптической плотности раствора, измеренного против холостой пробы при длине волны 628 нм. Концентрацию глобулинов рассчитывали, как разницу концентраций общего белка и альбумина.

**Результаты.** В результате динамического эксперимента было установлено, что объем заполнения гемосорбционной колонки при использовании капилляров с закрытыми с помощью полиуретановой заливки концами увеличивается в 3 раза и составляет 150 мл плазмы. Этот факт необходимо учитывать в дальнейшем при разработке технологии производства изделия медицинского назначения и инструкции по его применению. С точки

зрения использования максимальной площади поверхности при контакте плазмы с полимерным материалом, то использование капилляров полисульфона незакрытыми концами является предпочтительнее.

Изменение количества белка в плазме крови после динамического контакта с капиллярами полисульфона с закрытыми концами составило 2,4 г из 500 мл плазмы, в которой абсолютное количество белка составляло 24,1 г. О том, что это неспецифическая адсорбция свидетельствует тот факт, что при элюировании NaCl (0,9 %) объемом 1000 мл из капилляров выделяется 2,5 г белка.

При проведении эксперимента с капиллярами ПС с не закрытыми концами изменение количества белка составило 4,6 г. При элюировании выделили 3,3 г белка. Таким образом, около 1,3 г белка остается в ПС при использовании капилляров с открытыми концами.

Количество альбумина в плазме крови после динамического контакта с капиллярами полисульфона с закрытыми концами не изменилось. В элюате, после прохождения через колонку 1000 мл NaCl было обнаружено лишь 0,9 г альбумина. При проведении эксперимента с капиллярами ПС с не закрытыми концами изменение количества альбумина составило 2,8 г. При элюировании выделили 1,3 г альбумина. В объеме плазмы, который остался в колонке (150 мл) определили 2,1 г альбумина. Таким образом, неспецифическая адсорбция альбумина капиллярами ПС с открытыми концами выше, чем с запаянными.

Изменение количества глобулинов в плазме крови после динамического контакта с капиллярами полисульфона с открытыми концами количество глобулинов уменьшилось на 2,4 г. При использовании капилляров ПС с закрытыми концами уменьшилось на 3,4 г. В элюате, полученном после прохождения 1000 мл NaCl через колонку с капиллярами с закрытыми концами было обнаружено 1,7 г глобулина, при этом 1,7 г глобулинов осталось в колонке с полисульфоном.

При проведении эксперимента с капиллярами ПС с открытыми концами изменение количества глобулинов составило 2,4 г. В элюате, полученном после прохождения 1000 мл NaCl через колонку с капиллярами с закрытыми концами было обнаружено 2,0 г глобулинов.

**Заключение.** Капилляры ПС не обладают выраженной адсорбцией белков. Адсорбция белка ПС изменяется в зависимости от вида нитей. Альбумины в большей степени адсорбируются на капиллярах с открытыми концами, глобулины - на капиллярах закрытыми концами.

### **Список литературы**



1. Ghosh R., Wan Y. H., Cui Z. F. Parameter scanning ultrafiltration: rapid optimization of protein separation. // *Biotechnology and bioengineering* – 2003. – Vol.81. – P. 673–682.
2. MoEckel D., Staude E., Michael D. Static protein adsorption, ultrafiltration behavior and cleanability of hydrophilized polysulfone membranes // *Journal of membrane science*. – 1999. – Vol. 58. – P. 63–75.
3. Hoenich N. A., Woffindin C., Ronco C. Haemodialysers and associated devices // *Kluwer academic publishers. Replacement of renal function by dialysis*. – 1996. – P. 188–230.
4. Поз Я. Л., Строков А. Г., Копылова Ю. В. Гемодиофильтрация. История, развитие и современные стандарты // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2014. – Т.16, №4. – С. 54–64.
5. Hoffmann C., Silaua H., Pinelob M., Woodley J. M., Daugaard A. E. Surface modification of polysulfone membranes applied for a membrane reactor with immobilized alcohol dehydrogenase. // *Journal materials today communications*. – 2018. – Vol.14. – P.160–168.
6. Кирковский В. В., Дзядзько А. М., Гапанович В. Н., Прилуцкий П. С., Рябцева Т. В. Изменение среднего артериального давления и общего периферического сопротивления при проведении ЛПС-сорбции у пациентов с септическим шоком // *Здравоохранение*. – 2019. – №5. – С. 51–55.
7. Казинникова О. Г. Реакция организма на введение полиакриламидных гелей с целью увеличения объема молочных желез. // *Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии*. – 2000. – №3.– С.71–73.
8. Громов М. И., Пивоварова Л. П., Шляпников С. А., Афончиков В. С., Малышев М. Е., Федоров А. В., Шлык И. В., Арискина О. Б., Хабирова Т. Г., Осипова И. В., Заев О. Э., Каськов А. Ю., Попенко Л. Н. ЛПС-индуцированная активация иммунной системы при тяжелом сепсисе и септическом шоке. Селективная ЛПС-сорбция // *Журнал инфекции в хирургии*. – 2015. – №3. – С.15-18.

## ВЛИЯНИЕ ЛИПИДОВ НА АГРЕГАЦИЮ ИНСУЛИНА И ЕГО ДАЛЬНЕЙШУЮ ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ

**Матвеевко М. А.**

*Научный сотрудник, Техасский государственный университет A&M, Колледж-Стейшн, США*

*mmatveyenka@icloud.com*

**Шолух М. В.**

*Кандидат биологических наук, Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

*mvsh35@gmail.com*

**Аннотация.** Установлено, что такие липиды как кардиолипин и фосфатидилсерин с одной стороны значительно ускоряют агрегации инсулина, сокращая лаг-фазу кривой агрегации, а с другой – проявляют выраженный антиагрегационный эффект. В присутствии данных липидов инсулин образует морфологически различные агрегаты, обладающие значительно меньшей токсичностью для нейронов клеточной линии N27, чем фибриллы, выращенные в среде без липидов.

**Ключевые слова:** амилоидные белки; инсулин; цитотоксичность; атомно-силовая микроскопия

## IMPACT OF LIPIDS ON INSULIN AGREGATION AND ITS FURTHER CITOTOXITY

**Matveyenka M. A.**

*Research Specialist, Texas State University A&M, College-Station*

*mmatveyenka@icloud.com*

**Sholukh M. V.**

*Candidate of Biological Sciences, Belarusian State University, Minsk*

*mvsh35@gmail.com*

**Annotation.** It was found that lipids such as cardiolipin and phosphatidylserine, on the one hand, significantly accelerate the aggregation of insulin, reducing the delayed phase of the aggregation curve, and on the other hand, exhibit a pronounced anti-aggregation effect. In the presence of these lipids, insulin forms morphologically different aggregates that are significantly less toxic to neurons of the N27 cell line than fibrils grown in a lipid-free environment.

**Keywords:** amyloid proteins; insulin; cytotoxicity; atomic force microscopy

Точная причина патологий, связанных с амилоидными белками неизвестна, но понятно, что неправильный фолдинг белка и высокая его концентрация являются одними из факторов, способствующих появлению амилоидных агрегатов [1-2]. Показано, что присутствие определенных аминокислотных остатков влияет на самосборку белков [3]. Эти самые остатки образуют структуру  $\beta$ -листа, стабилизируемую водородными связями. Таким образом, минимизация энергии неправильно свернутых белков с такими аминокислотными последовательностями приводит к их объединению в структуру  $\beta$ -листа [4]. В результате образуются белковые олигомеры. Амилоидные олигомеры могут способствовать агрегации неправильно свернутых белков, что приводит к образованию фибрилл [5-6]. В этом случае два  $\beta$ -листа соединяются вместе плоскость к плоскости, образуя еще более термодинамически стабильный поперечный  $\beta$ -лист [7], который растягивается на микроны в длину в направлении, перпендикулярном пептидным нитям в  $\beta$ -листах [8]. Фибриллы скручиваются в спираль, образуя большие надмолекулярные сборки с витой или лентообразной морфологией [9].

Изучая эти фибриллы, мы исследовали, в какой степени липиды изменяют морфологию и цитотоксические свойства амилоидных агрегатов. В качестве объектов влияния выбраны фосфатидилсерин (PS) и кардиолипин (CL), имеющие высокое содержание в плазме и мембранах клеточных органелл.

#### **Материалы и методы.**

*Приготовление липидных везикул.* Для формирования крупных однослойных везикул размером 100 нм, использовали экструдер с мембраной 100 нм (Avanti, США), через который пропускали раствор липидов 10 раз в каждую сторону, после пятикратной процедуры заморозки и оттаивания растворов этих липидов. Диаметр везикул измеряли методом динамического рассеяния света (DLS) на приборе DynaPro NanoStar II (WYATT, США).

*Измерение агрегации инсулина.* Инсулин (400  $\mu$ M) растворяли в натрий-фосфатном буфер (НФБ) и агрегировали в присутствии липидов, смешивая с растворами липидов в молярном соотношении 1:1. К смеси добавляли флуорофор тиофлавин Т (20  $\mu$ M) и инкубировали при 37 °C в течение 24 ч [7]. Измерение флуоресценции производили в триплетах на планшетном считывателе (Tecan, США). Результаты обрабатывали в программе Microsoft Excel 2022.

*Атомно-силовая микроскопия.* Морфологию белково-липидных структур исследовали методом атомно-силовой микроскопии (Horiba, США). Образцы фиксировали на стекле и сканировали с помощью золотого наконечника.

*Тест на цитотоксичность.* Клеточную линия нейронов мышей N27 выращивали в культуральной среде RPMI-1640 (Thermo Fisher Scientific, США) с

10% фетальной бычьей сывороткой (FBS) (Invitrogen, США) в планшете с 96 лунками для адгезивных клеток (5000 клеток на лунку) при температуре 37 °С и 5 % CO<sub>2</sub>. Клетки N27 делятся приблизительно один раз в 12 ч. Следовательно, после 24 ч инкубации клетки достигали количества 20 000 в каждой лунке. После этого среду с 10% сыворотки заменяли на среду с 5% FBS, содержащей образцы белка. Это было сделано для снижения концентрации FBS, которая, в свою очередь, требовалась при анализе на цитотоксичность при детекции лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в среде, для снижения базового уровня поглощения в контроле. После 48ч инкубации определение лактатдегидрогеназы (LDH) проводили на клеточной среде с использованием коммерческого набора на цитотоксичность CytoTox 96 (Promega, США). Измерения абсорбции проводились в планшетном считывателе (Tecan, США) при длине волны 450 нм. Каждая лунка была измерена 25 раз в разных местах. Все измерения были проведены в трех повторах.

**Результаты.** На первом этапе мы исследовали влияние липидов на изменение морфологической структуры белка и скорость его агрегации. Для этого инсулин смешивали в соотношении 1:1 с PS и CL. Затем растворы смешивали с Тиофлавином Т (ThT) и инкубировали при температуре 37 °С при перемешивании со скоростью 510 об/мин. Агрегация инсулина в НФБ, не содержащей липидов, имела четко выраженную лаг-фазу, за которой последовало быстрое увеличение интенсивности ThT, что указывало на образование белковых агрегатов. Мы обнаружили, что липиды могут сокращать лаг-фазу (t<sub>lag</sub>) агрегации инсулина.

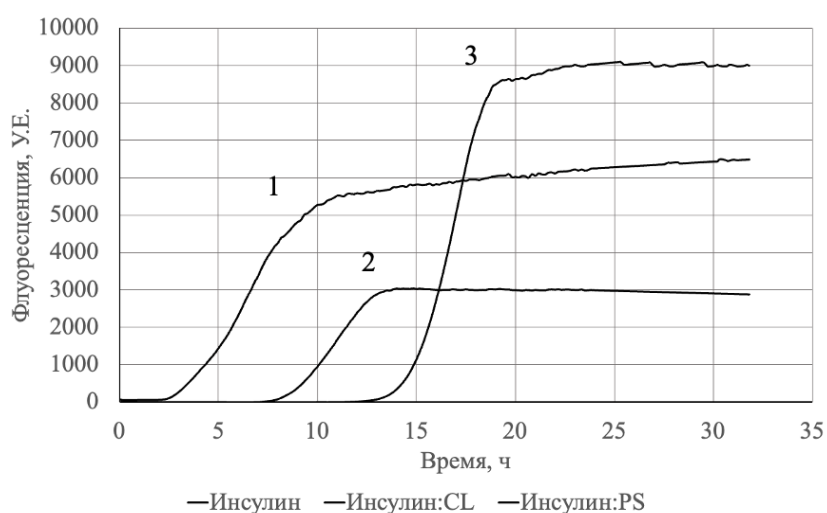


Рисунок 1 – Влияние липидов на агрегацию инсулина

Примечание: 1 – инсулин+CL; 2 – инсулин+PS; 3 – инсулин.

Как показано на рисунке 1, агрегация инсулина ускоряется в присутствии липидов. Кардиолипин и фосфатидилсерин с одной стороны значительно ускоряют агрегацию инсулина, сокращая лаг-фазу кривой агрегации в 2 и 5 раз соответственно, а с другой – проявляют выраженный антиагрегационный эффект, выразившийся в снижении уровня агрегатов инсулина в 1,4 и 3 раза.

Морфологическую структуру агрегатов инсулина, выращенных в присутствии липидов, оценивали методом АСМ. Согласно результатам, представленным на рисунке 2 видно, что без липидов инсулин образует удлиненные фибриллярные комплексы, имеющие 10-15 нм в высоту. В присутствии CL наблюдается агрегация инсулина, приводящая к образованию коротких сферических агрегатов гормона со средним диаметром 45 нм и фибрилл длиной ~ 180-210 нм и высотой 7 нм. Аналогичные агрегаты наблюдались для PS.

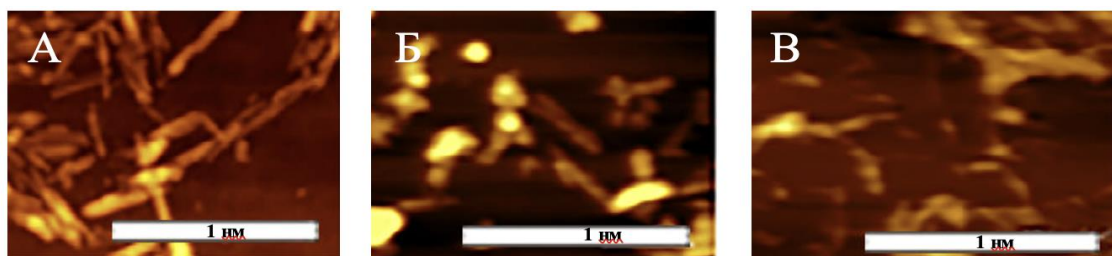


Рисунок 2 – Морфология агрегатов инсулина, выращенных в присутствии липидов

Примечание: Фото получены с помощью сканирующего атомно-силового микроскопа.

А – инсулин; Б – инсулин+CL; В – инсулин+PS. Референтная шкала длиной 1 нм.

Как следует из рисунка 3, липиды существенно снижают цитотоксический эффект инсулина на жизнеспособность нейронов клеточной линии N27. При этом действие фосфатидилсерина оказалось более выраженным, чем таковое кардиолипина.

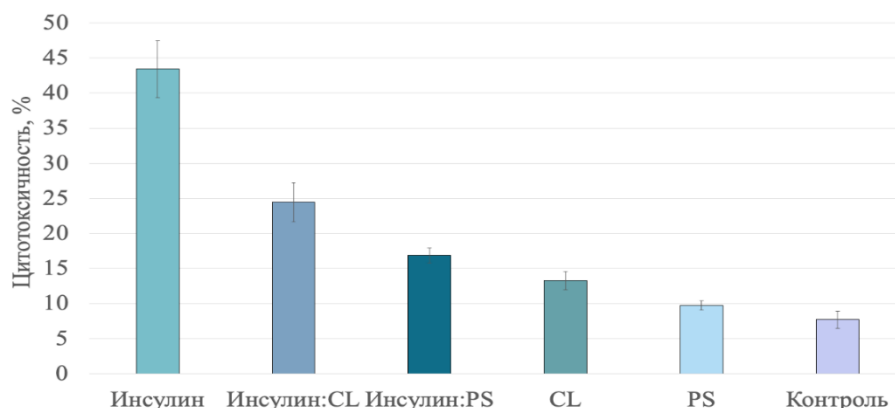


Рисунок 3 – Влияние липидов на цитотоксическое действие инсулина.

Примечание: контроль –клетки без инсулина и липидов

В заключение следует отметить, что такие липиды как кардиолипин и фосфатидилсерин, как показано выше, с одной стороны значительно ускоряют агрегацию инсулина, сокращая лаг-фазу кривой агрегации, а с другой – проявляют выраженный антиагрегационный эффект. В присутствии данных липидов инсулин образует морфологически различные агрегаты, обладающие значительно меньшей токсичностью для нейронов клеточной линии N27, чем фибриллы, выращенные в среде, не содержащей липидов.

### Список литературы

1. Chiti, F. Protein misfolding, amyloid formation, and human disease: a summary of progress over the last decade / F. Chiti, C.M. Dobson // *Biochemistry*. – 2017. – № 86. – С. 27-68.
2. A new era for understanding amyloid structures and disease / M.G. Iadanza, M.P. Jackson, E.W. Hewitt [и др.] // *Nature reviews molecular cell biology*. – 2018. – № 19. – С. 755–773.
3. Secondary Structure of  $\alpha$ -Synuclein Oligomers: Characterization by Raman and Atomic Force Microscopy / M.M. Apetri, N.C. Haiti, M.G. Zagorski [и др.] // *Journal of Molecular Biology*. – 2006. – Т. 355, № 1. – С. 53-71.
4. Chickos, J.S. Thermolysis of (1R,2R)-1,2-dideuteriocyclobutane. An application of vibrational circular dichroism to kinetic analysis / J.S. Chickos, A. Annamalai, T.A. Keiderling // *Journal of the American Chemical Society*. – 1986. – № 108. – С. 398–402.
5. Batista, J.M. Recent advances in the use of vibrational chiroptical spectroscopic methods for stereochemical characterization of natural products / J.M. Batista, E.W. Blanch, Vda S Bolzani // *Natural Product Reports*. – 2015. – № 32. – С. 280–302.
6. Absolute configuration of tert- Butyl-1-(2-methylnaphthyl) phosphine oxide / F. Wang, Y. Wang, P.L. Polavarapu [и др.] // *The Journal of Organic Chemistry*. – 2002. – № 67. – С. 539-541.
7. Impact of membrane curvature on amyloid aggregation / M.S. Terakawa, Y. Lin, M. Kinoshita [и др.] // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2018. – Т. 1860, № 9. – С. 1741-1764.
8. Localized Amyloidosis at the Site of Repeated Insulin Injection in a Diabetic Patient / Y. Shikama, J.I. Kitazawa, N. Yagihashi [и др.] // *Internal Medicine*. – 2010. – Т. 49 397-401, № 5. – С. 397-401.

9. The molecular basis of distinct aggregation pathways of islet amyloid polypeptide / L. Wei, P. Jiang, W. Xu [и др.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 2011. – № 286. – С. 6291–6300.

**КОНЦЕНТРАЦИЯ CXCL5, CXCL8, ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ CXCR1, CXCR2 И CD44V6 В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С АДЕНОКАРЦИНОМОЙ ЛЕГКОГО I СТАДИИ**

**Мурашко Д. И.,**

*ассистент кафедры биологической химии,*

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»,*

**Таганович А.Д.,**

*д.м.н., профессор, зав. кафедрой биологической химии, УО «Белорусский*

*государственный медицинский*

*университет»,*

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»,*

**Ковганко Н. Н.,**

*к.х.н., доцент кафедры биологической химии,*

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»*

*dashaturashka@mail.ru*

**Миневич Т. Д.**

*студент 3-го курса УО «Белорусский государственный медицинский*

*университет»*

*minevich@bsmu.by*

**Аннотация.** В настоящее время не существует информативных и специфичных биомаркеров I стадии аденокарциномы легкого (АК). В статье представлены результаты определения уровня хемокинов CXCL5, CXCL8, гиалуроновой кислоты (ГК) и их рецепторов CXCR1, CXCR2 и CD44v6 в крови пациентов с АК I стадии. Диагностическая чувствительность определения уровня рецепторов CXCL8, CXCR1, CXCR2 и CD44v6 в крови пациентов варьировала в диапазоне 69,2 – 77,5% и уступала чувствительности измерения концентрации CYFRA 21-1 (85,3%). Определение уровня ГК в крови пациентов с I стадией АК более информативно по сравнению с CYFRA 21-1 (чувствительность – 96,3%, специфичность – 71,1% для порогового значения 13,6 мкг/л).

**Ключевые слова:** аденокарцинома легкого (АК); CXCR1; CXCR2; CD44v6; CXCL5; CXCL8; гиалуроновая кислота

**CONCENTRATION OF CXCL5, CXCL8, HYALURONIC ACID AND THEIR RECEPTORS CXCR1, CXCR2 AND CD44V6 IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH STAGE I LUNG ADENOCARCINOMA**

**Murashka D. I.,**

*assistant of the department of biological chemistry,*



*Belarusian State Medical University,*

**Tahanovich A. D.,**

*doctor of medical sciences., professor,*

*head of the department of biological chemistry?*

*Belarusian State Medical University,*

**Kauhanka M. M.,**

*candidate of chemical sciences,*

*associate professor of the department of biological chemistry,*

*Belarusian State Medical University*

*dashamurashka@mail.ru*

**Minevich T. D.**

*3<sup>rd</sup> year student of Belarusian State Medical University*

*minevich@bsmu.by*

**Annotation.** *Currently, there are no informative and specific biomarkers for stage I lung adenocarcinoma (AC). The article presents the results of determining the level of chemokines CXCL5, CXCL8, hyaluronic acid (HA) and their receptors CXCR1, CXCR2 and CD44v6 in the blood of patients with stage I AC. The diagnostic sensitivity of determining the level of CXCL8, CXCR1, CXCR2 and CD44v6 receptors in the blood of patients varied in the range of 69.2 – 77.5% and was inferior to the sensitivity of measuring the concentration of CYFRA 21-1 (85.3%). Determination of the level of HA in the blood of patients with stage I AC is more informative compared to CYFRA 21-1 (sensitivity – 96.3%, specificity – 71.1% for a threshold value of 13.6 µg/l).*

**Keywords:** *adenocarcinoma of the lung (AC); CXCR1; CXCR2; CD44v6; CXCL5; CXCL8; hyaluronic acid*

Аденокарцинома (АК) является наиболее распространенным гистологическим подтипом немелкоклеточного рака легкого (НМКРЛ) [1]. При II стадии АК пятилетняя выживаемость пациентов практически вдвое ниже по сравнению с I стадией [2]. Это обстоятельство свидетельствует о необходимости поиска потенциальных биомаркеров злокачественного новообразования в крови, которые позволят судить о распространенности опухоли уже при I стадии. Ранее уже предпринимались попытки поиска таких маркеров среди неспецифических опухолеассоциированных антигенов. Одним из таких потенциальных биомаркеров является фрагмент цитокератина 19 CYFRA 21-1. По данным литературы, диагностическая чувствительность измерения концентрации CYFRA 21-1 при АК не превышает 75% [3]. Оценки диагностической информативности измерения уровня этого антигена при ранних стадиях АК не проводилось.

На протяжении последних десятилетий активно изучаются перспективы использования различных компонентов опухолевого метаболизма в диагностике АК. Хемокины – участники опухолеассоциированного воспаления (CXCL5, CXCL8) интенсивно экспрессируются клетками опухоли и ее микроокружения. Для реализации метаболических эффектов хемокины взаимодействуют с рецепторами CXCR1 и CXCR2 на поверхности лейкоцитов периферической крови [4].

Наряду с этим характерной особенностью злокачественных новообразований является их инвазивный рост. Существенную роль в инвазии опухоли играют компоненты межклеточного матрикса, в частности, гиалуроновая кислота (ГК), взаимодействуя с рецептором CD44v6 на поверхности клеток опухоли и лейкоцитов крови, она способствует инвазии и диссеминации опухолевых клеток.

В литературе есть указания на существенный рост уровня хемокинов CXCL5, CXCL8 и ГК в крови пациентов с раком легкого. Однако в них не учитывалась стадия и гистологический подтип заболевания [5, 6]. Определение концентрации рецепторов CXCR1, CXCR2 и CD44v6 в крови пациентов с этим заболеванием ранее не проводилось. Отсутствуют данные о диагностической эффективности измерения уровня этих соединений при раке легкого, в частности, АК.

Целью работы явилось определить диагностическую информативность определения концентрации хемокинов CXCL5, CXCL8, ГК и их рецепторов CXCR1, CXCR2 и CD44v6 в крови пациентов с I стадией АК.

**Материал и методы.** Обследовано 27 пациентов с I стадией АК при поступлении в стационар ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» с 2019 по 2021 г. В качестве группы сравнения обследовано 42 человека без проявлений онкопатологии.

Концентрация хемокинов CXCL8, CXCL5 и ГК в сыворотке крови пациентов определялись методом иммуноферментного анализа (ИФА). Определение концентрации CYFRA 21-1 в сыворотке крови проводили методом иммунохемилюминесцентного анализа (ИХЛА). Долю гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов, снабженных рецепторами CXCR1 и CXCR2, CD44v6 и среднюю интенсивность флюоресценции комплексов антитело/рецептор (MFI), пропорциональную плотности расположения рецепторов на мембране, определяли методом проточной цитометрии с использованием цитофлуориметра Navios (Beckman Coulter, США).

Статистическая обработка проводилась с использованием пакета программ IBM SPSS Statistics 23 (IBM, США). Рассчитывались медиана (Me) и

интерквартильный размах (25% - 75%). Сравнения в анализируемых группах осуществлялись с применением U-критерия Манна-Уитни.

Оценку диагностической информативности лабораторных тестов проводили на основании построения кривых зависимости чувствительности от вероятности ложноположительного результата (ROC–анализ). Рассчитывались оптимальные пороговые значения, диагностическая специфичность (ДС) и чувствительность (ДЧ) тестов. При всех видах статистического анализа критерий значимости принимали равным 5%.

**Результаты.** Концентрация хемокина CXCL8 в крови пациентов с I стадией АК выше по сравнению со здоровыми людьми ( $p < 0,05$ ) (таблица 1). MFI CXCR1 в гранулоцитах, лимфоцитах и моноцитах и доля лимфоцитов с этим рецептором в крови пациентов с I стадией АК существенно превышает таковую здоровых людей ( $p < 0,05$ ). Доля лимфоцитов, снабженных этим рецептором, и MFI CXCR2 в моноцитах крови пациентов с I стадией АК выше по сравнению со здоровыми людьми. Доля гранулоцитов и моноцитов, снабженных CD44v6, в крови пациентов с АК I стадии выше, чем у здоровых людей, в 1,1 и 1,5 раза соответственно ( $p < 0,05$ ). Концентрация ГК в сыворотке крови пациентов в 2,5 раза превышает таковой в группе сравнения. Уровень CYFRA 21-1 в крови пациентов с АК I стадии практически вдвое выше, чем в крови здоровых людей ( $p < 0,05$ ).

Таблица 1 – Уровень CXCL5, CXCL8, CXCR1, CXCR2 и ГК в крови пациентов с АК I стадии

Показатель	Здоровые люди	Стадия I
CXCL8, *10 <sup>-2</sup> мкг/л	8,9 [4,8; 16,8]	19,9 <sup>1</sup> [13,9;44,3]
MFI CXCR1, гранулоциты	20,1 [9,9; 27,6]	32,1 <sup>1</sup> [23,9; 44,2]
CXCR1, лимфоциты, %	4,6 [2,2; 8,3]	13,1 <sup>1</sup> [5,3;21,3]
MFI CXCR1, лимфоциты	1,8 [1,6; 2,2]	3,0 <sup>1</sup> [2,4; 13,2]
MFI CXCR1, моноциты	2,2 [2,0; 2,7]	2,7 <sup>1</sup> [2,6; 3,3]
CXCR2, лимфоциты, %	9,5 [6,6; 12,6]	16,5 <sup>1</sup> [10,3; 19,1]
MFI CXCR2, моноциты	13,4 [12,3; 17,1]	23,4 <sup>1</sup> [15,0; 32,2]
CD44v6, гранулоциты, %	3,2 [1,2; 4,1]	3,5 <sup>1</sup> [2,5; 7,6]
CD44v6, моноциты, %	1,9 [1,6; 2,3]	2,9 <sup>1</sup> [1,8; 8,5]
ГК, мкг/л	9,0 [7,7; 18,0]	22,4 <sup>1</sup> [15,1; 24,6]
CYFRA 21-1, мкг/л	1,4 [1,3; 2,0]	2,7 <sup>1</sup> [2,0; 3,7]

Примечание: <sup>1</sup> – достоверные отличия уровня показателей в крови пациентов с I стадией АК по сравнению со здоровыми людьми

Полученные результаты анализа уровня лабораторных показателей в крови пациентов с АК I стадии и здоровых людей послужили основанием для вовлечения их в ROC-анализ. Диагностическая чувствительность определения уровня CXCL8 в сыворотке крови и его рецептора CXCR1 в лейкоцитах пациентов с АК I стадии варьировала от 70,4 до 76% и уступала таковой определения концентрации CYFRA 21-1 (85,2%). Наряду с этим чувствительность измерения MFI CXCR1 в лейкоцитах пациентов оказалась 74,1 – 83,3%% и была выше, чем у CYFRA 21-1 (71,4%). Чувствительность определения MFI CXCR2 в моноцитах пациентов с I стадией АК для отличия их от здоровых людей также уступала таковой измерения уровня CYFRA 21-1 в крови (таблица 2). Специфичность этого теста, напротив, была выше по сравнению с CYFRA 21-1. Диагностическая информативность измерения доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, и доли гранулоцитов с CD44v6 уступала таковой CYFRA 21-1.

Таблица 2 – Диагностические параметры определения уровня CXCR1, CXCR2, CXCL8 и ГК в крови пациентов с АК I стадии

Показатель	АК / здоровые люди			
	ПЗ	ДЧ, %	ДС, %	AUC
CXCL8, *10 <sup>-2</sup> мкг/л	17,4	70,4	83,3	0,759
MFI CXCR1, гранулоциты	27,1	72,8	76,2	0,831
CXCR1, лимфоциты, %	5,9	72,0	69,0	0,821
MFI CXCR1, лимфоциты	47,5	77,5	74,1	0,824
MFI CXCR1, моноциты	2,8	76,0	80,0	0,851
MFI CXCR2, моноциты	20,9	70,8	90,5	0,860
CXCR2, лимфоциты, %	11,0	72,0	64,3	0,810
CD44v6, гранулоциты, %	3,4	73,1	66,6	0,725
CD44v6, моноциты, %	2,3	69,2	76,2	0,746
ГК, мкг/л	13,6	96,3	71,1	0,921
CYFRA 21-1, мкг/л	1,8	85,2	71,4	0,804

Примечание – ПЗ – пороговое значение, ДЧ – диагностическая чувствительность, ДС – диагностическая специфичность, AUC – площадь под ROC-кривой.

Диагностическая чувствительность определения ГК в крови пациентов с I стадией АК при пороговом значении 13,6 мкг/л была на 11,1% выше, чем у CYFRA 21-1, при сохранении той же специфичности (71,4%) (таблица 2).

Полученные результаты свидетельствуют, что диагностическая информативность определения ГК в сыворотке крови при I стадии АК превосходит эффективность измерения уровня CYFRA 21-1 в крови пациентов.

Это дает основания рекомендовать этот показатель к использованию его в качестве биомаркера I стадии АК.

### **Список литературы**

1. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / H. Sung [et al.] // *CA Cancer j. clin.* - 2021. - Vol.71, № 3. - P. 209–249.
2. The comparison between adenocarcinoma and squamous cell carcinoma in lung cancer patients / B.-Y. Wang [et al.] // *J. of cancer res. and clin. oncol.* – 2020. – Vol. 146, № 1. – P. 43–52.
3. Late detection of lung cancer [Электронный ресурс]. – 2014. – URL: [https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045\(14\)70371-7/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045(14)70371-7/fulltext) (дата обращения 04.10.2022).
4. CYFRA 21-1 tests in the diagnosis of non-small cell lung cancer: A meta-analysis / L. Fu [et al.] // *Int. j. biol.* – 2019. – Vol. 34, № 3. – P. 251–261.
5. 11. Ha, H. Role of the CXCL8-CXCR1/2 Axis in Cancer and Inflammatory Diseases / H. Ha, B. Debnath, N. Neamati // *Theranostics.* – 2017. Vol. 7, № 6. – P. 1543–1588.
6. Diagnostic value of circulating CXC chemokines in non-small cell lung cancer / A. Sparks [et al.] // *Anticancer Res.* – 2015. – Vol. 35, № 12. – P. 6979–6983.

**БИОХИМИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ ПРИ  
ФОРМИРОВАНИИ ОТСРОЧЕННОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ  
ПОСЛЕ ВНУТРИЧЕРЕПНОГО КРОВОИЗЛИЯНИЯ И ОПЕРАТИВНОГО  
ЛЕЧЕНИЯ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ АНЕВРИЗМ**

***Нечипуренко Н.И.***

*доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией  
клинической патофизиологии нервной системы государственного  
учреждения «Республиканский научно-практический центр  
неврологии и нейрохирургии», г. Минск, Беларусь  
prof\_nin@mail.ru;*

***Пашковская И.Д.***

*кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник  
лаборатории клинической патофизиологии нервной системы  
государственного учреждения «Республиканский научно-практический  
центр неврологии и нейрохирургии», г. Минск, Беларусь  
irenapass@mail.ru;*

***Сидорович Р.Р.***

*доктор медицинских наук, профессор, директор государственного  
учреждения «Республиканский научно-практический центр  
неврологии и нейрохирургии», г. Минск, Беларусь;*

***Ахремчук А.И.***

*врач-нейрохирург нейрохирургического отделения № 2 государственного  
учреждения «Республиканский научно-практический центр неврологии и  
нейрохирургии», г. Минск, Беларусь  
ahremen@mail.ru;*

***Рубин О.Г.***

*врач лабораторной диагностики экспресс-лаборатории государственного  
учреждения «Республиканский научно-практический центр неврологии и  
нейрохирургии», г. Минск, Беларусь*

***Аннотация.*** Рассмотрены вопросы участия реакций оксидантного стресса, системы транспорта кислорода крови и вазорегулирующих метаболитов в развитии церебральной ишемии у пациентов с разрывом аневризм и внутричерепным кровоизлиянием. В основной группе выявлены дисбаланс про-, антиоксидантной системы; уменьшение соотношения нитрат/нитритов к ангиотензинпревращающему ферменту; снижение сродства гемоглобина к кислороду, что указывает на сложную

*патогенетическую структуру вазоспазма с развитием церебральной ишемии после аневризматического внутричерепного кровоизлияния.*

**Ключевые слова:** *разрыв артериальной аневризмы; отсроченная церебральная ишемия; кислородтранспортная функция крови; про-, антиоксидантная система; вазорегулирующие метаболиты*

**BIOCHEMICAL DISTURBANCES IN PATIENTS IN THE  
FORMATION OF DELAYED CEREBRAL ISCHEMIA AFTER  
INTRACRANIAL HEMORRHAGE AND SURGERY TREATMENT OF  
CEREBRAL ANEURYSM**

***Nechipurenko N.I.***

*Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Clinical Pathophysiology of the State Institution «Republican Science and Practice Centre for Neurology and Neurosurgery», Minsk, Belarus,  
prof\_nin@mail.ru;*

***Pashkouskaya I.D.***

*Candidate of Biology, Associate Professor, Leading researcher of the Laboratory of Clinical Pathophysiology of Nervous System of the State Institution «Republican Science and Practice Centre for Neurology and Neurosurgery», Minsk, Belarus,  
irenapass@mail.ru;*

***Sidorovich R.R.***

*Doctor of Medical Sciences, Professor, Director of the State Institution «Republican Science and Practice Centre for Neurology and Neurosurgery», Minsk, Belarus;*

***Ahremchyk A.I.***

*Neurosurgeon neurosurgical department № 2 of the State Institution «Republican Science and Practice Centre for Neurology and Neurosurgery», Minsk, Belarus,  
ahremen@mail.ru;*

***Rubin O.G.***

*Doctor of laboratory diagnostics of the express laboratory of the state institution "Republican Scientific and Practical Center of Neurology and Neurosurgery", Minsk, Belarus.*

**Annotation.** *The participation of oxidative stress reactions, the blood oxygen transport system and vasoregulatory metabolites in the development of cerebral ischemia in patients with aneurysm rupture and intracranial hemorrhage are*

*considered. In the main group there were revealed an imbalance of the pro-antioxidant system; a decrease in the ratio of nitrate / nitrite to angiotensin-converting enzyme and decrease in the affinity of hemoglobin for oxygen, which indicates a complex pathogenetic structure of vasospasm with the development of cerebral ischemia after aneurysmal intracranial hemorrhage.*

**Key words:** *rupture of an arterial aneurysm; delayed cerebral ischemia; oxygen transport function of blood; pro-, antioxidant system; vasoregulatory metabolites*

Артериальные аневризмы (АА) головного мозга диагностируют у 3-5% населения. Среди причин их возникновения выделяют структурные и морфологические изменения артерий вследствие генетически обусловленных факторов, гемодинамические факторы [1]. Также обнаружен ряд метаболических нарушений, принимающих участие в формировании и разрыве церебральных АА. К ним относятся воспалительные процессы в стенке артерий, различные гемодинамические нарушения и дисфункция эндотелия, выброс биологически активных веществ (эндотелин-1, монооксид азота (NO), ангиотензин II, простагландин F<sub>2</sub>, тромбоксан A<sub>2</sub>, тромбин) на фоне энергетической недостаточности [2, 3]. Несмотря на достигнутый прогресс и возросшую доступность нейрохирургических операций и интенсивной терапии, заболеваемость и смертность вследствие аневризматического субарахноидального кровоизлияния (аСАК) остается высокой [1]. К наиболее распространенному осложнению САК, которое приводит к клиническому ухудшению и повышает летальность при этой патологии относятся сосудистый спазм (СС) и отсроченная церебральная ишемия (ОЦИ). Почти у 70% пациентов после разрыва АА выявляются признаки вазоконстрикции пораженного сосуда, определяемые при компьютерной томографической ангиографии и транскраниальном доплеровском ультразвуковом исследовании, в то же время клинически СС проявляется лишь у 46% пациентов [4]. В настоящее время считается, что наличие СС не является необходимым условием для развития ОЦИ, поэтому активно исследуются метаболические факторы, приводящие к развитию ишемических осложнений после разрыва АА головного мозга.

Цель исследования – изучить показатели кислородтранспортной функции крови (КТФК), оксидантного стресса и уровень сосудорегулирующих метаболитов в крови у пациентов с разорвавшимися АА с ОЦИ и без ОЦИ в до- и послеоперационном периодах.

Сформированы две группы исследования: основная – 67 пациентов с разорвавшимися АА и ОЦИ (у 11-ти из них инфаркт мозга был установлен до клипирования аневризмы) и группа сравнения – 24 пациента с разрывом АА без ОЦИ. Всем пациентам было выполнено микрохирургическое клипирование



шейки аневризмы на 9 (5; 12) сутки после разрыва. В основной группе пациентов диагностировали неврологические нарушения легкой степени по шкале NIHSS, очаги инфарктов мозга были подтвержденные нейровизуализационными исследованиями.

Забор образцов крови для исследования параметров КОС, КТФК и ряда биохимических показателей выполняли из кубитальной вены натошак в 1-е сутки госпитализации и на 10-12-е сутки после нейрохирургического лечения. Определяли показатели КТФ венозной крови на газоанализаторе ABL-800 FLEX («Radiometer» Дания), исследовали парциальное давление  $O_2$  и  $CO_2$  ( $pO_2$  и  $pCO_2$ ); сатурацию венозной крови ( $sO_2$ ) – показатель насыщения гемоглобина крови кислородом;  $p50$  - парциальное давление кислорода в крови, при котором гемоглобин насыщен кислородом на 50%, определяющий сродство гемоглобина к кислороду (СГК). Концентрацию продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-П), активность супероксиддисмутазы (СОД) и суммарное содержание нитратов и нитритов (NOx) определяли спектрофотометрическими методами.

Концентрацию ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) – методом ИФА тест-наборами «Fine Test». Для сравнения использовали значения биохимических показателей 26 практически здоровых лиц, средний возраст которых составил  $49,4 \pm 14,6$  лет,  $p > 0,05$  относительно возраста пациентов. Статистический анализ проводили с помощью непараметрических методов. За уровень статистически значимых принимали изменения при  $p < 0,05$ .

При исследовании показателей про-, антиоксидантной системы крови в обеих группах пациентов до операции установлено достоверное увеличение концентрации ТБК-П при снижении активности СОД. После операции в двух группах сохранялся повышенный уровень продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), в основной группе выявлено достоверное возрастание активности СОД ( $T, p = 0,0004$ ) относительно исходных значений.

Показаны значимые нарушения показателей КТФК в основной группе до оперативного лечения: повышение парциального давления кислорода  $pO_2$  – до  $40,7 (27,4; 60,7)$  мм рт. ст. ( $U, p = 0,026$ ) и сатурации венозной крови  $sO_2$  до  $70,0 (40; 88,5)$  %, ( $U, p = 0,032$ ) при снижении парциального давления  $pCO_2$  до  $41,1 (37,7; 44,8)$  мм рт. ст. ( $U, p = 0,031$ ) относительно нормы. Величина  $p50$  превышала нормальные данные и составила  $28,1 (26,2; 31,6)$  мм рт.ст. ( $U, p = 0,025$ ), что свидетельствует о снижении СГК и облегченном транспорте кислорода в ткани. Данные изменения сохранялись и после операции. Следовательно, у этих пациентов после разрыва АА появились нарушения механизмов поступления и утилизации кислорода в тканях головного мозга, возникающие, скорее всего, вследствие блокады цепи дыхательных ферментов митохондрий под действием

прооксидантных реакций и медиаторов воспаления при нарушении вазорегуляции и геморрагическом повреждении тканей. После операции эти изменения КТФК сохраняются и уже направлены отчасти на поддержание оксигенации ишемизированных структур мозга, однако их недостаточно для предотвращения развития ОЦИ.

В группе сравнения до операции не выявлено нарушений КТФК, после операции наблюдали достоверное повышение парциального давления кислорода  $pO_2$  до 37,9 (31,5;50,3) мм рт.ст. (U,  $p=0,017$ ; T,  $p=0,021$ ) относительно нормы и исходных данных; сатурации  $sO_2$  – до 72,1 (62,9; 79,8) % (U,  $p=0,024$ ) и значения  $p50$  – до 29,7 (26,8;31,4) мм рт.ст. (U,  $p=0,014$ ) относительно нормы. Наблюдаемые изменения параметров КТФК свидетельствуют, что несмотря на ухудшение утилизации кислорода церебральными структурами после проведенной операции, происходит развитие компенсаторных реакций, направленных на защиту клеток головного мозга от гипоксического повреждения у этих пациентов.

При исследовании эндогенной регуляции сосудистого тонуса по уровню метаболитов, вырабатываемых эндотелиальными клетками, – NOx и АПФ у пациентов основной группы установлено снижение концентрации NOx как до-, так и после операций более, чем в 2 раза относительно нормы (U,  $p<0,001$ ) при неизменном уровне АПФ. Вследствие этого до операции отмечается низкое соотношение NOx /АПФ – 0,12 (0,08; 0,15) при норме 0,22 (0,15; 0,32) (U,  $p<0,001$ ), которое сохранялось и после нейрохирургического лечения – 0,11 (0,08; 0,19) (U,  $p<0,001$ ).

В группе сравнения до операции также выявлены сниженная продукция NO, по данным содержания NOx (U,  $p<0,001$ ) относительно нормы при неизменном уровне АПФ в крови. При этом соотношение NOx/АПФ составило 0,18 (0,09; 0,22) и не отличалось от нормы. В послеоперационном периоде установлено улучшение баланса сосудорегулирующих метаболитов с возрастанием соотношения NOx/АПФ до 0,22 (0,15; 0,26) относительно исходных данных (T,  $p=0,032$ ) за счет тенденции к увеличению суммарной концентрации нитратов/нитритов и достоверного снижения уровня АПФ относительно нормы (U,  $p=0,011$ ). Существующая обратная связь между NO и ангиотензином II является основой для сохранения нормальной вазорегуляторной функции [5]. В основной группе установлена отрицательная связь между концентрацией NOx и значением  $p50$  в крови ( $r_s = -0,6$ ,  $p=0,003$ ).

Таким образом, развитие оксидантного стресса, нарушение баланса между сосудорегулирующими метаболитами, изменение показателей КТФК являются важными факторами развития тканевой энергетической недостаточности и

способствуют формированию очагов ишемии головного мозга в до- и послеоперационном периодах при разрыве АА.

### **Список литературы**

1. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a statement for healthcare professionals from a special writing group of the Stroke Council, American Heart Association / J.B.Bederson, E.S.Connelly, H.H.Batjer [et al.] // *Stroke*. – 2009. – Vol. 40, № 3. – P. 994-1025.

2. Клинико-биохимические нарушения и морфологические изменения сосудов головного мозга при разорвавшихся артериальных аневризмах / Р.Р.Сидорович, Н.И.Нечипуренко, Н.А.Трушель [и др.] // *Неврология и нейрохирургия. Восточная Европа*. - 2017. – Т. 7 (2). – С. 196-207.

3. Крылов, В.В. Патогенез сосудистого спазма и ишемии головного мозга при нетравматическом субарахноидальном кровоизлиянии вследствие разрыва церебральных аневризм / В.В.Крылов, А.А.Калинкин, С.С.Петриков // *Неврологический журнал*. – 2014. – № 5. – С. 4-11.

4. Lovelock, C.E. Time trends in outcome of subarachnoid hemorrhage: population-based study and systematic review / C.E.Lovelock, G.J.Rinkel, P.M. Rothwell // *Neurology*. – 2010. – № 74. – P. 1494–1501.

5. Yan, C. Functional interplay between angiotensin II and nitric oxide: cyclic GMP as a key mediator / C.Yan, D.Kim, T.Aizawa, B.C.Berk // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. – 2003. – Vol. 23, N 1. – P. 26–36.

## ВЛИЯНИЕ СУКЦИНАТА НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ ТИМУСА КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

**Никитина И.А.,**

кандидат биологических наук, доцент, заведующая кафедрой биологической химии учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Беларусь  
nikkitina@gmail.com;

**Аннотация.** Для выяснения роли сукцината в энергетическом метаболизме клеток иммунной системы было изучено его влияние на функционирование электрон-транспортной цепи в тканях тимуса и тимоцитах животных разных возрастных групп. С помощью полярографического метода было установлено, что стимулирующий эффект сукцината на систему тканевого дыхания выше в тимоцитах более старых крыс. Значимые изменения скорости потребления кислорода в тканях тимуса 4-, 5- и 6-месячных животных сукцинат не вызывает.

**Ключевые слова:** тимус; тимоциты; возраст; сукцинат; тканевое дыхание, кислород

## INFLUENCE OF SUCCINATE ON THE ENERGY METABOLISM OF THE THYMUS IN RATS OF DIFFERENT AGES

**Nikitina I.A.,**

Candidate of Biological Sciences, Head of the Department of Biological Chemistry of the Educational Institution "Gomel State Medical University", Gomel, Belarus  
nikkitina@gmail.com;

**Annotation.** Effects of succinate on the electron-transport chain in thymus tissues and thymocytes of animals of different age groups was studied for revealing the role of this metabolite in the energy metabolism of the immune system cells. Using the polarographic method, it was found that the stimulating effect of succinate on the oxygen consumption is higher in thymocytes of older rats. Succinate does not cause significant changes in the rate of oxygen consumption in the thymus tissues of 4-, 5-, and 6-month-old animals.

**Keywords:** thymus; thymocytes; age; succinate; tissue respiration; oxygen

Сукцинат является одним из важнейших клеточных метаболитов, синтез и утилизируется которого происходит в основном в матриксе митохондрий.

Наряду с окислением этой молекулы в электрон-транспортной дыхательной цепи, сукцинат может выполнять множество других, в первую очередь регуляторных функций за пределами митохондрии [1]. Наличие эффективного механизма транспорта сукцината через внутреннюю мембрану митохондрий позволяет не только уравнивать цитозольный и митохондриальный пул этого метаболита, но и дает ему возможность оказывать регуляторное действие на цитозольные ферменты [1,2].

Также надо отметить, что в условиях гипоксии и интенсивной физической нагрузки активируется рН-зависимая секреция сукцината через цитоплазматическую мембрану. Связавшись с рецептор SUCNR1, действующим через G-белок, внеклеточный сукцинат активирует широкий спектр тканеспецифических реакций в различных клетках [1], в том числе и иммунных [3].

В зависимости от тканевой локализации, сукцинат может участвовать в формировании эпигенома, поддерживать термогенез, влиять на работу ренин-ангиотензиновой системы, стимулировать остеокластогенез и кроветворение [3]. Сукцинат может проявлять провоспалительное действие, в том числе посредством активации в митохондриях синтеза АФК. Так, в условиях низкой клеточной потребности в АТФ, этот метаболит усиливает выработку первым комплексом дыхательной цепи митохондриального супероксида. Дисмутация супероксида марганцевой супероксиддисмутазой (MnSOD) приводит к образованию перекиси водорода, действующей как сигнальная молекула посредством обратимой ковалентной модификации белковых остатков цистеина. Так, например, в адипоцитах бурой жировой ткани стимулированное сукцинатом производство супероксида и перекиси водорода определяет интенсивность процессов термогенеза [1]. Вместе с тем сукцинат может проявлять и противоположное противовоспалительное действие. Например, снижать экспрессию маркеров воспаления в жировой ткани у худых людей, но не у людей с ожирением [4].

Сукцинат, как и другие промежуточные метаболиты ЦТК, активно поддерживает иммунные функции организма, в том числе и посредством передачи различных сигналов. Нарушения в этих сигнальных путях могут вызвать функциональные изменения в иммунных клетках [3,4]. Так, сукцинат активирует врожденную иммунную память, увеличивает активность Т-клеток [4], а в активированных макрофагах накапливающийся на фоне активации гликолитического пути синтеза АТФ сукцинат способствует выработке интерлейкина-1 бета [2,4].

Наряду с многообразием регуляторных функций, сукцинат занимает центральное место в аэробном энергетическом метаболизме клеток. Являясь

прямым связующим метаболитом между циклом Кребса и дыхательной цепью митохондрий сукцинат тесно связан с производством энергии [2]. На сегодняшний день существует ряд экспериментальных данных, полученных на лабораторных животных, подтверждающих увеличение активности митохондриального дыхания в ответ на действие сукцината, особенно в условиях сепсиса и экспериментального сахарного диабета [5], что еще раз указывает на важность сукцината в работе дыхательной цепи митохондрий особенно при гипоксии [6] и на возможность использования метаболитов ЦТК, в том числе и сукцината, в разработке новых подходов к лечению ряда заболеваний иммунной системы, в том числе и связанных с развитием иммунодепрессии, ведущую роль, в формировании которой играют возрастные нарушения в сфере энергетического гомеостаза организма. Проблема возрастных изменений в системе митохондриального окисления иммунокомпетентных клеток остается малоизученной, несмотря на ее исключительный научно-практический интерес.

Целью работы явилось проанализировать роль сукцината в энергетических процессах тканей тимуса и тимоцитах крыс разного возраста.

**Материалы и методы.** Исследования проводили на белых беспородных крысах 3-,4-,5-,6-, и 8-месячного возраста. Все экспериментальные работы с лабораторными животными выполнялись в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными и правилами Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях от 22 сентября 2010 года.

Показатели тканевого дыхания оценивали с помощью установки Record 4 (ИТЭБ РАН, Пущино, Россия) с ячейкой объемом 2 см<sup>3</sup> (для ткани тимуса) и 1 см<sup>3</sup> (для тимоцитов) с закрытым платиновым электродом Кларка при температуре 27°C в растворе Хэнкса [7]. Количество измерений (n) составляло 1—3 на каждое животное. Скорость поглощения кислорода тканевыми препаратами выражали в нмоль O<sub>2</sub> за 1 мин × 10<sup>7</sup> клеток или нмоль O<sub>2</sub>/мин на 1 мг белка. Количество клеток определяли в камере Горяева, количество белка – биуретовым методом. Тимоциты, предварительно подвергали химической (2 мМ дигитонина), а ткани тимуса механической пермеабиллизации, для улучшения транспорта сукцината через клеточные мембраны [8]. Состояние энергетического обмена определяли по скорости потребления кислорода на эндогенных субстратах (V<sub>энд</sub>), а также с использованием сукцината, 5 мМ (V<sub>як</sub>). Для ингибирования первого комплекса дыхательной цепи использовали амитал (5 мМ), а для оценки дыхательного контроля добавляли АДФ (50 мМ). Оценку количества кислорода, используемого непосредственно дыхательной цепью митохондрий в общем кислородном пуле тимоцитов, проводили путем ингибирования цитохромоксидазы азидом натрия. Ингибитор титрометрически

добавляли в полярографическую ячейку, до максимального падения уровня потребления кислорода. Разница между общим потреблением кислорода и тем, который используется тимоцитами после введения азида натрия, является искомой величиной митохондриального потребления.

Данные в работе представлены в виде медианы и границ верхнего и нижнего квартилей. Оценку достоверности различий между средними выборочными значениями проводили с помощью критерия Манна–Уитни (для независимых переменных) и критерия Вилкоксона (для зависимых переменных). Выявления статистически значимого различия в выборочных характеристиках параметров дыхания в тканях тимуса животных 4-, 5- и 6-месячного возраста проводили с помощью теста ANOVA Краскела-Уоллиса. Различия между средними выборочными значениями признавали достоверным при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Результаты исследований (таблица 1) показывают, что ткани тимуса интактных половозрелых крыс 4-, 5-, и 6-месячного возраста характеризуются относительно высокой скоростью поглощения кислорода на эндогенных субстратах. Данные показатели сравнимы с уровнем поглощения кислорода клетками печени, составляющим в аналогичных условиях 6,66 (5,54-7,61) нмоль  $O_2$ /мин на 1 мг белка [9]. Высокий уровень поглощения кислорода указывает на наличие достаточного количества эндогенных субстратов в тканях тимуса и на высокую активность комплексов электрон-транспортной цепи. Это позволяет обеспечить высокий уровень энергопродукции в тимусе, необходимый для активно протекающих здесь процессов пролиферации, роста, дифференцировки и созревания тимоцитов. Надо отметить, что несмотря на возрастные структурно-функциональные изменения в тимусе у животных 4-, 5-, и 6-месячного возраста не выявлено изменений (тест Kruskal-Wallis ANOVA;  $p > 0,05$ ) в удельном уровне потребления кислорода (таблица 1).

Таблица 1. Скорость поглощения кислорода ( $V_{энд}$ ) клетками тимуса крыс разного возраста на эндогенных субстратах

Возраст животных, мес.	$V_{энд}$	$V_{як}$
4	6,5 (5,68-8,20)	7,4 (6,86-7,95)
5	6,6 (5,21-8,02)	7,6 (7,44-7,85)
6	6,7 (5,52-7,86)	7,75 (7,62-8,00)

Примечание – количество животных во всех возрастных группах равно 6;  $m = 3$  для  $V_{энд}$  и 1 для  $V_{як}$ .

Добавление сукцината к механически пермеабелизованным тканям тимуса животных всех возрастных групп не приводит к значимому (критерий Манна-Уитни;  $p > 0,05$ ) росту уровня потребления кислорода (таблица 1).

Для более детального анализа энергетического метаболизма тимуса мы исследовали воздействие сукцината на уровень потребления кислорода дыхательной цепью митохондрий непосредственно тимоцитов животных двух возрастных групп: ювенильные (3 месяца) и молодые (8 месяцев).

Средняя скорость тканевого дыхания тимоцитов на эндогенных субстратах у 3-месячных крыс составила 3,6; 3,33–4,84 нмоль  $O_2$ /мин  $\times 10^7$  клеток и практически не отличалась от соответствующего показателя у 8-месячных животных (3,3; 2,89–4,18 нмоль  $O_2$ /мин  $\times 10^7$  клеток).

Стимуляция скорости тканевого дыхания добавлением АДФ привела к значимому росту ( $p < 0,05$ ; критерий Вилкоксона) соответствующего показателя у 3-месячных крыс более чем в два раза (7,9; 7,84–8,48 нмоль  $O_2$ /мин  $\times 10^7$  клеток). Увеличение ( $p < 0,05$ ; критерий Вилкоксона) соответствующего показателя у 8-месячных крыс несколько ниже (4,8; 4,62–5,01 нмоль  $O_2$ /мин  $\times 10^7$  клеток) и составляет примерно 45%. Такая стимуляция не только увеличивает скорость потребления кислорода, но и выявляет возрастные различия в метаболизме тимоцитов. Для более детальной оценки роли второго комплекса дыхательной цепи митохондрий, субстратом которого является сукцинат, проводилось ингибирование первого комплекса амиталом натрия. После этого воздействия уровень дыхания тимоцитов 3-месячных крыс снизился до 2,9 (1,45 - 5,22) нмоль  $O_2$ /мин  $\times 10^7$  клеток, а у 8-месячных – 2,3 (1,81 - 2,48) нмоль  $O_2$ /мин  $\times 10^7$  клеток. Добавление сукцината вызывает значимое ( $p < 0,05$ ; критерий Вилкоксона) увеличение скорости потребления кислорода в тимоцитах 8-месячных животных (2,8 (2,23 - 3,23) нмоль  $O_2$ /мин  $\times 10^7$  клеток) и практически не повлияло ( $p > 0,05$ ; критерий Вилкоксона) на аналогичный показатель в тимоцитах 3-месячных животных (3,2 (3,11 - 3,65) нмоль  $O_2$ /мин  $\times 10^7$  клеток). Это позволяет предположить более высокую активность второго комплекса дыхательной цепи, субстратом которого является сукцинат, у животных более старой возрастной группы.

**Заключение.** Сукцинат играет важную роль в энергетическом метаболизме тимоцитов стареющих крыс, что проявляется в его стимулирующем действии на аэробное дыхание этих клеток. При этом сукцинат практически не влияет на аэробное дыхание тимоцитов более молодых животных. Вместе с этим сукцинат не вызывает значимые изменения скорости потребления кислорода в тканях тимуса 4-, 5- и 6-месячных крыс.

### Список литературы

1. Murphy M.P. Why succinate? Physiological regulation by a mitochondrial coenzyme Q sentinel / M.P. Murphy, E.T. Chouchani // Nature Chemical Biology. – 2022. – Т. 18. – Why succinate? – № 5. – С. 461-469.
2. Murphy M.P. Krebs Cycle Reimagined: The Emerging Roles of Succinate and Itaconate as Signal Transducers / M.P. Murphy, L.A.J. O'Neill // Cell. – 2018. – Vol. 174. – Krebs Cycle Reimagined. – № 4. – P. 780-784.



3. Zaslona Z. Cytokine-like Roles for Metabolites in Immunity / Z. Zaslona, L.A.J. O'Neill // *Molecular Cell*. – 2020. – Т. 78. – № 5. – С. 814-823.
4. Coupling Krebs cycle metabolites to signalling in immunity and cancer / D.G. Ryan [и др.] // *Nature Metabolism*. – 2019. – Т. 1. – С. 16-33.
5. Орлов Ю.П. Роль сукцинатов при критических состояниях / Ю.П. Орлов, Н.В. Говорова // *Общая реаниматология* – 2014. Т. 10; № 6. – С. 65-78.
6. Effects of Excess Succinate and Retrograde Control of Metabolite Accumulation in Yeast Tricarboxylic Cycle Mutants / A.-P. Lin [и др.] // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2011. – Т. 286. – № 39. – С. 33737-33746.
7. Кондрашова М.Н., Ананенко А. А. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом. – М., 1973. – 119 с.
8. Rottenberg, H. Mitochondrial dysfunction in lymphocytes from old mice: enhanced activation of the permeability transition. / H. Rottenberg, S. Wu. // *Biochem Biophys Res Commun*. – 1997. – Vol. 240 (1), № 7. – P. 68-74
9. Тканевое дыхание миокарда, печени и тимуса белых крыс после внешнего облучения в дозе 1 Гр / С. М. Сергеенко [и др.] // *Российская научная конференция с межд. участием «Актуальные проблемы токсикологии и радиобиологии» : тез. докл., Санкт-Петербург, 19–20 мая 2011 г. / Воен.-мед. акад. им. С. М. Кирова [и др.]. – СПб., 2011. – С. 141.*

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РИВАРОКСАБАНА НА УРОВЕНЬ ГЛЮКОЗЫ У КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ

**Ринейская О. Н.**

*Кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой биоорганической химии Белорусского государственного медицинского университета, г. Минск  
ryneiskaya@mail.ru*

**Лахвич Ф. Ф.**

*Кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры биоорганической химии Белорусского государственного медицинского университета, г. Минск  
lakhvichtt@gmail.com*

**Глинник Станислава Владимировна**

*Кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры биоорганической химии Белорусского государственного медицинского университета, г. Минск,  
ryneiskaya@mail.ru*

**Аннотация.** Целью исследования явилась валидация *in silico* модели связывания Ривароксабана с гексокиназой IV в опыте *in vivo*, в котором было изучено влияние Ривароксабана на уровень глюкозы в крови крыс с аллоксановым диабетом. Установлено, что при эндогастральном введении водного раствора Ривароксабана в дозе 300 мг/кг наблюдается нормализация уровня глюкозы крови экспериментальных животных. Это подтверждает валидность модели эксперимента *in silico*, в котором Ривароксабан характеризуется высокой аффинностью к гексокиназе IV.

**Ключевые слова:** аллоксановый диабет; аффинность; гексокиназа IV; молекулярный докинг; Ривароксабан

## STUDY OF THE EFFECT OF RIVAROXABAN ON THE GLUCOSE LEVEL IN RATS WITH ALLOXAN DIABETES

**Lakhvich T. T.**

*Ph.D. in Chemistry, Associate Professor of Bioorganic Chemistry Department of Belarusian State Medical University, Minsk  
lakhvichtt@gmail.com*

**Ryneiskaya V. M.**

*Ph.D. in Medicine, Head of Bioorganic Chemistry Department of Belarusian State Medical University, Minsk  
ryneiskaya@mail.ru*

**Annotation.** *The research objective was to validate the in silico model of Rivaroxaban binding to hexokinase IV in an in vivo experiment that examined the effect of Rivaroxaban on blood glucose levels in rats with alloxan diabetes. It has been found that endogastrical administration of an aqueous solution of Rivaroxaban at a dose of 300 mg/kg normalizes the blood glucose levels in experimental animals. This confirms the validity of the in silico experimental model, in which Rivaroxaban is characterized by high affinity to hexokinase IV.*

**Keywords:** *affinity, alloxan diabetes, hexokinase IV, molecular docking, Rivaroxaban.*

Гексокиназа IV (глюкокиназа) является одной из изоформ гексокиназы [1] и играет важную роль в гомеостазе глюкозы; регулирует ее метаболизм в инсулинпродуцирующих бета-клетках поджелудочной железы, гепатоцитах и некоторых клетках нервной системы [2]. В отличие от других гексокиназ глюкокиназа участвует в процессе фосфорилирования глюкозы только после достижения определенной концентрации последней [3]. Мутации гена глюкокиназы GSK вызывают аутосомно-доминантную гиперинсулинемическую гипогликемию и гипоинсулинемическую гипергликемию [4], что свидетельствует о важной роли гексокиназы IV в регуляции углеводного метаболизма. Это создаёт предпосылки для выбора данного фермента в качестве потенциальной мишени для разработки гипогликемических лекарственных средств (ЛС).

Цель работы - исследование влияния Ривароксабана на уровень глюкозы крови крыс с экспериментальным диабетом и сравнение полученных результатов с данными эксперимента in silico.

**Материалы и методы.** Экспериментальные животные (белые беспородные крысы-самцы массой 230-250 г.) были разделены на 4 группы по 10 крыс в каждой: группа 1 – чистый контроль, группа 2 – контроль ривароксабана, группа 3 – крысы с сахарным диабетом (аллоксановая модель), группа 4 – крысы с СД, получающие ривароксабан. У всех крыс определяли уровень глюкозы в крови при помощи портативного измерителя концентрации глюкозы «Сателлит экспресс». Экспериментальный сахарный диабет был индуцирован животным третьей (СД) и четвертой групп (СД + Ривароксабан) путем внутрибрюшинного введения аллоксана в дозе 100 мг/кг однократно. Контроль содержания глюкозы в крови проводился в течение 10-ти дней ежедневно, начиная с 3-го дня после введения аллоксана. Ривароксабан вводился экспериментальным животным групп 2 и 4 в дозе 300 мг/кг внутривентриально один раз в сутки в течение 14-ти дней. По окончании эксперимента животные умерщвлялись под тиопенталовым наркозом (5% раствор тиопентала вводился внутривентриально по 0,3 мл каждой

крысе). Статистический анализ полученных данных осуществляли с помощью программного пакета Statistica 10.0. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ( $\text{Mean} \pm \text{sd}$ ). Для анализа межгрупповых различий был использован критерия Манна-Уитни при  $p < 0,05$ .

Трехмерная структура белка (код 4RCH [5]) получена с ресурса Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>). Молекулярный докинг и визуализацию сгенерированных комплексов проводили с помощью программных пакетов ChemOffice, AutoDock Tools 1.5.7, PyMOL, OpenBabelGUI, онлайн-сервера Protein-Ligand Interaction Profiler (PLIP) (<https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>) и Protein-Plus (<https://proteins.plus>).

**Результаты.** В эксперименте *in silico* было показано, что Ривароксабан имеет высокую аффинность к аллостерическому центру глюкокиназы. При этом минимальное значение энергии связывания Ривароксабана  $-9,41$  ккал/моль найдено для стыковки в пределах того же кармана (аллостерического центра), что и для изученных ранее активаторов глюкокиназы [5]. Нами более детально проанализированы два кластера, которые характеризуются близкой топологией связывания. Информация о взаимодействиях между атомами лиганда и остатками АК протеина представлена на рисунке 1.

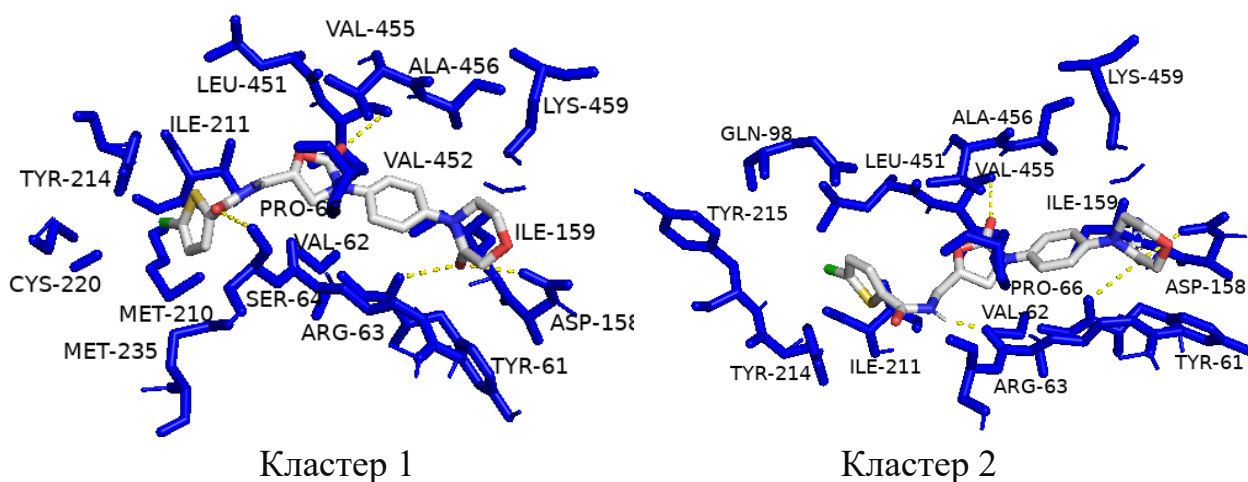


Рисунок 1 – Комплексы Ривароксабана с протеином 4RCH (PyMOL)

Для обоих кластеров характерно взаимодействие хлортиофенового фрагмента Ривароксабана с Tyr-214, который вносит существенный вклад в процесс связывания протеина с активаторами гексокиназы IV различных классов, в частности, содержащих фрагменты пиридина [6], имидазола [7], пиримидина [8].

Важное значение играет взаимодействие с Arg-63, которое также было характерно для других активаторов глюкокиназы. При этом, для энтропийно

мажорного кластера 2 (включает большее число прогонов в эксперименте по молекулярному докингу в Autodock4) взаимодействие с Arg-63 становится наиболее значимым за счет образования дополнительной водородной связи. Такие взаимодействия могут существенно менять топологию всего фермента и обеспечивать активацию гексокиназы IV за счет блокирования каталитически неактивной супероткрытой конформации. Для обоих кластеров были отмечены взаимодействия Ривароксабана с гидрофобными остатками аминокислот (Phe, Val, Met и др.), что соответствует данным работы [4].

Результаты исследования характера взаимодействия Ривароксабана с аллостерическим центром глюкокиназы показывают, что топология комплексов в пределах изученных кластеров соответствует близким суперпозициям, которые легко могут взаимопревращаться за счет конформационных переходов лиганда. Близость строения комплексов Ривароксабана с аминокислотными остатками аллостерического центра гексокиназы IV и аналогичных комплексов для лигандов соединений, которые показали биологическую активность на 1-3 стадиях клинических испытаний [6-8], позволила нам рассматривать Ривароксабан как перспективный кандидат на валидизацию гипогликемической активности в моделях *in vivo* и в клинических испытаниях.

В исследовании *in vivo* была использована аллоксановая модель сахарного диабета у крыс, характер симптоматики которого имеет сходные черты с патологией человека и широко используется в исследованиях по поиску новых гипогликемических ЛС.

Введение аллоксана привело к увеличению уровня глюкозы у экспериментальных животных на 3-и сутки.

Таблица 1 – Уровень глюкозы в крови экспериментальных животных

Группа животных	Уровень глюкозы, ммоль/л, Mean ± sd
1 – чистый контроль	7,38 ± 0,52
2 – контроль введения ривароксабана	7,26 ± 0,46
3 – сахарный диабет	11,23 ± 2,53 <sup>1)</sup>
4 – сахарный диабет + ривароксабан	7,42 ± 0,66 <sup>2)</sup>

Примечание: <sup>1)</sup> – различия достоверны по сравнению с группой 1 (p < 0,05)

<sup>2)</sup> – различия достоверны по сравнению с группой 3 (p < 0,05)

Гликемический профиль экспериментальных крыс в группах контроля 1 и 2 ожидаемо соответствовал показателям здоровых животных (таблица 1). При этом в экспериментальной группе (крысы с индуцированным сахарным

диабетом) был зафиксирован статистически значимый рост концентрации глюкозы в крови; три особи были досрочно выведены из эксперимента в результате гибели на фоне экстремальных значений уровня глюкозы. У остальных экспериментальных животных группы 3 повышенный уровень глюкозы наблюдался на протяжении всего эксперимента; динамика изменения носила скачкообразный характер, что соответствует литературным данным об аллоксановом диабете у крыс [9,10].

Показатели уровня глюкозы крови крыс экспериментальной группы 4 и группы чистого контроля 1 не имели статистически значимых различий. Это свидетельствует о влиянии Ривароксабана на процессы, лежащие в основе метаболизма глюкозы при патологии. Отсутствие статистически значимых различий между показателями уровня глюкозы крови крыс групп контроля 1 и 2 косвенно подтверждает наше предположение о селективном связывании Ривароксабана с именно гексокиназой IV.

**Заключение.** Результаты молекулярного моделирования показали высокую аффинность Ривароксабана к аллостерическому центру гексокиназы IV. Данные эксперимента *in silico* были валидизированы в эксперименте *in vivo*, который продемонстрировал статистически значимое снижение показателей концентрации глюкозы в крови крыс с аллоксановым диабетом, которым вводился Ривароксабан. Полученные результаты являются основанием для планирования клинических испытаний влияния Ривароксабана на метаболизм глюкозы, с целью разработки более рациональных протоколов лечения пациентов с сочетанной сердечно-сосудистой и эндокринной патологией.

### Список литературы

1. Grossbard, L. Multiple hexokinases of rat tissues: purification and comparison of soluble forms. / L. Grossbard, R.T. Schimke // J. Biol. Chem. – 1966. – V. 241. – P. 3546–60.
2. Matschinsky F.M. The network of glucokinase-expressing cells in glucose homeostasis and the potential of glucokinase activators for diabetes therapy. / F.M. Matschinsky, et al. // Diabetes. – 2006 - V. 55, N 1. – P. 1–12
3. Agius L. Glucokinase and molecular aspects of liver glycogen metabolism. / L. Agius // Biochem. J. - 2008. – V. 414. – P. 1–18.
4. Gloyn, A.L. Glucokinase (GCK) mutations in hyper- and hypoglycemia: maturity-onset diabetes of the young, permanent neonatal diabetes, and hyperinsulinemia of infancy. / A.L. Gloyn // Hum. Mutat. 2003. – V. 22, N 5. – P. 353-62. doi: 10.1002/humu.10277.
5. Ronald J. Hinklin. Discovery of 2-Pyridylureas as Glucokinase Activators. Journal of Medicinal Chemistry / Ronald J. Hinklin, et al // Journal of Medicinal Chemistry. – 2014. – Vol. 57(19), P. 8180-8186

6. Kahn, S. E. Importance of early-phase insulin secretion to intravenous glucose tolerance in subjects with type 2 diabetes mellitus. / S. E. Kahn, et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001. – V. **86**. – P. 5824–5829.

7. Yixin Ren. Glucokinase as an emerging anti-diabetes target and recent progress in the development of its agonists. / Yixin Ren, Li Li, Li Wan, Yan Huang, Shuang Cao // *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* - 2022 V. 37, N 1. - P. 606-615, DOI: 10.1080/14756366.2021.2025362

8. Kamata K. Structural basis for allosteric regulation of the monomeric allosteric enzyme human glucokinase. // K. Kamata, M. Mitsuya, T. Nishimura, J. Eiki / *Structure*. 2004. – Vol. 12, N 3. – P. 429-38.

9. Osasenaga Macdonald Ighodaro. Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies // Osasenaga Macdonald Ighodaro, et al. / *Medicina*, V 53, N6. – 2017. - P 365-374).

10. Lenzen, S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. / S. Lenzen, // *Diabetologia*. – 2008. – V. 51. P. 216–226. doi.org/10.1007/s00125-007-0886-7.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ N-АЦЕТИЛЦИСТЕИНА ДЛЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ИЗМЕНЕНИЙ В ЛЕГКИХ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРОКСИИ

**Рутковская Ж.А.**

кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры биологической химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь RutkovskayaZh@yandex.ru;

**Котович И.Л.**

кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры фармакологии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь kotovich-iryna@rambler.ru;

**Саттаров Р.М.**

студент 3 курса лечебного факультета учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь lomonosovolym28@gmail.com

**Матюхевич А.С.**

студент 3 курса лечебного факультета учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь nastya.matyukhevich99@gmail.com

**Таганович А.Д.**

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биологической химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь ТагановичAD@bsmi.by;

**Аннотация.** Ингаляционное введение N-ацетилцистеина уменьшает повреждающее действие высоких концентраций кислорода на легкие новорожденных морских свинок, что подтверждается уменьшением содержания продуктов окислительной модификации липидов и белков, нормализацией фосфолипидного состава сурфактанта, снижением активности протеолитических ферментов в легких.

**Ключевые слова:** гипероксия; легкие; n-ацетилцистеин; фосфолипиды; прооксидантно-оксидантный статус; протеазы; антипротеазы

## USE OF N-ACETYLCYSTEINE TO PREVENT CHANGES IN THE LUNGS UNDER HYPEROXY

**Rutkovskaya Zh.A.**



*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Biological Chemistry of the Educational Institution "Belarusian State Medical University",  
Minsk, Belarus,  
RutkovskayaZh@yandex.ru;  
**Kotovich I.L.***

*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmacology of the Educational Establishment "Belarusian State Medical University", Minsk, Belarus  
Kotovich-iryana@rambler.ru;  
**Sattarov R.M.***

*3rd year student of the Faculty of General Medicine of the Educational Establishment "Belarusian State Medical University", Minsk, Belarus  
lomonosovolymp28@gmail.com  
**Matyukhevich A.S.***

*3rd year student of the Faculty of General Medicine of the Educational Establishment "Belarusian State Medical University", Minsk, Belarus  
nastya.matyukhevich99@gmail.com  
**Taganovich A.D.***

*Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Biological Chemistry, Educational Establishment "Belarusian State Medical University", Minsk, Belarus  
TahanovichAD@bsmu.by;*

**Annotation.** *Inhalation administration of N-acetylcysteine reduces the damaging effect of high oxygen concentrations on the lungs of newborn guinea pigs, which is confirmed by a decrease in the content of products of oxidative modification of lipids and proteins, normalization of the phospholipid composition of the surfactant, and a decrease in the activity of proteolytic enzymes in the lungs.*

**Keywords:** *hyperoxia, lungs, n-acetylcysteine, phospholipids, prooxidant-oxidant status, proteases, antiproteases.*

Снижение младенческой смертности является одним из приоритетных направлений неонатальной пульмонологии. С этой целью при выхаживании новорожденных с проводится оксигенотерапия. Высокие концентрации кислорода, используемые при проведении оксигенотерапии, оказывают выраженное повреждающее действие на функционально незрелую легочную ткань недоношенных младенцев, что в последствии приводит к развитию тяжелой патологии легких – бронхолегочной дисплазии (БЛД) [1]. Изменения, вызываемые воздействием высоких концентраций кислорода, связывают со стимуляцией продукции свободных радикалов кислорода и повреждение клеток

и молекулярных структур легких продуктами окисления [2]. Учитывая выявленные патогенетические механизмы развития БЛД оправдано использование препаратов с антиоксидантным эффектом для коррекции прооксидантно-антиоксидантного статуса и предупреждения деструктивных процессов в легочной ткани.

Целью исследования было изучить эффективность водной и липосомальной форм N-ацетилцистеина для коррекции прооксидантно-антиоксидантного статуса, снижения активности протеаз и восстановления фосфолипидного состава сурфактанта легких.

В эксперименте использовали новорожденных морских свинок, находившихся на стандартном рационе вивария БГМУ с соблюдением этических норм и правил проведения работ с лабораторными животными. В течение суток после рождения животных опытной группы помещали в плексигласовую камеру, в которой в течение всего времени инкубации поддерживали концентрацию кислорода не менее 70% (температура 20-25°C, относительная влажность 50-80%). Концентрацию кислорода в камере контролировали с помощью анализатора кислорода ПГК-06-100Р (ЗАО «Инсовт», РФ). Длительность воздействия гипероксии составляла 3 и 14 суток. Контрольные животные в течение такого же периода времени дышали обычным воздухом. В каждой экспериментальной группе находилось 4-5 животных. Приводимые данные – результат двух независимых экспериментов для каждого из изучаемых сроков воздействия.

Коррекцию проводили с помощью ингаляционного введения водной и липосомальной форм N-ацетилцистеина. Для приготовления водного раствора использовали N-ацетилцистеин (20% раствор для ингаляций, Белмедпрепараты, Беларусь) из расчета 250 мг/кг и натрий-фосфатный буфер (0,1 моль/л) с ЭДТА (0,1 ммоль/л), рН=7,4), а для изготовления липосом использовали N-ацетилцистеин (250 мг/кг), L- $\alpha$ -дипальмитоилфосфатидилхолин (ДПФХ) (50 мг/кг), и натрий-фосфатный буфер (0,1 моль/л) с ЭДТА (0,1 ммоль/л), рН=7,4. Ингаляции животным проводили 1 раз в два дня, всего дважды в течение 3 суток и 7 раз в течение 14 суток воздействия гипероксии с использованием компрессорного небулайзера (Omron, Китай).

По окончании эксперимента животных наркотизировали тиопенталом натрия (15 мг/кг интраперитонеально) и получали материал для исследования: бронхоальвеолярную лаважную жидкость (БАЛЖ), гомогенат легких и плазму крови, где определяли следующие показатели: интенсивность генерации активных форм кислорода (АФК) клетками БАЛЖ, активность основных антиоксидантных ферментов (СОД, каталаза, глутатионпероксидаза (ГП)),

содержание восстановленного глутатиона и других небелковых SH-соединений, содержание карбонильных производных аминокислот в белках, продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), диеновых конъюгатов, оснований Шиффа, концентрацию нитрит-ионов, содержание общего белка, основных фосфолипидных фракций сурфактанта легких в БАЛЖ, содержание нейтрофильной эластазы и активность альфа1-протеиназного ингибитора (А1-ПИ) в гомогенатах легких и плазме крови.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 6,0, статистический анализ проводили с использованием непараметрического U-теста Манна-Уитни для независимых выборок. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ . Данные представлены в виде медианы и интерквартильных размахов (25 перцентиль – 75 перцентиль), охватывающих 50% наблюдений.

**Результаты.** Гипероксия приводит к увеличению интенсивности образования активных форм кислорода клетками БАЛЖ. В эксперименте установлено, что интегральная интенсивность хемилюминесценции клеток новорожденных морских свинок увеличилась на 151% ( $p < 0,05$ ) уже при кратковременном воздействии гипероксии (в течение 3 суток) в условиях гипероксии. При увеличении продолжительности воздействия гипероксии до 14 суток интенсивность продукции АФК клетками БАЛЖ уменьшалось по сравнению с группой животных «3 суток», но было выше по сравнению с интактными животными на 56% ( $p < 0,05$ ). Также в ответ на стимуляторы (липополисахарид и латекс) в группе «14 суток гипероксии» интенсивность генерации АФК клетками снизилась на 28,8% и 18,0% соответственно ( $p < 0,05$ ). Ингаляции как с водной, так и с липосомальной формой N-ацетилцистеина предотвращали образование АФК в опытных группах, что подтверждается нормализацией интегральной интенсивности хемилюминесценции ЛЗХЛ в группах «3 суток» и «14 суток» воздействия гипероксии и сохранением тенденции к снижению интенсивности ответа латекс и липополисахарид.

Длительное воздействие гипероксии в течение 14 суток привело к снижению глутатиона и других небелковых SH-соединений в БАЛЖ в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ). Эти изменения могут быть результатом снижения активности глутатионзависимых ферментов, что подтверждается резким, в 3,3 раза ( $p < 0,05$ ), снижением активности ГП при длительном воздействии гипероксии. Введение N-ацетилцистеина (как водной, так и липосомальной формы) нормализовало систему глутатион-глутатионзависимые ферменты: содержание восстановленного глутатиона и других небелковых SH-соединений и активность глутатионпероксидазы в БАЛЖ увеличились и достоверно не отличались от

контроля. Разная продолжительность воздействия гипероксии не оказала влияния на активность СОД и каталазы в БАЛЖ животных.

Длительное воздействие гипероксии на фоне снижения работы антиоксидантной системы привело к росту продуктов липопероксидации и карбонильных производных аминокислот в БАЛЖ. Содержание диеновых конъюгатов, продуктов, реагирующих с ТБК, и оснований Шиффа достоверно увеличилось в среднем в 2 раза по сравнению с контрольной группой. В 2,5 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем возросло количество продуктов окислительной модификации белков в БАЛЖ. Ингаляционное введение раствора и липосом с N-ацетилцистеином сопровождалось снижением уровня продуктов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в БАЛЖ и ткани легкого до контрольных значений.

Длительная гипероксия привела к резкому снижению содержания сурфактантных липидов в БАЛЖ. Содержание ФЭА (фосфатидилэтаноламин) и ДНФХ (динасыщенный фосфатидилхолин) уменьшилось 5,1 и 3,5 раза соответственно ( $p < 0,05$ ) по отношению к контролю, а ЛизоФХ (лизофосфатидилхолин) и СМ (сфингомиелин) в БАЛЖ животных после длительного воздействия высоких концентраций кислорода отсутствовали. После введения N-ацетилцистеина на фоне гипероксии содержание СМ, ДНФХ и ФЭА нормализовалось (полученные данные достоверно не отличались от контроля), а содержание ЛизоФХ в БАЛЖ возросло, хотя и не достигло контрольных значений. Полученные положительные изменения сурфактантного состава фосфолипидов могут быть результатом не только антиоксидантного действия N-ацетилцистеина, но и увеличением секреторной активности альвеолоцитов II типа, которые продуцируют сурфактант (данный эффект N-ацетилцистеина описан в литературе).

Воздействие высоких концентраций кислорода также привело к увеличению на 91% ( $p < 0,05$ ) уровня белка в БАЛЖ (в сравнении с контролем). Как известно, увеличение уровня белка в альвеолярном пространстве наблюдается при воспалении и при отеке легких и является следствием трансудации белков плазмы крови (альбуминов)[3]. Длительная гипероксия (14 суток) способствует развитию воспалительной реакции в легких новорожденных животных, что подтверждается выявленным нами значительным возрастанием в 11 раз по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ) нейтрофилов в БАЛЖ. Введение водного раствора N-ацетилцистеина не нормализовало уровень нейтрофилов в БАЛЖ, а содержание белка, хотя и имело тенденцию к снижению, оставалось повышенным 40% по отношению к контролю. Ингаляции липосом с N-ацетилцистеином приводили к росту концентрации белка в БАЛЖ (содержание белка увеличилось в 1,8 раза по сравнению с контролем,  $p < 0,05$ ).

В опытных группах «14 суток» выявлено значительное, в 13,5 раза ( $p < 0,05$ ) увеличение содержания нейтрофильной эластазы, не смотря на рост активности альфа1-протеиназного ингибитора. Введение как водного раствора, так и липосомальной формы N-ацетилцистеина способствовало уменьшению содержания нейтрофильной эластазы до уровня контрольных значений на фоне резкого роста активности А1-ПИ в легких экспериментальных животных.

Таким образом, как водорастворимая, так и в липосомальная формы N-ацетилцистеина при ингаляционном введении тормозят развитие патологических изменений в легочной ткани, индуцированных длительной гипероксией путем снижения интенсивности образования активных форм кислорода, уменьшения содержания продуктов окислительной модификации липидов и белков, увеличения активности глутатионпероксидазы и уровня небелковых SH-соединений, нормализации фосфолипидного состава сурфактанта, снижения уровня нейтрофильной эластазы и увеличения активности альфа1-протеиназного ингибитора в легких новорожденных морских свинок. Полученные данные позволяют утверждать, что ингаляционное введение N-ацетилцистеина может быть эффективно для профилактики развития явлений бронхолегочной дисплазии.

### **Список литературы**

1. Прометной Д.В, Александрович Ю.С., Вороненко И.И. Факторы риска, предикторы и современная диагностика бронхолегочной дисплазии/ Педиатр. – 2017. – Т. 8. – № 3. – С. 142–150.
2. Лебедева О.В. Факторы риска формирования бронхолегочной дисплазии у новорожденных с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении / Педиатрическая фармакология. – 2014. – Т. 11. – № 3. – С. 37–41.
3. Bhandari V. Postnatal inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol (2014) 100(3):189–201.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭНДОПЕПТИДАЗЫ ММП-1 В СЫВОРОТКЕ ПАЦИЕНТОВ С СИСТЕМНЫМ СКЛЕРОЗОМ

**Рябцева Т. В.**

*Кандидат биологических наук, ассистент кафедры биологической химии  
учреждения образования «Белорусский государственный медицинский  
университет», г. Минск, Беларусь  
ta-yana@yandex.by;*

**Демидовец В. А.**

*Студентка педиатрического факультета учреждения образования  
«Белорусский государственный медицинский университет» г. Минск, Беларусь,  
varya.dzemidovets@mail.ru;*

**Чиж К. А.**

*Кандидат медицинских наук, доцент 2-й кафедры внутренних болезней  
учреждения образования «Белорусский государственный медицинский  
университет», г. Минск, Беларусь;*

**Апанасович В. Г.**

*Кандидат медицинских наук, доцент 2-й кафедры внутренних болезней  
учреждения образования «Белорусский государственный медицинский  
университет», г. Минск, Беларусь;*

**Аннотация.** В данной статье авторы исследовали концентрацию эндопептидазы ММП-1 в сыворотке крови пациентов с системным склерозом. Концентрацию ММП-1 в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом. Авторы проанализировали её изменение по сравнению с концентрацией данной молекулы в сыворотке здоровых доноров. На основе проведенного исследования установлено, что определение концентрации эндопептидазы ММП-1 в сыворотке крови может быть использовано в качестве дополнительного диагностического критерия при системной склеродермии.

**Ключевые слова:** системный склероз; матриксные металлопротеиназы; фиброз

## DETECTION OF MMP-1 ENDOPEPTIDASE IN SERUM OF PATIENTS WITH SYSTEMIC SCLEROSIS

**Ryabtseva T. V.**

*Candidate of Biological Sciences, Assistant of the Department of Biological  
Chemistry of the Educational Establishment "Belarusian State Medical University",  
Minsk, Belarus*

*ta-yana@yandex.by;*

**Dzemidovets V. A.**

*Student of the pediatric faculty of the educational institution "Belarusian State Medical University", Minsk, Belarus  
varya.dzemidovets@mail.ru;*

**Chyzh K. A.**

*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the 2nd Department of Internal Diseases of the Educational Establishment "Belarusian State Medical University", Minsk, Belarus;*

**Apanasovich V. G.**

*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the 2nd Department of Internal Diseases of the Educational Establishment "Belarusian State Medical University", Minsk, Belarus;*

**Annotation.** *In this article, the authors investigated the concentration of MMP-1 endopeptidase in the blood serum of patients with systemic sclerosis. The concentration of MMP-1 in blood serum was determined by enzyme immunoassay. The authors analyzed its change in comparison with the concentration of this molecule in the serum of healthy donors. On the basis of the study, it was found that the determination of the concentration of MMP-1 endopeptidase in blood serum can be used as an additional diagnostic criterion for systemic scleroderma.*

**Keywords:** *systemic sclerosis; matrix metalloproteinases; fibrosis*

Системный склероз (прежнее название - системная склеродермия) относится к группе системных заболеваний соединительной ткани, этиология которых на сегодняшний день остается неизвестной, а патогенез связан с аутоиммунными нарушениям. При системном склерозе (СС) отмечается поражение многих органов и систем организма – прежде всего кожи, а также сосудов, опорно-двигательного аппарата, внутренних органов (легкие, сердце, пищеварительный тракт, почки), сопровождающееся характерными фиброзно-склеротическими изменениями. Заболевают преимущественно женщины в возрасте 30-50 лет (соотношение мужчин и женщин -1:5). Несмотря на редкую встречаемость (первичная заболеваемость колеблется от 4 до 20,0 на 1 млн населения в год), СС характеризуется высокой заболеваемостью и смертностью [1].

Матриксные металлопротеиназы (ММП) относятся к семейству цинковых эндопептидаз, содержащих ионы цинка  $Zn^{2+}$  в активном центре. Для стабилизации молекулы необходимо также присутствие ионов кальция  $Ca^{2+}$ . ММП-1 гидролизует спиральную область коллагена. Для нормального

функционирования внутриклеточного матрикса (ВКМ) должен поддерживаться баланс между активностью ММП и механизмами их ингибирования. Нарушения этого равновесия приводит к глубоким изменениям состава ВКМ и влияет на клеточную активность. ММП-1 в обычных условиях содержится в тканях в незначительных количествах [2].

ММП-1 синтезируется нормальными и трансформированными фибробластами, хондроцитами, эпителиальными клетками, макрофагами. Регуляция экспрессии генов ММП осуществляется на транс- и посттранскрипционном уровнях. Экспрессия ММП увеличивается при стимуляции некоторыми цитокинами – интерлейкинами (ИЛ) -4, -6, -13, эпидермальными факторами роста, факторами роста фибробластов [3]. Уровень ММП-1 в сыворотке крови может отражать изменения состава ВКМ и являться важным биомаркером развития воспалительного процесса при СС.

#### **Материалы и методы.**

В исследовании участвовали 20 пациентов с системным склерозом (СС), из них 18 женщин и 2-е мужчин, находившихся на лечении в ревматологическом отделении ГУ «МНПЦ хирургии, трансплантологии и гематологии». Клиническая характеристика: у всех пациентов отмечалось хроническое течение заболевания, 2-я стадия развития; характерны синдром Рейно, трофические нарушения и рецидивирующие язвы «подушечек» пальцев, у 2-х пациентов выявлены кальцинаты, органные проявления (базальный пневмосклероз, эзофагит), минимальная воспалительная активность. Контрольную группу составили практически здоровые доноры (n=10). Концентрацию молекулы ММП-1 в сыворотке крови пациентов с СС и практически здоровых доноров определяли методом иммуноферментного анализа. Для статистического анализа использовали методы непараметрической статистики и ROC-анализ. Результаты представлены в виде медианы и 25-75 перцентилей.

#### **Результаты и их обсуждение.**

Медианная концентрация молекулы адгезии ММП-1 в сыворотке крови пациентов с СС в группе исследования составляет 2642,4 (1864,6; 3909,1) нг/мл (рисунок 1), что статистически значимо ( $p \leq 0,03$ ) в 1,6 раз превышает медианную концентрацию данной молекулы в сыворотке крови здоровых доноров (1639,8 (1018,3; 2545,9) нг/мл).

Следует отметить, что у 50% (10) пациентов с СС значения концентраций ММП-1 в сыворотке крови превышали референсные ( $>2545,9$  нг/мл), медианное значение в данной группе пациентов составило 4015,9 (2974,8; 4880,9) нг/мл. У 1 пациента (5%) с СС концентрация ММП-1 в сыворотке крови оказалась ниже референсных значений ( $<1864,6$  нг/мл) и составила 720,2 нг/мл.



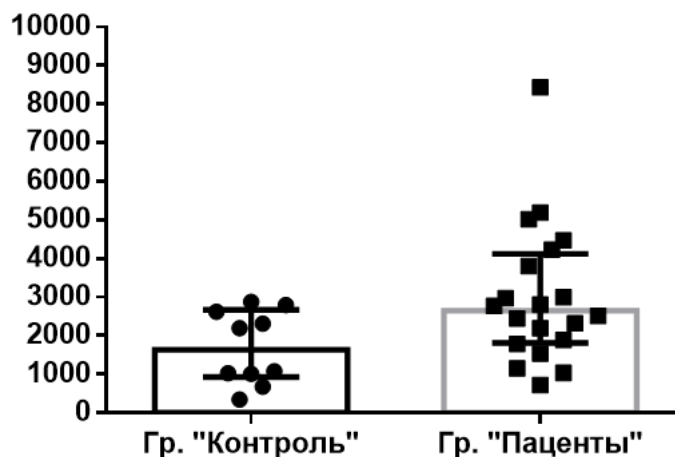


Рисунок 1 – Концентрация ММП-1 в сыворотке крови пациентов с системным склерозом и здоровых доноров

Диагностическую значимость определения ММП-1 в сыворотке пациентов с СС оценили путем расчета площади под ROC-кривой, которая составила  $0,74 \pm 0,09$ . Данное значение по классификации В. П. Леонова соответствует «хорошему» качеству прогностической модели. Порог отсечения для максимальной чувствительности (100%) данной модели составляет  $>700,7$  нг/мл ММП-1 в сыворотке крови. Максимальная специфичность достигается при пороге отсечения  $>2924,0$  нг/мл ММП-1. Баланс между чувствительностью (65%) и специфичностью (70%) данной модели достигается при точке отсечения 2317,0 нг/мл ММП-1 для того, чтобы избежать гипердиагностики.

Таким образом, определение концентрации эндопептидазы ММП-1 в сыворотке крови может быть использовано в качестве дополнительного диагностического критерия при СС.

### Список литературы

1. Rosendahl, A.-H. Pathophysiology of systemic sclerosis (scleroderma) / A.-H. Rosendahl, K. Schönborn, T. Krieg // J. Med Sci. – 2022. – Vol. 38. – p.187–195.
2. Thode H. Matrix Metalloproteinases: From Molecular Mechanisms to Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology / Y. Eslambolchi, S. Chopra // Pharmacological Reviews. – 2022. - p. 714-770
3. Neil A. T. Regulation of Myocardial Matrix Metalloproteinase Expression and Activity by Cardiac Fibroblasts / Karen E. P. // IUBMBLife.- 2012.- p. 143-150

## ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФНО-АЛЬФА С НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМИ ФРАГМЕНТАМИ ПОЛИПЕПТИДНОЙ ЦЕПИ РЕЦЕПТОРА TNFRSF1B

**Смурага Д. Д.**

*Студент учреждения образования «Белорусский государственный  
медицинский университет», г. Минск, Беларусь  
darin1104life@gmail.com;*

**Рябцева Т. В.**

*Кандидат биологических наук, ассистент кафедры биологической химии  
учреждения образования «Белорусский государственный медицинский  
университет», г. Минск, Беларусь  
ta-yana@yandex.by;*

**Аннотация.** В данной статье представлены результаты анализа энергии связывания олигопептидов с ФНО- $\alpha$ . На основании значения энергии связывания олигопептидов с цитокином были выявлены особенности взаимодействия олигопептидов, являющихся фрагментами полипептидной цепи рецептора TNFRSF1B с ФНО- $\alpha$ . Проанализировано изменение энергии связывания при удлинении пептида до пентапептида. В статье представлены результаты, описывающие разницу взаимодействия олигопептидов с мономером и тримером ФНО- $\alpha$  как по величине энергии связывания, так и по локализации на молекуле. В ходе работы выяснено, что тетрапептид Trp-Asn-Trp-Val формирует стабильный комплекс с максимальным значением модуля энергии связывания с ФНО- $\alpha$  и является наиболее перспективным олигопептидом для дальнейшего использования в практической деятельности.

**Ключевые слова:** цитокины; цитокиновый шторм; олигопептиды; ФНО- $\alpha$ ; рецептор TNFRSF1B; молекулярный докинг.

## THE INTERACTION FEATURES OF TNF-ALFA WITH LOW- MOLECULAR FRAGMENTS OF THE TNFRSF1B RECEPTOR

**Smuraga D. D.**

*Student of the educational institution "Belarusian State Medical University",  
Minsk, Belarus  
darin1104life@gmail.com;*

**Ryabtseva T.V.**

*Candidate of biological sciences, assistant of the department of biological  
chemistry of the educational institution "Belarusian State Medical University",  
Minsk, Belarus*

**Annotation.** *In this article presents the binding energy of oligopeptides with TNF-alpha. The interaction features of the polypeptide chain of the TNFRSF1B receptor with TNF-alpha were revealed, based on the binding energy of oligopeptides with a cytokine. It was analyzed the binding energy change during the elongation of the peptide to the pentapeptide. The article presents the results describing the difference in the interaction of oligopeptides with the TNF-alpha monomer and trimer both in terms of the binding energy and localization on the molecule. In the course of the work, it was found that the Trp-Asn-Trp-Val tetrapeptide forms a stable complex with the maximum value of the binding energy modulus with TNF-alpha and is the most promising oligopeptide for further use in practice.*

**Keywords:** *cytokines; cytokine storm; oligopeptides; TNF-alpha; TNFRSF1B receptor; molecular docking*

Пептиды широко применяются в лечении различных органов и систем. Пептиды используются для нормализации мозгового кровообращения, укрепления сосудов, восстановления функции зрения, при нарушениях работы желудочно-кишечного тракта, лечении почек, для улучшения иммунитета, нормализации гормонального фона, укрепления хрящевой ткани. Регуляторные олигопептиды эффективны и перспективны для применения в качестве стабилизаторов форменных элементов крови при ее консервации и хранении, протекции состояния клеток в условиях их ускоренного старения под влиянием воздействия экстремальных факторов и пролонгирования времени их жизнеспособности [1].

Актуальным направлением применения низкомолекулярных пептидов является разработка пептидов с антицитокиновой активностью. Основными преимуществами олигопептидов по сравнению с МАТ является недорогой метод получения (химический синтез) низкая иммуногенность и возможность их модификации [2].

Для моделирования низкомолекулярных биологически активных соединений используют методы компьютерного дизайна. Молекулярный докинг— это метод молекулярного моделирования, который позволяет предсказать наиболее выгодную для образования устойчивого комплекса ориентацию и положение одной молекулы по отношению к другой [3]. С помощью молекулярного докинга можно определить наиболее оптимально взаимодействующее соединение из ряда близких по составу аналогов, что мы и использовали в ходе нашей работы.

ФНО- $\alpha$  относится к провоспалительным цитокинам и участвует в патогенезе многих заболеваний, таких как атеросклероз, артериальная гипертензия, хроническая болезнь почек, остеопороз, сахарный диабет и т.д. [4]. Таким образом, существует необходимость в разработке методов для снижения концентрации цитокинов при их чрезмерной продукции. Для этого могут быть использованы олигопептиды, являющиеся низкомолекулярными аналогами рецептора TNFRSF1B.

Целью работы является анализ энергии связывания ФНО- $\alpha$  с олигопептидами, являющимися аналогами цитокиносвязывающего домена рецептора TNFRSF1B *in silico*.

**Материалы и методы.** Визуализацию молекулярных комплексов, работу с *pdb*-файлами и оценку свободной энергии связывания олигопептидов с цитокинами проводили с помощью программного обеспечения Chimera 1.14 с утилитой AutoDockVina. Для молекулярного докинга использовали *pdb*-файл 3ALQ. Результаты исследования обрабатывали непараметрическими методами статистики с использованием пакетов статистического анализа данных Statistica10.0. Для представления результатов рассчитывали медиану (Me) и интерквартильный размах (25 %; 75 %).

**Результаты и их обработка.** На основании анализа трехмерной модели комплекса ФНО- $\alpha$  с рецептором TNFRSF1B выделили участок аминокислотной последовательности, обеспечивающий наиболее тесный контакт между цитокином и рецептором. Выделенная аминокислотная последовательность была разделена на олигопептиды, потенциально способные к взаимодействию с ФНО- $\alpha$ . Для ФНО- $\alpha$  сконструировали и исследовали *in silico* 54 олигопептида (15 ди-, 14 три-, 13 тетра- и 12 пентапептидов).

Для определения оптимальной длины олигопептида использовалось сравнение результатов измерения свободной энергии связывания ФНО- $\alpha$  с ди- и трипептидами, три- и тетрапептидами, тетра- и пентапептидами (метод Манна – Уитни). Свободная энергия связывания, или энергия Гиббса – это та часть всей энергии системы, которую можно использовать для совершения максимальной работы. Чем больше модуль свободной энергии связывания, тем более стабильный комплекс образуется при связывании молекулы с лигандом.

Олигопептидами с минимальным модулем свободной энергии связывания являются дипептид Cys-Gly 4,25 (4,07;4,30); трипептид Glu-Cys-Leu 5,00 (4,92;5,10); тетрапептид Cys-Leu-Ser-Cys 5,10 (4,77;5,42); пентапептид Cys-Leu-Ser-Cys-Gly 5,30 (5,10;5,45). Олигопептидами с максимальным модулем свободной энергии связывания являются дипептид Trp-Asn 7,40 (6,95;7,80); трипептид Trp-Val-Pro 7,30(7,10;8,20); тетрапептид Trp-Asn-Trp-Val 7,20 (7,10;7,50); пентапептид Leu-Trp-Asn-Trp-Val 7,45 (6,75;7,50) (табл.1).

Таблица 1 – Значения минимальной и максимальной свободной энергии связывания ди-, три-, тетра-, пентапептидов с тримерной формой TNF- $\alpha$

Длина олигопептида	Олигопептиды с минимальным модулем свободной энергии связывания, ккал/моль	Олигопептиды с максимальным модулем свободной энергии связывания, ккал/моль
Дипептид	Cys-Gly 4,25 (4,07;4,30)	Trp-Asn 7,40 (6,95;7,80)
Трипептид	Glu-Cys-Leu 5,00 (4,92;5,10)	Trp-Val-Pro 7,30 (7,10;8,20)
Тетрапептид	Cys-Leu-Ser-Cys 5,10 (4,77;5,42)	Trp-Asn-Trp-Val 7,20 (7,10;7,50)
Пентапептид	Cys-Leu-Ser-Cys-Gly 5,30 (5,10;5,45)	Leu-Trp-Asn-Trp-Val 7,45 (6,75;7,50)

Тетрапептид Trp-Asn-Trp-Val является структурным аналогом цитокинсвязывающей области TNF $\alpha$ -R1 и формирует стабильный комплекс с максимальным значением модуля энергии связывания. Молекула тетрапептида имеет гидрофобные и гидрофильные участки. Гидрофобные участки имеют заряд. С помощью именно этих участков тетрапептид взаимодействует с ФНО- $\alpha$ .

При взаимодействии цитокина с олигопептидом место связывания его с мономерной формой ФНО- $\alpha$  находится в зоне межмолекулярного контакта цитокина и рецептора (рисунок 1).

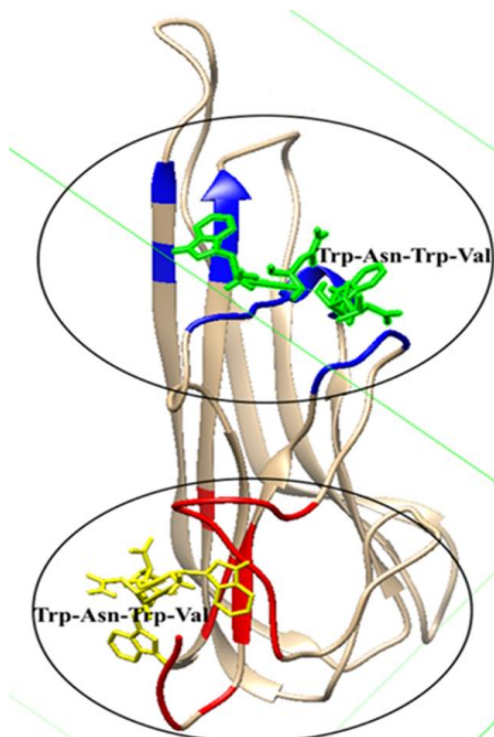


Рисунок 1 – Локализация взаимодействия тетрапептида Trp-Asn-Trp-Val с мономерной формой ФНО- $\alpha$

При взаимодействии с тримерной формой цитокина данный олигопептид встраивается в пространство между мономерными субъединицами ФНО- $\alpha$  (рисунок 2).

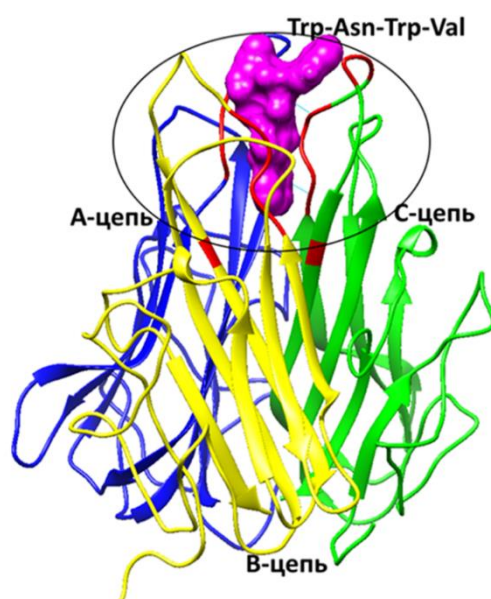


Рисунок 2 – Локализация взаимодействия тетрапептида Trp-Asn-Trp-Val с тримерной формой ФНО- $\alpha$

**Заключение.** Оценка эффективности связывания олигопептидов с ФНО- $\alpha$  позволила установить особенности взаимодействия олигопептидов с провоспалительными цитокинами и определить наиболее перспективный олигопептиды для дальнейшего исследования. Тетрапептид Trp-Asn-Trp-Val, являющийся структурным аналогом цитокинсвязывающей области TNFRSF1B среди всех исследуемых олигопептидов имеет максимальное по модулю значение свободной энергии связывания с ФНО- $\alpha$  |7,2 (7,1; 7,5)| ккал/моль.

### Список литературы

1. Применение олигопептидов как цитопротекторов при ускоренном старении клеток крови *in vitro* / Мещанинов В.Н. [и др.]. — Екатеринбург, 2017. —30—31 с.
2. M. H. V. Van Regenmortel Antigenicity and Immunogenicity of Synthetic Peptides / Van Regenmortel. — Strasbourg, 2001.—2-3 p.
3. Молекулярный докинг: методологические подходы к оценке рисков. Разработка и регистрация лекарственных средств/ Тальдаев А.Х. [и др.]. — Москва, 2023.—220-226 с.
4. Aggarwal B.B., Gupta S.C., Kim J.H. Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey // *Blood*. — 2012. — Vol. 119, No. 3. — 651—665 p.

## СТАНОВЛЕНИЕ И РАЗВИТИЕ КАФЕДРЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ БЕЛОРУССКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

*Таганович А.Д.,*

*Д. м. н., профессор, заведующий кафедрой биологической химии УО  
«Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь*

*Девина Е.А.,*

*К. м. н., доцент кафедры биологической химии УО «Белорусский  
государственный медицинский университет», Минск, Беларусь*

*Колб А.В.,*

*К. б. н., доцент кафедры биологической химии УО «Белорусский  
государственный медицинский университет», Минск, Беларусь  
ataganovich@gmail.com; devina\_ea@tut.by; kolb\_av@mail.ru*

*Аннотация.* Проанализированы основные этапы становления и развития кафедры биологической химии белорусского государственного медицинского университета

*Ключевые слова:* биологическая химия, история, научные исследования.

## FORMATION AND DEVELOPMENT OF THE DEPARTMENT OF BIOLOGICAL CHEMISTRY OF THE BELARUSIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

*Tahanovich A.D., Devina E.A., Kolb A.V.*

*Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus  
ataganovich@gmail.com; devina\_ea@tut.by; kolb\_av@mail.ru*

*Annotation.* The main stages of the formation and development of the department of biological chemistry of the belarusian state medical university are analyzed

*Key words:* biological chemistry, history, scientific research.

Кафедра биологической химии была основана в 1923 г. в структуре медицинского факультета Белорусского государственного университета. Первым заведующим кафедрой (1923 – 1930 гг.) стал выпускник медицинского факультета МГУ профессор Александр Петрович Бестужев (1880 – 1946 гг.), а первыми ассистентами – Шамардин Н. С. и Таранович Л. Е. Одновременно Бестужев А.П. заведовал и кафедрой фармакологии. Под его руководством выполнены научные работы и написаны научные труды о культурах некоторых



лекарственных растений, возбуждающем действии угольной кислоты. До начала 30-х годов им было опубликовано 20 научных работ, в том числе «Терапевтический справочник».

С 1930 по 1932 гг. кафедрой биологической химии заведовал приглашенный из Москвы профессор Дервиз Георгий Валерианович (1897 – 1980 гг.), также выпускник медицинского факультета МГУ, много сделавший для организации и оборудования кафедры и физико-химической лаборатории.

С 1933 г. заведование кафедрой по совместительству было поручено директору института химии АН БССР, академику АН БССР Николаю Семеновичу Козлову (1907 – 1993 гг.). В 1936 г. Козлов Н.С. стал организатором и первым председателем Белорусского отделения Всесоюзного химического общества им. Д. И. Менделеева и председателем научно-технического общества БССР. Автор более 700 научных работ, в т. ч. 7 монографий, 98 изобретений, заслуженный деятель науки и техники РСФСР.

В 1935 г. заведующим кафедрой биохимии был назначен доцент Леонид Евстафьевич Таранович (1886 – 1975), окончивший биологический факультет Санкт-Петербургского университета и Киевский медицинский институт. Вплоть до 1941 г. кафедра занимается исследованием этиологии мочекаменной болезни и роли коллоидов в её формировании, а также изучением тогда еще совсем новой проблемы – перекисного окисления и реактивности организма.

В 1941 г. заведование кафедрой принял приглашенный из Ленинградского медицинского института выпускник Воронежского университета, профессор Александр Николаевич Паршин (1900 – 1976 гг.). Под его руководством проводились научные исследования в области ферментативного расщепления различных пептидов.

Великая Отечественная война прервала научную и педагогическую работу. Минский медицинский институт был эвакуирован в г. Ярославль. С 1943 года кафедра занималась изучением биохимических изменений при травмах и ранениях, что диктовалось требованиями военного времени.

В период с 1944 г. по 1950 гг. кафедрой руководил доцент Беляев Потап Маркович (1895 – 1990), окончивший естественное отделение педагогического факультета БГУ. С момента возвращения из эвакуации в г. Минск и возобновления работы медицинского института на кафедре изучались воздействие голодания на обмен белков, влияние витаминов на обмен веществ, взаимосвязь эндокринной функции надпочечников и поджелудочной железы.

В 1950 году кафедру возглавил выпускник Одесского медицинского института, профессор Михаил Федорович Мережинский (1906 – 1970). При его непосредственном участии в Минском медицинском институте были созданы центральная научно-исследовательская лаборатория (ЦНИЛ), лаборатория

биофизики и электроники, что положило начало высокоэффективным научным биохимическим исследованиям в Беларуси. Михаил Федорович являлся организатором Белорусского биохимического общества, членом президиума Всесоюзного биохимического общества.

В 1959 г. на кафедре начала действовать аспирантура. Первыми аспирантами стали Кукулянский А.А. и Титовец Э.П. Начиная с 1960-х гг., на кафедре проводились интенсивные исследования тканевого спектра ферментов у животных-опухоленосителей, изучались особенности метаболизма при различных функциональных состояниях щитовидной железы, процессов энергообеспечения органов и тканей на фоне применения противоопухолевых антибиотиков. Под руководством профессора Мережинского М.Ф. выполнено 16 кандидатских диссертаций, им опубликовано более 250 научных работ, в т.ч. 6 монографий и первое в Беларуси пособие по клинической биохимии.

В 1970 – 1974 гг. кафедрой возглавляла доцент Нина Ефимовна Глушакова (1911 – 1992), окончившая Минский медицинский институт. В этот период на кафедре проводились исследования по изучению влияния радиоактивного излучения и термической травмы на организм, а также изучались биохимические изменения при гипотиреозе.

С 1974 по 2002 гг. кафедрой руководил выпускник Минского медицинского института, заслуженный деятель науки Республики Беларусь, профессор Виктор Климентьевич Кухта (1937 – 2017). В конце 70-х – 80-х гг. под его руководством на кафедре разрабатывались молекулярные механизмы и методы диагностики нарушения кровообращения, антиоксидантной защиты при гипотермии, изучались белки плазмы крови. Начиная с 1990-х гг., на кафедре проводились исследования, посвященные изучению влияния ионизирующей радиации (внешнего и внутреннего облучения) на показатели антиоксидантной защиты и процессы перекисного окисления липидов, особенности антирадикальной защиты, разрабатывались способы повышения радиорезистентности облученного организма. За цикл работ «Разработка и результаты внедрения в клиническую практику новых высокоэффективных способов дистанционной лучевой терапии онкологических больных» профессор Морозкина Т.С. в 1997 г. была удостоена Государственной премии Республики Беларусь.

Перу профессора В.К. Кухты принадлежит более 220 научных работ, в том числе 3 монографии и 2 учебника для студентов медицинских вузов. Он являлся консультантом 3 докторских и научным руководителем 18 кандидатских диссертаций.

С 2002 года и по настоящее время кафедрой возглавляет доктор медицинских наук, профессор Анатолий Дмитриевич Таганович. После

окончания Минского медицинского института в 1976 г. – аспирант, затем ассистент, доцент, а с 1994 г. – профессор кафедры биологической химии Минского медицинского института. А.Д. Таганович изучал особенности обмена липидов при пороке митрального клапана, разработал и внедрил в практику методы исследования липопротеинов плазмы крови и липолитических ферментов. Результаты исследования были обобщены в кандидатской диссертации «Особенности обмена липидов при пороке митрального клапана», 1981 г. В 1992г. им защищена докторская диссертация «Молекулярные механизмы взаимодействия сурфактанта с макрофагами легких и их роль в развитии интерстициального пневмофиброза».

На кафедре в этот период разработаны типовые программы по биологической химии для студентов всех факультетов, программа для кандидатского экзамена по биологической химии, образовательный стандарт Республики Беларусь «Высшее образование. Вторая ступень (магистратура). Специальность 1-31 80 11 биохимия». В плане реализации инновационного образовательного проекта «Компьютерное тестирование в БГМУ» создана система обучающего и контролирующего компьютерного тестирования по биологической химии. Разработаны два элективных курса для студентов 6 курса лечебного и педиатрического факультетов БГМУ, курса по выбору «Клиническая биохимия» для магистрантов, элективный курс «Фармацевтическая броматология» для специальности «Фармация», составлены и сертифицированы электронные учебно-методические комплексы по биологической химии для студентов БГМУ.

В 1997 г. совместно с сотрудниками Питтсбургского университета (США) профессором Тагановичем А.Д. разработан курс проблемно ориентированного обучения студентов медицинских вузов «Структура и метаболизм клетки». Обмен опытом с коллегами из Филипс-университета г. Марбург (ФРГ) и университета г. Лейпциг (ФРГ) позволил ему освоить и внедрить на кафедре биологической химии БГМУ, впервые среди стран СНГ, передовые технологии выделения и последующего культивирования клеток легких, методы оценки их функциональной активности. Профессор Таганович А.Д. является одним из ведущих биохимиков Республики Беларусь. Им опубликованы свыше 380 научных и научно-методических работ. Под его руководством подготовлено 10 кандидатов наук. Он награжден Почетной Грамотой Национального собрания РБ и Национальной Академии Наук РБ, Высшей Аттестационной Комиссии РБ, благодарностью Президента Национальной академии наук РБ, нагрудным знаком «Отличник здравоохранения».

В 2003 – 2006 гг. на кафедре проводились исследования в рамках проектов фонда фундаментальных исследований РБ: изучались механизмы влияния

гипоксии и гипертермии на альвеолярные макрофаги, особенности ферментативного расщепления фосфолипидов альвеолярными макрофагами в норме и при остром повреждении легких, использование конденсата выдыхаемого воздуха для оценки степени повреждения легочной ткани в процессе проведения искусственной вентиляции легких, биохимические маркеры для дифференциальной диагностики туберкулезного плеврита.

С 2011 г. и по настоящее время в рамках различных фондов и проектов изучаются патогенетические механизмы повреждения легких вследствие гипероксии у недоношенных новорожденных и развития бронхолегочной дисплазии, разрабатываются методы получения новых физиологически активных соединений, исследуется влияние лектинов лекарственных растений, смол сигаретного дыма на функциональную активность и метаболизм клеток легких, молекулярно-клеточные особенности развития хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) у некурящих людей, выполняются многочисленные проекты государственной программы научных исследований, посвященных улучшению диагностики ХОБЛ, рака тела матки, немелкоклеточного рака легкого, выясняются механизмы стероидной резистентности у пациентов с ХОБЛ.

В настоящее время на кафедре работают 1 профессор, 8 доцентов, старший преподаватель, 8 ассистентов, 5 лаборантов. Это коллектив единомышленников, качественно обеспечивающих учебный процесс на всех факультетах БГМУ. Сотрудники кафедры за последние 15 лет подготовили и издали 5 учебников, свыше 100 учебных и учебно-методических пособий. Как и раньше, коллектив полон оптимизма, новых идей и желания двигаться вперед на пути подготовки медицинских кадров и решения научных проблем.

**КОНТРОЛЬ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С  
АДЕНОКАРЦИНОМОЙ ЛЕГКОГО (I-II СТАДИИ) НА ОСНОВАНИИ  
ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ**

**Таганович А.Д.,**

*Д. м. н., профессор, заведующий кафедрой биологической химии УО  
«Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь*

**Ковганко Н.Н.,**

*К. х. н., доцент кафедры биологической химии УО «Белорусский  
государственный медицинский университет», Минск, Беларусь*

**Броницкий С.К.,**

*студент 3-го курса лечебного факультета УО «Белорусский  
государственный медицинский университет», Минск, Беларусь*

**Шумельчик В.В.,**

*студент 3-го курса лечебного факультета УО «Белорусский  
государственный медицинский университет», Минск, Беларусь*

**Готько О.В.,**

*ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»  
Минск, Беларусь*

**Прохорова В.И.**

*ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»  
Минск, Беларусь*

**Колб А.В.**

*К. б. н., доцент кафедры биологической химии УО «Белорусский  
государственный медицинский университет», Минск, Беларусь  
ataganovich@gmail.com; mikalai44@tut.by; broniw@tut.by, shumil7@tut.by;  
babuka05@mail.ru; vprohorova@mail.ru, kolb\_av@tut.by*

**Аннотация.** Исследован уровень CYFRA 21-1, усредненное количество рецепторов CXCR1 в гранулоцитах и количество лимфоцитов, снабженных рецептором CXCR2 в крови пациентов с аденокарциномой легкого (I-II стадии). Показано, что выраженность увеличения содержания данных показателей позволяет с высокой вероятностью предсказывать рецидив у данных пациентов.

**Ключевые слова:** аденокарцинома легкого, рецидив, кровь, CYFRA 21-1, CXCR1, CXCR2.

## TREATMENT EFFECTIVENESS CONTROL OF PATIENTS WITH LUNG ADENOCARCINOMA (I-II STAGES) BASED ON LABORATORY INDICATORS

*\*Tahanovich A.D., \*Kauhanka N.N., \*Bronitsky S.K., \*Shumelchik V.V.,  
\*\*Gotko O.V., \*\*Prokhorova V.I., Kolb A.V.*

*\*Belarusian State Medical University,*

*\*\*"N.N. Alexandrov Republic Centre of Oncology and Medical Radiology"*

*Minsk, Belarus*

*ataganovich@gmail.com; mikalai44@tut.by; broniw@tut.by, shumil7@tut.by;*

*babuka05@mail.ru; vprohorova@mail.ru, kolb\_av@tut.by*

*The level of CYFRA 21-1, the average number of CXCR1 receptors in granulocytes and the number of lymphocytes equipped with the CXCR2 receptor in the blood of patients with lung adenocarcinoma (I-II stages) were studied. It has been shown that the severity of the increase in the content of these indicators makes it possible to predict relapse in these patients with a high probability.*

**Key words:** *lung adenocarcinoma, relapse, blood, CYFRA 21-1, CXCR1, CXCR2.*

Рак легкого является ведущей причиной в структуре смертности от онкологических заболеваний у мужчин [1]. У женщин он занимает второе место. В большинстве случаев (80%-85%) это немелкоклеточный рак легкого (НМКРЛ), который на основании гистологического исследования чаще всего является аденокарциномой (АК) (половина всех случаев первично диагностированного рака легкого) [2].

Даже на ранних стадиях 5-летний барьер выживаемости преодолевают только 60-70% пациентов с I стадией НМКРЛ и 35-40% - со II стадией (по классификации TNM). Основой лечения таких пациентов (стадии I-IIIa) служит анатомическая резекция опухоли в ходе хирургического вмешательства. Пациентам как правило, выполняется операция в объеме R0, что предполагает полное удаление опухолевой ткани. Тем не менее, в ходе послеоперационного наблюдения у 20% пациентов даже при I стадии диагностируется рецидив [3]. Он обусловлен наличием скрытых метастазов или оставшихся опухолевых клеток после резекции.

Алгоритм мониторинга пациентов с НМКРЛ включает проведение врачебного осмотра каждые 3 месяца в течение первых двух лет после операции [4]. Согласно ему, в случае удовлетворительного самочувствия пациента компьютерная томография (КТ) проводится через 6 месяцев и через год после проведенного лечения. По сути, это сроки выявления раннего рецидива.

Между тем, рецидив может сформироваться и до 6 месяцев или в период 6 месяцев – 1 год после операции. То есть, имеется необходимость поиска предикторов, способных служить важным дополнением проводимого мониторинга, чтобы выявлять или предсказывать рецидив опухоли у каждого конкретного пациента после оперативного лечения как можно раньше.

Проведенные нами ранее исследования позволили предложить 3 показателя в крови, измеряя дооперационный уровень которых возможно прогнозировать высокую или низкую безрецидивную выживаемость пациентов с немелкоклеточным раком легкого [5]. В их число вошли фрагмент 19 цитокератина CYFRA 21-1, плотность расположения рецептора CXCR1 на гранулоцитах (CXCR1, MFI, гранулоциты) и доля лимфоцитов в общей популяции этих клеток в крови, снабженных рецептором CXCR2 (CXCR2, %, лимфоциты). Лигандами для этих рецепторов являются цитокины, которые принимают участие в формировании опухоли. Было показано, что комбинированное их определение в составе сформированного регрессионного уравнения имеет преимущество в качестве прогностического фактора по сравнению с каждым из показателей в отдельности. Эти находки послужили основанием для изучения вышеназванных показателей для мониторинга рецидива опухоли в течение 1 года после хирургического лечения.

**Целью** настоящей работы явилось изучить возможность использования до- и послеоперационного уровня CYFRA 21-1, интенсивности флуоресценции (MFI) рецептора CXCR1 в гранулоцитах (CXCR1, MFI, гранулоциты); доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, в общей популяции лимфоцитов крови, (CXCR2, %, лимфоциты), а также их комбинированной модели для предсказания рецидива после резекции опухоли у пациентов с I-II стадиями АК.

**Материалы и методы.** В исследовании участвовало 28 пациентов (19 мужчин и 9 женщин) с впервые диагностированной аденокарциномой легкого I -11 и 17 - II стадии. У всех была проведена хирургическая резекция опухоли (объем оперативного вмешательства – R0). Уровень показателей измеряли до начала лечения и через 3 недели, 3 и 6 месяцев после операции соответственно на автоматическом анализаторе (CYFRA 21-1) и проточном цитометре (рецепторы).

**Результаты и обсуждение.** Уровень всех определяемых показателей, будучи повышенным до операции, через 3 недели после операции резко снижается. Данные, полученные в ходе мониторинга уровня определяемых показателей, показывают, что у всех пациентов с отсутствием рецидива медианы значений через 3 и 6 месяцев после лечения существенно не изменяются по сравнению с уровнем через 3 недели. В то же время, у всех пациентов с развившимся рецидивом уровень анализируемых показателей через 3 и 6

месяцев после проведенного лечения увеличивался. Разница через 6 месяцев по сравнению с уровнем показателя через 3 месяца и через 3 месяца по сравнению с уровнем показателя через 3 недели статистически достоверна. По мере увеличения срока наблюдения, уровень показателей увеличивается, при этом чем выше вероятность развития рецидива, тем выше рост. Примечательно, что это увеличение предшествует обнаружению рецидива с помощью компьютерной томографии.

Проведение ROC-анализа, построение графиков Каплана-Майера, моделей пропорциональных рисков Кокса показали, что по результатам измерения разницы уровня всех определяемых показателей в период 3 недели - 3 месяца, 3 - 6 месяцев, 3 недели - 6 месяцев после операции и последующего ее использования для расчета регрессионного уравнения комбинированной модели можно использовать для прогнозирования вероятности рецидива.

#### **Выводы:**

1. Уровень CYFRA 21-1, CXCR1, MFI в гранулоцитах и CXCR2, % в лимфоцитах крови имеют высокую информативность в определении вероятности послеоперационного рецидива с ДЭ от 66,3% до 76,9%.

2. Вероятность рецидива по результатам измерения разницы уровня показателей через 3 недели и через 3 месяца, через 3 и 6 месяцев после операции и последующего расчета регрессионного уравнения комбинированной модели позволяет предсказать с ДЭ 80,5% (ДЧ – 83,2%, ДС – 77,5% при ПЗ 0,047) и 83,4% соответственно (ДЧ – 82,6%, ДС 89,3% при ПЗ 0,096).

3. ДЭ использования комбинированной модели для разницы уровня CYFRA 21-1, CXCR1, MFI в гранулоцитах, CXCR2, % в лимфоцитах крови пациента, измеренного через 3 недели и через 6 месяцев после резекции опухоли, составляет 88,3% (ДЧ – 89,2%, ДС - 87,5% при ПЗ 0,141). Это значит, что если результат больше 0,141, то в 84,9% случаев у пациента действительно высокая вероятность рецидива опухоли, в то время как при значении уравнения  $\leq 0,141$  у 91,7% пациентов будет правильно предсказано отсутствие рецидива.

#### **Список литературы**

1. Рак в Беларуси: цифры и факты. Анализ данных Белорусского канцер-регистра за 2011—2020 гг. А. Е. Океанов [и др.] / под редакцией С. Л. Полякова Минск: Национальная библиотека Беларуси; 2022. 442 с.
2. Clark S.B., Alsubait S. Non Small Cell Lung Cancer. 2020. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
3. Wang C.Y., Persistently high serum carcinoembryonic antigen levels after surgery indicate poor prognosis in patients with stage I non-small-cell lung cancer. /



C.Y. Wang, M.S. Huang, M.H. Huang, et al. //J Surg Res. 2010. – Vol. 163, № 2. – P. e45-50.

4. Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований. Клинический протокол (под ред. О.Г. Суконко, С.А. Красного). 2019. -Минск «Профессиональные издания», 613 с.

5. Таганович А.Д., Прогнозирование риска опухолевой прогрессии у пациентов с ранними стадиями аденокарциномы и плоскоклеточного рака лёгкого на основе лабораторных показателей / А.Д. Таганович, Н.Н. Ковганко, В.И. Прохорова и др. //Биомедицинская химия 2021, том 67, выпуск 6, с. 507-517.

## ДИАГНОСТИКА РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО I-IIIВ СТАДИЙ НА ДООПЕРАЦИОННОМ ЭТАПЕ

**Таганович А.Д.,**

*Д. м. н., профессор, заведующий кафедрой биологической химии УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь*

**Ковганко Н.Н.,**

*К. х. н., доцент кафедры биологической химии УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь*

**Броницкий С.К.,**

*студент 3-го курса лечебного факультета УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь*

**Турута Я. Д.,**

*студент 3-го курса лечебного факультета УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь*

**Готько О.В.,**

*ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»  
Минск, Беларусь*

**Барабанова Е.М.,**

*К. б. н., доцент кафедры биологической химии УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь*

**Хотько Е.А.,**

*К. б. н., доцент кафедры биологической химии УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь*

*ataganovich@gmail.com; mikalai44@tut.by; turuta@mail.ru*

*srt234@tut.by; babuka05@mail.ru; b\_em@gmail.com, khotko@gmail.com*

**Аннотация.** Исследован уровень онкомаркеров CYFRA 21-1 (фрагмент цитокератина 19), SCC (антиген плоскоклеточного рака), CEA (раковый эмбриональный антиген), NSE (нейрон-специфическая енолаза) и ProGRP (прогастрин-высвобождающий пептид) в крови пациентов с плоскоклеточным раком легкого и здоровых людей. Показано, что выраженность увеличения концентрации CYFRA 21-1 в сыворотке крови пациентов с I-IIIВ стадиями ПКРЛ усиливается по мере роста опухоли, появления регионарных метастазов и снижения степени дифференцировки клеток опухоли.

**Ключевые слова:** плоскоклеточный рак легкого, кровь, CYFRA 21-1, SCC, CEA, NSE, ProGRP.

## DIAGNOSTICS OF THE PREVALENCE OF SQUAMOUS CELL LUNG CANCER STAGE I-III<sub>B</sub> AT THE PREOPERATIVE STAGE

*\*Tahanovich A.D., \*Kauhanka N.N., \*Turuta Y.D.,  
\*Strunevsky V.A., \*\* Gotko O.V., \*Barabanova E.M., Khotko E.A.  
\*Belarusian State Medical University,  
\*\*"N.N. Alexandrov Republic Centre of Oncology and Medical Radiology"  
Minsk, Belarus  
ataganovich@gmail.com; mikalai44@tut.by; turuta@mail.ru  
srt234@tut.by; babuka05@mail.ru, b\_em@gmail.com, khotko@gmail.com*

**Annotation.** *The level of tumor markers CYFRA 21-1 (cytokeratin 19 fragment), SCC (squamous cell carcinoma antigen), CEA (cancer embryonic antigen), NSE (neuron-specific enolase), and ProGRP (progastrin-releasing peptide) in the blood of patients with squamous cell lung cancer and healthy people. It has been shown that the severity of the increase in the concentration of CYFRA 21-1 in the blood serum of patients with stages I-III<sub>B</sub> of SCLC increases with tumor growth, the appearance of regional metastases, and a decrease in the degree of differentiation of tumor cells.*

**Keywords:** *squamous cell lung cancer, blood, CYFRA 21-1, SCC, CEA, NSE, ProGRP.*

Плоскоклеточный рак легкого (ПКРЛ) является одним из подтипом немелкоклеточного рака легкого [1]. У большинства пациентов заболевание обнаруживается только в поздних стадиях, когда опухолевые проявления получают системное распространение и эффективность проводимого лечения невелика. Поэтому актуальной является проблема выявления ПКРЛ на ранних стадиях, когда лечение чаще всего заключается в хирургическом удалении опухоли (I-II стадии) или сочетанном использовании хирургического лечения с химиотерапией (III<sub>A</sub>-III<sub>B</sub> стадии).

Для выявления заболевания в ранних стадиях, когда клиническая симптоматика еще отсутствует, самым приемлемым служит проведение скрининговых исследований. Многообещающим диагностическим инструментом служат циркулирующие опухолевые антигены и другие участники метаболизма опухолевых клеток [2]. К ним, в частности, относятся CYFRA 21-1 (фрагмент цитокератина 19), SCC (антиген плоскоклеточного рака), CEA (раковый эмбриональный антиген), NSE (нейрон-специфическая енолаза) и ProGRP (прогастрин-высвобождающий пептид). При различных гистологических подтипах рака легкого их концентрация в окружающей опухоль ткани и в крови, по данным различных исследователей, зависит от выраженности заболевания и дескрипторов опухоли [3-5]. Следует отметить, что

наблюдавшиеся изменения были установлены для поздних (III-IV) стадий. Сведения об однозначности изменения этих показателей при ранних (I-II) стадиях рака легкого, тем более – ПКРЛ, отсутствовали.

Целью настоящего исследования была оценка уровня вышеперечисленных биомаркеров при ПКРЛ и выяснение целесообразности использования выявленных отклонений от нормы в диагностике этого заболевания.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования служила кровь 86 (52 мужчины и 34 женщины) пациентов с ПКРЛ I-III стадий при поступлении их в ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» в период 2021-2022 гг. Средний возраст пациентов составил  $58 \pm 19,5$  лет. В качестве группы сравнения обследовано 25 человек без проявлений заболевания в возрасте  $53 \pm 17$  лет. Определение концентрации CYFRA 21-1, SCC, CEA, NSE и ProGRP в сыворотке крови осуществляли методом иммунохемилюминесцентного анализа (ИХЛА) с помощью наборов реагентов на ИХЛА-анализаторе Cobas e411 (Rosche Diagnostics, США).

**Результаты.** Наиболее информативным был уровень CYFRA 21-1, который демонстрировал рост при множественном сравнении здоровых людей и пациентов с I, II и III стадиями (табл. 1). Значения остальных онкомаркеров или не изменялись по сравнению со здоровыми людьми (CEA), или же демонстрировали рост, но только на III стадии АК (SCC, NSE, ProGRP).

Таблица 1 – Уровень маркеров у здоровых людей и пациентов с ПКРЛ

Показатель	Здоровые	I;II стадия	III стадия
Cyfra, нг/мл	1,49 [1,23; 2,09]	3,59 [2,03; 5,44] <sup>1</sup>	5,65 [3,02; 10,17] <sup>1,2</sup>
SCC, нг/мл	1,24 [0,86; 1,61]	1,53 [1,18; 2,99] <sup>1</sup>	1,73 [1,52; 2,35] <sup>1</sup>
CEA, нг/мл	2,48 [1,41; 3,50]	3,11 [1,84; 5,10]	2,74 [2,13; 4,15]
NSE, нг/мл	11,19 [9,00; 13,56]	14,97 [10,40; 19,24]	16,96 [13,07; 20,56] <sup>1</sup>
ProGRP, пг/мл	31,56 [24,43; 39,28]	42,15 [32,43; 51,68] <sup>1</sup>	40,62 [34,75; 51,22] <sup>1</sup>

Примечание: здесь и далее 1 - статистическая значимость различий по сравнению со здоровыми людьми; 2 - статистическая значимость различий между группами пациентов.

У пациентов с размером опухоли более 5 см (Т3,4) по сравнению с пациентами с меньшим размером опухоли (Т1,2) только уровень CYFRA 21-1

продемонстрировал существенную разницу (табл. 2). Уровни SCC, NSE, ProGRP у пациентов с ПКРЛ достоверно отличались только от показателей здоровых людей, но не изменялись при увеличении размера опухоли.

Таблица 2 – Уровень маркеров у пациентов с ПКРЛ в зависимости от размера опухоли, регионарных метастазов и степени дифференцировка опухолевых клеток

Уровень маркеров у пациентов с ПКРЛ в зависимости от размера опухоли T		
Показатель	T1,2	T3,4
Cyfra, ng/ml	3,98 [2,10; 5,44] <sup>1</sup>	6,83 [2,35; 11,65] <sup>1,2</sup>
SCC, ng/ml	1,68 [1,27; 2,35] <sup>1</sup>	1,70 [1,49; 2,20] <sup>1</sup>
CEA, ng/ml	3,11 [1,84; 5,10]	2,88 [2,13; 4,26]
NSE, ng/ml	13,93 [10,35; 19,24]	17,94 [15,94; 20,73] <sup>1</sup>
ProGRP, pg/ml	42,14 [33,72; 51,71] <sup>1</sup>	41,90 [34,95; 55,71] <sup>1</sup>
Уровень маркеров у пациентов с ПКРЛ в зависимости от наличия регионарных метастазов N		
Показатель	N0	N1,2
Cyfra, ng/ml	2,79 [1,75; 6,80] <sup>1</sup>	4,70 [3,11; 8,84] <sup>1,2</sup>
SCC, ng/ml	1,71 [1,08; 2,45] <sup>1</sup>	1,68 [1,41; 2,61] <sup>1</sup>
CEA, ng/ml	3,37 [1,85; 5,19]	2,88 [1,89; 4,15]
NSE, ng/ml	16,13 [10,14; 19,71]	16,94 [12,26; 20,59] <sup>1</sup>
ProGRP, pg/ml	45,12 [37,35; 59,27] <sup>1</sup>	40,62 [33,49; 50,35] <sup>1</sup>
Уровень маркеров у пациентов с ПКРЛ в зависимости от степени дифференцировки опухоли Grade		
Показатель	Grade 1,2	Grade 3
Cyfra, ng/ml	3,43 [2,10; 6,89] <sup>1</sup>	4,76 [4,05; 14,48] <sup>1,2</sup>
SCC, ng/ml	2,00 [1,33; 2,40]	1,54 [1,20; 1,79]
CEA, ng/ml	2,88 [1,89; 4,07]	3,12 [1,91; 5,16]
NSE, ng/ml	16,21 [11,25; 18,15] <sup>1</sup>	16,98 [12,53; 21,76] <sup>1</sup>
ProGRP, pg/ml	41,23 [34,75; 51,81] <sup>1</sup>	41,90 [27,69; 48,55] <sup>1</sup>

У пациентов с ПКРЛ и наличием регионарных метастазов лишь концентрация CYFRA 21-1 была достоверно выше, чем у пациентов без метастазов. Концентрации остальных изученных онкомаркеров не отличались при

появлении метастазов. При этом, для уровня СЕА разница у пациентов без метастазов и здоровых людей не наблюдалась, равно как при увеличении размера опухоли.

Только концентрация CYFRA 21-1 была существенно более высокой у пациентов с низкой степенью дифференцировки опухолевых клеток (Grade 3), чем с высокой степенью дифференцировки (Grade 1-2). Этот показатель является наиболее перспективным для определения его в скрининговых исследованиях.

**Выводы:**

1. Выраженность увеличения концентрации CYFRA 21-1 в сыворотке крови пациентов с I-III стадиями ПКРЛ усиливается по мере роста опухоли, появления регионарных метастазов и снижения степени дифференцировки клеток опухоли.
2. Уровень онкомаркеров SCC, NSE, СЕА и ProGRP не имеет четких отличий у пациентов с I-III стадиями ПКРЛ, равно как и зависимости от степени дифференцировки опухолевых клеток.
- 3.

**Список литературы**

1. Ferlay J., Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 / J. Ferlay, I. Soerjomataram, R. Dikshit, et. al // *Int. J. Cancer*. 2015. – Vol. 136, № 5. – E359-386.
2. Molina R., Usefulness of serum tumor markers, including progastrin-releasing peptide, in patients with lung cancer: correlation with histology / R. Molina, J.M. Auge, X. Bosch, et. al // *Tumor Biol*. 2009. – Vol. 30, № 3. – P.
3. Greenberg, A.K., Lee, M.S. Biomarkers for lung cancer: clinical uses. *Curr. Opin. Pulm. Med*. 2007. – Vol. 13. – P. 249-255.
4. Рыков И.В. Значение циркулирующих опухолевых маркеров при раке легкого в клинической практике. *Злокачеств. опух.* 2020. – Т.10, № 2. – С. 31-35.
5. Li J, Chen Y, Wang X, Wang C, Xiao M. The value of combined detection of CEA, CYFRA21-1, SCC-Ag, and pro-GRP in the differential diagnosis of lung cancer. / J. Li, Y. Chen, X. Wang, et al // *Transl. Cancer Res*. 2021. – Vol 10, № 4. – P. 1900-1906.

**ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ БЕЗРЕЦИДИВНОЙ  
ВЫЖИВАЕМОСТИ ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ  
ЛЕГКОГО (IIIА-В СТАДИИ)**

**Таганович А.Д.,**

*Д. м. н., профессор, заведующий кафедрой биологической химии УО  
«Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь*

**Ковганко Н.Н.,**

*К. х. н., доцент кафедры биологической химии УО «Белорусский  
государственный медицинский университет», Минск, Беларусь*

**Броницкий С.К.,**

*студент 3-го курса лечебного факультета УО «Белорусский  
государственный медицинский университет», Минск, Беларусь*

**Шумельчик В. В.,**

*студент 3-го курса лечебного факультета УО «Белорусский  
государственный медицинский университет», Минск, Беларусь*

**Готько О.В.,**

*ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»  
Минск, Беларусь*

**Прохорова В. И.,**

*ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»  
Минск, Беларусь*

*ataganovich@gmail.com; mikalai44@tut.by; broniw@tut.by,  
shumi17@tut.by; babuka05@mail.ru; vprohorova@mail.ru*

**Аннотация.** Разработана модель прогноза безрецидивной выживаемости пациентов с немелкоклеточным раком легкого (IIIА-В стадии), включающая концентрацию CYFRA 21-1 в сыворотке крови, а в цельной крови - лимфоцитов и моноцитов, снабженных рецепторами CXCR1 и CXCR2. Диагностическая эффективность прогноза вероятности риска рецидива после проведенного лечения при использовании разработанной модели составила 82,0% (чувствительность – 80,9%, специфичность – 83,3%).

**Ключевые слова:** немелкоклеточный рак легкого, прогноз, безрецидивная выживаемость, CYFRA 21-1, CXCR1, CXCR.

**PROGNOSTIC MODEL OF RECURRENCE-FREE SURVIVAL OF  
PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER (IIIА-B STAGES)**

**\*Tahanovich A.D., \*Kauhanka N.N., \*Bronitsky S.K.,**

**\*Shumelchik V.V., \*\*Gotko O.V., \*\*Prokhorova V.I.**

*\*Belarusian State Medical University,  
\*\*"N.N. Alexandrov Republic Centre of Oncology and Medical Radiology"  
Minsk, Belarus  
ataganovich@gmail.com; mikalai44@tut.by; broniw@tut.by,  
shumi17@tut.by; babuka05@mail.ru; vprohorova@mail.ru*

**Annotation.** *A model was developed to predict relapse-free survival in patients with non-small cell lung cancer (stage IIIA-B), including the concentration of CYFRA 21-1 in blood serum, and in whole blood - lymphocytes and monocytes equipped with CXCR1 and CXCR2 receptors. The diagnostic efficiency of predicting the risk of recurrence after treatment using the developed model was 82.0% (sensitivity - 80.9%, specificity - 83.3%).*

**Key words:** *non-small cell lung cancer, prognosis, disease-free survival, CYFRA 21-1, CXCR1, CXCR.*

Высокая смертность от рака легкого обусловлена его выявлением у пациента на поздних стадиях [1]. В структуре заболеваемости раком легкого немелкоклеточному раку легкого (НМКРЛ) принадлежит около 80%. При этом около третьей части всех первично выявленных случаев НМКРЛ приходится на пациентов с III стадией [2,3]. К данной стадии НМКРЛ относится 11 вариантов опухоли, которые различаются своим размером (T1-4), наличием инвазии в окружающие структуры средостения, характером поражения медиастинальных лимфоузлов (N0-3) и отсутствием отдаленных метастазов (M0).

Многообразие вариантов опухоли предполагает разные показания для лечения. При отсутствии метастазов в контрлатеральном легком (стадии IIIA и IIIB) пациентам проводится хирургическое удаление опухоли. Помимо оперативного вмешательства лечение дополняют проведением неоадьювантной и/или адьювантной химиотерапии, причем последняя может сочетаться с радиотерапией [4].

Хирургическое удаление опухоли является наиболее эффективным способом лечения рака. Однако и после проведенного хирургического лечения у части пациентов может развиваться рецидив. Наибольшая вероятность рецидива возникает в первый год после проведенного лечения. Прогнозирование рецидива представляет собой актуальную задачу, поскольку позволяет повысить выживаемость пациентов после удаления опухоли. Для этого используют как характеристики опухоли (T,N,M и Grade) до начала лечения, так и индивидуальные параметры пациента: возраст, пол, статус курения и др. [2-4]. Другим направлением в прогнозировании рецидива является поиск биохимических и молекулярно-генетических предикторов [1].



Ранее нами установлено, что комплексное использование концентрации онкомаркера CYFRA 21-1 в сыворотке крови в сочетании с содержанием биомаркеров воспалительного процесса – рецепторов хемокинов CXCR1,2 в клетках крови, имеют диагностическое значение для пациентов с НМКРЛ. Показано, что существует связь этих показателей с характеристиками опухолевого процесса, установлена диагностическая эффективность их определения при этом заболевании, которая в ряде случаев превысила таковую для классических маркеров [5].

**Целью** настоящего исследования было определить возможность использования уровня указанных выше биомаркеров в прогнозе рецидива НМКРЛ у пациентов с операбельными IIIA и IIIB стадиями этого заболевания.

### **Материалы и методы**

Для обоснования групп риска рецидива опухоли у пациентов с IIIA и IIIB стадиями НМКРЛ вначале было предпринято ретроспективное исследование, в котором использовалась информация из базы данных Белорусского канцер-регистра. У 1187 пациентов (ретроспективная группа), у которых в период с 01.01.2015 по 31.12.2019 впервые был диагностирован НМКРЛ IIIA и IIIB стадии, анализировалась длительность безрецидивного периода после проведенного лечения по результатам наблюдения в течение одного года. Средний возраст пациентов составил  $63 \pm 23$  года. Исследование уровня специфических маркеров, хемокинов и их рецепторов проводили у 89 пациентов (исследуемая группа), поступивших в стационар ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» в период с 01.01.2020 по 31.12.2021 гг., у которых впервые диагностирован НМКРЛ III стадии. Средний возраст пациентов составил  $58 \pm 23,5$  лет.

Кровь из локтевой вены собирали натошак в вакутайнер с ЭДТА-К2. Определение концентрации антигена CYFRA 21-1 (фрагмента цитокератина-19), концентрации биомаркера плоскоклеточного рака SCC (подфракция ингибитора сериновой протеазы TA-4) в сыворотке крови проводили на автоматическом анализаторе Cobas e411 (Roche Diagnostics GmbH, Германия), использующем принцип электрохемилюминесценции. Концентрацию рецепторов CXCR1 и CXCR2 в клетках лейкоцитарного ряда и плотность их расположения в мембране клетки определяли, используя проточный цитофлуориметр Navios (Beckman Coulter, США).

### **Результаты.**

По данным ретроспективного анализа на основе графического метода Каплана-Майера определены группы низкого (T1N2M0, T3N1M0, T2N2M0, T4N0M0, T3N2M0) и высокого (T1N3M0, T2N3M0, T3N3M0, T4N1M0, T4N2M0, T4N3M0) риска рецидива опухоли. У пациентов исследуемой группы с высоким

риском по сравнению с низким больше был уровень CYFRA 21-1, относительное содержание рецептора CXCR1 в лимфоцитах и относительное содержание рецептора CXCR2 в моноцитах ( $p < 0,05$ ). Определение диагностических характеристик указанных показателей выявило недостаточно высокий уровень их интегральной диагностической эффективности (табл. 1).

На следующем этапе исследования проводился логистический регрессионный анализ значений каждого из вышеназванных показателей. По результатам построено уравнение, расчет которого позволяет прогнозировать риск рецидива опухоли (1):

$$Y = \frac{\exp(-4,506 + 0,135 * X1 + 1,259 * X2 + 0,178 * X3)}{1 + \exp(-4,506 + 0,135 * X1 + 1,259 * X2 + 0,178 * X3)} \quad (1),$$

где X1 – содержание антигена CYFRA 21-1 в сыворотке крови; X2 – доля лимфоцитов, экспрессирующих рецептор CXCR1 (%); X3 – доля моноцитов, экспрессирующих рецептор CXCR2 (%); Y – результат регрессионного уравнения.

Диагностическая эффективность прогноза вероятности риска рецидива после проведенного лечения при использовании логистического уравнения значительно увеличилась – до 82,0%. При этом чувствительность составила 80,9%, специфичность – 83,3%. Как видно, все эти показатели оказались гораздо выше, чем при использовании каждого из них с аналогичной прогностической целью в отдельности (табл. 1).

Таблица 1 – Диагностические характеристики показателей пациентов для индивидуализации риска возникновения рецидива опухоли после проведенного лечения

Параметр	ПЗ	ДЧ	ДС	ПЦПР	ПЦОР	ДЭ
CYFRA 21-1, нг/мл	>4,83	78,7	64,3	71,2	73,0	71,9
CXCR1 лимфоциты, %	>2,12	74,5	71,4	74,5	71,4	73,0
CXCR2 моноциты, %	>2,0	68,1	73,8	74,4	67,4	70,8
Комбинация (Y)	>0,519	80,9	83,3	84,4	79,6	82,0

Примечание: ПЗ – пороговое значение, ДЧ – диагностическая чувствительность, ДС – диагностическая специфичность, ПЦПР – прогностическая ценность положительного результата, ПЦОР – прогностическая ценность отрицательного результата, ДЭ – диагностическая эффективность.

**Заключение.** Риск рецидива опухоли у пациентов с операбельными IIIA и IIIB стадиями НМКРЛ в течение года после проведенного лечения может быть определен на основании измерения перед началом лечения концентрации

CYFRA 21-1 в сыворотке крови, а в цельной крови - лимфоцитов и моноцитов, снабженных рецепторами CXCR1 и CXCR2.

### **Список литературы**

1. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J. Clin.* – 2019. – Vol. 69, № 1. – P. 7-34.
2. Blackstock A.W., Govindan R. Definitive chemoradiation for the treatment of locally advanced non small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* – 2007. – Vol. 25, № 26. – P. 4146-4152.
3. Govindan R., Bogart J., Vokes E.E. Locally advanced non-small cell lung cancer: the past, present, and future *J. Thorac. Oncol.* – 2008. – Vol. 3, № 8. P. 917-928.
4. Рак легкого. В кн. Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований. Клинический протокол под ред. Суконко О.Г., Красного С.А. – Минск, «Профессиональные издания». – 2019. – С. 197-213.
5. Таганович А.Д., Прогнозирование риска опухолевой прогрессии у пациентов с ранними стадиями аденокарциномы и плоскоклеточного рака легкого на основе лабораторных показателей / А.Д. Таганович, Н.Н.Ковганко, В.И.Прохорова и др. // *Биомедицинская химия.* – 2021. – Т.67, Вып.6. – С. 507-517.

## БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА В ДИАГНОСТИКЕ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

*\*Таганович А.Д., \*Ковганко Н.Н., \*\*Гуревич Г.Л.,  
\*\*Новская Г.К., \*\*Будник О.А., \*\*\*Готько О.В.*

*\*УО «Белорусский государственный медицинский университет»,  
\*\*ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии», Минск, Беларусь  
\*\*\*ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии  
им. Н.Н. Александрова», Минск, Беларусь  
ataganovich@gmail.com; mikalai44@tut.by; ge.gurev@gmail.com;  
nowskajagk@gmail.com; budnik\_oa@tut.by babuka\_05@mail.ru;*

***Аннотация.** Изучен уровень показателей воспаления в крови при немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ), хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) и пневмонии. Определялись концентрация CYFRA 21-1 иммуноферментным методом; относительного количество рецепторов CXCR1 и CXCR2 в лимфоцитах, CXCR2 в моноцитах, плотности расположения CXCR2 на лимфоцитах и CXCR1 на гранулоцитах проточной цитометрией, отношения С-реактивный белок (СРБ)/альбумин, лимфоциты/моноциты, эозинофильные лейкоциты/моноциты. Показано, что у пациентов с НМРЛ в условиях ремиссии хронического воспаления или отсутствия острого воспалительного процесса происходящие изменения показателей воспаления отражают развитие и (или) рецидивирование опухолей.*

***Ключевые слова:** диагностика, немелкоклеточный рак легкого, воспаление, лабораторные показатели в крови*

## BIOCHEMICAL MARKERS OF THE INFLAMMATORY RESPONSE IN THE DIAGNOSIS OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER

*\*Tahanovich A.D., \*Kauhanka N.N., \*\*Gurevich G.L.,  
\*\*Novskaya G.K., \*\*Budnik O.A., \*\*\*Gotko O.V.*

*\*Belarusian State Medical University,  
\*\*Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and  
Phthysiology, Minsk, Belarus  
\*\*\*N.N. Alexandrov Republican Scientific and Practical Center of  
Oncology and Medical Radiology, Minsk, Belarus  
ataganovich@gmail.com; mikalai44@tut.by; ge.gurev@gmail.com;  
nowskajagk@gmail.com; budnik\_oa@tut.by babuka\_05@mail.ru;*

**Annotation.** *The level of indicators of inflammation in the blood in non-small cell lung cancer (NSCLC), chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and pneumonia was studied. The concentration of CYFRA 21-1 was determined by enzyme immunoassay; relative amounts of CXCR1 and CXCR2 receptors in lymphocytes, CXCR2 in monocytes, density of CXCR2 on lymphocytes and CXCR1 on granulocytes by flow cytometry, C-reactive protein (CRP)/albumin, lymphocytes/monocytes, eosinophilic leukocytes/monocytes ratios. It has been shown that in patients with NSCLC in remission of chronic inflammation or in the absence of an acute inflammatory process, the ongoing changes in inflammation indicators reflect the development and (or) recurrence of the tumor.*

**Key words:** *diagnostics, non-small cell lung cancer, inflammation, blood laboratory parameters*

**Актуальность.** Рак легкого является наиболее часто диагностируемым злокачественным новообразованием и основной причиной смерти от рака в мире [1]. При этом показатель 5-летней выживаемости таких пациентов составляет 10-20% [2]. Ранее было показано, что хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) - важный фактор риска рака легкого [3]. Согласно отчету Всемирной организации здравоохранения, к 2030 г. ХОБЛ станет третьей ведущей причиной смерти во всем мире [10]. ХОБЛ распространена среди населения среднего и пожилого возраста и включает хронический бронхит и эмфизему [4]. Именно эти легочные изменения увеличивают частоту встречаемости рака легкого в 2,44 и 1,47 раза соответственно [5]. Данные длительного (более 14 лет) наблюдения привели к заключению, что рак легкого является одной из основных причин смерти пациентов с ХОБЛ [6,7]. Основной причиной прогрессирования ХОБЛ является воспалительное повреждение [8]. Вдыхание частиц из загрязненного воздуха вызывают чрезмерную секрецию цитокинов и хемотактических факторов, которые участвуют в формировании воспалительного ответа. Еще одно заболевание легких с воспалением терминальных отделов дыхательных путей, альвеол и легочного интерстиция – пневмония. Воспаление усиливает развитие злокачественного новообразования, включая инициацию, продвижение, прогрессирование и метастазирование опухоли [9,10]. В настоящее лечение рака, направленное на воспаление и микроокружение опухоли, считается новым направлением химиотерапии [11].

Активное изучение взаимосвязи рака и воспаления, экспрессии факторов адгезии, про- и противовоспалительных цитокинов в опухолевой ткани пациентов со злокачественными новообразованиями способствовало новому пониманию механизмов развития и прогрессирования заболевания.

Данные факторы активируют опухолевый ангиогенез, пролиферацию опухолевых клеток и могут выступать в роли гуморальных маркеров опухолевой прогрессии. Признаками опухолеассоциированного воспаления являются присутствие клеток и медиаторов воспаления (хемокинов, цитокинов) в опухолевой ткани, ремоделирование ткани и ангиогенез, аналогичные наблюдаемым при хроническом воспалительном процессе и репарации ткани. Рецепторы хемокинов и их лиганды участвуют в движении клеток в процессах воспаления, развития опухоли и поддержания гомеостаза ткани, влияя на подвижность, инвазивность и выживание клеток. Клетки и медиаторы воспаления присутствуют практически во всех опухолях, независимо от механизма их развития.

**Цель.** Сравнить уровень показателей воспаления в крови при НМРЛ, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) и пневмонии.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования служила кровь 217 пациентов с НМРЛ при их поступлении для стационарного лечения, 12 пациентов с ХОБЛ в стадии обострения и 13 пациентов с внебольничной острой пневмонией при поступлении в стационар и при выписке. В контрольную группу вошли 65 условно здоровых людей без легочной патологии. Определялись концентрация CYFRA 21-1 иммуноферментным методом; относительного количество рецепторов CXCR1 и CXCR2 в лимфоцитах, CXCR2 в моноцитах, плотности расположения CXCR2 на лимфоцитах и CXCR1 на гранулоцитах проточной цитометрией, отношения С-реактивный белок (СРБ)/альбумин, лимфоциты/моноциты, эозинофильные лейкоциты/моноциты.

**Результаты и обсуждение.** При поступлении в стационар в связи с обострением хронического воспаления у пациентов с ХОБЛ и острым воспалением легочной ткани - у пациентов с пневмонией уровень CYFRA 21-1 не изменился по сравнению с контрольной группой. Медиана относительного количества CXCR1 в лимфоцитах при НМРЛ выросла в 2,9 раза, при ХОБЛ - в 3,1 раза, а при пневмонии - в 3,6 раза. Интенсивность флюоресценции CXCR2 в лимфоцитах - 17%, 20,5% и 60%, соответственно, интенсивность флюоресценции CXCR1 в гранулоцитах - 1,9, 2 и 2,1 раза, соответственно. Самое выраженное увеличение по сравнению с контролем было у отношения СРБ/альбумин: НМРЛ - в 6,2 раза, ХОБЛ - в 9,4 раза, пневмония - 10,3 раза, во всех случаях за счет роста СРБ - 4,2, 6,6, 8,1 раза, соответственно.

При выписке из стационара по окончании лечения, критерием для которой была ремиссия у пациентов с ХОБЛ или рентгенологическое подтверждение отсутствия воспаления легочной ткани при пневмонии, уровень всех

определяемых показателей снизился до контрольного, а отношения лимфоциты/моноциты - вырос до контрольного. Полученные данные демонстрируют зависимость исследуемых параметров крови от воспалительного процесса в легочной ткани. При этом причина воспаления не имеет значения.

**Заключение.** У пациентов с НМРЛ в условиях ремиссии хронического воспаления или отсутствия острого воспалительного процесса происходящие изменения показателей воспаления отражают развитие и (или) рецидивирование опухолей.

#### Список литературы

6. Torre L.A., Bray F., Siegel R.L., et al. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* 2015 Mar;65(2):87-108. doi: 10.3322/caac.21262.
7. Allemani C., Matsuda T., Di Carlo V., et al. CONCORD Working Group. Global surveillance of trends in cancer survival 2000-14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries. *Lancet.* 2018 Mar 17;391(10125):1023-1075. doi: 10.1016/S0140-6736(17)33326-3.
8. Sanchez-Salcedo P., Berto J., de-Torres J.P., et al. Lung cancer screening: fourteen year experience of the Pamplona early detection program (P-IELCAP). *Arch Bronconeumol.* 2015 Apr;51(4):169-76. English, Spanish. doi: 10.1016/j.arbres.2014.09.019.
9. Vogelmeier C.F., Criner G.J., Martinez F.J., et al. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease 2017 Report. GOLD Executive Summary. *Am J Respir Crit Care Med.* 2017 Mar 1;195(5):557-582. doi: 10.1164/rccm.201701-0218PP.
10. Brenner D.R., Boffetta P., Duell E.J., et al. Previous lung diseases and lung cancer risk: a pooled analysis from the International Lung Cancer Consortium. *Am J Epidemiol.* 2012 Oct 1;176(7):573-85. doi: 10.1093/aje/kws151.
11. Anthonisen N.R., Manfreda J., Warren C.P., et al. Antibiotic therapy in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Ann Intern Med.* 1987 Feb;106(2):196-204. doi: 10.7326/0003-4819-106-2-196.
12. Barnes P.J. Inflammatory mechanisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2016 Jul;138(1):16-27. doi: 10.1016/j.jaci.2016.05.011.
13. Elinav E., Nowarski R., Thaiss C.A., et al. Inflammation-induced cancer: crosstalk between tumours, immune cells and microorganisms. *Nat Rev Cancer.* 2013 Nov;13(11):759-71. doi: 10.1038/nrc3611.
14. Grivennikov S.I., Greten F.R., Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell.* 2010 Mar 19;140(6):883-99. doi: 10.1016/j.cell.2010.01.025.

15. Hsieh H.L., Tsai M.M. Tumor progression-dependent angiogenesis in gastric cancer and its potential application. *World J Gastrointest Oncol.* 2019 Sep 15;11(9):686-704. doi: 10.4251/wjgo.v11.i9.686.

16. Kim M.Y., Oskarsson T., Acharyya S., et al. Tumor self-seeding by circulating cancer cells. *Cell.* 2009 Dec 24;139(7):1315-26. doi: 10.1016/j.cell.2009.11.025.



**МОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ БЕТУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА  
ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ЭФФЕКТ ИНГИБИТОРОВ  
ПРОТЕИНКИНАЗ**

**Терпинская Т.И.**

*кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник  
государственного научного учреждения Институт физиологии НАН  
Беларуси, г. Минск, Беларусь  
terpinskayat@mail.ru;*

**Янченко Т.Л.**

*младший научный сотрудник государственного научного учреждения  
Институт физиологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь  
tanyaya190@gmail.com;*

**Полукошко Е.Ф.**

*научный сотрудник государственного научного учреждения Институт  
физиологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь  
efpoluko@list.ru;*

**Аннотация.** Исследовали модулирующее действие бетулиновой кислоты на противоопухолевый эффект ингибиторов протеинкиназ. Показано, что ингибиторы протеинкиназ генистеин и стауроспорин оказывают дозозависимый противоопухолевый эффект в отношении клеток Hela и глиомы С6. Бетулиновая кислота значительно снижает противоопухолевое действие генистеина в отношении обоих типов клеток, несколько ослабляет противоопухолевое действие стауроспорина в отношении клеток Hela и усиливает или не изменяет эффект стауроспорина в отношении клеток глиомы С6.

**Ключевые слова:** опухоль; протеинкиназы; бетулиновая кислота; генистеин; стауроспорин

**MODULATING EFFECT OF BETULINIC ACID ON THE ANTI-  
TUMOR EFFECT OF PROTEIN KINASE INHIBITORS**

**Terpinskaya T.I.**

*Candidate of Biology, Leading Researcher, Institute of Physiology, National  
Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus  
terpinskayat@mail.ru*

**Yanchanka T.L.**

*Junior Researcher, Institute of Physiology, National Academy of Sciences of  
Belarus, Minsk, Belarus  
tanyaya190@gmail.com;*

***Palukoshka A.F.***

*Researcher, Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus,  
Minsk, Belarus  
efpoluko@list.ru;*

***Annotation.*** *The modulating action of betulinic acid on the antitumor effect of protein kinase inhibitors was studied. Protein kinase inhibitors genistein and staurosporine have been shown to have a dose-dependent antitumor effect on Hela cells and glioma C6. Betulinic acid significantly reduces the antitumor effect of genistein in relation to both cell types, somewhat weakens the antitumor effect of staurosporine on Hela cells, and enhances or does not change the effect of staurosporine on glioma C6 cells.*

***Keywords:*** *tumor; protein kinases; betulinic acid; genistein; staurosporine*

Протеинкиназы – подкласс киназ, которые фосфорилируют белки по определенным аминокислотным остаткам, что способствует изменению функций белков. Это, в свою очередь, может приводить к активации или ингибированию путей передачи биохимических сигналов, изменению клеточного метаболизма, ускорению пролиферации или дифференцировки, повышению выживаемости или, напротив, чувствительности к индукторам клеточной гибели. Ряд протеинкиназ, в том числе тирозинкиназы и серин-треониновые протеинкиназы, включены в онкогенные сигнальные каскады. Ингибиторы этих протеинкиназ обладают противоопухолевым эффектом [1].

Бетулиновая кислота – биологически активное соединение природного происхождения, оказывающее противоопухолевое действие. Бетулиновая кислота и ее производные продемонстрировали способность модулировать многие каскады онкогенной трансдукции [2]. Исходя из этого, можно предполагать, что бетулиновая кислота будет оказывать влияние на противоопухолевый эффект протеинкиназ. Исследование отдельного и сочетанного действия бетулиновой кислоты и ингибиторов протеинкиназ позволит выяснить роль активности протеинкиназ в противоопухолевом действии бетулиновой кислоты, а также выявить возможные пути усиления противоопухолевого действия при комбинировании различных препаратов.

Цель данной работы – исследовать эффект отдельного и совместного применения бетулиновой кислоты и ингибиторов протеинкиназ на рост опухолевых клеток *in vitro*.

### **Материалы и методы.**

*Реактивы:* бетулиновая кислота (Glentham Life Sciences, Великобритания), генистеин, стауроспорин, пропидиум йодид, (все Sigma Aldrich, США), флуоросферы FLOW-COUNT™ (Beckman Coulter, США).

*Клетки.* Использовали клетки линий Hela (рак шейки матки человека) и глиомы С6 (глиома крысы) из Белорусской коллекции культур клеток человека и животных РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь. Клетки выращивали в питательной среде DMEM (Sigma, Великобритания), дополненной 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (Cargilorn, Южная Америка).

*Проведение экспериментов.* Клетки высевали в лунки 96-луночных планшетов (Corning, США) в среде DMEM с добавлением 10% ЭТС и антибиотика. Через 24 ч вносили в лунки бетулиновую кислоту (60 мкМ) и/или ингибиторы протеинкиназ (дозы указаны при описании экспериментов), в контроле - растворитель (диметилсульфоксид в конечной концентрации 0,1%). Общий объем клеточной суспензии в лунках составлял 220 мкл. Культивировали 48 ч 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. Затем снимали клетки с планшета. Для определения жизнеспособности клетки окрашивали пропидий йодидом. Для оценки клеточной пролиферации определяли концентрацию клеток в пробах с помощью флуоросфер FLOW-COUNT™ (Beckman Coulter, США согласно рекомендациям производителей. Пробы анализировали методом проточной цитометрии с помощью проточного цитофлуориметра BD FACSCanto II с программным обеспечением Diva 7.0 (Becton Dickinson, США).

### **Результаты.**

В качестве ингибиторов протеинкиназ использовали ингибитор тирозинкиназ генистеин (вещество растительного происхождения, относящееся к изофлавонам) и ингибитор широкого спектра действия стауроспорин (вещество природного происхождения, полученное из *Streptomyces staurosporeus*).

В эксперименте на клетках Hela генистеин в концентрации 10 мкМ не снижал клеточной жизнеспособности, но в то же время оказывал антипролиферативное действие, подавляя рост клеток в 1,5 раза. Бетулиновая кислота в концентрации 60 мкМ подавляла пролиферацию и снижала количество жизнеспособных клеток в пробах в 1,2 раза %. При совместном действии бетулиновой кислоты и генистеина наблюдалось слабое подавление пролиферации (в 1,1 раза) без цитотоксического эффекта (данные не показаны).

Аналогичный эксперимент на клетках глиомы С6 показал, что бетулиновая кислота (60 мкМ) подавляла пролиферацию в 1,3 раза, а генистеин в концентрации 10 мкМ – в 1,7 раза. Увеличение концентрации генистеина до 100 мкМ привело к подавлению роста клеток в 2,3 раза, рис. 1.

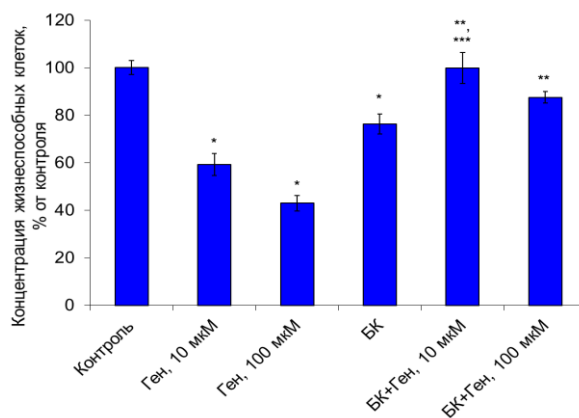


Рисунок 1 – Влияние генистеина (Ген) и бетулиновой кислоты (БК) на рост клеток глиомы С6; \* -  $p < 0,05$  при сравнении с контролем; \*\* -  $p < 0,05$  при сравнении с генистеином; \*\*\* -  $p < 0,05$  при сравнении с БК

Бетулиновая кислота нивелировала эффект генистеина – при применении 10 мкМ генистеина в присутствии бетулиновой кислоты эффекта ингибирования опухолевого роста не наблюдали, при применении 100 мкМ генистеина наблюдалась тенденция к подавлению роста клеток, не достигшая статистической значимости. Отметим также, что эффект бетулиновой кислоты в присутствии генистеина снижался или имел тенденцию к снижению, рис. 1. Эти данные свидетельствуют в пользу того, что активность тирозиновых протеинкиназ вовлечена в реализацию эффекта бетулиновой кислоты.

Таким образом, бетулиновая кислота значительно снизила антипролиферативное действие генистеина в отношении клеток Hela и глиомы С6, а генистеин способствовал ослаблению эффекта бетулиновой кислоты.

Еще одним используемым нами соединением, характеризующимся ингибиторной активностью в отношении протеинкиназ, явился стауроспорин. В наномолярных дозах стауроспорин ингибирует активность различных семейств серин-треониновых протеинкиназ – протеинкиназы С, А, cdc2, некоторые тирозинкиназы, а в более высоких, микромолярных дозах, ингибирует широкий спектр протеинкиназ.

При концентрации стауроспорина 0,01 мкМ наблюдалась тенденция к подавлению роста клеток Hela (снижение их количества в пробах в 1,2 раза), бетулиновая кислота не изменяла этот эффект. В концентрации 0,4; 1 и 4 мкМ стауроспорин подавлял рост Hela в 2,3; 3,6 и 4,2 раза соответственно. В присутствии бетулиновой кислоты ингибирующее действие стауроспорина

несколько снизилось, наблюдалось подавление роста клеток в 2,0; 2,7 и 3,6 раза по сравнению с контролем (данные не показаны).

В опытах с глиомой С6 наблюдалось усиление клеточной пролиферации на 20% при действии стауроспорина в концентрации 0,01 мкМ и тенденция к подавлению роста клеток (снижение их количества в пробах на 7%) при действии 0,4 мкМ стауроспорина. Стауроспорин в концентрации 1 мкМ подавлял рост клеток в 1,3 раза, в концентрации 4 мкМ - вдвое, рис. 2. В последнем случае зарегистрировано также снижение жизнеспособности на 3,6%. В опытах с клетками глиомы С6, в отличие от экспериментов с клетками Hela, бетулиновая кислота способствовала усилению противоопухолевого эффекта стауроспорина в концентрации 0,4 и 1 мкМ, рис. 2. Причины такой разницы не ясны. Вероятно, в клетках Hela и С6 механизмы регулирования клеточной пролиферации имеют отличия.

Одной из возможных причин усиления противоопухолевого эффекта при совместном применении стауроспорина и бетулиновой кислоты в отношении клеток глиомы С6 может быть ингибирование бетулиновой кислотой или ее производным каких-либо изоформ протеинкиназы С или других киназ, способствующих росту опухолевых клеток и слабо чувствительных к стауроспорину. В литературе имеются данные о том, что бетулиновая кислота ингибирует H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-индуцированную мембранную транслокацию протеинкиназы С, связанную с активацией этого фермента, и фосфорилирование протеинкиназ ERK1/2 и c-Fos [3], задействованных в обеспечении выживаемости и пролиферации клеток. Для уточнения ответа на этот вопрос необходимы дальнейшие исследования с использованием высокоселективных ингибиторов протеинкиназ.

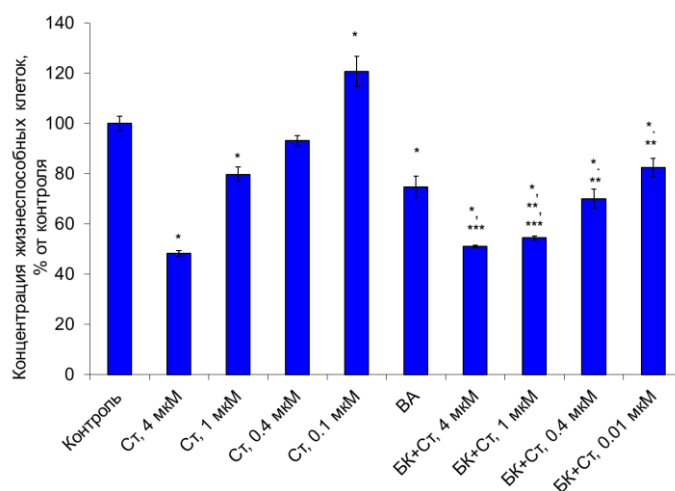


Рисунок 2 – Влияние стауроспорина (Ст) и бетулиновой кислоты (БК) на рост клеток глиомы С6; \* -  $p < 0,05$  при сравнении с контролем; \*\* -  $p < 0,05$  при сравнении с соответствующей дозой стауроспорина; \*\*\* -  $p < 0,05$  при сравнении с БА

В присутствии стауроспорина не происходило статистически значимого снижения противоопухолевой активности бетулиновой кислоты. Это позволяет полагать, что активность стауроспорин-чувствительных протеинкиназ не играет существенной роли в противоопухолевом действии бетулиновой кислоты.

**Заключение.** Ингибиторы протеинкиназ генистеин и стауроспорин оказывают дозозависимое противоопухолевое действие на клетки Hela и глиомы С6. Бетулиновая кислота значительно снижает противоопухолевое действие генистеина в отношении обоих типов клеток, несколько ослабляет противоопухолевое действие стауроспорина на клетки Hela и усиливает или не изменяет эффект стауроспорина на клетки глиомы С6.

### Список литературы

1. Roskoski, R Jr. Small molecule protein kinase inhibitors approved by regulatory agencies outside of the United States / R Jr. Roskoski // *Pharmacol Res.* - 2023. – V. 194:106847.
2. Farooqi, A.A. Multifunctional Roles of Betulinic Acid in Cancer Chemoprevention: Spotlight on JAK/STAT, VEGF, EGF/EGFR, TRAIL/TRAIL-R, AKT/mTOR and Non-Coding RNAs in the Inhibition of Carcinogenesis and Metastasis / A.A. Farooqi, A. Turgambayeva, G. Tashenova et al. // *Molecules.* – 2022. – V. 28, №1:67.
3. Peng, J. Betulinic acid downregulates expression of oxidative stress-induced lipoprotein lipase via the PKC/ERK/c-Fos pathway in RAW264.7 macrophages / J. Peng, Y.C. Lv, P.P. He // *Biochimie.* – 2015. – V.119. – P. 192-203.

## ВЛИЯНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЫ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАНОЧАСТИЦ И ИХ СВЯЗЫВАНИЕ С КЛЕТКАМИ

**Терпинская Т.И.**

*кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник  
государственного научного учреждения Институт физиологии НАН  
Беларуси, г. Минск, Беларусь  
terpinskayat@mail.ru;*

**Янченко Т.Л.**

*младший научный сотрудник государственного научного учреждения  
Институт физиологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь  
tanyaya190@gmail.com;*

**Радченко А.В.**

*научный сотрудник лаборатории нанохимии НИИ физико-химических  
проблем, г. Минск, Беларусь  
aleksandrardchenko10@gmail.com;*

**Грибовская В.А.**

*стажер младшего научного сотрудника лаборатории нанохимии НИИ  
физико-химических проблем, г. Минск, Беларусь  
hrybouskaya.varvara@gmail.com*

**Полукошко Е.Ф.**

*научный сотрудник государственного научного учреждения Институт  
физиологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь  
efpoluko@list.ru;*

**Артемьев М.В.**

*доктор химических наук, заведующий лабораторией нанохимии НИИ физико-  
химических проблем, г. Минск, Беларусь  
m\_artemyev@yahoo.com*

**Аннотация.** Исследовано влияние среды культивирования на физико-химические и биологические характеристики флуоресцентных полупроводниковых наночастиц, покрытых амфифильным полимером. Показано, что при взаимодействии обладающих различным зарядом наночастиц со средой культивирования увеличивается гидродинамический размер наночастиц, все они приобретают отрицательный дзета-потенциал, сглаживается разница в дзета-потенциале и связывании с клетками между различно заряженными наночастицами.

**Ключевые слова:** наночастицы; квантовые точки; белковая корона

**THE EFFECT OF THE CULTURE MEDIUM ON THE  
PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF NANOPARTICLES AND  
THEIR BINDING TO CELLS**

***Terpinskaya T.I.***

*Candidate of Biology, Leading Researcher, Institute of Physiology, National  
Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus  
terpinskayat@mail.ru*

***Yanchanka T.L.***

*Junior Researcher, Institute of Physiology, National Academy of Sciences of  
Belarus, Minsk, Belarus  
tanyaya190@gmail.com;*

***Radchanka A.V.***

*Researcher, Research Institute for Physical Chemical Problems, Minsk, Belarus  
aleksandrardchenko10@gmail.com;*

***Hrybouskaya V.A.***

*Trainee Junior Researcher, Research Institute for Physical Chemical Problems,  
Minsk, Belarus  
hrybouskaya.varvara@gmail.com*

***Palukoshka A.F.***

*Researcher, Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus,  
Minsk, Belarus  
efpoluko@list.ru;*

***Artemyev M.V.***

*Doctor of Chemistry, Head of the Laboratory of Nanochemistry, Research Institute  
for Physical Chemical Problems, Minsk, Belarus  
m\_artemyev@yahoo.com*

***Annotation.*** *The influence of the culture medium on the physicochemical and biological characteristics of fluorescent semiconductor nanoparticles coated with an amphiphilic polymer has been studied. It has been shown that when differently charged nanoparticles interact with the culture medium, the hydrodynamic size of nanoparticles increases, all of them acquire a negative zeta potential, and the difference in zeta potential and binding to cells between differently charged nanoparticles is smoothed out.*

***Keywords:*** *nanoparticles; quantum dots; protein crown*



Введение в среду культивирования *in vitro* или в кровотоки лекарственных и диагностических средств на основе наноносителей приводит к взаимодействию биологических компонентов с наноматериалами и формированию белковой короны. Почти все фармакологические, токсикологические и транспортные характеристики наночастиц существенно зависят от образования белковой короны. Исходя из этого, весьма важным является исследование изменений свойств наночастиц с различным дзета-потенциалом после взаимодействия с компонентами среды, используемой для культивирования клеток.

Цель данной работы – изучить влияние среды культивирования на физико-химические характеристики и связывание с клетками наночастиц с различным зарядом.

#### **Материалы и методы.**

*Наночастицы.* Использовали флуоресцентные полупроводниковые наночастицы селенида кадмия (квантовые точки - QD) синтезированные согласно [1], с полимерной оболочкой, несущей отрицательные сульфонатные и положительные четвертичные аммонийные группы. Различное соотношение отрицательных и положительных групп в оболочке наночастиц обеспечивало их различный дзета-потенциал.

*Проведение экспериментов.* Суспензию наночастиц разводили в 5 раз водой для инъекций или средой RPMI-1640, дополненной 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС). Инкубировали 2 часа при комнатной температуре. После этого измеряли гидродинамический диаметр, дзета-потенциал и квантовый выход наночастиц с помощью прибора Malvern Zetasizer Nano ZS90 (Великобритания).

При проведении биологических экспериментов клетки глиомы C6 и Hela суспензировали в среде RPMI-1640 с 10% ЭТС. Вносили в клеточную суспензию наночастицы, заранее проинкубированные с водой или со средой RPMI-1640, дополненной 10% ЭТС, в соотношении 9:1. Инкубировали 30 мин в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °С. Анализировали методом проточной цитометрии с помощью цитофлуориметра BD FACS Canto II, Becton Dickinson (США) и методом флуоресцентной микроскопии с использованием микроскопа ЛЮМ 1 LED, Альтами (Россия).

При расчете интенсивности связывания (ИС) наночастиц с клетками учитывали квантовый выход люминесценции наночастиц и использовали формулу:  $ИС = (\text{значение флуоресценции, у.е.} * 100) / \text{КВЛ}$ , где КВЛ – квантовый выход люминесценции. КВЛ для контроля (клетки без обработки наночастицами) принимали за 100%.

### **Результаты.**

После взаимодействия с компонентами среды RPMI-1640, дополненной ЭТС, слабо- и сильноположительные наночастицы (QD+ и QD+/+) приобретали отрицательный заряд, заряд слабоотрицательных наночастиц (QD-) сдвигался в сторону более отрицательных значений, а заряд сильноотрицательных (QD-/-), напротив, сдвигался ближе к нейтральным значениям.

Зарегистрировано увеличение гидродинамического размера слабоотрицательных и сильноположительных наночастиц, и образование агрегатов сильноотрицательных наночастиц.

Квантовый выход сильноположительных наночастиц снижался в 9,6 раза, слабоположительных – в 11,1 раза, слабоотрицательных – в 4,8 раза, сильноотрицательных – в 3,9 раза.

Микроскопия показала, что как QD+, так и QD- поглощались клетками, распределяясь в цитоплазме в виде гранул. С учетом изменений квантового выхода наночастиц при их инкубации со средой RPMI-1640, дополненной ЭТС, была рассчитана интенсивность связывания наночастиц с клетками.

Рис. 1а показывает, что отрицательный заряд наночастиц, вероятно, способствовал их связыванию с клетками, так как инкубированные с водой QD- связывались с клетками в 4,4 раза лучше, чем QD+. Дополненная сывороткой среда RPMI-1640 усиливала связывание наночастиц с клетками глиомы С6 в 9,5 раза для QD+ и в 2,6 раза для QD-. Обработка наночастиц средой придавала отрицательный дзета-потенциал обоим типам наночастиц, и различия во взаимодействии QD- и QD+ с клетками стали менее выраженными – QD- связывались с клетками только в 1,2 раза лучше.

Из рис. 1б видно, что выявленные в опытах с глиомой С6 тенденции наблюдались и в опытах с клетками Hela. Отрицательный заряд наночастиц способствовал их связыванию с клетками – инкубированные в воде QD- связывались с клетками в 9 раз интенсивнее, чем QD+. Дополненная сывороткой среда RPMI усиливала связывание QD+ с клетками в 9,6 раза), QD- – в 2,1 раза.

При обработке средой RPMI-1640, дополненной сывороткой, различия во взаимодействии различных наночастиц с клетками становились значительно слабее – после обработки средой QD- связывались с клетками в 1,9 раза лучше, чем QD+.

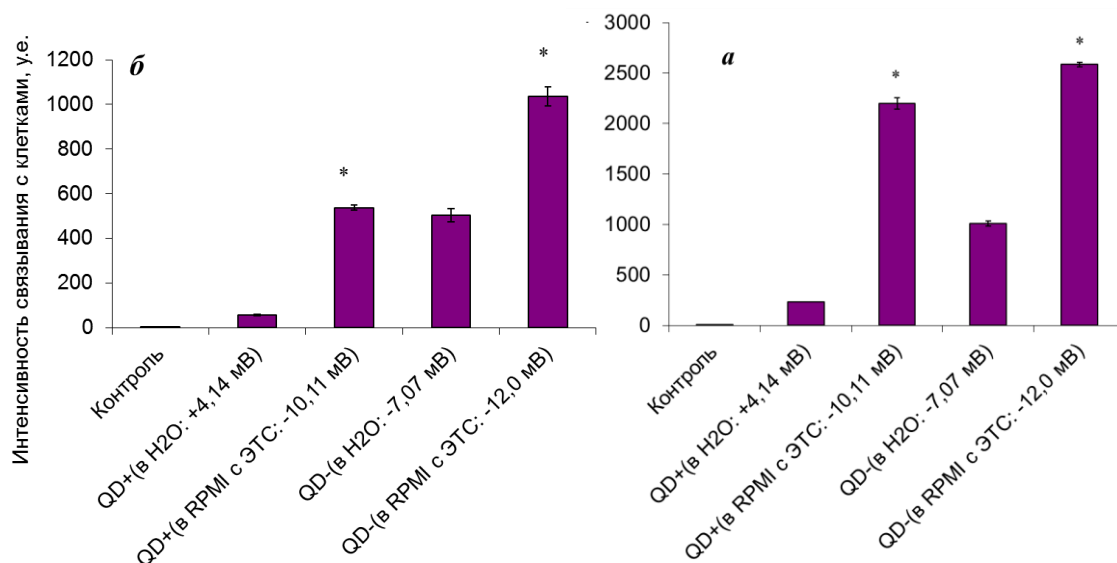


Рисунок 1 – Связывание клеток глиомы С6 (а) и HeLa (б) с наночастицами QD+ и QD-, предварительно проинкубированными с водой или со средой RPMI-1640 с 10% ЭТС, \*  $p < 0,05$  при сравнении наночастиц, обработанных водой или RPMI-1640 с ЭТС

При использовании сильно заряженных наночастиц дополненная сывороткой среда RPMI-1640 усиливала связывание с клетками HeLa как QD+/+ с сильным положительным зарядом (наблюдалось усиление связывания с клетками в 4,5 раза), так и QD-/- с сильным отрицательным зарядом (наблюдалось усиление связывания в 3,1 раза). При этом заряд QD+/+ при обработке сывороткой снижался, а заряд QD-/- повышался, сдвигаясь в сторону нейтральных значений, рис. 2.

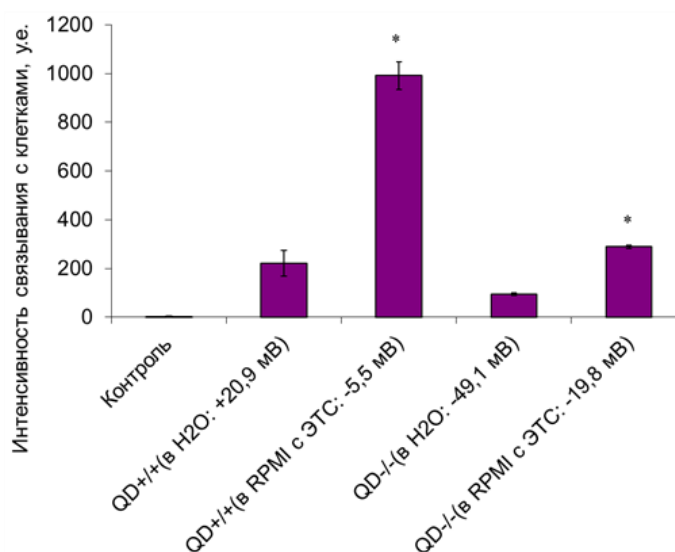


Рисунок 2 – Связывание клеток HeLa с наночастицами QD+/+ и QD-/-, предварительно проинкубированными с водой или со средой RPMI-1640 с 10% ЭТС, \*  $p < 0,05$  при сравнении наночастиц, обработанных водой или RPMI-1640 с ЭТС

Таким образом, инкубация в среде RPMI-1640, дополненной 10% эмбриональной телячьей сыворотки, снижает дзета-потенциал сильно- и слабopоложительных, а также слабopрицательных наночастиц, и сдвигает в сторону нейтральных значений дзета-потенциал сильноотрицательных наночастиц за счет формирования электростатически связанной протеиновой короны. Квантовый выход всех типов наночастиц снижается, наиболее значительно эффект выражен в положительно заряженных наночастицах. Гидродинамический размер слабopрицательных и сильноположительных наночастиц увеличивается за счет формирования протеиновой короны, сильноотрицательные наночастицы образуют агрегаты. Наблюдается усиление связывания наночастиц с протеиновой короной с клетками, что наиболее выражено при использовании положительно заряженных наночастиц.

**Заключение.** Взаимодействие наночастиц с различным зарядом с компонентами среды культивирования изменяет их физико-химические и биологические свойства за счет формирования протеиновой короны. Увеличивается гидродинамический размер наночастиц, все они приобретают отрицательный дзета-потенциал, сглаживается разница в исходном дзета-потенциале наночастиц и связывании с клетками между различно заряженными наночастицами.

### Список литературы

1. Radchanka, A. Emitters with different dimensionality: 2D cadmium chalcogenide nanoplatelets and 0D quantum dots in non-specific cell labeling and two-photon imaging/ A. Radchanka, A. Iodchik, T. Terpinskaya et al. // Nanotechnology. – 2020. – V.31, № 43:435102.

**БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕКОТОРЫХ  
ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ БИОТЫ БЕЛОРУССКОГО ПООЗЕРЬЯ НА  
КАФЕДРЕ ХИМИИ И ЕСТЕСТВЕННОНАУЧНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
ВГУ ИМЕНИ П.М. МАШЕРОВА**

**Толкачева Т.А.**

*кандидат биологических наук, доцент, декан факультета химико-биологических и географических наук учреждения образования «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова», г. Витебск, Беларусь  
tanyatolkacheva@mail.ru*

**Балаева-Тихомирова О.М.**

*кандидат биологических наук, доцент, заведующий кафедрой химии и естественнонаучного образования учреждения образования «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова», г. Витебск, Беларусь  
olgabal.tih@gmail;*

**Кацнельсон Е.И.**

*старший преподаватель кафедры химии и естественнонаучного образования учреждения образования «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова», г. Витебск, Беларусь  
kate\_kaznelson@tut.by;*

**Фомичева Н.С.**

*аспирант кафедры химии и естественнонаучного образования учреждения образования «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова», г. Витебск, Беларусь  
belka98fomich@gmail.com;*

**Аннотация.** В данной статье приведены результаты биохимических исследований некоторых представителей биоты Белорусского Поозерья, имеющие практическое значение для оценки состояния поверхностных вод (легочные пресноводные моллюски), а также для сравнительной оценки содержания биологически активных субстанций в дикорастущих растениях.

**Ключевые слова:** легочные пресноводные моллюски, метаболический синдром, биологически активные вещества растений.

**BIOCHEMICAL STUDIES OF SOME REPRESENTATIVES OF THE  
BIOTA OF THE BELARUSIAN LAKELAND AT THE DEPARTMENT OF  
CHEMISTRY AND NATURAL SCIENCE EDUCATION**

**Tolkacheva T.A.**

*Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Dean of the Faculty of Chemistry, Biological and Geographical Sciences of the Educational Establishment "Vitebsk State University named after P.M. Masherov", Vitebsk, Belarus*

*tanyatolkacheva@mail.ru;*

**Balaeva-Tikhomirova O.M.**

*Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Chemistry and Science Education of the Educational Establishment "Vitebsk State University named after P.M. Masherov", Vitebsk, Belarus*

*olgabal.tih@gmail;*

**Katsnelson E.I.**

*senior lecturer, Department of Chemistry and Science Education of the Educational Establishment "Vitebsk State University named after P.M. Masherov", Vitebsk, Belarus*

*Masherov", Vitebsk, Belarus*

*kate\_kaznelson@tut.by;*

**Fomicheva N.S.**

*postgraduate student of the Department of Chemistry and Natural Science Education of the Educational Establishment "Vitebsk State University named after P.M. Masherov", Vitebsk, Belarus*

*belka98fomich@gmail.com;*

**Annotation.** *This article presents the results of biochemical studies of some representatives of the biota of the Belarusian Lakeland, which are of practical importance for the assessment of the state of surface waters (lung freshwater mollusks), as well as for the comparative assessment of the content of biologically active substances in wild plants.*

**Keywords:** *lung freshwater molluscs; metabolic syndrome; biologically active substances of plants.*

Разработана технология получения средства, содержащего гидрофильные компоненты куколок дубового шелкопряда, районированного в Витебской области, названного экстрактом куколок дубового шелкопряда. Препарат был стандартизован по содержанию суммы свободных аминокислот (700 мг/л) и был использован как иммуномодулятор на уровне нейтрофильных лейкоцитов и макрофагов; как противовоспалительное средство за счет подавления генерации активных метаболитов кислорода; как средство, для предотвращения негативных реакций на метаболизм гиперпродукции

гомоцистеина; как источник незаменимых (эссенциальных) субстанций для регуляции метаболизма. Совместно с биохимиками г. Гродно было обосновано использование экстракта в гомеопатических дозировках (порядка 7-70 мкг свободных аминокислот на 1 кг массы тела) для профилактики метаболического синдрома; использования в качестве гепатопротектора, а также для модуляции функции коркового вещества надпочечников и щитовидной железы. Разработан йодированный препарат из гемолимфы куколок дубового шелкопряда для коррекции гипотиреоидного состояния и гипоальфахолестеролемии. Наибольшее практическое значение имели исследования на адекватной модели развития признаков метаболического синдрома у крыс. Для профилактики развития инсулинорезистентности использовали комплекс эндогенных антиоксидантов из гемолимфы куколок дубового шелкопряда. Одномесячное введение водного экстракта куколок дубового шелкопряда в процессе воспроизведения инсулинорезистентности уменьшало проявления инсулинорезистентности на 20-30%, увеличивало уровни восстановленного глутатиона и ЛПВП до уровня нормы. Эти исследования были защищены 4 патентами [1,2].

Последние годы были посвящены разработке методических подходов к использованию легочных пресноводных моллюсков для биоиндикации качества поверхностных вод и как модельных организмов для воспроизведения патологических состояний человека. В 2010 году в качестве тест-организма для биоиндикации химического и иного загрязнения природных вод принят легочной пресноводный моллюск *Lymnaea stagnalis*, у которого многие метаболические процессы, например, синтез стероидных гормонов, аналогичны таковым у человека. Недостатком этого тест-организма является то, что транспорт кислорода в гемолимфе осуществляется медь-содержащим гемоцианином, который обладает худшими по сравнению с железом-содержащим гемоглобином свойствами. Поэтому на кафедре разрабатывался способ оценки биоэкологического состояния водоемов посредством анализа биохимических показателей гемолимфы и гепатопанкреаса двух видов легочных пресноводных моллюсков *Lymnaea stagnalis* и *Planorbarius corneus*. У последнего вида транспорт кислорода в гемолимфе осуществляется железом-содержащим гемоглобином, т.е. как у человека.

В процессе многолетнего исследования удалось показать, что биохимические исследования гемолимфы моллюсков могут продемонстрировать метаболические нарушения, связанные с экологическим состоянием среды обитания. Целью этого этапа работ был поиск биохимических изменений, включающих критерии метаболического

синдрома. В результате проведенных исследований установлено, что общим типом изменений транспорта липидов у обоих видов легочных пресноводных моллюсков по сравнению с моллюсками из контрольного водоема – озера Селявское является снижение содержания общего холестерина и холестерина липопротеинов высокой плотности. Кроме того в гемолимфе *Lymnaea stagnalis*, обитающих в обследуемых водоемах по сравнению с обитающими в озере Селявское повышено содержание триглицеридов. Эти данные свидетельствуют о том, что в обследованных водоемах Витебской области имеются загрязнения, вызывающие, вероятно, усиленный синтез стероидных гормонов из холестерина (признак хронического стресса, направленного на активацию глюконеогенеза) и начальные стадии повреждения печени, ведущие к ослаблению обратного транспорта холестерина из периферических тканей в составе липопротеинов высокой плотности. Повышение уровня триглицеридов в гемолимфе *Lymnaea stagnalis* является, по всей видимости, результатом мобилизации долгосрочных липидных резервов в условиях снижения содержания глюкозы. У моллюсков из озера Дубровское выявлены 3 критерия метаболического синдрома: повышение массы тела и уровня триглицеридов на фоне уменьшения холестерина липопротеинов высокой плотности. Проведенные исследования также показали, что у *Planorbarius corneus*, обитающих в озера Будовесть, выявлены 3 критерия метаболического синдрома – повышение массы тела и уровня глюкозы на фоне снижения холестерина липопротеинов высокой плотности. У моллюсков из озера Афанасьевское – 2 критерия (повышение уровня триглицеридов и снижение ХС ЛПВП), у моллюсков из оз. Дубровское – 2 критерия (повышенная масса тела на фоне снижения ХС ЛПВП при нормальном уровне глюкозы) и у моллюсков из реки Витьба – 2 критерия (повышенный уровень глюкозы и сниженное содержание ХС ЛПВП при нормальной массе тела). Полученные результаты показывают, что легочные пресноводные моллюски возможно использовать как тест-организмы для изучения управления уровнем холестерина эндогенными и экзогенными биорегуляторами. Тип транспорта кислорода не оказывает влияния на особенности изменений общего холестерина и холестерина липопротеинов высокой плотности. Реактивность процессов транспорта триглицеридов и глюкозы имеет явные видовые различия, что связано, вероятно, с типом транспорта кислорода. Следовательно, *Lymnaea stagnalis* и *Planorbarius corneus* могут явиться перспективными тест-организмами для исследования инсулинорезистентности. Используя данные организмы можно получить наиболее важную информацию о развитии инсулинорезистентности на уровне клеток печени из-за анатомической близости клеток печени и клеток –



продуцентов инсулина. Важно, что гемолимфа омывает оба типа клеток без преодоления сосудистых стенок [3].

Проведены исследования по изучению содержания биологически активных веществ в растениях Белорусского Поозерья. Среди фенольных соединений представлены гликозиды, дубильные соединения. Самое высокое содержание суммы фенольных соединений, гликозидов в листьях *T. officinale* в период цветения и плодоношения в Браславском районе; дубильных соединений в Витебском районе. Содержание фенольных соединений в период цветения выше, чем в период плодоношения в Браславском и Глубокском районах. Следовательно, для создания косметических средств лучше использовать листья *T. officinale* в период цветения, собранные на территории Глубокского и Браславского районов. Самое высокое содержание суммы фенольных соединений, в листьях *T. pratense* в период плодоношения в Браславском районе. Содержание фенольных соединений в период плодоношения выше. Следовательно, для создания косметических средств лучше использовать листья *T. pratense* в период плодоношения, собранные на территории Браславского района. Флавоноиды оказывают целый ряд благоприятных действий на кожу: противовоспалительное, бактерицидное, антиоксидантное, улучшают структуру сосудистых стенок, улучшают кровоснабжение, способствуют быстрейшему заживлению мелких воспалений. Флавоноидные соединения представлены авилякурином, кверцетином, кемпферолом, лютеолином, морином, апигенином; содержат мирицетину, изокверцетин, гиперозид, гомориентин, рутин, изосалипурнозид. Самое высокое содержание среди флавоноидов в листьях *T. officinale* принадлежит авилякурину, апигенину и рутину в период цветения, авилякурину и рутину в период плодоношения. Содержание флавоноидов самое высокое в Витебском районе в период цветения и плодоношения. Самое высокое содержание в листьях клевера принадлежит авилякурину в период цветения, авилякурину и кемпферолу в период плодоношения. Содержание флавоноидов самое высокое в Браславском районе в период цветения и плодоношения [4].

### Список литературы

1. Толкачева, Т.А. Гистолиз: теория и практика: монография / Т.А. Толкачева. – Витебск: ВГУ имени П. М. Машерова, 2015. – 135 с.
2. Чиркин, А.А. Биологическая активность продуктов гистолиза: монография / А.А.Чиркин, Е.И. Коваленко, Т.А. Толкачева. – Saarbruecken: Lambert Academic Publishing GmbH, 2012. – 155 p.
3. Чиркин, А. А. Использование легочных пресноводных моллюсков для биомониторинга поверхностных вод / А.А. Чиркин [и др.] // В сб.:

Инновационные технологии в водном, коммунальном хозяйстве и водном транспорте. Материалы II республиканской научно-технической конференции (28–29 апреля 2022 года). – 2022: БНТУ. – С. 452-457.

4. Прошко, Ю.Э. Содержание биологически активных веществ в экстрактах из листьев одуванчика / Ю. Э. Прошко, Е. С. Чернявская, Т. А. Толкачева // Ботанические чтения: сб. Материалов Междунар. Науч. Кон., Брест, 25 февр. 2021 г. / Брест. Гос. Ун-т им. А. С. Пушкина; редкол.: В. И. Бойко, Н. В. Шкуратова, М. В. Леввовская. - Брест :БрГУ, 2021. С. 175-177.

## ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОВ СИНТЕЗА 13,14-СЕКО АНАЛОГОВ ЭСТРОГЕНОВ

**Фандо Г.П.**

*кандидат химических наук, доцент кафедры биоорганической химии  
учреждения образования «Белорусский государственный  
медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь  
gfando@mail.ru*

**Аннотация.** В данной статье рассмотрены исследованные методы синтеза аналогов эстрогенов. Показано, что обработка гидрокситозилатов основанием приводит к промежуточному образованию аниона. Элиминирование тозилной группировки протекает с разрывом C<sub>13</sub>-C<sub>14</sub>-связи и приводит к образованию секостероида. Протекание реакции зависит от конфигурации гидроксильной группы при C<sub>14</sub> и тозилной группы при C<sub>17</sub>. Синтезированные соединения являются сравнительно устойчивыми и могут быть использованы для поиска новых лекарственных препаратов.

**Ключевые слова:** стероиды; секостероиды; гидроксирование, гидрокситозилаты.

## RESEARCH OF SYNTHESIS METHODS 13,14-SEKO ESTROGEN ANALOGUES

**Fando G.P.**

*Candidate of Chemistry, Associate Professor of the Department of  
Bioorganic Chemistry of the Educational Institution  
"Belarusian State University", Minsk, Belarus  
gfando@mail.ru*

**Annotation.** The article deals the studied methods for the synthesis of estrogen analogues. It has been shown that the treatment of hydroxytosylates with a base leads to the intermediate formation of an anion. The elimination of the tosyl group leads to the breaking of the C<sub>13</sub>-C<sub>14</sub> bond and the formation of a secosteroid. Reaction depends on the configuration of C<sub>14</sub> hydroxyl group and C<sub>17</sub> tosyl group at. The synthesized compounds are relatively stable and can be used to search for new drugs.

**Keywords:** steroids; secosteroids; hydroxylation, hydroxytosylates.

Одна из актуальных задач органического синтеза на протяжении многих десятилетий - разработка методов получения стероидов. Среди многообразия биологически активных соединений стероиды играют важную роль в осуществлении ряда гормональных функций в живых организмах. Биологическая активность стероидных гормонов тесно связана с особенностями их химической структуры. Стероиды, выделенные из природных источников, проявляют высокую токсичность к опухолевым клеткам [1], ингибируют стволовые клетки рака молочной железы [2], оказывают противовоспалительное действие [3], являются эффективными антипролиферативными и антигистаминными агентами [4]. Многие выделенные стероиды являются биологически активными веществами, что позволяет рассматривать их как потенциальные препараты для медицины и сельского хозяйства. Научный интерес, проявляемый к изучению методов синтеза производных эстрана, вызван тем, что биологическая активность может зависеть от наличия тетрациклического стероидного скелета [5].

Одним из направлений исследований по получению стероидов с необычным углеродным скелетом стали работы автора по синтезу 13,14-секостероидов [6]. Была исследована реакция радикального окисления 14 $\alpha$ -гидроксипроизводных, содержащих различные заместители при C<sub>17</sub>, используя тетраацетат свинца и церий аммоний нитрат в качестве окислителей [7].

Незначительное количество C<sub>13</sub>-C<sub>14</sub>-секостероидов уже выделяли ранее из природных источников [3], но конфигурация C<sub>13</sub> не была точно установлена. Кроме исследования методов синтеза секостероидов и проведения дальнейших химических преобразований, была поставлена задача установить стереохимию полученных соединений.

В качестве исходного соединения для синтеза 14 $\beta$ -гидрокси-17 $\beta$ -тозилата в настоящей работе использовался 3-метокси-7 $\alpha$ -метилэстра-1,3,5(10),15-тетраен-17-он **2** (рисунок 1), который получили путем снятия диоксалановой группировки в ацетоне в присутствии водного раствора толуолсульфокислоты при комнатной температуре в течение 20 ч с высоким выходом. В ИК спектре кетона **2** появляются сигналы валентных колебаний карбонильной группы (1770 см<sup>-1</sup>). 17 $\beta$ -Гидрокси-3-метокси-7 $\alpha$ -метилэстра-1,3,5(10),14-тетраен **3**, получен путем перегруппировки на силикагеле в присутствии триэтиламина с последующим восстановлением литий алюмогидридом. Следующей задачей являлось превращение спирта **3** в эпоксид. Эпоксидирование, проведенное с помощью *m*-хлорнадбензойной кислоты, протекало с образованием двух изомеров 14 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -эпоксида **5** и

14 $\beta$ ,15 $\beta$ -эпоксида **4** в соотношении 1:3. Доказательством правильности приписания конфигурации 14 $\beta$ ,15 $\beta$ -эпоксида **4**, выделенного с выходом 58%, послужил рентгеноструктурный анализ специально синтезированного позже диацетата **12**.

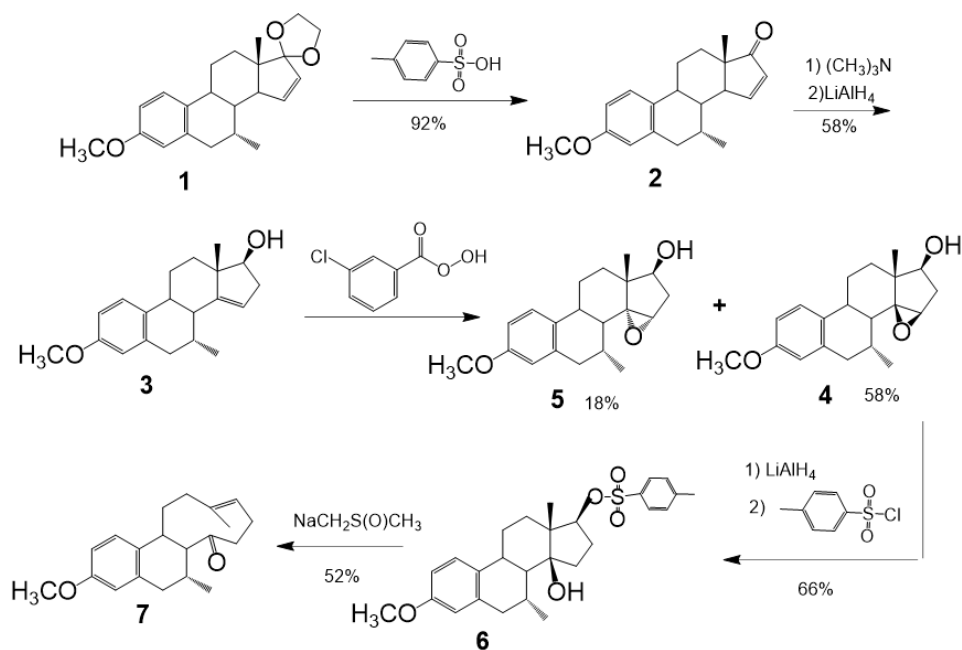


Рисунок 1

В масс-спектре 17 $\beta$ -гидрокси-3-метокси-14 $\beta$ ,15 $\beta$ -эпокси-7 $\alpha$ -метилэстра-1,3,5(10)-триена **4** присутствует пик молекулярного иона соответствующий брутто формуле C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>O<sub>3</sub> ( $m/z = 375$ ). Восстановлении  $\beta$ -эпоксида **4** литий алюмогидридом с последующим тозилацией привело к образованию соединения **6**. В спектре ПМР присутствует синглет с  $\delta$  2.45 м.д., принадлежащий протону при C<sub>17</sub>. Фрагментация 14 $\beta$ -гидрокси-17 $\beta$ -тозилата **6** протекала под действием сильного основания и привела с умеренным выходом (52%) к секостероиду **7**. 3-Метокси-7 $\alpha$ -метил-13,14-секоэстра-1,3,5(10),13(17)E-тетраен-14-он синтезировали следующим образом: к смеси диметилсульфоксида (5 мл) и NaN (80%, 288 мг, 9.6 ммоль), выдержанной под аргоном при температуре 40 $^{\circ}$ C в течение 1 ч, добавили раствор тозилата **6** (290 мг, 0.64 ммоль) в диметилсульфоксиде (3 мл). Реакционную смесь перемешивали при температуре 40 $^{\circ}$ C в течение 1 ч. Затем разбавили насыщенным раствором NaCl и экстрагировали этилацетатом. Органический слой высушили над безводным сульфатом натрия и упарили в вакууме. Остаток нанесли на колонку с силикагелем и элюировали смесью петролейного эфира и этилацетата (10:1). Выделено 100 мг (52%) 3-метокси-

7 $\alpha$ -метил-13,14-секоэстра-1,3,5(10),13(17)Е-тетраен-14-она **7**. Т. пл. 103-105°C (этанол). ИК (см<sup>-1</sup>): 1710, 1620, 1510, 1465, 1325, 1245. <sup>1</sup>H ЯМР  $\delta$ : 0.95 (д, 3H, J = 7 Гц, 7-Me), 1.87 (с, 3H, 18-Me), 3.78 (с, 3H, OMe), 5.44 (м, 1H, C<sub>17</sub>-H), 6.50-7.30 (м, 3H, фенил). <sup>13</sup>C ЯМР  $\delta$ : 16.8, 18.6, 21.6, 29.1, 34.6, 38.4, 39.6, 40.6, 41.8, 55.0, 59.8, 112.4, 112.9, 122.6, 129.4, 131.5, 137.8, 138.1, 156.9, 217.7.

Далее были предприняты попытки стереоселективного гидроксирования енона **7** (рисунок 2). В результате его окисления коммерческой смесью AD-mix- $\beta$ , содержащей *n*-хлорбензоат дигидрохинидина была выделена смесь спиртов. Аналогичная картина наблюдалась при гидроксировании по Шарплесу AD-mix- $\alpha$ . Соотношение изомеров в обоих случаях было приблизительно одинаковым и не зависело от катализатора. Но полученные продукты оказались нестабильными. Диолы **8** удалось получить с выходом 90% после окисления эквимолярным количеством OsO<sub>4</sub>. Попытки разделить изомеры оказалась неуспешными. Это удалось осуществить, проведя реакцию восстановления по Сверну, в результате чего были выделены триолы **9** и **10**. Далее с еноном **7** была осуществлена цепь химических превращений. Стереоселективное восстановление C14-кетогруппы было осуществлено с помощью LiAlH<sub>4</sub> с выходом 87%. В спектре ПМР появился дополнительный сигнал в виде мультиплета с  $\delta$  4.04 м.д., характерный для гидроксильной группы.

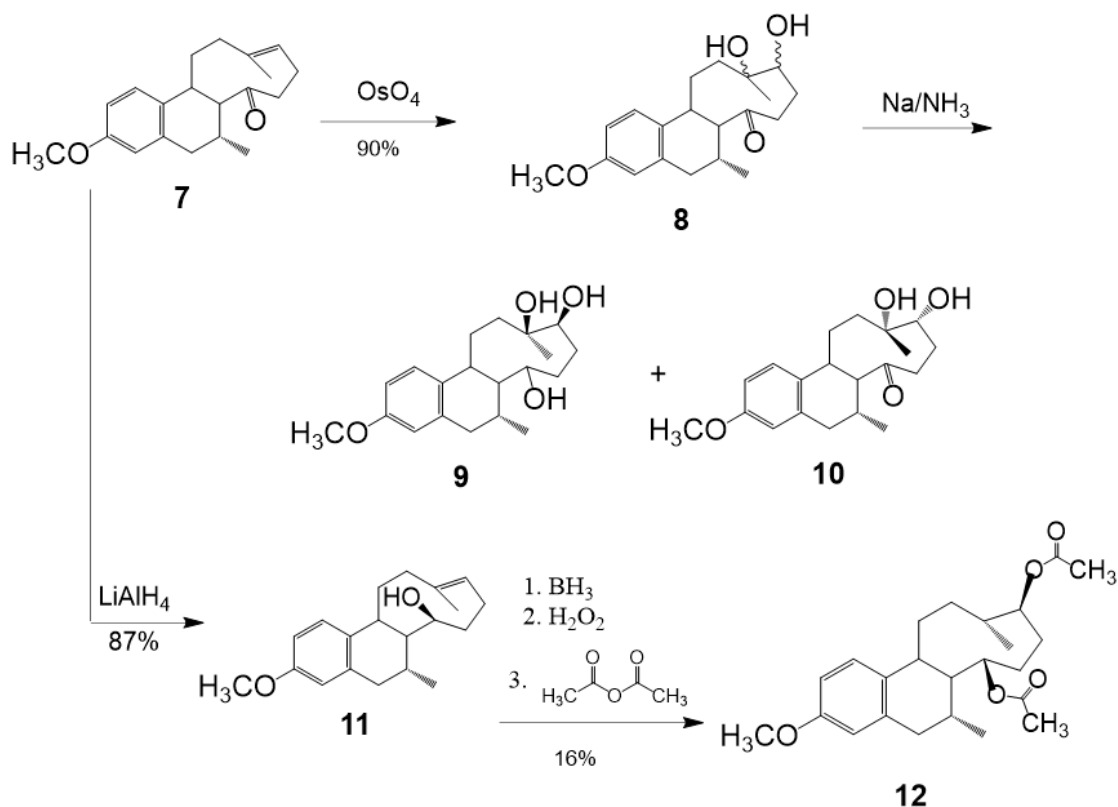


Рисунок 2

Объяснение стереоселективности последней реакции вытекает из молекулярной модели, согласно которой двойная связь в девятичленном цикле **11** ориентирована таким образом, что атака боргидридом возможна только с одной стороны молекулы

Использование ЯМР-спектроскопии не позволяло сделать однозначный вывод о стереохимии углеродных атомов C<sub>13</sub>, C<sub>14</sub>, C<sub>17</sub>. Методом решения данной проблемы мог быть рентгеноструктурный анализ. Для его осуществления был специально синтезирован (13*R*,14*S*,17*S*)-14,17-диацетокси-3-метокси-7 $\alpha$ -метил-13,14-секоэстра-1,3,5(10)-триен **12**. Рентгеноструктурный анализ данного соединения позволил однозначно приписать стереохимию C<sub>13</sub> после расщепления C<sub>13</sub> – C<sub>14</sub> связи.

Таким образом, разработка методов получения 13,14-секостероидов представляет большой научный и практический интерес в плане обогащения арсенала синтетических методов в химии стероидов, а также для получения потенциально биоактивных соединений, которые в настоящее время недоступны для исследователей вследствие отсутствия методов их синтеза.

### Список литературы

1. A Novel Cytotoxic Physalin from *Physalis angulata* / Jia-Jia Fana [et al.] // Nat. Prod. Commun. – 2017, Vol.12. – P. 1589-1591.
2. Physalin A, 13,14-Seco-16, 24-Cyclo-Steroid, Inhibits Stemness of Breast Cancer Cells by Regulation of Hedgehog Signaling Pathway and Yes-Associated Protein 1 (YAP1) / Yu-Chan Ko [et al.] // Int. J. Mol. Sci. 2021, 22(16), 8718; <https://doi.org/10.3390/ijms22168718>.
3. Фандо Г.П. Биологическая активность секостероидов, выделенных из природных источников / Г.П. Фандо // Медицинский журнал. – 2016. – №1. – С.69-72.
4. Antiproliferative and antimetastatic properties of 3-benzyloxy-16-hydroxymethylene-estradiol analogs against breast cancer cell lines / Izabella Sinka [et al.] // Eur. J. Pharm. Sci. – 2018, 123. – P. 362-370.
5. Structural analysis and antitumor potential of novel 5,6-disubstituted-17 $\alpha$ -homo-17-oxa-androstane derivatives / Ivana Kuzminac [et al.] // Struct. Chem. – 2017, 28. – P. 567-576.
6. Фандо Г.П. Современные подходы к синтезу секо-производных андростана / Г.П. Фандо // Вестник пермской государственной фармацевтической Академии. Научно-практический журнал. Научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные

проблемы химической безопасности в сфере фармацевтической и медицинской науки и практики», посвященной 50-летию кафедры токсикологической химии. г. Пермь, 14-15 декабря 2022 г. Стр 137-140.

7. Г.П. Фандо. Подходы к синтезу 13,14-секо аналогов эстрогенов. Всероссийская научно-практической конференции с международным участием "Инновационные технологии в фармации", посвященной памяти доцента Пешковой В.А. Иркутск 20 июня 2019 г. Стр. 85-89.



## АНТИОКСИДАНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ

**Федорова М. В.**

врач-гинеколог, Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора,  
г. Москва, Россия  
theklazontag@yandex.ru;

**Вознесенский В. И.**

врач-онколог, к.м.н., Городская клиническая больница имени Д.Д. Плетнёва  
Департамента здравоохранения города Москвы, г. Москва, Россия  
vlad525@gmail.com

**Созарукова М. М.**

научный сотрудник, к.б.н.,  
Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской  
академии наук, г. Москва, Россия  
s\_madinam@bk.ru;

**Харченко А.А.**

врач-онколог, Городская клиническая больница имени Д.Д. Плетнёва  
Департамента здравоохранения города Москвы, г. Москва, Россия  
dr.kharchenko-onco@mail.ru;

**Соснова Е.А.**

профессор, д.м.н., Первый Московский государственный медицинский  
университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения  
Российской Федерации (Сеченовский Университет), г.Москва, Россия  
sosnova\_e\_a@staff.sechenov.ru

**Проскурнина Е. В.**

главный научный сотрудник, д.м.н., Медико-генетический научный центр  
имени академика Н.П. Бочкова, г. Москва, Россия  
proskurnina@gmail.com;

**Аннотация.** В исследовании принимали участие 48 пациенток с гистологически подтвержденным раком яичников и доброкачественными новообразованиями яичника. Методом активированной кинетической хемилюминесценции были оценены антиоксидантный профиль плазмы крови и окислительная активность нейтрофилов. Показано, что параметры антиоксидантного профиля и активность нейтрофилов оставались в пределах референтных значений во всех исследованных случаях.

**Ключевые слова:** антиоксидантный профиль; плазма крови; активность нейтрофилов; рак яичников

## ANTIOXIDANT POTENTIAL OF BLOOD PLASMA IN OVARIAN CANCER

**Fedorova M. V.**

*MD, gynecologist, Central Research Institute for Epidemiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russia  
theklazontag@yandex.ru;*

**Voznesensky V. I.**

*MD, PhD, oncologist, Pletnev City Clinical Hospital of the Department of Health of Moscow, Moscow, Russia  
vlad525@gmail.com*

**Sozarukova M. M.**

*PhD, Senior Researcher, Synthesis of Functional Materials and Mineral Processing Laboratory Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry, Moscow, Russia  
s\_madinam@bk.ru;*

**Kharchenko, A.A.**

*MD, oncologist, Pletnev City Clinical Hospital of the Department of Health of Moscow, Moscow, Russia  
dr.kharchenko-onco@mail.ru;*

**Sosnova E.A.**

*MD, PhD, Prof., Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow, Russia  
sosnova\_e\_a@staff.sechenov.ru*

**Proskurnina E. V.**

*MD, PhD, Prof., Chief Researcher, Laboratory of Molecular Biology Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia  
proskurnina@gmail.com;*

**Annotation.** *The study involved 48 patients with histologically confirmed ovarian cancer and benign ovarian neoplasms. The method of activated kinetic chemiluminescence was used to evaluate the antioxidant profile of blood plasma and the oxidative activity of neutrophils. It was shown that the parameters of the antioxidant profile and the activity of neutrophils remained within the reference values in all cases studied.*

**Keywords:** *antioxidant capacity; blood plasma; neutrophil activity; ovarian cancer*

Новообразования яичников занимают лидирующую позицию среди причин смерти от гинекологических заболеваний [1, 2]. Исследования доказывают снижение уровня циркулирующих антиоксидантов и наличие системного окислительного стресса [3, 4] при раке яичников, а также повышенную экспрессию внутри клеток ключевых прооксидантных ферментов, что способствует поддержанию онкогенного фенотипа [5, 6]. В ряде исследований показатели АФК-гомеостаза рекомендуют в качестве прогностического фактора при терапии и прогнозировании рака яичников [7-9].

Задачей исследования явилось изучение антиоксидантного профиля плазмы крови у пациенток с аденокарциномой яичников по сравнению с доброкачественными новообразованиями, а также определение активности нейтрофилов крови как основных источников оксидативного стресса.

#### **Материалы и методы.**

В исследовании были участвовали 48 пациенток 25–74 лет с гистологически подтвержденным раком яичников (низкодифференцированная серозная аденокарцинома, умереннодифференцированная светлоклеточная аденокарцинома, серозная папиллярная карцинома, от T1aN0M0 до pT3cNXM1) и доброкачественными новообразованиями яичника (дермоидные кисты, текома, серозно-муцинозная цистаденома) при условии добровольного подписания информированного согласия.

Оперативное лечение пациентов проводили в ГКБ им. Д.Д. Плетнёва Департамента здравоохранения Москвы. Гистологическая верификация диагноза с была выполнена в ГКБ им. Д.Д. Плетнёва ДЗМ, оперативное вмешательство проведено в объеме экстирпации матки с придатками, экстирпации большого сальника и лимфаденэктомии.

Материалом для исследования служила плазма крови и цельная кровь, полученные в день операции. Образцы крови транспортировали в вакутейнере с Li-гепарином при температуре +4°C, анализировали не позднее чем через 2 часа после взятия материала.

Регистрацию хемилюминесценции проводили на хемилюминометре «SmartLum 1200» (ООО «ДИСофт», Россия) [10]. Определяли площадь подавления свечения  $S$  и разность между начальным и конечным стационарным уровнями свечения  $\Delta I$  (рис. 1а). Параметр  $S$  отражает антиоксидантную емкость водорастворимых антиоксидантов плазмы крови («уратная» емкость), параметр  $\Delta I$  отражает сохранность тиоловой группы меркаптоальбумина («тиоловая емкость»). Референтный интервал был определен ранее для плазмы крови, усл.ед. ( $n = 98$ ):  $S$  [195–405],  $\Delta I$  [1,0–2,2].

Определение активности нейтрофилов крови проводили по методике, описанной ранее [11] (рис. 1б). Из кривой рассчитывали амплитуду ответа нейтрофилов после двухстадийной стимуляции  $A_{\text{ФМЛФ}}$ . Референтный интервал для практически здоровых доноров составляет 3,5–9,0 усл.ед. [11].

Сравнительный анализ двух независимых групп по количественному признаку проводили с помощью  $t$ -критерия. Статистически значимыми считали различия при значении  $p \leq 0,05$ .

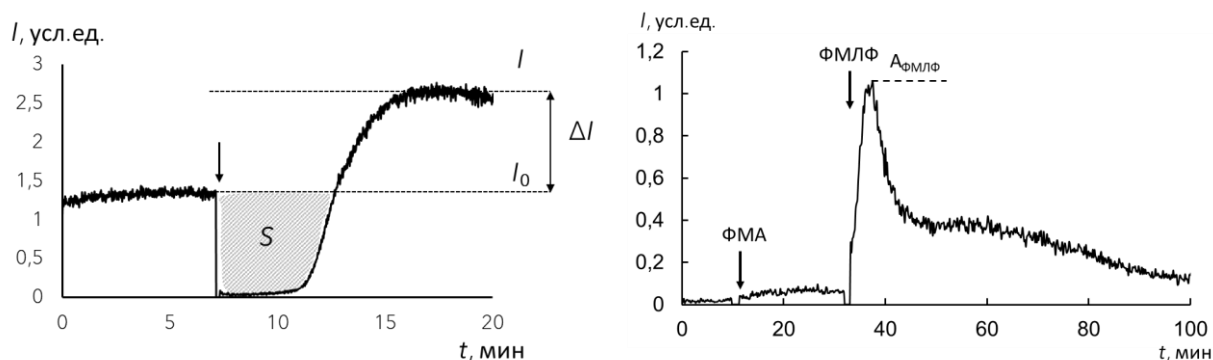


Рисунок 1 – (а) Антиоксидантный профиль плазмы крови пациентки с цистаденомой;  $S$  — «уратная» емкость,  $\Delta I$  — «тиоловая» емкость, стрелкой показан момент добавления плазмы крови, (б) хемилюминограмма развития ответа на двойную стимуляцию нейтрофилов крови пациентки с низкодифференцированной серозной папиллярной аденокарциномой

**Результаты и обсуждение.** Средние значения «уратной» антиоксидантной емкости плазмы крови  $S_b$  для всех исследованных подгрупп находились внутри референтного интервала для практически здоровых доноров и не отличались между собой, в то время как «альбуминовая» емкость  $\Delta I_b$  имела тенденцию к снижению и была значимо ниже нормы для подгрупп умереннодифференцированных и низкодифференцированных аденокарцином. Активность нейтрофилов  $A_{\text{ФМЛФ}}$  в отдельных случаях могла быть выше или ниже пределов референтного интервала, но в среднем соответствовала референтным значениям. Результаты анализа образцов приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Параметры антиоксидантного профиля плазмы крови и активность нейтрофилов, приведены среднее и среднее квадратичное отклонение

Объект исследования, параметры	Плазма крови		Кровь
	$S_b$ , усл.ед.	$\Delta I_b$ , усл.ед.	$A_{\text{ФМЛФ}}$
Группы			

Доброкачественные новообразования ( $n = 10$ ), группа контроля	376 (73)	1,16 (0,37)	5,7 (4,0)
Высокодифференцированная аденокарцинома ( $n = 6$ )	363 (94)	1,11 (0,55)	4,5 (2,6)
Умеренно дифференцированная аденокарцинома ( $n = 8$ )	318 (136)	0,85* (0,44)	4,3 (1,9)
Низкодифференцированная аденокарцинома ( $n = 24$ )	337 (128)	0,77* (0,54)	4,2 (2,7)

Примечание\* — значимые различия с контрольной группой

К основным результатам работы следует отнести тот факт, что в крови даже при самых неблагоприятных с точки зрения дифференцировки опухолях яичников не проявляется ни изменения «уратной» антиоксидантной емкости, ни активации нейтрофилов. Изменения в «альбуминовой» емкости в плазме крови свидетельствуют, что по мере снижения дифференцировки опухоли «альбуминовая емкость» имеет тенденцию к снижению и выходит за рамки референтного интервала для умеренно- и низкодифференцированных опухолей. Имеющиеся литературные данные свидетельствуют об изменении АФК-гомеостаза в других звеньях: измененная активность антиоксидантных ферментов [12] [13], повышение уровня перекисного окисления липидов [14] [13], снижение соотношения восстановленный/окисленный глутатион [15], окислительное повреждение ДНК [13]. Наши результаты оценки «альбуминовой» антиоксидантной емкости подтверждают снижение антиоксидантного резерва в глутатионовом звене, однако оно не было сильно выраженным.

### Список литературы

1. Colombo N., Sessa C., du Bois A., Ledermann J., McCluggage W. G., McNeish I., Morice P., Pignata S., Ray-Coquard I., Vergote I., Baert T., Belaroussi I., Dashora A., Olbrecht S., Planchamp F., Querleu D. ESMO-ESGO consensus conference recommendations on ovarian cancer: pathology and molecular biology, early and advanced stages, borderline tumours and recurrent disease // *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*. – 2019. – Т. 30, № 5. – С. 672-705.
2. Webb P. M., Jordan S. J. Epidemiology of epithelial ovarian cancer // *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology*. – 2017. – Т. 41. – С. 3-14.

3. Fletcher N. M., Jiang Z., Ali-Fehmi R., Levin N. K., Belotte J., Tainsky M. A., Diamond M. P., Abu-Soud H. M., Saed G. M. Myeloperoxidase and free iron levels: potential biomarkers for early detection and prognosis of ovarian cancer // *Cancer Biomark.* – 2011. – Т. 10, № 6. – С. 267-75.

4. Hileman E. O., Liu J., Albitar M., Keating M. J., Huang P. Intrinsic oxidative stress in cancer cells: a biochemical basis for therapeutic selectivity // *Cancer Chemother Pharmacol.* – 2004. – Т. 53, № 3. – С. 209-19.

5. Jiang Z., Fletcher N. M., Ali-Fehmi R., Diamond M. P., Abu-Soud H. M., Munkarah A. R., Saed G. M. Modulation of redox signaling promotes apoptosis in epithelial ovarian cancer cells // *Gynecol Oncol.* – 2011. – Т. 122, № 2. – С. 418-23.

6. Malone J. M., Saed G. M., Diamond M. P., Sokol R. J., Munkarah A. R. The effects of the inhibition of inducible nitric oxide synthase on angiogenesis of epithelial ovarian cancer // *Am J Obstet Gynecol.* – 2006. – Т. 194, № 4. – С. 1110-6; discussion 1116-8.

7. Sun C., Guo E., Zhou B., Shan W., Huang J., Weng D., Wu P., Wang C., Wang S., Zhang W., Gao Q., Xu X., Wang B., Hu J., Ma D., Chen G. A reactive oxygen species scoring system predicts cisplatin sensitivity and prognosis in ovarian cancer patients // *BMC cancer.* – 2019. – Т. 19, № 1. – С. 1061.

8. Jia W., Chen P., Cheng Y. PRDX4 and Its Roles in Various Cancers // *Technology in cancer research & treatment.* – 2019. – Т. 18. – С. 1533033819864313.

9. Santos I., Ramos C., Mendes C., Sequeira C. O., Tome C. S., Fernandes D. G. H., Mota P., Pires R. F., Urso D., Hipolito A., Antunes A. M. M., Vicente J. B., Pereira S. A., Bonifacio V. D. B., Nunes S. C., Serpa J. Targeting Glutathione and Cystathionine beta-Synthase in Ovarian Cancer Treatment by Selenium-Chrysin Polyurea Dendrimer Nanoformulation // *Nutrients.* – 2019. – Т. 11, № 10.

10. Алексеев А. В., Проскурнина Е. В., Владимиров Ю. А. Определение антиоксидантов методом активированной хемилюминесценции с использованием 2,2'-азо-бис(2-амидинопропана) // *Вестник Московского ун-та, сер.: Химия.* – 2012. – Т. 53, № 3. – С. 187-193.

11. Образцов И. В., Годков М. А., Полимова А. М., Дёмин Е. М., Проскурнина Е. В., Владимиров Ю. А. Оценка функциональной активности нейтрофилов цельной крови методом двухстадийной стимуляции: новый подход к хемилюминесцентному анализу // *Российский иммунологический журнал.* – 2015. – Т. 9 (18), № 4. – С. 418-425.

12. Kasapovic J., Pejic S., Todorovic A., Stojiljkovic V., Pajovic S. B. Antioxidant status and lipid peroxidation in the blood of breast cancer patients of different ages // *Cell Biochem Funct.* – 2008. – Т. 26, № 6. – С. 723-30.

13. Milonski J., Zielinska-Blizniewska H., Olszewski J., Majsterek I., Mrowicka M. DNA damage and oxidant-antioxidant status in blood of patients with head and neck cancer // *DNA Cell Biol.* – 2015. – Т. 34, № 3. – С. 213-9.

14. Kumar K., Thangaraju M., Sachdanandam P. Changes observed in antioxidant system in the blood of postmenopausal women with breast cancer // *Biochem Int.* – 1991. – Т. 25, № 2. – С. 371-80.

15. Navarro J., Obrador E., Carretero J., Petschen I., Avino J., Perez P., Estrela J. M. Changes in glutathione status and the antioxidant system in blood and in cancer cells associate with tumour growth in vivo // *Free Radic Biol Med.* – 1999. – Т. 26, № 3-4. – С. 410-8.

## **ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПАЛЬМИТОКСИАЦЕТОНА И СТЕАРОКСИАЦЕТОНА В ОБРАЗЦАХ СЫВОРОТКИ КРОВИ, МОЧИ, ЖЕЛЧИ И ПЕЧЕНИ**

**Хруцкий В. Ю.**

*младший научный сотрудник лаборатории химии свободнорадикальных процессов Учреждения Белорусского государственного университета «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», Минск  
e-mail для контактов: rv.khruskin@gmail.com*

**Едимечева И. П.**

*кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории химии свободнорадикальных процессов Учреждения Белорусского государственного университета «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», Минск*

**Федорук А. М.**

*доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом гепатологии и малоинвазивной хирургии Государственного учреждения «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», Минск*

**Кирковский Л. В.**

*кандидат медицинских наук, доцент, заведующий отделением гепатобилиарной хирургии и портальной гипертензии Государственного учреждения «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», Минск*

**Федорук Д. А.**

*кандидат медицинских наук, врач-хирург отделения гепатобилиарной хирургии и портальной гипертензии Государственного учреждения «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», Минск*

**Аннотация.** Цель работы заключалась в идентификации продуктов свободнорадикальной фрагментации лизоглицерофосфолипидов, пальмитоксиацетона и стеароксиацетона, в различных типах биоматериала, таких как образцы сыворотки крови, мочи, желчи и печени, методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием с использованием химически синтезированного маргароксиацетона в качестве суррогатного стандарта. Во всех образцах биоматериала было подтверждено наличие аналитов, что позволяет рассматривать их применение в качестве маркеров интенсивности свободнорадикальных



процессов при гипоксии, сопровождающей различные патологические процессы. На данный момент оптимальной по доступности и простоте получения для количественного определения исследуемых аналитов выступает сыворотка крови.

**Ключевые слова:** пальмитоксиацетон; стеароксиацетон; сыворотка крови; моча; желчь; печень; газовая хроматография.

## **CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS OF PALMITOXYACETONE AND STEAROXYACETONE IN BLOOD SERUM, URINE, BILE AND LIVER SAMPLES**

***Khrutskin V. Y.***

*Junior Researcher, Laboratory of Chemistry of Free Radical Processes, Institution of the Belarusian State University «Research Institute of Physical Chemical Problems», Minsk  
e-mail for contacts: rv.khruckin@gmail.com*

***Edimecheva I. P.***

*Candidate of Chemical Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Chemistry of Free Radical Processes, Institution of the Belarusian State University «Research Institute of Physical Chemical Problems», Minsk*

***Fedoruk A. M.***

*Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Hepatology and Minimally Invasive Surgery, State Institution «Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology», Minsk*

***Kirkovsky L. V.***

*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Hepatobiliary Surgery and Portal Hypertension, State Institution «Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology», Minsk*

***Fedoruk D. A.***

*Candidate of Medical Sciences, Surgeon of the Department of Hepatobiliary Surgery and Portal Hypertension, State Institution «Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology», Minsk*

**Annotation.** *The goal of research was to identify the products of free radical fragmentation of lysoglycerophospholipids, palmitoxyacetone and stearoxyacetone, in various types of biomaterials, such as blood serum, urine, bile and liver samples, by gas chromatography with mass spectrometric detection using synthesized margaroxyacetone as a surrogate standard. The presence of analytes was confirmed in all biomaterial samples, which allows us to consider their use as markers of*

*intensity of free radical processes during hypoxia accompanying various pathological processes. At the moment, blood serum is optimal in terms of availability and ease of obtaining for quantitative determination of the analytes.*

**Keywords:** *palmitoxyacetone; stearoxyacetone; blood serum; urine; bile; liver; gas chromatography*

Выход продуктов реакций свободнорадикальной фрагментации (СРФ) в отличие от иных реакций свободнорадикального окисления, таких как пероксидное окисление липидов, возрастает с понижением содержания молекулярного кислорода в системе [1]. При этом определенные реакции СРФ лизофосфолипидов являются источником маркеров, ферментативный путь образования которых в организме человека не известен и по накоплению которых можно оценивать интенсивность СРФ при гипоксии. В частности, при СРФ 1-ацил-2-лизо-sn-глицеро-3-фосфолипидов образуются такие ацилацетоны, как пальмитоксиацетон (ПА; 2-оксопропилгексадеканат) и стеароксиацетон (СА; 2-оксопропилгептадеканат) [2]. Для рассмотрения ПА и СА в качестве маркеров *in vivo* необходимо подтвердить их наличие в различных типах биоматериала.

Цель исследования заключалась в идентификации продуктов свободнорадикальной фрагментации лизоглицерофосфолипидов, пальмитоксиацетона и стеароксиацетона, в различных типах биологического материала, таких как образцы сыворотки крови, мочи, желчи и печени.

Анализ содержания маркеров свободнорадикальной фрагментации проводили методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (GCMS-QP2010 Plus, Shimadzu, Япония) с применением в качестве суррогатного стандарта химически синтезированного маргароксиацетона (МА; 2-оксопропилгептадеканат), добавленного в образцы перед проведением пробоподготовки. Пробоподготовка образцов сыворотки крови и желчи включала осаждение белков метанолом с добавлением 10% от массы пробы хлорида натрия с целью улучшения межфазового разделения, центрифугирование и экстракцию аналитов гексаном, продувание аргоном до образования липидной пленки и растворение в точном объеме изопропилового спирта. В аналогичной процедуре для образцов мочи в качестве экстрагента и растворителя применяли диэтиловый эфир. Образцы печени после размораживания предварительно высушивали при комнатной температуре и механически гомогенизировали, после чего добавляли МА, экстрагировали аналиты гексаном на ультразвуковой бане в течение 1 ч и получали пленку липида. Хроматографирование образцов сыворотки крови и печени проводили в

режиме мониторинга заданных ионов (SIM) на колонке RTX-65-TG (Restek, USA), образцов мочи и желчи – на колонке Stabilwax DA (Restek, USA). Идентификацию проводили в соответствии с масс-спектрами для стандартных растворов по характеристическим ионам с  $m/z$  98, 116, 239, 253, 267 (рис. 1), полученных в режиме полного сканирования (scan).

Результаты по содержанию аналитов в биоматериале представлены в таблицах 1 и 2. Среди проанализированных образцов, только в образцах мочи содержание стеароксиацетона составило ниже предела количественного определения, поэтому для применения проб мочи в анализе необходимо проводить их концентрирование.

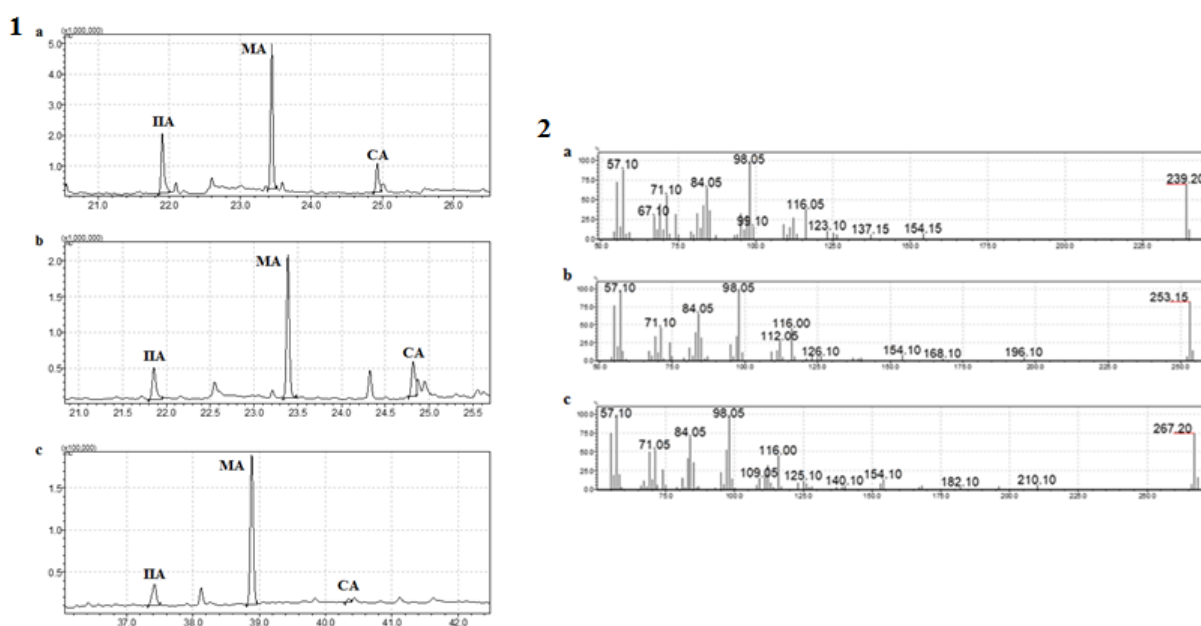


Рисунок 1 – Хроматограммы (1) образцов сыворотки крови (а), печени (b) на колонке RTX-65-TG и желчи (c) на колонке Stabilwax DA в режиме SIM и масс-спектры (2) ПА (а), МА (b) и СА (c) в градуировочном растворе с концентрацией аналита 10,0 мкмоль/л в режиме scan, колонка RTX-65-TG

Таблица 1 – Данные по концентрации пальмитоксиацетона и стеароксиацетона в образцах сыворотки крови, мочи и желчи

Тип исследуемого биоматериала	Концентрация ПА, мкмоль/л	Концентрация СА, мкмоль/л	Суммарная концентрация ПА и СА, мкмоль/л

Образец сыворотки №1	6,07	2,77	8,84
Образец сыворотки №2	3,26	1,58	4,84
Образец сыворотки №3	1,92	0,97	2,89
Образец сыворотки №4	2,33	1,08	3,41
Образец сыворотки №5	3,26	1,39	4,65
Образец сыворотки №6	2,59	1,12	3,71
Образец сыворотки №7	4,64	1,81	6,45
Образец сыворотки №8	2,94	0,93	3,87
Образец сыворотки №9	1,99	0,89	2,88
Образец сыворотки №10	2,57	1,01	3,58
Образец мочи №1	0,20	< 0,1	< 0,30
Образец мочи №2	0,16	< 0,1	< 0,26
Образец мочи №3	0,41	< 0,1	< 0,51
Образец мочи №4	0,18	< 0,1	< 0,28
Образец мочи №5	0,18	< 0,1	< 0,28
Образец желчи №1	6,92	0,49	7,41
Образец желчи №2	9,14	0,39	9,53
Образец желчи №3	8,58	0,35	8,93

Таблица 2 – Данные по содержанию пальмитоксиацетона и стеароксиацетона в образцах печени

Тип исследуемого биоматериала	Содержание ПА, мкг/г	Содержание СА, мкг/г	Суммарное содержание ПА и СА, мкг/г
Образец печени №1	82,7	124,1	206,8
Образец печени №2	125,5	78,0	203,5
Образец печени №3	71,8	87,8	159,6

Полученные результаты свидетельствуют об наличии исследуемых аналитов в различных типах биоматериала, что позволяет рассматривать ПА и СА в качестве потенциальных биомаркеров для анализа интенсивности свободнорадикальных процессов при гипоксии и их взаимосвязь с сопровождаемыми гипоксией патологическими изменениями.

Таким образом, в результате количественного анализа ПА и СА были идентифицированы во всех образцах сыворотки крови, мочи, желчи и печени. Наиболее оптимальным выбором из различных типов биоматериала с учетом доступности, простоты получения и липофильных свойств аналитов является сыворотка крови.

Исследование выполнено в рамках НИР № 20221204 по заданию «Разработать и внедрить метод медицинской профилактики дисфункции трансплантатов печени в раннем послеоперационном периоде» подпрограммы «Клеточная терапия и высокотехнологичные методы замещения поврежденных органов и тканей» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг» на 2021 – 2025 годы. Образцы биоматериала были предоставлены от пациентов, проходивших обследование и лечение на базе Минского научно-практического центра хирургии, трансплантологии и гематологии в период с 2019 по 2022 г., после получения информированного согласия.

### **Список литературы**

1. Shadyro O. I., Yurkova I. L., Kisel M. A. Radiation-induced peroxidation and fragmentation of lipids in a model membrane // International journal of radiation biology. – 2002. – Vol. 78, n. 3. – P. 211–217.
2. Shadyro O., Samovich S., Edimecheva I. Free-radical and biochemical reactions involving polar part of glycerophospholipids // Free Radical Biology and Medicine. – 2019. – Vol. 144. – P. 6–15.

**МЕЖГЕННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ  
ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ  
РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ  
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАТУСА КУРЕНИЯ**

**Хотько Е. А.**

*к. м. н., Белорусский государственный медицинский университет, г.  
Минск, Беларусь  
qwert.poilk@mail.ru*

**Таганович А. Д.**

*д. м. н., Белорусский государственный медицинский университет, г.  
Минск, Беларусь  
ataganovich@gmail.com*

**Шабает Г. В.**

*студент, Белорусский государственный медицинский университет, г.  
Минск, Беларусь  
glebshab@mail.ru*

**Аннотация.** Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является мультифакторным заболеванием, в развитии которого определенная роль отводится однонуклеотидным заменам в структуре генов, кодирующих цитокины и цитокиновые рецепторы. Целью настоящего исследования явился поиск наиболее высокочувствительной и специфичной комбинации маркеров полиморфных локусов генов *IL4R*, *IL4*, *IL6*, *IL10* и *TNF $\alpha$*  для оценки предрасположенности к ХОБЛ у курящих и некурящих людей. Анализ межгенного взаимодействия полиморфных локусов был выполнен с использованием программы *GMDR 0.9*. В результате исследования определены протективные и рискованные сочетания генотипов исследуемых генов в развитии ХОБЛ.

**Ключевые слова:** хроническая обструктивная болезнь легких; полиморфизм; цитокины

**GENE INTERACTIONS OF POLYMORPHIC VARIANTS OF  
CYTOKINE GENES AND THEIR RECEPTORS IN PREDICTING THE  
DEVELOPMENT OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY  
DISEASE DEPENDING ON SMOKING STATUS**

**Khotko E. A.,**

*Candidate of Medical Sciences, Belarusian State Medical University, Minsk  
qwert.poilk@mail.ru*

**Tahanovich A. D.**

*Doctor of Medical Sciences, Belarusian State Medical University, Minsk  
ataganovich@gmail.com*

**Shabaev G. V.**

*student, Belarusian State Medical University, Minsk*

**Annotation.** *Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a multifactorial disease, in the development of which single nucleotide mutations in the structure of genes encoding cytokines and cytokine receptors play a certain role. The purpose of this study was to search for the most highly sensitive and specific combination of markers of the polymorphic loci of the IL4R, IL4, IL6, IL10 and TNF $\alpha$  genes to assess susceptibility to COPD in smokers and non-smokers. Analysis of intergenic interaction of polymorphic loci was performed using the GMDR 0.9 program. As a result of the study, protective and risk combinations of genotypes of the studied genes in the development of COPD were determined.*

**Keywords:** *chronic obstructive pulmonary disease; polymorphism; cytokines*

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является одним из наиболее распространенных мультифакторных заболеваний легких, связанных с воздействием факторов окружающей среды, особенно табачного дыма, и внутренних факторов, таких как однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) генов [1]. SNP представляют собой мутации, способные приводить к качественным или количественным изменениям при синтезе белка [2].

**Материалы и методы.** Для оценки частот полиморфных вариантов генов медиаторов воспаления из жителей Республики Беларусь была сформирована выборка, включавшая 190 человек. Для проведения анализа полиморфизмов по типу «случай-контроль» были сформированы группы курящих и некурящих пациентов с ХОБЛ (n=65 и n=30, соответственно) и здоровых лиц (n=59 и n=36, соответственно), подобранных с учетом возраста, пола, этнической принадлежности и параметров внешнего дыхания. Все исследования проводили с добровольного информированного согласия пациентов.

Отбор генов для изучения аллельного полиморфизма основывался на использовании подхода «гены-кандидаты», в результате которого были отобраны гены, белковые продукты которых принимают участие в патогенезе ХОБЛ [3]. Сюда вошли гены IL4R, IL4, IL6, IL10 и TNF- $\alpha$ . Поиск и выбор SNP вышеназванных генов проводился в базе Ensembl (<https://www.ensembl.org/index.html>) на основании частоты встречаемости минорной аллели в европейской популяции (согласно данным проекта «1000Genomes»), связи полиморфизма с развитием ХОБЛ в других этнических группах, кроме белорусов, и при условии расположения SNP в кодирующей или регуляторной области гена (таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика генетических полиморфизмов, включенных в анализ

Ген	SNP	Локализация в гене	Позиция аллели в гене	Изменение аллели	Минорная аллель	MAF*
IL10	rs1800896	промотор	-1082	A>G	G	0,453
IL4	rs2243250	промотор	-590	C>T	T	0,168
IL4R	rs1801275	экзон (миссенс)	-1902	A>G	G	0,208
TNF $\alpha$	rs1800629	промотор	-308	G>A	A	0,134
IL6	rs1800795	промотор	-174	C>G	C	0,416

Примечание: MAF – частота минорной аллели в европейской популяции согласно проекту 1000Genomes

Материалом для исследования служила ДНК, выделенная из лимфоцитов периферической крови с помощью набора NucleoSpin Blood (MACHERY-NAGEL, Германия) согласно методике производителя. Определение однонуклеотидных замен проводили при помощи ПЦР в реальном времени с использованием аллель-специфичных TaqMan-зондов, связанных с двумя различными флуоресцентными красителями (ООО “Тест-Ген”, Россия).

Межгенные взаимодействия между исследуемыми SNP при формировании ХОБЛ анализировали в 2х-, 3х- и 4х-локусных моделях с использованием метода снижения размерности (GMDR 0.9). Выявление моделей ген-генных взаимодействий проводили по алгоритму полного поиска (Exhaustive search algorithm). При этом отбор SNP для наилучших моделей, вовлеченных в развитие ХОБЛ, осуществлялся автоматически. По результатам их диагностической чувствительности и специфичности выявляли модели с наиболее высокой точностью предсказания (опытная взвешенная точность, %) и воспроизводимостью не менее 90%, которой соответствовал уровень значимости (p), не превышающий 0,0107.

**Результаты и обсуждение.** Предварительно для каждого полиморфного локуса был определен диагностический потенциал путем построения и анализа ROC-кривых отдельно для курящих и некурящих лиц (таблица 2).



Таблица 2 – Данные ROC-анализа при оценке диагностического потенциала изучаемых SNP

SNP	Площадь AUC	Чв.	Сп.	Стд. ошибка	p	Асимптотический 95%ДИ	
						нижняя граница	верхняя граница
Некурящие лица							
rs2243250	0,589	73,33	44,44	0,0587	0,1302	0,461	0,709
<b>rs1800795</b>	<b>0,669</b>	<b>70,00</b>	<b>63,89</b>	<b>0,0588</b>	<b>0,0040</b>	<b>0,543</b>	<b>0,780</b>
rs1800896	0,561	40,00	72,22	0,0592	0,3018	0,433	0,683
rs1800629	0,558	70,00	41,67	0,0596	0,3273	0,431	0,681
<b>rs1801275</b>	<b>0,633</b>	<b>43,33</b>	<b>83,33</b>	<b>0,0558</b>	<b>0,0168</b>	<b>0,506</b>	<b>0,749</b>
Курящие лица							
rs2243250	0,505	40,00	61,02	0,0443	0,9086	0,414	0,596
rs1800795	0,532	86,15	20,34	0,0341	0,3414	0,441	0,623
<b>rs1800896</b>	<b>0,584</b>	<b>35,38</b>	<b>81,36</b>	<b>0,0393</b>	<b>0,0333</b>	<b>0,492</b>	<b>0,672</b>
<b>rs1800629</b>	<b>0,631</b>	<b>41,54</b>	<b>84,75</b>	<b>0,0388</b>	<b>0,0007</b>	<b>0,540</b>	<b>0,716</b>
rs1801275	0,546	26,15	83,05	0,0369	0,2122	0,454	0,636

Далее был проведен анализ межгенных взаимодействий, в результате которого были установлены статистически значимые модели сочетанного влияния генов в развитии ХОБЛ у курильщиков и некурящих лиц (таблица 3). Одним из подходов многофакторного анализа при поиске ассоциаций генетических маркеров с риском развития полигенного заболевания является анализ всех доступных генетических данных. Это связано с тем, что роль определенного гена может быть выявлена только во взаимодействии с иными генами и не проявляться при рассмотрении каждого генетического маркера в отдельности [4]. Алгоритм многомерного снижения размерности, лежащий в основе биоинформатического метода GMDR, относится к непараметрическим методам анализа и не предполагает какой-то определенной модели наследования признака, поэтому может быть использован для анализа любых фенотипов без априорных предположений [5]. Таким образом, имеется возможность оценить уровень риска развития ХОБЛ при одновременном

носителем не просто нескольких SNP, но и конкретной комбинации генотипов.

Таблица 3 – Межгенные взаимодействия в мультилокусных моделях у курящих и некурящих людей

Вид мультилокусной модели	Опыт. ВТ	Контр. ВТ	ЧМ	СМ	$\chi^2$ (p)	ВМ	Точность модели
Курящие лица							
rs1800629 (TNF $\alpha$ ) * rs1801275 (IL4R)	0,6967	0,5867	0,5385	0,8475	10,1847 (p=0,0014)	8/10	0,7792
rs1800629 (TNF $\alpha$ ) * rs1800795 (IL6) * rs1800896 (IL10)	0,7430	0,5628	0,5692	0,8983	15,16 (p<0,0001)	4/10	0,8484
rs1800629 (TNF- $\alpha$ ) * rs1800795 (IL-6) * rs1800896 (IL-10) * rs1801275 (IL-4R)	<b>0,8268</b>	<b>0,7289</b>	<b>0,6026</b>	<b>0,8552</b>	<b>24,31</b> (p<0,0001)	<b>9/10</b>	<b>0,8791</b>
Некурящие лица							
rs2243250 (IL-4) * rs1800795 (IL-6)	<b>0,7268</b>	<b>0,6108</b>	<b>0,7000</b>	<b>0,7500</b>	<b>6,64</b> (p=0,0090)	<b>9/10</b>	<b>0,7368</b>
rs2243250 (IL-4) * rs1800795 (IL-6) * rs1800896 (IL-10)	0,7839	0,4908	0,8000	0,7500	9,92 (p=0,0016)	4/10	0,7619
rs2243250 (IL-4) * rs1800795 (IL-6) * rs1800896 (IL-10) * rs1800629 (TNF- $\alpha$ )	<b>0,8694</b>	<b>0,7708</b>	<b>0,9000</b>	<b>0,8333</b>	<b>17,68</b> (p<0,0001)	<b>9/10</b>	<b>0,8437</b>

Примечания: опыт. ВТ – опытная взвешенная точность, контр. ВТ – контрольная взвешенная точность, ЧМ – чувствительность модели, СМ – специфичность модели,  $\chi^2$  – критерий значимости различий популяций по

распределению частот генотипов, р – тест на значимость, ВМ – воспроизводимость модели

Среди всех представленных моделей в качестве оптимальных для прогнозирования вероятности развития ХОБЛ у курящих лиц была выбрана та, воспроизводимость которой составила не менее 90% и включала в себя полиморфизмы четырех генов – IL6, TNF $\alpha$ , IL10 и IL4R. При этом точность предсказания развития заболевания, согласно данной модели, составляет 87,91%. В ходе анализа принималось во внимание то обстоятельство, что наиболее оптимальные параметры воспроизводимости и точности характерны для моделей, включающих от 3 до 5 предикторов, поскольку снижение или увеличение их числа приводит к возрастанию ошибки предсказания [5].

В результате анализа межгенных взаимодействий в четырех-локусной модели были обнаружены 4 сочетанных генотипа повышенного риска и 5 – пониженного риска развития ХОБЛ (рисунок 1). У некурящих лиц было определено 2 наиболее оптимальные модели межгенного взаимодействия изучаемых полиморфных вариантов – двухлокусная и четырехлокусная. Поскольку последняя характеризовалась лучшими показателями специфичности, чувствительности и точности, в дальнейшем был проведен анализ сочетания генотипов входящих в нее полиморфизмов генов IL4, IL6, IL10 и TNF $\alpha$  с целью предсказания риска развития ХОБЛ (рисунок 2).

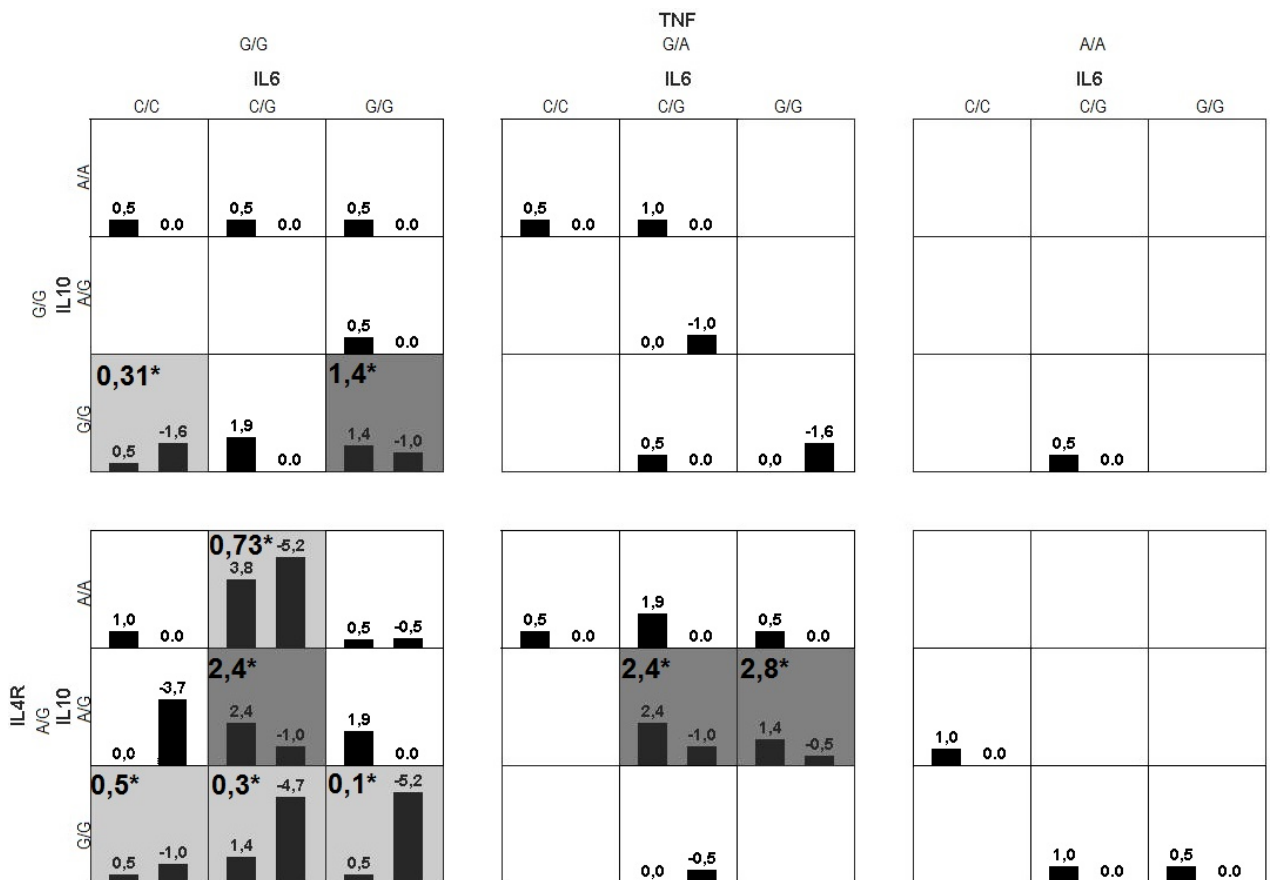


Рисунок 1 – Распределение сочетаний генотипов полиморфных вариантов генов rs1800629 (TNF $\alpha$ )\*rs1800795 (IL6)\*rs1800896 (IL10)\*rs1801275 (IL4R) в группе курящих пациентов с ХОБЛ и здоровых людей

Примечание: здесь и на рисунке (2) темно-серые ячейки – генотипы повышенного риска, серые ячейки – генотипы пониженного риска, белые ячейки отсутствуют статистически значимые различия, пустые ячейки – отсутствие носителей генотипов; в каждой ячейке левый столбец – пациенты с ХОБЛ, правый столбец – здоровые лица, \* – отношение шансов.

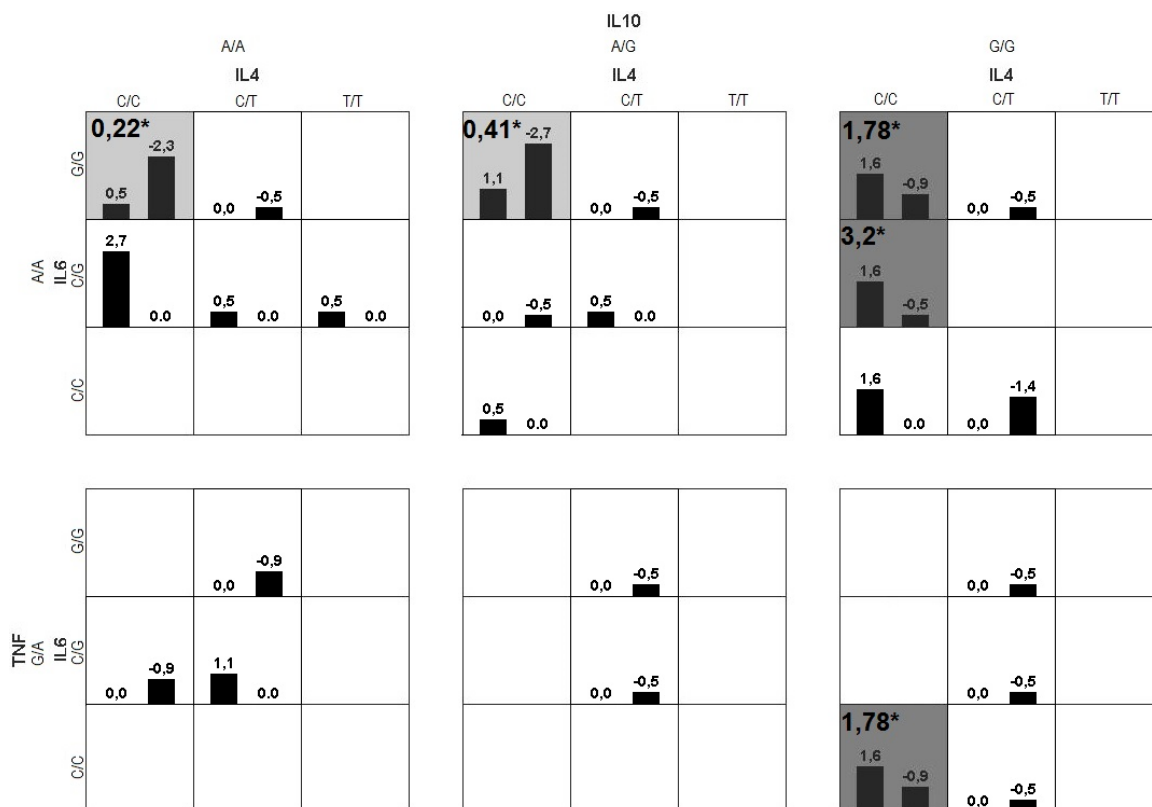


Рисунок 2 – Распределение сочетаний генотипов полиморфных вариантов генов rs1800896 (IL10)\*rs1800629 (TNF $\alpha$ )\*rs1800795 (IL6)\*rs12243250 (IL4) в группе некурящих пациентов с ХОБЛ и здоровых людей

### Заключение:

1. У курящих людей сочетание полиморфных вариантов rs1800629 (TNF $\alpha$ )\*rs1800795 (IL6)\*rs1800896 (IL10)\*rs1801275 (IL4R) дает возможность правильно предсказать вероятность развития ХОБЛ на основании значений отношения шансов с точностью 87,91%. При этом одновременное носительство генотипов G/G (rs1800629)\*A/G (rs1801275)\*G/G (rs1800896)\*G/G (rs1800795) сочетается с наиболее низким риском развития ХОБЛ. Одновременное носительство генотипов G/A (rs1800629)\*G/G (rs1801275)\*A/G (rs1800896)\*G/G (rs1800795) сопряжено с наиболее высокой вероятностью развития заболевания.

2. У некурящих людей сочетание полиморфизмов rs1800896 (IL10)\*rs1800629 (TNF $\alpha$ )\*rs1800795 (IL6)\*rs12243250 (IL4) определяет вероятность развития ХОБЛ с диагностической эффективностью 84,37%.

Одновременное носительство генотипов A/A (rs1800896)\*A/A (rs1800629)\*G/G (rs1800795)\*C/C (rs12243250) связано с наиболее низким риском развития ХОБЛ. Одновременное носительство генотипов G/G (rs1800896)\*A/A (rs1800629)\*C/G (rs1800795)\*C/C (rs12243250) сопряжено с наиболее высокой вероятностью развития заболевания.

#### Список литературы

1. Roth, G.R. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 / G.R. Roth // *Lancet*. – 2018. – Vol. 392, № 10159 – P. 1736–1788.
2. Halbert, R.J. Global burden of COPD: systematic review and meta-analysis / R. J. Halbert // *European Respiratory Journal*. – 2006. – Vol. 28, №3. – P. 523–532.
3. Association between chronic obstructive pulmonary disease and interleukins gene variants: A systematic review and meta-analysis / A. Ahmadi [et al.] // *Cytokine*. – 2019. – Vol. 117 – P. 65–71.
4. Lvovs, D. Полигенный подход к исследованиям полигенных заболеваний / D. Lvovs, O. O. Фаворова, A. B. Фаворов // *Acta Naturae*. – 2012. – Т. 4, №3(14). – С. 62–75.
5. Пономаренко, И. В. Использование метода multifactor Dimensionality reduction (MDR) и его модификаций для анализа ген-генных и генно-средовых взаимодействий при генетико-эпидемиологических исследованиях (обзор) / И. В. Пономаренко // *Научные результаты биомедицинских исследований*. – 2019. – Т. 5, №1. – С. 4–21.

**ОРГАНИЗАЦИЯ БИОХИМИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА  
СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ НЕКОТОРЫХ ГРУПП НАСЕЛЕНИЯ НА  
КАФЕДРЕ ХИМИИ И ЕСТЕСТВЕННОНАУЧНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
НЕ МЕДИЦИНСКОГО ПРОФИЛЯ**

**Чиркин А.А.**

*доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры химии и  
естественнонаучного образования учреждения образования «Витебский  
государственный университет имени П. М. Машерова», г. Витебск, Беларусь  
chir@tut.by;*

**Данченко Е.О.**

*доктор медицинских наук, профессор кафедры химии и естественнонаучного  
образования учреждения образования «Витебский государственный  
университет имени П. М. Машерова», г. Витебск, Беларусь  
elena.danch@gmail.com;*

**Степанова Н.А.**

*кандидат биологических наук, доцент кафедры химии и  
естественнонаучного образования учреждения образования «Витебский  
государственный университет имени П. М. Машерова», г. Витебск, Беларусь  
nadezhda-stepanova-52@mail.ru;*

**Чиркина А.А.**

*кандидат биологических наук, доцент, заместитель декана по учебной  
работе факультета математики и информационных технологий  
учреждения образования «Витебский государственный университет имени  
П. М. Машерова», г. Витебск, Беларусь  
channa@tut.by;*

**Алтани М.С.**

*аспирант кафедры химии и естественнонаучного образования  
«Витебский государственный университет имени П. М. Машерова», г.  
Витебск, Беларусь  
morshedaltani12345@gmail.com.*

***Аннотация.** В данной статье показано, что у ликвидаторов аварии на  
ЧАЭС биохимические признаки метаболического синдрома развиваются на 10  
лет раньше, а у воинов интернационалистов – на 10 лет позже, чем у  
постоянных жителей Витебской области. У подростков пубертатного  
возраста установлена положительная эффективность физических нагрузок,  
но в возрастном периоде 12-15 лет возможно развитие метаболических  
нарушений.*

**Ключевые слова:** *метаболический синдром; эффективность выявления; обмен веществ при половом созревании.*

**ORGANIZATION OF BIOCHEMICAL MONITORING OF THE STATE  
OF HEALTH OF SOME POPULATION GROUPS AT THE  
DEPARTMENT OF CHEMISTRY AND NATURAL SCIENCE  
EDUCATION NON-MEDICAL PROFILE**

**Chirkin A.A.**

*Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor of the Department of  
Chemistry and Natural Science Education of the Education Establishment  
“Vitebsk State P.M. Masherov University”, Vitebsk, Belarus  
chir@tut.by;*

**Danchenko E.O.**

*Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of  
Chemistry and Natural Science Education of the Education Establishment  
“Vitebsk State P.M. Masherov University”, Vitebsk, Belarus  
Vitebsk, Belarus  
elena.danch@gmail.com;*

**Stepanova N.A.**

*Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of  
Chemistry and Natural Science Education of the Education Establishment  
“Vitebsk State P.M. Masherov University”, Vitebsk, Belarus  
nadezhda-stepanova-52@mail.ru;*

**Chirkina A.A.**

*Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Deputy Dean for Academic  
Affairs of the Faculty of Mathematics and Information Technologies of the  
Education Establishment “Vitebsk State P.M. Masherov University”,  
Vitebsk, Belarus  
channa@tut.by;*

**Altani M.S.**

*PhD student, Department of Chemistry and Science Education Vitebsk State  
Education Establishment “Vitebsk State P.M. Masherov University”,  
Vitebsk, Belarus  
morshedaltani12345@gmail.com.*

**Annotation.** *This article shows that the liquidators of the Chernobyl accident develop biochemical signs of the metabolic syndrome 10 years earlier, and the soldiers of the internationalists - 10 years later than the permanent residents of the*

*Vitebsk region. In adolescents of puberty, a positive effectiveness of physical activity has been established, but in the age period of 12-15 years, the development of metabolic disorders is possible.*

**Key words:** *metabolic syndrome; detection efficiency; metabolism during puberty*

Кафедра химии и естественнонаучного образования поздравляет кафедру биохимии Белорусского государственного медицинского университета с вековым юбилеем и желает дальнейшего развития в интересах медицины и здоровья граждан Республики Беларусь. Мы с глубоким удовлетворением отмечаем высокий уровень творческих отношений между медицинскими биохимиками кафедры биохимии БГМУ и биохимиками - не медиками ВГУ имени П.М. Машерова.

Сотрудники, аспиранты и студенты кафедры химии и естественнонаучного образования ВГУ имени П.М. Машерова исследовали биохимический статус трех когорт обследуемых лиц: участвовавших в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС, в боевых действиях в Афганистане и у подростков Витебского региона в периоде полового созревания при занятиях систематическими физическими нагрузками.

Прошло пятнадцать лет с тех пор, как были суммированы медико-биологические итоги Чернобыльской катастрофы. Исследования облученного населения представили новую важную информацию о радиационных рисках, особенно в отношении опухолей щитовидной железы после воздействия изотопов йода и некоторых других элементов. Систематические обследования чернобыльских ликвидаторов позволили установить увеличение риска лейкемии и других гематологических злокачественных новообразований, катаракты, а также предположить возможность увеличения риска сердечно-сосудистых заболеваний в результате действия низких доз радиации. Дальнейшее тщательное наблюдение за этими группами населения, а также создание и долгосрочная поддержка когорт для изучения продолжительности жизни могут по-прежнему представлять важную информацию для количественной оценки радиационных рисков и защиты лиц, подвергшихся воздействию низких доз радиации. Имеется всего несколько исследований, в которых были реконструированы оценки индивидуальных доз по отношению к нераковым эффектам ионизирующей радиации, в результате чего интерпретация результатов облучения остается сложной. Поэтому особого внимания заслуживают исследования сердечно-сосудистых и смежных заболеваний, а также катаракты у ликвидаторов, которые могут иметь важное значение для радиационной защиты [1, 2]. Исследование, проведенное в



Российской Федерации, было посвящено анализу сердечно-сосудистых заболеваний среди российских ликвидаторов. Около 60 000 мужчин со средней дозой облучения наблюдались с 1986 по 2000 г. Было выявлено статистически значимое дозозависимое повышение риска ишемической болезни сердца и цереброваскулярных заболеваний [3]. В настоящее время радиобиологами рекомендуется сосредоточиться на обследовании двух когорт лиц, пострадавших от последствий катастрофы на чернобыльской АЭС – ликвидаторы (средняя зарегистрированная дозы составляет около 100 мЗв, при этом в ряде случаев индивидуальные дозы превышают 250 мЗв) и дети с зарегистрированным изменением функции щитовидной железы [1, 4]. На наш взгляд, для оценки стрессового фактора целесообразно обследовать также представителей военизированных формирований (как и ликвидаторы) - участников боевых действий в Афганистане и обратить внимание на развитие метаболического синдрома.

Однако долгосрочные биохимические исследования на базе учебной кафедры не медицинского профиля практически невозможны из-за специфики и нормативов лабораторной работы с человеческим материалом. Поэтому для решения поставленных задач были использованы две специально организованные структуры для лабораторного анализа образцов крови. Для осуществления многолетних биохимических обследований ликвидаторов аварии на ЧАЭС, воинов-интернационалистов и постоянных жителей Витебского региона был создан Республиканский липидный лечебно-диагностический центр метаболической терапии Министерства здравоохранения Республики Беларусь. Для оценки биохимических особенностей обмена веществ у спортсменов пубертатного возраста под эгидой Областного управления здравоохранения в рамках поддержки спорта высоких достижений была создана структура, включающая кафедру химии ВГУ имени П.М. Машерова, в настоящее время кафедра химии и естественнонаучного образования, Областной диспансер спортивной медицины и Витебский Областной диагностический центр. Структура работала без дополнительного финансирования на волонтерских началах. За 9 лет было обследовано в специализированной биохимической лаборатории более 2 тысяч спортсменов. Для осуществления такой деятельности в этот период было опубликовано 6 фундаментальных учебных и практических трудов с грифами Министерства высшего образования Республики Беларусь.

Важнейшим направлением исследований была программа анализа развития метаболического синдрома, которая включала биохимический анализ образцов сыворотки крови людей по 24 биохимическим лабораторным показателям, принятым в практическом здравоохранении, а также

гормональным показателям (лептин, проинсулин, инсулин, С-пептид, трийодтиронин, кортизол и другие с помощью наборов фирмы DRG Diagnostics). Исследования гормональных показателей проводил сотрудник кафедры, доктор медицинских наук. Был создан пятиэтапный алгоритм выявления метаболического синдрома у мужчин, который включал отбор лиц по избыточной массе тела, наличию гипоальфахолестеролемии, гипергликемии, гипертриглицеридемии и верифицированной артериальной гипертензии. Этот алгоритм позволил сократить объем групп риска развития метаболического синдрома в три раза.

Установлено, что результатом радиационного воздействия у ликвидаторов является уменьшение концентрации ХС ЛПВП, повышенное содержание глюкозы и незначительное увеличение концентрации триглицеридов на фоне снижения уровня кортизола.

Были выделены отличия динамики биохимических показателей крови ликвидаторов и воинов-интернационалистов по содержанию ХС ЛПВП и ХС ЛПНП. Увеличение показателя ХС ЛПВП было тесно связано с наличием хронического стресса у воинов-интернационалистов при сохранении нормальных величин индекса Климова. В то же время у ликвидаторов повышенное значение индекса Климова и снижение уровня ХС ЛПВП было связано со стрессом и повышенной радиационной нагрузкой. Такие особенности биохимических изменений, включая инсулин-лептиновую биорегуляцию и эндогенные антиоксиданты (билирубин, мочевая кислота и другие) привели к пятикратному увеличению выявления метаболического синдрома у ликвидаторов по сравнению с воинами-интернационалистами.

На кафедре химии и естественнонаучного образования в течение последних девяти лет исследовалось состояние здоровья подростков пубертатного возраста, которые занимаются спортом. Поскольку в Витебском регионе не было радиационного загрязнения, полученные результаты могут рассматриваться как контрольные для других регионов Республики Беларусь. Аналогичные исследования проводятся в других странах, в том числе CALIPER-study в Канаде, KiGGS-программа в Германии, HELENA-study в Европе и др.

Всего в течение 2011-2019 годов наблюдалось 1245 подростков, из них 375 – женского пола и 870 подростков мужского пола. Были выявлены три группы изменений биохимических показателей: в первую группу входили показатели, поддерживаемые на постоянном уровне и обеспечивающие фундаментальные потребности роста, развития и полового созревания; во вторую группу были включены показатели, которые в процессе созревания организма закономерно увеличивались (например, мочевины, ХС ЛПНП и др.);

в третью группу входили показатели, которые уменьшались к моменту полового созревания, сигнализируя о зрелости систем (например, уменьшение активности щелочной фосфатазы при формировании скелета и системы желчевыведения). Также были выявлены биохимические показатели, которые свидетельствовали о большей чувствительности женского организма к физическим нагрузкам, по сравнению с мужским; кроме того, были обнаружены критерии возможного развития синдрома гипотрофии (RED-S) у подростков 12-15 лет, при котором они не могут преодолевать нормативные требования высоких спортивных квалификаций. В возрастной группе 16-18 лет развитие синдрома гипотрофии и метаболического синдрома не выявлено при занятиях физическими нагрузками [5].

### **Список литературы**

1. Cardis, E. The Chernobyl accident - an epidemiological perspective / E. Cardis, M. Hatch // *Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.)*. – 2011. – Vol. 23(4). – P. 251-260.
2. UN Chernobyl Forum. Health Effects of the Chernobyl Accident and Special Health Care Programmes. In: Bennett B, Repacholi M, Carr Z, editors. World Health Organisation Report of the UN Chernobyl Forum expert group “Health” (EGH) Geneva: 2006.
3. Ivanov, V.K. The risk of radiation-induced cerebrovascular disease in Chernobyl emergency workers / V.K. Ivanov [et al.] // *Health. Phys.* – 2006 – Vol. 90(3). – P. 199–207.
4. Kopecky, K.J. Childhood thyroid cancer, radiation dose from Chernobyl, and dose uncertainties in Bryansk Oblast, Russia: a population-based case-control study / K.J. Kopecky [et al.] // *Radiat. Res.* – 2006. – Vol.166(2). – P. 367–374.
5. Алтани М. С. Обмен веществ и физические нагрузки в пубертатном возрасте: монография / М.С. Алтани, Н.А. Степанова, А.А. Чиркин; под ред. проф. А.А. Чиркина. – Чебоксары: Среда, 2023. – 148 с.

## СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРЕПОДАВАНИЯ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ В МЕДИЦИНСКОМ ВУЗЕ В УСЛОВИЯХ ПРАКТИКО-ОРИЕНТИРОВАННОГО ОБУЧЕНИЯ

**Романовский И. В.**

*Профессор кафедры биоорганической химии УО «Белорусский  
государственный медицинский университет»*

*biorganchem@bsmi.by*

*romanovskyjv@gmail.com*

**Ринейская О. Н.**

*Заведующий кафедрой биоорганической химии УО «Белорусский  
государственный медицинский университет»*

*Ryneiskaya@mail.ru*

**Глинник С. В.**

*Доцент кафедры биоорганической химии УО «Белорусский государственный  
медицинский университет»*

*stanislava.glinnik@mail.ru*

**Ермоленко Е. М.**

*Старший преподаватель кафедры биоорганической химии УО «Белорусский  
государственный медицинский университет»*

*biorganchem@bsmi.by*

**Лахвич Ф. Ф.**

*Доцент кафедры биоорганической химии УО «Белорусский государственный  
медицинский университет»*

*biorganchem@bsmi.by*

**Аннотация.** Знание молекулярных основ процессов жизнедеятельности имеет основополагающую роль в подготовке врача-специалиста. Важнейшей задачей изучения курса биоорганической химии является формирование химической компетентности в системе медицинского образования, обеспечивающей последующее изучение медико-биологических и клинических дисциплин с формированием академической компетенции, основу которой составляет способность студентов к самостоятельному поиску учебно-информационных ресурсов, овладению методами приобретения и осмысления знаний о строении биологически значимых природных соединений, принципов синтеза и самоорганизации биологических макромолекул в результате совместной деятельности преподавателей и студентов в образовательном процессе.

**Ключевые слова:** биоорганическая химия; цикл естественно-научных дисциплин; компетентностный подход; практико-ориентированное обучение

**MODERN METHODOLOGICAL FEATURES OF TEACHING  
BIOORGANIC CHEMISTRY AT A MEDICAL UNIVERSITY IN THE  
CONDITIONS OF PRACTICE-ORIENTED LEARNING**

**Ramanousky I. V.**

*Professor of the Department of Bioorganic Chemistry, Belarusian State Medical  
University*

*biorganchem@bsmu.by  
romanovskyjv@gmail.com*

**Ryneiskaya V. M.**

*Head of the Department of Bioorganic Chemistry, Belarusian State Medical  
University*

*Ryneiskaya@mail.ru*

**Hlinnik S. U.**

*Associate Professor of the Department of Bioorganic Chemistry, Belarusian State  
Medical University*

*stanislava.glinnik@mail.ru*

**Yermalenka A. M.**

*Senior lecture of the Department of Bioorganic Chemistry, Belarusian State Medical  
University*

*biorganchem@bsmu.by*

**Lakhvich T. T.**

*Associate Professor of the Department of Bioorganic Chemistry, Belarusian State  
Medical University*

*biorganchem@bsmu.by*

**Annotation.** *Knowledge of the molecular basis of life processes has a fundamental role in the medical specialist training. Formation of chemical competence in the medical education with ensures the subsequent study of biomedical and clinical disciplines and formation of academic competence is the most important task of studying the course of bioorganic chemistry. Students' ability to search independently for educational and information resources, master methods of acquiring and comprehending knowledge about the structure of biologically significant natural compounds, principles of synthesis and self-organization of biological macromolecules as a result of joint activities of teachers and students in the educational process is a basis of high competence.*

**Keywords:** *bioorganic chemistry; cycle of natural-scientific disciplines; competence approach; practical-oriented training.*

Знание молекулярных основ процессов жизнедеятельности имеет основополагающую роль в подготовке врача «специалиста». Произошедшая еще в 1982 г. замена преподавания чисто органической химии в медицинских вузах

страны на биоорганическую было своевременным и обусловлено потребностями медицинской науки и практики. И хотя начавшееся преподавание биоорганической химии в учебных планах и образовательных стандартах специальностей числилось в цикле естественно-научных дисциплин, оно по сути сместилось больше в цикл медико-биологических дисциплин. Именно с этими дисциплинами оно тесно интегрируется и служит молекулярным фундаментом для изучения последующих медико-биологических, пропедевтических, гигиенических и клинических дисциплин.

Биоорганическая химия – это современная фундаментальная наука, сформировавшаяся во второй половине XX века на стыке органической химии природных соединений, биологической химии и молекулярной биологии. Она содержит систематизированные знания о структуре, изомерии (в том числе и пространственной), и механизмах функционирования биологически активных молекул как *in vitro*, так и *in vivo*. Основными объектами ее изучения являются низкомолекулярные поли- и гетерофункциональные соединения, являющиеся метаболитами и структурными компонентами биомолекул (гидрокси- и оксокислоты, аминокислоты, моносахариды, азотистые нуклеиновые основания, липиды и др.) и биорегуляторы (биогенные амины, гормоны, витамины, коферменты и т.д.) и сами биомолекулы (пептиды и белки, нуклеиновые кислоты, липиды в структуре биомембран, олиго- и полисахариды и т. д.), превращения которых составляют химическую сущность биологических процессов. В поле рассмотрения этой дисциплины находятся также синтетические или модифицированные биологически активные соединения, в том числе и лекарственные препараты, ростовые факторы, антибиотики и др.), которые регулируют обмен веществ [2, 9, 14, 15].

Целью изучения курса биоорганической химии в медицинских вузах является формирование системных представлений) о взаимосвязи между электронным строением элементов-органогенов, характером образуемых ими химических ковалентных связей, пространственным строением, термодинамической устойчивостью, химическими свойствами и функциями природных органических соединений, являющихся метаболитами и структурными компонентами биологических макромолекул [2, 3, 9, 14, 15]. Очевидно, что именно такие системные знания и умения их использовать необходимы для восприятия и понимания сути жизненных процессов на современном молекулярном уровне [4]. Именно этот молекулярный уровень служит основой, «фундаментом» для изучения процессов в живом организме на последующих клеточном, тканевом, органном, организменном, биогеоценозном и социальном уровнях [7].

Очевидно, что основной мотивацией студентов к изучению биоорганической химии должна служить значимость рассматриваемого

материала для будущей профессиональной деятельности или, по меньшей мере, для изучения последующих пропедевтических, гигиенических и клинических дисциплин, т.е. компетентностный подход с ориентацией на будущую профессиональную деятельность, что и предполагает практико-ориентированное образование. Оно должно начинаться уже с изучения дисциплин первого курса [6].

Биоорганическая химия как наука и дисциплина, изучаемая на первом курсе медицинских университетов, не стоит на месте и активно развивается, постоянно расширяется и углубляется наше понимание процессов жизнедеятельности и их регуляции. Естественно возникает дилемма как организовать обучение и усвоение все увеличивающегося объема информации.

В качестве приоритетных методов обучения на кафедре постепенно становятся те, которые направлены на формирование навыков анализа и отбора нужной информации, самостоятельной контролируемой работы (СКР) и использование компьютерных технологий для приобретения знаний. Самостоятельная работа студентов является важным способом приобретения знаний и неотъемлемой частью учебного процесса, так как будущие специалисты должны не только обладать определенным набором знаний, умений и навыков, но и уметь самостоятельно добывать информацию, приспосабливаться к новым условиям, анализировать нестандартные ситуации, обладать способностью к самообучению. СКР позволяет приобретению навыков умения учиться [5, 13].

Понятно, что и самостоятельная контролируемая работа, как вид деятельности студента при освоении дисциплины, тоже должна организовываться и направляться преподавателем через ее методическое обеспечение. Ежегодно сотрудниками кафедры готовится и издается для приобретения студентами «Практикум» по биоорганической химии для студентов различных специальностей, в том числе и для студентов, обучающихся на английском языке. Практикумы для лабораторно-практических занятий по дисциплине ежегодно пересматриваются и дополняются новыми разделами, направленными на совершенствование организации самостоятельной работы студентов и организации подготовки к занятиям. Наряду с традиционной сложившейся формой (цель занятия, литература для подготовки, вопросы для обсуждения, описание хода выполнения экспериментальных опытов и отчета по ним) были введены дополнительные разделы – письменные задания, формулировки основных понятий и тесты для самоконтроля [1, 10]. Письменные задания включают написание структурных формул и их названий по номенклатуре IUPAC, обозначение в структуре реакционных центров, описание схем механизмов протекания реакций, характера химических связей в структуре молекул и характеристику их биологической значимости. Четкие формулировки

основных терминов и понятий биоорганической химии важны как опорные пункты в формировании системных знаний по предмету. Домашнее выполнение тестов в завершении подготовки по теме позволяет студенту самостоятельно контролировать успешность усвоения темы, а преподавателю – быстро оценить самоподготовку студента. Одной из распространенных в последние годы форм контроля учебных достижений стало тестирование, в том числе и компьютерное. Преподавателями кафедры были разработаны тесты для контроля знаний по всем темам биоорганической химии. В последующем были разработаны и компьютерные варианты как обучающихся, так и контролирующих тестов для проведения итоговых занятий.

Лабораторные занятия на кафедре проводятся не только и не столько как проверка самоподготовки студента по определенной теме, а как творческое взаимодействие преподавателя и студентов. Преподаватель в процессе обсуждения материала и дискуссии общается не только с отдельным студентом, отвечающим на поставленный вопрос, но и со всей группой. Каждый студент группы при таком подходе к обсуждаемому вопросу обязан следить за ходом обсуждения, выполнять его самостоятельно в своей рабочей тетради, а при необходимости, включаться активно в его дальнейшее обсуждение и дискуссию с отвечающим студентом и преподавателем. Непосредственное живое, активное и постоянное общение преподавателя и студентов способствует более глубокому пониманию и усвоению студентами материала.

На лабораторном занятии обсуждаются более глубоко аспекты профессиональной направленности, что, на наш взгляд, способствует формированию у студентов понимания значимости обсуждаемой темы для будущей профессиональной деятельности. Вовлечение студентов в дискуссию позволяет, в конечном итоге, осуществить коррекцию знаний, осознать их необходимость для последующего обучения и будущей профессиональной деятельности. После разбора и обсуждения теоретического материала, ведущегося с использованием мультимедийных презентаций с демонстраций сложных пространственных структур на экране, 10-12 минут отводится на выполнение студентами контролирующего теста по рассматриваемой теме. Его выполнение позволяет быстро выяснять степень усвоения материала, а также мотивирует студентов активно и внимательно участвовать в обсуждении материала.

В ходе занятия предусмотрено не только обсуждение теоретического материала, но и выполнение лабораторной работы. Студенты в ходе лабораторной работы выполняют несложные качественные реакции на функциональные группы и определенные фрагменты в структуре органических соединений, а также ряд качественных реакций на определенные органические соединения, используемые в клинической лабораторной диагностике (ацетон,



глюкоза, мочева кислота, алкалоиды и др.). Это позволяет разнообразить учебную деятельность. Однако самым важным является научить студентов понимать суть выявленных в процессе выполнения опытов изменений в сопоставлении с теоретическими знаниями с последующим анализом и оформлением протокола.

Современный подход к организации образовательного и воспитательного процесса по любой дисциплине в медицинском учебном учреждении, в том числе и изучаемой на 1-м курсе биоорганической химии, требует формирования у студентов не только знаний и умений по предмету, но и формированию логического и креативного мышления [13]. О значимости креативного мышления в свое время образно выразился лауреат Нобелевской премии, венгерский биохимик Альберт Сент-Дьердьи: «Исследовать – значит видеть от, что видят все, но думать так, как не думает никто». Мы полагаем, что высказывание можно отнести и к химикам-биоорганикам, и врачам. Подготовка студентов по биоорганической химии должна быть направлена на то, чтобы за формулой молочной (2-гидроксипропановой) кислоты  $C_3H_6O_3$  они видели не только органическое соединение состоящее из углерода, кислорода и водорода, и содержащее карбоксильную и спиртовую группы, но и видели наличие в этом соединении кислотного, основного, нуклеофильного и электрофильного центров, предсказывали его способность окисляться и декарбоксилироваться, образовывать сложные эфиры и лактиды, существовать в виде энантиомеров, и что в организме участвует в метаболизме только L(S)-молочная кислота.

Преподавателями кафедры особое внимание уделялось и уделяется методическому обеспечению учебного процесса, чтобы не только организовать подготовку студентов к занятиям, обеспечить информацией, направить в нужное профессиональное русло. Студент медицинского университета, придя на студенческую скамью, заранее настроен на приобретение медицинских знаний и умений, поэтому в процессе изучения и биоорганической химии постоянно должна поддерживаться мотивация и заинтересованность студентов в изучении предмета путем создания целевых установок на будущую профессиональную врачебную деятельность, на значимость тех или иных знаний по дисциплине для понимания сути метаболических процессов. Необходимо увязывание приобретаемых по дисциплине знаний и умений со знаниями по смежным дисциплинам, а также должна осуществляться профилизация обучения на разных факультетах (медико-профилактическом, стоматологическом, лечебном и педиатрическом). С целью помощи студентам различных факультетов в овладении основами курса биоорганической химии на кафедре разрабатываются и издаются учебники и учебно-методические пособия [2, 3, 8, 11, 12].

Результатом этого задела и последующей работы коллектива кафедры и явились электронные учебно-методические комплексы (ЭУМК) по дисциплине,

для студентов различных специальностей. Они включают в себя все необходимые компоненты – учебные программы, пособия, видеолекции методические и дидактические материалы к каждому из 18 лабораторно-практических занятия, что обеспечивает учебной дисциплине единство целей обучения, содержания, дидактического процесса, организационных форм обучения и контроля приобретенных знаний. Сотрудниками кафедры проводится также большая учебно-методическая работа и по разработке примерных и учебных программ по биоорганической химии для студентов всех факультетов.

Важным разделом обучения на кафедре является учебно-исследовательская работа студентов и научно-исследовательская в активно работающем научном студенческом кружке кафедры. К этой работе привлекаются наиболее активные и способные студенты, проявившие себя как в процессе изучения биоорганической химии, так и победители Республиканских школьных олимпиад по химии, лауреаты специального фонда Президента Республики Беларусь по поддержке талантливой молодежи. Студенты выступают с докладами на заседаниях СНК, ежегодных университетских конференциях. Победители и призеры этих конференций участвуют в Республиканском смотре научных студенческих работ. Занимаясь в научных кружках, студенты развивают такие важные для будущего исследователя качества, как творческое мышление, ответственность, умение отстаивать свою точку зрения.

Анализ мировых тенденций в перепроектирования учебных программ профессионального образования, проведенный специалистами Гарвардского университета, позволил им предложить организационную четырехмерную модель компетенций, необходимых специалисту в XXI века: базовые знания и навыки, помогающие решать повседневные задачи (естественнонаучные знания, информационнокомпьютерная, культурная и гражданская грамотность); компетенции, способствующие решению более сложных задач (креативность, критическое мышление, коммуникация и умение работать в коллективе); личностные черты характера, помогающие более успешному преодолению изменений окружающей действительности (любопытность, настойчивость, инициатива, гибкость, адаптивность, лидерство, ответственность, гражданственность и культурная осведомленность) и метаобучение, т.е. «обучение умению учиться». Главное новшество такого подхода – не в презентации очередного стандартного списка того, что люди должны учить, а в создании определенного пространства, в котором деятели образования, составители образовательных программ и носители образовательных технологий и ученики смогут сами принять решение, чему следует учиться, в собственном контексте и для собственного будущего [13].

Сравнение методического обеспечения преподавания биоорганической химии в ведущем медицинском университете Беларуси – Белорусском Государственном Медицинском Университете с мировыми тенденциями, позволяет считать, что методическая работа коллектива кафедры биоорганической химии находится в тренде современных мировых подходов в совершенствовании преподавания.

### Список литературы

1. Биоорганическая химия : практикум / О. Н. Ринейская [и др.]. – 4-е изд., испр. – Минск : БГМУ, 2022. – 139 с.
2. Биоорганическая химия : учебник для вузов / И. В. Романовский [и другие]. – Минск : Новое знание; Москва : ИНФРА-М, 2015. – 504 с.
3. Биоорганическая химия : учебное пособие / О. Н. Ринейская [и другие.]. – Минск : Новое знание, 2022. – 280 с.
4. Богданов, А. А. Биоорганическая химия и молекулярная биология на химическом факультете Московского университета / А. А. Богданов // Вестник Московского Университета. – Серия 2. – Химия, 1999. – Т. 40, № 5. – С. 327–329.
5. Компетентностный подход в педагогическом образовании: Коллективная монография / под ред. проф. В. А. Козырева, проф. Н. Ф. Радионовой, проф. А. П. Тряпициной. – СПб.: Изд-во РГПУ им. А. И. Герцена, 2005. – 392 с.
6. КОНЦЕПЦИЯ развития системы образования Республики Беларусь до 2030 года [Электронный ресурс] // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь.  
URL: <https://pravo.by/document/?guid=3871&p0=C22100683> – Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь (дата обращения: 28.06.2023).
7. Литвинова, Т. Н. Фундаментальная химическая подготовка студентов медицинского вуза – важное звено процесса формирования современного врача / Т. Н. Литвинова // Современные наукоемкие технологии. – 2010. – № 10. – С. 206–208.
8. Молекулярные основы действия дезинфектантов и антисептиков : методические рекомендации / О. Н. Ринейская, И. В. Романовский. – Мн.: БГМУ, 2005. – 25 с.
9. Павловский, Н. Д. Биоорганическая химия : курс лекций для студентов факультета иностранных учащихся с русским языком обучения (специальность 1-79 01 01 "Лечебное дело") / Н. Д. Павловский, В. К. Гуца ; Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Учреждение образования "Гродненский государственный медицинский университет", Кафедра общей и биоорганической химии. – Гродно : ГрГМУ, 2018. – 174 с.

10. Ринейская, О. Н. Биоорганическая химия = Bioorganic chemistry : практикум для студентов-стоматологов / О. Н. Ринейская, Е. М. Ермоленко, С. В. Глинник. – 3-е изд., испр. – Минск : БГМУ, 2022. – 108 с.

11. Романовский, И. В. Стереохимия гетерофункциональных органических соединений : учеб.-метод. пособие / И. В. Романовский, О. Н. Ринейская; Белорус. гос. мед. ун-т, каф. биоорган. химии. – Минск : БГМУ, 2009. – 76 с.

12. Стоматологические материалы органического происхождения : учебно-методическое пособие / О. Н. Ринейская, И. В. Романовский. – Минск : БГМУ, 2020. – 28 с.

13. Фадель, Ч. Четырехмерное образование : Компетенции, необходимые для успеха / Чарльз Фадель, Майя Бялик, Берни Триллинг : Пер. с англ. – М : Издательская группа «Точка», 2018. – 240 с.

14. Филиппова, В. А. Биоорганическая химия : учеб. пособие для студентов 1 курса лечеб. фак-та, обучающихся на англ. языке, мед. вузов = Bioorganic chemistry: Teaching workbook for 1st year students of the Faculty of General Medicine, studying in English, of higher educational medical institutions / В. А. Филиппова, Л. В. Чернышева, А. В. Лысенкова. – Гомель : ГомГМУ, 2018. – 276 с. – Допущено М-вом образования Респ. Беларусь.

15. Hidranovich, L. G. Биоорганическая химия. Лабораторные занятия = Bioorganic chemistry. Laboratory classes : учеб.-метод. пособие для студентов учреждений высш. образования, обучающихся по специальности 1-79 01 01 "Лечебное дело" / L. G. Hidranovich, O. A. Khodos ; М-во здравоохранения Республики Беларусь, УО "Витебский гос. мед. ун-т". – Витебск : ВГМУ, 2019. – 232 с.