

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА ОБЩЕЙ ХИМИИ
КАФЕДРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ КАК ОСНОВА СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЫ

Тезисы докладов участников Международной научной конференции,
посвященной 75-летию
со дня рождения профессора Е. В. Барковского

(Минск, 21 мая 2021 г.)

Под редакцией В. В. Хрусталёва, А. Д. Тагановича, Т. А. Хрусталёвой



Минск БГМУ 2021

УДК 57(043.2)

ББК 28

Ф48

Редакционная коллегия: заведующий кафедрой общей химии, к.б.н., доцент В. В. Хрусталёв; заведующий кафедрой биологической химии, д.м.н., профессор А. Д. Таганович; в.н.с., к.б.н. Т. А. Хрусталёва; заведующий кафедрой медицинской и биологической физики, к.ф.-м.н., доцент М. В. Гольцев; заведующий кафедрой биоорганической химии, к.м.н., доцент О. Н. Ринейская; заведующий кафедрой биологии, к.б.н., доцент В. В. Давыдов; к.м.н., доцент А.В. Бутвиловский; к.м.н., доцент А. А. Астапов; м.м.н. В. В. Побойнев.

Физико-химическая биология как основа современной медицины : тезисы
Ф48 докладов участников Международной научной конференции, посвященной 75-летию со дня рождения профессора Е. В. Барковского (Минск, 21 мая 2021 г.) / под ред. В. В. Хрусталёва, А. Д. Тагановича, Т. А. Хрусталёвой. – Минск : БГМУ, 2021. – 388 с.

ISBN 978-985-21-0796-9.

Представленные результаты исследований относятся к области биологической химии, медицинской химии, медицинской и биологической физики, вычислительной биологии и биохимии, а также смежным вопросам медицины и фармации.

Предназначено для широкого круга научных работников.

УДК 57(043.2)

ББК 28

ISBN 978-985-21-0796-9

© УО «Белорусский государственный
медицинский университет», 2021

Хрусталёв В.В.¹, Хрусталёва Т.А.^{1,2}, Стожаров А.Н.¹

**Докторская диссертация Евгения Викторовича Барковского –
фундамент для отечественной школы структурной биохимии**

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика
Беларусь

Евгений Викторович Барковский (18.05.1946 – 26.12.2015) был врачом по образованию, биохимиком по специальности кандидатской и докторской диссертаций, специалистом в области бионеорганической и физической и коллоидной химии согласно преподаваемым дисциплинам, математиком и биофизиком по сути применяемых методов и биологом в широком смысле этого слова, так как рождение, восприятие и развитие его идей требовало и будет требовать широких и глубоких познаний в области молекулярной эволюции.

Всю свою творческую жизнь Е.В. Барковский работал в Alma Mater, руководил кафедрой общей химии с 1987 по 2015 год, служил положительным примером успешного исследователя, преподавателя и научного руководителя, был автором 9-ти монографий, 5-ти изобретений и более 400 научных трудов. Любовь и уважение со стороны студентов и коллег постоянно окружали его и заставляли брать всё новые и новые вершины в мастерстве лектора и автора учебно-методических пособий: им подготовлено 35 пособий для студентов и 15 книг для абитуриентов.

Е.В. Барковский относился к редкой когорте учёных, для которых главным в науке был момент озарения, рождения новой идеи, открытия нового направления исследований. Именно по этой причине его творчество столь многогранно, а докторская диссертация, защищённая им в 1987 году, является своеобразным инкубатором идей: некоторые из них получили достаточное развитие в трудах Е.В. Барковского и его учеников, другие ждут дальнейшей реализации в подходящий момент времени. Этот фундаментальный труд теперь доступен для изучения в электронном формате на сайте конференции chemres.bsmu.by/conf2021.html. Надеемся, что идеи, изложенные в работе, смогут вдохновить молодое поколение исследователей на покорение новых научных вершин.

Под названием докторской диссертации «Структурные основы специфичности альфа-тромбина и механизмы его лимфоцитопосредованных эффектов» скрывается роман, внутри которого существуют отдельные повести, каждая из них является основой для целого научного направления.

Концепция диссертации заключается в том, что альфа-тромбин, известный как сериновая протеаза, необходимая для образования фибрина из фибриногена, обладает множеством других регуляторных функций. Подобная концепция получила впоследствии своё развитие в отечественной биохимии, но относительно другого, ранее считавшегося монофункциональным, белка – лактоферрина.

Для установления строения альфа-тромбина Е.В. Барковскому потребовалось, ни много ни мало, создать свой собственный, единственный на тот момент в Беларуси и один из первых в мире, метод предсказания вторичной структуры белков. Эта часть работы потребовала изучения всех известных в 1980-е годы белков с известной структурой и разработки собственного вероятностного алгоритма. Этот момент можно считать зарождением структурной биохимии в нашей стране. Фактически, создание предсказательных алгоритмов – предмет биоинформатики – науки, название которой стало популярным по прошествии многих лет после защиты диссертации. Сравнение результатов предсказания вторичной структуры протромбина с экспериментальными данными, полученными впоследствии, показало справедливость разработанного Е.В. Барковским алгоритма. Формированию вторичной структуры белков посвящены поздние работы Е.В. Барковского и его учеников.

В ходе работы над докторской диссертацией Е.В. Барковский проводил выравнивание аминокислотных последовательностей белков и сравнение их в широком филогенетическом ряду. Это направление исследований (молекулярная филогенетика) было развито Е.В. Барковским в 2000-е годы, а его статьи, посвящённые данному научному направлению, стали азбукой для многочисленных отечественных специалистов в области вирусологии и бактериологии.

Положительный опыт Е.В. Барковского по использованию спектральных методов исследования для изучения структуры альфа-тромбина впоследствии вылился в создание оригинальных подходов к анализу спектров собственной флюоресценции белков и спектров комбинационного рассеяния его последователями.

Раздел диссертации, посвящённый влиянию альфа-тромбина на синтез и экскрецию ДНК лимфоцитами, поражал своей новизной экспертов и оппонентов, и продолжит удивлять её читателей. Как выяснилось в результате последующих трёх десятилетий исследований, лимфоциты в процессе активации действительно экскретируют ДНК как митохондриального, так и ядерного происхождения. Эта окисленная ДНК выступает уже не как носитель генетической информации, а как сиг-

нальная молекула для активации других лимфоцитов и полноценного развития иммунного ответа.

Рассмотренный в диссертации Е.В. Барковского вопрос о влиянии катионов кальция на процессы активации лимфоцитов стал первой ласточкой для серии работ его учеников, посвящённых проблемам металлоники.

Не обошёл вниманием Е.В. Барковский и динамику состава клеточных мембран, процесс перекисного окисления липидов, являющиеся неизменным предметом исследования отечественных специалистов в области биохимии и биофизики.

О том, какое развитие получили идеи, изложенные в докторской диссертации Е.В. Барковского, можно судить по названиям работ его учеников.

Кандидатская диссертация Пансевич Ларисы Ивановны: «Физико-химические свойства кальмодулина и роль системы кальмодулин-кальций в регуляции метаболического состояния лимфоцитов» (1993).

Кандидатская диссертация Латушко Татьяны Викторовны: «Интенсивность макромолекулярных биосинтетических процессов и перекисного окисления липидов в спленocyтах крыс при свинцовой интоксикации» (1993).

Кандидатская диссертация Ачинович Ольги Владимировны: «Структурно-функциональные свойства мембраносвязанных аденилатциклаз млекопитающих, анализ их матричных РНК и аминокислотных последовательностей» (2003).

Кандидатская диссертация Бутвиловского Александра Валерьевича: «Динамика изменений нуклеотидных последовательностей матричных РНК и аминокислотных последовательностей алкогольдегидрогеназ в процессе эволюции» (2007).

Кандидатская диссертация Хрусталёва Владислава Викторовича: «Биохимические и эволюционные аспекты мутационного давления в геномах прокариот и вирусов» (2011).

Кандидатская диссертация Хрусталёвой Татьяны Александровны: «Структурные основы специфики связывания ионов марганца (II) белками и пептидами» (2015).

Докторская диссертация Лелевича Сергея Владимировича «Молекулярные механизмы формирования алкогольной и морфиновой интоксикации» (2016).

Представителями школы Е.В. Барковского на кафедре общей химии выполняются диссертации, корни которых находятся в его докторской диссертации.

Докторская диссертация Хрусталёва Владислава Викторовича: «Стабильность структуры белков и вакцинных пептидов».

Кандидатская диссертация Побойнева Виктора Витольдовича: «Участки белков с нестабильной вторичной структурой: способ выявления, роль в патогенезе заболеваний, сопровождающихся структурными переходами».

Кандидатская диссертация Акунович Анастасии Александровны: «Эпидермальный фактор роста с аминокислотной заменой: разработка, испытание антагонистических свойств, выбор способа доставки».

Магнетизм личности Е.В. Барковского хорошо известен всем его родным, друзьям и ученикам. Ощутить его в полной мере, к сожалению, уже нельзя, но прикоснуться к нему можно читая его Magnum Opus.

В.Э. Бутвиловский, А.В. Бутвиловский

Е.В. Барковский – основатель научной школы молекулярной эволюции и филогенетики в Республике Беларусь

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Современная наука характеризуется бурным развитием молекулярной биологии, сопровождающимся широкомасштабным секвенированием генов. Накопление данных по нуклеотидным и аминокислотным последовательностям способствовало развитию молекулярной эволюции как науки. С начала 2000-х годов исследования в области молекулярной эволюции, эволюционной биохимии и биоинформатики в Республике Беларусь были начаты на кафедре общей химии Белорусского государственного медицинского университета по инициативе Лауреата Государственной премии РБ, заведующего кафедрой, доктора биологических наук, профессора Евгения Викторовича Барковского.

Первая кандидатская диссертации по данной тематике была защищена в 2003 году О.В. Ачинович «Структурно-функциональные свойства мембраносвязанных аденилатциклаз млекопитающих, анализ их матричных РНК и аминокислотных последовательностей».

Дальнейшие исследования и признанный научный успех привели к разработке 2006 году на кафедре биологии факультативного курса «Молекулярная эволюция». Курс состоял из 2-х разделов «Молекулярная эволюция как наука. Термины и теории молекулярной эволюции» и «Основные методы молекулярной эволюции». Основной целью курса было обеспечение современного уровня знаний слушателей по молекулярной эволюции, методам этой науки и основным принципам анализа полученных результатов. Курс вызвал большой интерес у студенче-

ской аудитории. Многие студенты после окончания курса провели собственные научные исследования в этой области и воплотили их результаты в тезисы, статьи и работы на Республиканский смотр-конкурс студенческих научных работ.

Под руководством Е.В. Барковского подготовлена и утверждена рабочая учебная программа факультативной дисциплины «Молекулярная эволюция», разработаны учебно-методические пособия:

1. Методы молекулярной эволюции и филогенетики – Мн.: БГМУ, 2005. – 63 с.
2. Справочник терминов молекулярной эволюции и филогенетики – Мн.: БГМУ, 2006. – 40 с.
3. Базисные методы молекулярной эволюции: учеб.-метод. пособие. – Мн.: БГМУ, 2006. – 36 с.
5. Молекулярная эволюция. Сборник задач. – Минск: БГМУ, 2007. – 24 с.
6. Молекулярная эволюция: материалы к факультативному курсу: курс лекций – Минск, БГМУ, 2009. – 72 с.
7. Бутвиловский А.В., Бутвиловский В.Э., Черноус Е.А. Руководство к практическим занятиям по факультативному курсу «Молекулярная эволюция»: практикум. – Минск: Белпринт, 2010. – 32 с.

В дальнейшем, под руководством Евгения Викторовича защищены кандидатские диссертации:

Бутвиловский А.В. – «Динамика изменений нуклеотидных последовательностей матричных РНК и аминокислотных последовательностей алкогольдегидрогеназ в процессе эволюции» (2007);

Хрусталёв В.В. – «Биохимические и эволюционные аспекты мутационного давления в геномах прокариот и вирусов» (2011);

Хрусталёва Т.А. – «Структурные основы специфики связывания ионов марганца (II) белками и пептидами» (2015).

Под руководством Е.В. Барковского подготовлены монографии:

«Основные методы молекулярной эволюции», авторы: Бутвиловский А.В., Барковский Е.В., Бутвиловский В.Э., Давыдов В.В., Черноус Е.А., Хрусталев В.В. Основные методы молекулярной эволюции – Мн.: Белпринт, 2009.

«Биохимические механизмы мутационного давления в методологии вычислительной биологии» (Хрусталев В.В., под редакцией д.б.н., проф. Барковского Е.В.) 2010.

«Репликация, транскрипция, мутационное давление» (Хрусталев В.В., под редакцией д.б.н., проф. Барковского Е.В.) 2011.

В 2011 году за цикл работ «Молекулярная эволюция генетических макромолекул и развитие вычислительной биологии в Республике Бе-

ларусь» Бутвиловский А.В., Барковский Е.В., Бутвиловский В.Э. стали Лауреатами премии НАН Беларуси.

Предложенные и разработанные Е.В. Барковским методы молекулярной эволюции являются актуальными и широко применяются исследователями в различных научных направлениях.

В настоящее время сотрудники кафедры общей химии успешно продолжают научное наследие Е.В. Барковского и готовят к защите докторскую и кандидатские диссертации.

Чиркин А.А., Балаева-Тихомирова О.М., Долматова В.В., Семенов И.О.

Роль научной школы профессора Е.В. Барковского в изучении протеолиза и его регуляции на кафедре химии и естественнонаучного образования Витебского государственного университета
УО «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова», Витебск, Республика Беларусь

В настоящее время согласно международной базе MEROPS 12.0 (<https://www.ebi.ac.uk/merops/whatsnew.shtml>) пептидазы и протеиназы (протеазы) подразделяются на семь семейств на основе природы каталитических центров: аспарагиновые – тип А (впервые описаны в 1993 г.), цистеиновые – тип С (1993 г.), сериновые – тип S (1993 г.), металло- тип М (1993 г.), треониновые – тип Т (1997 г.), глутаминовые тип G (2004 г.), аспарагин-пептид-лиазы (2010 г.). К семейству U относят неизвестные и плохо изученные протеиназы. При доклинических испытаниях и отработке лечебных технологий нарушений протеолиза обычно используются млекопитающие (крысы, кролики, собаки, свиньи, обезьяны). Однако из-за этических причин и дороговизны их применение сокращается. В то же время эксперименты на клеточных культурах не решают многие проблемы межклеточного взаимодействия в тканях организма, требуют специального оборудования, реагентов и специалистов-морфологов. Поэтому внимание исследователей привлекают простейшие многоклеточные эукариотические организмы, в которых представлены основные типы клеток, межклеточных взаимодействий, метаболизма и регуляторных систем.

Целью данной работы явился сравнительный анализ степени гомологии протеолитических ферментов у человека и легочных пресноводных моллюсков.

Материалы и методы исследования. В качестве сравниваемых животных и возможных источников получения протеолитических ферментов избраны широко распространенные в водоемах Европы легочные пресноводные моллюски – прудовик обыкновенный (*Lymnaea*

stagnalis), также катушка роговая (*Planorbarius corneus*). Ближайшим родственником последней является хорошо изученная *Biomphalaria glabrata*, в частности известен ее полный аннотированный геном. Учитывая это, был проведен сравнительный анализ гомологии протеолитических ферментов человека (*Homo sapiens*) и *Biomphalaria glabrata*. Поиск и отбор нуклеотидных последовательностей, кодирующих белки человека, осуществлялся на сервере <https://www.ensembl.org>; поиск гомологичных последовательностей для моллюсков осуществлялся на сервере <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> при помощи ресурса BLAST; описание белков для человека было взято с ресурса <https://www.uniprot.org>; парное выравнивание и сравнение последовательностей человека и моллюсков выполнено в программе MEGA 5.2.; построение 3D-структур ферментов для моллюсков осуществлялось на сервере <https://swissmodel.expasy.org> по шаблону 3D-структуры ферментов человека, найденных в банке данных трёхмерных структур белков и нуклеиновых кислот <http://www.rcsb.org>. На протяжении 5 лет обучающую, консультативную и экспертную функции по этому исследованию выполнял доцент кафедры общей химии БГМУ В.В. Хрусталева. В работе проведен анализ 75 белков, участвующих в протеолизе и его регуляции.

Результаты. Гомология ферментов по нуклеотидным последовательностям, а через дробь по аминокислотным последовательностям, у человека и легочного пресноводного моллюска при анализе не регулируемого протеолиза составляет 66-68% / 50-68%; регулируемого протеолиза – 69-76 % / 49-88%; убиквитин-подобных модификаторов – 78-83% / 32-95%; внеклеточных ферментов – 67-76% / 26-46% и внутриклеточных ферментов – 65-72% / 27-71%. Из приведенных данных следует, что наиболее консервативными по кодирующим нуклеотидным последовательностям являются убиквитин-подобные модификаторы, ферменты регулируемого протеолиза и внеклеточные ферменты, а по аминокислотным последовательностям – убиквитин-подобные модификаторы, ферменты регулируемого и нерегулируемого протеолиза. Практическое значение достаточно высокой степени гомологии протеолитических ферментов у людей и легочных пресноводных моллюсков обосновывает целесообразность формирования аквакультуры моллюсков, для получения из их тканей белковых ферментативных препаратов протеолитического действия для биофармацевтики, косметики и пищевой промышленности.

Вывод. Эволюционный консерватизм протеолитических ферментов, наличие незамкнутого кровообращения, позволяющего доставлять изучаемые субстанции из гемолимфы непосредственно к клеткам-

мишениям позволяют использовать этих животных в качестве дешевых и удобных в содержании тест-организмов.

Бутвиловский В.Э., Бутвиловская С.И.

Наш первый учитель

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Одна древняя легенда гласит, что только три профессии на Земле от Бога: врач, судья и учитель. И если врач лечит тело, судья устанавливает справедливость закона, то учитель лечит душу и воспитывает лучшие нравственные качества: честность, доброту, милосердие, уважение к закону, любовь к родителям, к Родине.

3 октября 1977 года в 8.00 у студентов I курса группы № 15 лечебного факультета состоялось первое занятие в Минском государственном медицинском институте. Семестр начинался с 1 сентября, но первый месяц студенты проводили на сельскохозяйственных работах (уборка картофеля).

Знакомство со специальностью для каждого студента начинается со знакомства с его первым учителем. От того, как пройдет эта встреча, порой зависит и дальнейшее отношение к образовательному процессу в целом.

Мы шли на практическое занятие по аналитической химии с большим количеством вопросов: кто преподаватель, что это за предмет, необходим ли он будущим врачам, как пройдет занятие и многое другое.

И вот открывается дверь и в аудиторию входит наш первый преподаватель – Евгений Викторович Барковский. В белоснежном халате, элегантный, худощавый, подтянутый, с красивой прической, с улыбкой на лице. На занятии сразу же воцарилась доброжелательная атмосфера, мы почувствовали уважение к себе, так как Евгений Викторович обращался к нам по имени и отчеству, внимательно выслушивал наши ответы, помогал при проведении лабораторных работ. Требования к нам были очень высокие, никаких ошибок быть не должно, ведь мы получали специальность врача.

Это мы потом узнали, что Евгению Викторовичу 31 год, то, что он ассистент кафедры, кандидат наук.

Мы учились осуществлять анализ различными химическими методами; обосновывать их применение; готовить растворы веществ различной концентрации; выполнять расчеты, связанные с определением концентраций растворов, производить расчет результатов анализа; осуществлять необходимую математическую обработку результатов;

проводить химический эксперимент, соблюдая требования безопасности.

Е.В. Барковский считал, что целевой аудиторией преподавателя должны быть мотивированные студенты, готовые к изучению каждой дисциплины, к собственному развитию, к преумножению знаний и к достижению новых высот на ниве медицины. Все это он стремился привить нам.

Как правило, образ первого учителя даже спустя годы легко извлекается из памяти, и образ этот детализирован: голос, аккуратный белый халат, манера стоять у доски, отношение к жизни. Евгений Викторович обладал глубокими знаниями в спектре естественно-научных и медицинских дисциплин, неисчерпаемым чувством юмора, обаянием и шармом, талантом преподавателя, был интеллигентным, любящим и знающим свой предмет, умеющим донести эти знания до своих учеников, принципиальным, справедливым в выставлении оценок, до глубины души преданным своему делу, всегда готовым прийти на помощь коллегам.

В своей последующей работе я перенимал у Евгения Викторовича много педагогических качеств и неисчерпаемое трудолюбие. Мы часто пересекались с ним на заседаниях Советов факультетов и университета, в командировках по профорientации, на научных конференциях, в приемной комиссии. В дальнейшем под руководством Евгения Викторовича разрабатывали новое научное направление в Республике Беларусь «Молекулярная эволюция», организовывали факультативный курс, готовили учебно-методические материалы для его проведения. Конечным результатом нашей работы явилась коллективная монография «Основные методы молекулярной эволюции» и премия НАН Беларуси 2011 года за цикл работ «Молекулярная эволюция генетических макромолекул и развитие вычислительной биологии в Республике Беларусь».

Первый учитель... Светлая память сохранится в наших сердцах.

А.В. Бутвиловский

Путь в науку под руководством профессора Е.В. Барковского
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Мой путь в науку начался в сентябре 1999 года, когда я, студент 1-го курса стоматологического факультета, пришел записаться в студенческий научный кружок к заведующему кафедрой общей химии Минского государственного медицинского института, профессору

Евгению Викторовичу Барковскому. Еще в колледже мне очень нравилась химия, и возник интерес к проведению научных исследований в этой отрасли науки. К тому же, я был наслышан, что профессор Е.В. Барковский – талантливый педагог, выдающийся исследователь и человек с большой буквы. Поэтому мой выбор был продуман и обоснован. Я как сейчас помню нашу первую встречу в его кабинете на третьем этаже 5-го учебного корпуса, в ходе которой я убедился в правильности принятого решения и получил свое первое задание: изучить литературу по аденилатциклазам. Первые исследования были связаны со сравнительным анализом аминокислотного состава первого типа этого фермента человека и различных животных. В то время не были доступны компьютерные программы, позволяющие сделать это в считанные секунды, и каждое исследование занимало несколько часов...

Мы уверенно шли вперед, подготовка моих первых докладов и первых тезисов под руководством Евгения Викторовича – это школа, как нужно держаться при выступлении, представлять информацию на слайдах, отвечать на заданные вопросы, формулировать цель и задачи исследования, статистически обрабатывать результаты и формулировать выводы. Все пять лет обучения я занимался в студенческом научном кружке на кафедре общей химии, пройдя путь от кружковца до его старосты. Это время запомнилось мне интересными и разноплановыми исследованиями, большим количеством выступлений и публикаций (51), включая главу «Мембраносвязанные аденилатциклазы млекопитающих: классификация, состав, строение, функция» в монографии «Биофизика живых систем: от молекул к организму» (2002). Благодаря научному руководству Евгения Викторовича в 2002, 2003, 2004 г. по результатам проведенных исследований я был удостоен звания Лауреата Республиканского смотра-конкурса студенческих научных работ и стипендиата Специального фонда Президента Республики Беларусь по поддержке одаренных учащихся и студентов.

После окончания университета в 2004 году я поступил в аспирантуру к Евгению Викторовичу, где мы начали работу по новой тематике – молекулярной эволюции алкогольдегидрогеназ. Предложенная тема научных исследований была принципиально новой в Республике Беларусь и требовалось время, чтобы научная общественность признала ее актуальность и перспективность...

Итогом трех насыщенных лет обучения стало участие в организации факультативного курса «Молекулярная эволюция» (2006), защита диссертации «Динамика изменений нуклеотидных последовательно-

стей матричных РНК и аминокислотных последовательностей алкогольдегидрогеназ в процессе эволюции» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук (2007), монография «Алкогольдегидрогеназы хордовых животных» (2007, авторы: Бутвиловский А.В., Барковский Е.В., Бутвиловский В.Э.), еще 79 научных печатных работ, стипендия Президента РБ для аспирантов (2007), Премия НАН Беларуси им. акад. В.Ф. Купревича (2008) и стипендия Президента РБ для молодых ученых (2011).

В последующем мы продолжали начатые исследования, активно публиковали их результаты, выступали с докладами, подготовили и опубликовали монографию «Основные методы молекулярной эволюции» (2009, авторы: Бутвиловский А.В., Барковский Е.В., Бутвиловский В.Э., Давыдов В.В., Черноус Е.А., Хрусталёв В.В.).

В своей дальнейшей научной работе я всегда старался следовать тем принципам, которым учил меня Евгений Викторович: честность, порядочность, принципиальность, идти вперед, несмотря ни на что, искать и находить, постоянно совершенствоваться, помогать коллегам...

И самое главное – передать эти принципы своим ученикам.

*Акишина Е.А.¹, Казак Д.В.¹, Дикусар Е.А.¹, Пушкарчук А.Л.¹,
Безъязычная Т.В.¹, Поткин В.И.¹, Солдатов А.Г.², Кутень С.А.³,
Стёпин С.Г.⁴, Низовцев А.П.⁵, Килин С.Я.⁵*

Квантово-химическое моделирование кортизон-фуллереноловых агентов терапии онкологических заболеваний

¹ГНУ «Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Республика Беларусь

²НПЦ по материаловедению НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

³Институт ядерных проблем Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь

⁴УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Витебск, Республика Беларусь

⁵ГНУ «Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

С целью терапевтического уничтожения онкологических новообразований обычно применяют химиотерапию или лучевую терапию, а в изотопной медицине – вводят в опухоль соответствующие короткоживущие радионуклиды (⁵⁹Fe, ⁹⁰Y, ⁹⁵Zr, ¹⁰⁶Ru, ¹⁴⁷Eu, ¹⁷⁰Tm, ¹⁸⁸Re, ²¹⁰Po, ²²²Rn, ²³⁰U, ²³⁷Pu, ²⁴⁰Cm, ²⁵³Es). Из-за способности вызывать в опреде-

ленных условиях гибель клеток производные фуллеренов также являются потенциальными противоопухолевыми агентами [1]. Особый интерес для терапии рака представляют эндофуллерены. Помещая изотопы в прочные фуллереновые оболочки, можно исключить риски интоксикации и радиоактивного заражения. Для повышения эффективности данных препаратов перспективным является введение в состав их молекул структурных фрагментов известных лекарственных форм, например, стероидных гормонов. Кортизон относится к глюкокортикоидным гормонам коры надпочечников. К функциям относится стимуляция синтеза углеводов из белков, угнетение лимфоидных органов, изменение метаболизма и повышение устойчивости организма к стрессу. Необходимость предварительных исследований по моделированию такого рода объектов обусловлена очень высокой трудоемкостью, стоимостью и сложностью их практического получения.

Целью настоящей работы является квантово-химическое моделирование электронной структуры и анализ термодинамической устойчивости новых эндоэдрических кортизон-фуллереноловых агентов для применения в терапии опухолевых новообразований.

Материалы и методы. В настоящей работе нами были проведены неэмпирические квантово-химические расчеты с использованием уровня теории DFT/BP86/RI/def2-SVP/D3 с применением программного пакета ORCA. Для моделирования присутствия растворителя (воды) использовалось приближение «The conductor-like polarizable continuum model» (CPCM), которое является удобным способом учета эффектов растворителя в квантово-химических расчетах. Растворитель представляет собой диэлектрическую поляризуемую сплошную среду, а растворенное вещество помещается в полость приблизительно молекулярной формы, межмолекулярное взаимодействие учитывалось с помощью D3 дисперсионной поправки Гримме (Grimme).

Результаты и обсуждение. Было проведено квантово-химическое моделирование процесса построения кластера исходя из кортизона и симметричного фуллеренола $C_{60}(OH)_{24}$, а также моделирование возможности нанокапсулирования радионуклидов и ионов во внутренние полости фуллеренола. В качестве эндоэдрических компонентов включения во внутренние сферы кортизон-фуллереноловых кластеров были выбраны – He, ^{222}Rn и галогениды щелочных металлов NaCl, KBr. Выбор именно этих супрамолекулярных объектов включения во внутренние полости фуллеренола обусловлены тем, что радионуклид ^{222}Rn являются удобными источниками терапевтического ионизирующего α -излучения, а He является модельным объектом сравнения. В частности, радон ^{222}Rn имеет период полураспада 3,82 сут с выделением

энергии 5,59 МэВ. Введение одного из ионов от NaCl, KBr приводит к существенному увеличению полярности образующихся эндоэдрических кластерных систем, что является определяющим фактором, облегчающим их проникновение через клеточные мембраны.

Выводы. Кортизонсодержащие фуллереноловые радионуклидные нанокластеры – могут оказаться перспективными для разработки на их основе нанокапсулированных радионуклидных агентов терапии онкологических заболеваний. Из полученных расчетов об устойчивости смоделированных бисфуллереновых кластеров можно сделать вывод о возможности их практической реализации.

Литература

1. Противоопухолевая активность производных фуллерена и возможности их использования для адресной доставки лекарств / М. А. Орлова [и др.] // Онкогематология. – 2013. – № 2. – С. 83–89.

*Акишина Е.А.¹, Казак Д.В.¹, Дикусар Е.А.¹, Алексеев Р.С.²,
Бумагин Н.А.², Поткин В.И.¹*

Синтез новых производных бисакридина с 1,2-азольными фрагментами

¹ГНУ «Институт физико-органической химии НАН Беларуси», Минск,
Республика Беларусь

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Российская Федерация

В настоящее время большое внимание уделяется разработке новых биологически активных субстанций акридинового ряда в связи с широким спектром биологической активности препаратов, полученных на основе данной группы соединений [1]. В фармакологии активно применяются такие препараты, как *Циклоферон*, *Акрихин*, *Амсакрин* и исследуются их различные модификации. Изоксазольный и изотиазольный гетероциклы также являются фрагментами молекул большого числа фармацевтических субстанций, например, *Лефлюномида*, *Валдекоксиба*, *Сульфаметизола*. Комбинация акридинового цикла с фармакофорными 1,2-азольными фрагментами может привести к эффекту синергизма их свойств, появлению новых, неуставленных для данных структур видов биологической активности, а также снижению выраженности побочных эффектов. Ранее нами были синтезированы производные акридина с 1,2-азольными фрагментами, некоторые из которых проявили значительную цитотоксическую активность в отношении раковых клеток LS174T [2].

Цель данной работы – синтез новых производных 3,4,8,10,11,12,13,16-октагидроакидино[4,3-с]акридин-1,9(2*H*,5*H*)-диона, содержащих изоксазольный (5-фенил-, *n*-толил, *n*-нитрофенилизоксазольный), 4,5-дихлоризотазольный гетероциклы, для дальнейшего исследования их противоопухолевой активности. Следует также отметить, что синтезируемые соединения, являясь полиазотсодержащими гетероциклическими соединениями, могут рассматриваться и в качестве потенциальных лигандов для получения комплексов переходных металлов для их последующего применения в качестве катализаторов синтеза известных лекарств (*Дифлунизал*) [3].

Материалы и методы. ИК-спектры соединений записаны на Фурье-спектрофотометре Protege-460 фирмы Nicolet с приготовлением образцов в виде таблеток с KBr. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C соединений сняты на спектрометре Avance-500 Bruker в ДМСО- d_6) относительно остаточных сигналов растворителя [ДМСО- d_6 , δH 2,5, δC 40,1 м.д.]. Элементный анализ C, H, N, S-содержащих соединений выполнялся на CHNS-анализаторе Vario MICRO cube V1.9.7. Для синтезов использовали 1,3-циклогександион, 5,5-диметилциклогексан-1,3-дион, 1,5-нафталиндиамин квалификации «чда».

Результаты и обсуждение. Трехкомпонентная каскадная конденсация ароматических аминов, альдегидов и циклических β -дикарбонильных соединений представляет собой удобный одностадийный метод синтеза полиядерных гетероциклических систем. Циклизацию проводили кипячением в бутаноле исходных компонентов в течение 24 часов. Выбор растворителя (бутанол, т.кип. 117,7°C) для проведения этой реакции был обусловлен данными квантово-химических расчетов, которые выявили незначительный эндотермический эффект каскадной трехкомпонентной конденсации (в пределах 52–68 кДж/моль) [2]. Для синтеза бисакридиновых производных с 1,2-азольными фрагментами соответствующие альдегиды (5-фенил-, *n*-толил-, *n*-нитрофенилизоксазол-3-карбальдегид и 4,5-дихлоризотазол-3-карбальдегид) и 1,3-циклодикетоны были взяты в двукратном избытке по отношению к 1,5-нафталиндиамину (2:2:1). Состав и строение синтезированных соединений доказано данными элементного анализа, ЯМР-, ИК-спектров.

Выводы. Разработан удобный одностадийный способ синтеза производных бисакридина, дополненных различными гетероциклическими фармакофорными фрагментами. Полученные соединения отправлены в Цзилиньский медицинский университет для биотестирования на противоопухолевую активность, а также в Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова для исследования их каталити-

ческой активности в составе комплексов с переходными металлами в реакциях кросс-сочетания.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (грант X20P-017) и РФФИ (грант 20-58-00005-Bel_a).

Литература.

1. Gensicka-Kowalewska, M. Recent developments in the synthesis and biological activity of acridine/acridone analogues / M. Gensicka-Kowalewska, G. Cholewinski, K. Dzierzbicka // RSC Advances. – 2017. – Vol. 7, № 26. – P. 15776-15804.
2. Синтез производных акридина, бисакридина и хинолина с 1,2-азольными, пиридиновыми и ферроценовыми фрагментами анионитами / Е. А. Акишина [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. хим. наук. – 2020. – Т. 56, № 4. – С. 445–456.
2. Isothiazoles in the Design and Synthesis of Biologically Active Substances and Ligands for Metal Complexes / A. V. Kletskov [et.al] // SYNTHESIS-STUTTGART. – 2020. – Vol. 52, № 2. – P. 159–188.

Акулич В.А., Лапцевич Н.А., Пильщиков А.К., Патапович М.П.

Роль бумажной хроматографии в определении концентрации микроэлементов в высохших каплях биологических жидкостей при лазерной абляции

УО «Белорусская государственная академия связи», г. Минск, Республика Беларусь

Патологическое состояние организма человека всегда тесно связано с изменениями содержания химических элементов в биологических жидкостях. Как макро-, так и микроэлементы оказывают огромное влияние на функционирование организма как целого и на состояние здоровья. Следовательно, особое значение приобретает разработка методов ранней диагностики нарушений накопления и распределения некоторых химических элементов и белков в биологических жидкостях человека.

Определение резкого изменения содержания элементов может быть одним из маркеров при диагностике заболеваний, что способствует рациональному и объективному проведению необходимого лечения.

Цель. Для оценки локального содержания элементов в различных точках высохшей капли биологической жидкости методами атомно-эмиссионной спектроскопии необходимо иметь в наличии стандартные образцы, адекватные реальным не только по химическому составу, но и по физическим свойствам. Для повышения чувствительности анализа была привлечена теория бумажной хроматографии, основанная на катионном обмене элементов. При добавлении осадителя можно добиться быстрого осаждения слабо растворимых неорганических соединений за счёт уменьшения размера зоны осаждения элементов и,

следовательно, увеличения интенсивности полос поглощения определяемых элементов.

В рамках данного эксперимента соответствием физическим свойствам можно считать равенство диаметра высохшей капли образца и стандарта при нанесении одинакового объема жидкости. Размер пятна существенно зависит от растворимости соли, так как чем больше растворимость соли, тем больше ее подвижность.

Материалы и методы исследования. Для определения общего содержания микроэлементов в высохших каплях биообразцов и стандартов использовался лазерный многоканальный атомно-эмиссионный спектрометр LSS-1, где источником возбуждения плазмы является двухимпульсный неодимовый лазер с регулируемой энергией и интервалом между импульсами. В ходе эксперимента предварительно были проведены исследования образцов при различных энергиях и временных интервалах между импульсами и подобраны оптимальные условия работы.

Для разработки методик и расширения возможности определения концентрации химических элементов в биообразцах в качестве осадителей для хлоридов микроэлементов были опробованы гидроксиды калия и натрия, так как основное требование, которому должен удовлетворять осадитель — реагировать с определяемым компонентом с образованием осадка с низкой растворимостью. Образцы готовили следующим образом: каплю 5%-ного водного раствора гидроокиси натрия или калия объемом 10 мкл наносили на поверхность фильтра диаметром 20 мм и высушивали в рабочих условиях. Затем поверхность высушенной капли наносили 10 мкл смеси водных растворов хлоридов смеси микроэлементов. Образцы повторно высушивали и проводили исследование пространственного распределения по диаметру бумажного фильтра микроэлементов (меди, цинка, железа) разной концентрации в спектрах высушенных капель.

Результаты. В ходе выполнения эксперимента было обнаружено, что в присутствии осадителей произошло явное сужение размера пятна, что можно объяснить образованием геля менее растворимого гидроксида каждого из микроэлементов в процессе высыхания капли. В частности, гидроокись цинка, а особенно железа имеют меньшую растворимость по сравнению с гидроокисью меди, и диаметр окружности высохшей капли для них оказался на 10-20 % меньше.

Выводы. Таким образом, предложенный метод анализа является экономичным и экспрессным, что немаловажно для расширения области практического применения спектральных методов в медицинской диагностике и повышения эффективности лечения.

Акулич В.А., Малец М.А., Патапович М.П.

Создание модельных образцов с целью выявления патологических процессов в организме человека методом лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии

УО «Белорусская государственная академия связи», г. Минск, Республика Беларусь

Новые подходы разработки методов диагностики позволяют получить дополнительную информацию, которая ранее было недоступна. Это позволяет проводить профилактику и лечение наиболее социально значимых инфекций и хронических заболеваний, связанных с генетическими причинами, нарушением обмена веществ или экзогенными факторами. Данные химического анализа позволяют сформулировать план профилактических мероприятий с учетом индивидуальных особенностей организма пациента. Определять элементный состав исследуемого биоматериала следует с помощью метода лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии.

Цель. Так как зависимость между интенсивностью линии и концентрацией элемента устанавливается опытным путем, то для определения элементного состава биообъектов применяются так называемые стандартные образцы, т.е. пробы, близкие по составу к анализируемым образцам и имеющие заранее известное содержание определяемого элемента. Надежность результатов анализа в значительной степени зависит от точно и правильно составленных эталонов. Это и является основной задачей данного исследования.

Материалы и методы исследования. Для проведения исследований использовался лазерный многоканальный атомно-эмиссионный спектрометр LSS-1. В качестве источника абляции и возбуждения приповерхностной плазмы спектрометр включает в себя двухимпульсный неодимовый лазер с регулируемой энергией и интервалом между импульсами.

Об уровне содержания химических элементов в организме человека хорошей информативностью обладают волосы. Количественное определение как макро-, так и микроэлементов в волосах дает возможность выявить наличие патологических процессов на предклинической стадии. Это очень важно для превенции многочисленных заболеваний.

Для работы с такими биообъектами, как волосы, для оценки содержания элементов по длине волос были использованы модельные системы, по форме их повторяющие – нити, на которых стандартизованы и толщина, и ширина.

При разработке методик определения количественного содержания элементов по длине волос были опробованы нити различного качества и состава, которые погружали на 20 минут в каждый из серии приготовленных нами эталонных растворов, содержащих анализируемые элементы. Образцы сушили на тефлоновой поверхности, а затем нити наклеивали с помощью двухстороннего скотча на поверхность стеклянной пластинки и покрывали слоем 1%-ного раствора полистирола в толуоле. Созданные таким способом стандартные образцы позволяют изучить зависимость интенсивности линий ряда химических элементов биологических субстратов от энергии импульса, межимпульсного интервала, параметров расфокусировки, количества возбуждающих импульсов, а также оценить условия для подбора оптимальных режимов работы.

Результаты и выводы. В ходе выполнения данного исследования было установлено, что при использовании метода лазерной атомно-эмиссионной многоканальной спектроскопии воздействие сдвоенных лазерных импульсов, сдвинутых относительно друг друга во времени, на поверхность исследуемого образца обеспечивает увеличение интенсивности спектральных линий элементов.

Данным методом были разработаны стандартные образцы для оценки локального содержания химических элементов в образцах волос по их длине и показана возможность использования методики для ретроспективной количественной оценки метаболизма жизненно необходимых элементов при диагностическом обследовании пациентов, контроле и корректировке процесса лечения.

Можно также отметить, что изменения локального пространственного содержания макро- и микроэлементов по длине волос пациентов до и после лечения дает возможность оценивать качество лечения и предусмотреть дальнейшие шаги процесса реабилитации.

Акуневич А.А.¹, Хрусталёв В.В.¹, Хрусталёва Т.А.²

Олигомерное состояние эпидермального фактора роста человека в растворе

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Эпидермальный фактор роста (ЭФР) представляет собой пептид, содержащий 53 аминокислотных остатка с общей молекулярной массой 6,4 кДа. Мономерная форма ЭФР стимулирует димеризацию и после-

дующую активацию его рецептора [1]. В то же время показано, что ЭФР способен образовывать димеры за счёт формирования межмолекулярного бета-листа в районе С-концевых остатков 44-Tyr-Arg-45 двух молекул [2]. Однако данная структура была получена для укороченного на два аминокислотных остатка по С-концу пептида при рН 8,1, что лишь косвенно отвечает на вопрос о возможности существования олигомерных форм ЭФР в растворе с физиологическим значением рН и температуры.

Цель работы — выявить наличие мономерных форм ЭФР в его растворе при рН 7,4 и температурах 20 °С, 37 °С и 50 °С.

Материалы и методы исследования. Растворы ЭФР объёмом 500 мкл с концентрацией пептида 0,05 мкг/мкл пропускали через фильтр с мембраной из восстановленной целлюлозы и размером пор 10 кДа. Фильтрование осуществляли при следующих условиях: при температуре 20 °С, после термостатирования в течение часа при 37 °С и после нагревания в течение 20 минут на водяной бане до 50 °С. Полученные фильтраты разводили до 1 мл. В качестве раствора сравнения использовался раствор ЭФР объёмом 1 мл с концентрацией пептида 0,025 мг/мл, не подвергавшийся фильтрации. Спектры флуоресценции фильтратов и раствора сравнения снимались на спектрофлуориметре Solar CM2203 в диапазоне λ_{Em} от 300 нм до 400 нм при $\lambda_{Ex} = 280$ нм и в диапазоне λ_{Em} от 305 нм до 405 нм при $\lambda_{Ex} = 295$ нм. Регистрация спектров осуществлялась с шагом 1 нм, ширина щелей составляла 2 нм.

Результаты и выводы. При λ_{Ex} равной 280 нм и 295 нм для спектров флуоресценции ЭФР характерны два пика на λ_{Em} равной 330 нм и 357 нм. При этом интенсивность флуоресценции ЭФР при $\lambda_{Ex} = 295$ нм выше (4,42 отн. ед. при $\lambda_{Em} = 330$ нм; 4,60 отн. ед. при $\lambda_{Em} = 357$ нм), чем при $\lambda_{Ex} = 280$ нм (2,45 отн. ед. при $\lambda_{Em} = 330$ нм; 2,48 отн. ед. при $\lambda_{Em} = 357$ нм). После фильтрации раствора при 20 °С характерные для ЭФР пики флуоресценции на спектре не обнаруживаются, и интенсивность спектра колеблется ниже 0,02 отн. ед. при $\lambda_{Ex} = 280$ нм и ниже 0,05 отн. ед. при $\lambda_{Ex} = 295$ нм, что составляет менее 1% от интенсивности пиков раствора сравнения. После нагревания раствора до 37 °С и его фильтрации пики флуоресценции принимают характерную для спектра ЭФР форму, однако их интенсивность остаётся малой и колеблется в пределах 0,02–0,03 отн. ед. при $\lambda_{Ex} = 280$ нм и 0,02–0,06 отн. ед. при $\lambda_{Ex} = 295$ нм, что составляет около 1,3% от интенсивности пиков раствора сравнения. После нагревания раствора до 50 °С и его фильтрации интенсивность характерных для ЭФР пиков увеличивается и составляет около 0,1 отн. ед. при $\lambda_{Ex} = 280$ нм ($\lambda_{Em} = 330$ нм и $\lambda_{Em} = 357$ нм), 0,19 отн. ед. ($\lambda_{Em} = 330$ нм) и 0,22 отн. ед. ($\lambda_{Em} = 357$ нм) при

$\lambda_{\text{Ex}} = 295$ нм, что составляет около 4,5% от интенсивности пиков раствора сравнения. Согласно полученным данным, при температуре раствора 20 °С, 37 °С, 50 °С и физиологическом значении pH ЭФР преимущественно существует в олигомерных формах, порядок которых может начинаться с димеров молекулярной массой около 13 кДа. При 20 °С и 37 °С степень диссоциации олигомеров ЭФР остаётся крайне низкой, тогда как увеличение температуры до 50 °С вызывает некоторый сдвиг в сторону образования мономерных форм.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта БРФФИ Б20М-025 от 04.05.2020 г.

Литература

1. Crystal structure of the complex of human epidermal growth factor and its dimerization / H. S. Lu, J. J. Chai, M. Li et al. // The Journal of biological chemistry. – 2001. – № 276. – P. 34913–34917.
2. Crystal structure of the complex of human epidermal growth factor and receptor extracellular domains / H. Ogiso, R. Ishitani, O. Nureki et al. // Cell. – 2002. – № 110. – P. 775–787.

Алиева А.М., Жданова А.В., Кривопалова М.А., Глубокова М.Н.

Исследование структуры гуминовых кислот пелоидов методом ЯМР ^{13}C

Самарский государственный медицинский университет, Самара, Российская Федерация

Актуально фармацевтическое использование гуминовых веществ пелоидов, формирующихся в восстановительных условиях при участии сульфатредуцирующих микроорганизмов, что отражается на их структуре и химических свойствах. Гуминовые кислоты (ГК) обладают широким спектром терапевтического действия, что подтверждается экспериментальными исследованиями последних лет. Исследование структуры ГК позволит определить особенности молекулярной структуры гуминовых кислот пелоидов. Количественная ^{13}C ЯМР – спектроскопия один из наиболее информативных методов физико-химического исследования в изучении функционального состава веществ. На основе анализа спектров (интегральных интенсивностей спектров) можно охарактеризовать функциональные группы, которые входят в состав исследуемых веществ.

Целью данного исследования было изучение структуры гуминовых кислот пелоидов методом ядерного магнитного резонанса (ЯМР ^{13}C).

Материалы и методы. Спектры ЯМР ^{13}C регистрировали на спектрометре Bruker Avance-400 (100,62 МГц) в растворе D_2O с числом накоплений $N=128$ и цифровым разрешением 0,2 Гц/т. Интегрирова-

ние осуществлялось с коррекцией базовой линии. В качестве растворителя использован 0,1 М раствор NaOD в D₂O, образцы готовили в стандартной ампуле, диаметром 5мм. Для регистрации спектров образец в количестве 20-50 мг растворяли в 30 мг 0,1М NaOD.

Результаты исследований. В спектрах ЯМР ¹³C сигналы характеризуются широкими полосами поглощения, которые обусловлены перекрыванием большого количества сигналов и плохо разрешены между собой. В силу химической гетерогенности и полидисперсности окружение атомов углерода, входящих в структуру гуминовых кислот пеллоидов весьма разнообразно. Спектры фракций характеризуются сигналами в области 29-32 м.д., соответствующими атомам углерода метиленовых групп, и в области 18-21 м.д – метильным заместителям. В спектрах наиболее выражены пики, которые можно отнести к атомам углерода первичного и вторичного характера. В интервале значений химических сдвигов 100-150 м.д. присутствуют сигналы, которые можно отнести к атомам углерода как ароматического, так и олефинового происхождения. Сигналы в спектре гуминовых кислот с химическим сдвигом 116-136 м.д., скорее всего, соответствуют углероду ароматических колец, карбоксильные атомы углерода характеризуются в спектрах всех фракций сигналом в области значений химических сдвигов 167-170 м.д. сильнополюсный сдвиг которых свидетельствует на присутствие в α-положении электроноакцепторных заместителей типа amino- и гидроксогруппы.

Выводы. Таким образом, гуминовые кислоты – фракция, содержащая ароматические и алифатические фрагменты. Карбоксильные атомы углерода характеризуются в спектрах всех фракций сильнополюсный сдвиг которых свидетельствует на присутствие в α-положении электроноакцепторных заместителей типа NH₂ или OH.

Алиева А.М., Кривопалова М.А., Катунина Е.Е.

Способ исследования равновесий в системах «ионы металлов-гумусовые кислоты»

Самарский государственный медицинский университет, Самара, Российская Федерация

Гумусовые кислоты, выделенные из низкоминерализованных иловых сульфидных грязей, характеризуются выраженной биологической активностью и находятся в стадии интенсивных исследований, как в России, так и за рубежом (1,2). В Российской Федерации препараты, включающие гумусовые кислоты, применяются только наружно, что связано со сложностью их стандартизации. Состав и физико-

химические характеристики гумусовых кислот любого происхождения зависят от многих факторов, основными из которых являются условия их формирования. Повышенное содержание гумусовых кислот в составе иловых грязей, как биологически активных компонентов, обусловлено гумификацией в условиях восстановительной среды и наибольшей увлажненности. Гумусовые кислоты являются природными полимерами и характеризуются высокими значениями молекулярных масс, нестехиометричностью состава, гетерогенностью и гетерофункциональностью. Гумусовые кислоты пелоидов можно модифицировать различными биоактивными компонентами, которые обеспечивают дополнительный терапевтический эффект. Введение в раствор гумусовых кислот ионов металлов вызывает образование их нерастворимых форм, исследование равновесий в которых является нерешенной научной задачей.

Цель исследования – создание методики исследования гетерогенных равновесий с участием высокомолекулярной субстанции - гумусовых кислотах пелоидов и ионов цинка.

Материалы и методы. Гумусовые кислоты выделялись из нативных сульфидно-иловых лечебных грязей Сергиевских источников щелочным экстрагированием с последующей очисткой от минеральных компонентов до зольности 35% (масс.). К раствору выделенных гумусовых кислот добавляли определенное количество соли нитрата цинка; при этом образовывался нерастворимый гумусонат цинка. После центрифугирования, трехкратного промывания и отделения осадка проводили трилонометрическое титрование фильтрата по тривиальной методике с целью определения содержания в нем ионов цинка. Для определения количества ионов цинка, связанных в гумусонат, осадок обрабатывали избытком раствора трилона Б с целью извлечения ионов металла; при этом гумусовые кислоты переходили в растворимую форму, и раствор приобретал коричневый цвет, что препятствует трилонометрическому анализу. Для определения концентрации ионов цинка, выделенных из осадка трилоном Б, к окрашенному раствору добавляли хлороводородную кислоту до кислотности 3-3,5. При таких условиях гумусовые кислоты осаждаются, а в фильтрате после отделения осадка определяли концентрацию ионов цинка обратным трилонометрическим титрованием, с использованием титрованного раствора соли магния.

Результаты. Анализа серии 5-ти параллельных опытов, проделанных по изложенной выше методике, показали, что количество цинка, связанного гумусовыми кислотами, в нерастворимой форме в среднем составляет 21-19% (масс.), а 79-81% (масс.) находится в равновесной

системе в свободном виде. Сходимость результатов параллельных определений находится в пределах $\pm 6,5\%$.

Таким образом, предлагаемый способ определения распределения ионов цинка в системе «осадок-раствор» вполне приемлем и может быть использована в изучении гетерогенных равновесий с участием гумусовых кислот.

Литература

1. Antiviral activity of natural humic substances and shilajit materials against hiv-1: relation to structure Zhernov Y.V., Konstantinov A.I., Perminova I.V., Zherebker A., Nikolaev E., Orlov A., Savinykh M.I., Kornilaeva G.V., Karamov E.V. // Environmental Research. 2021. T. 193. C. 110312.
2. Timothy C. Schutt, Manoj K. Shukla. Computational Investigation on Interactions between Some Compounds and Humic Substances. The Journal of Physical Chemistry A 2020, 124 (51), 10799-10807.

Антипова Т.А., Николаев С.В., Антипов П.И.

ГК-2 – дипептидный миметик 4-й петли NGF проявляет активность на клеточной модели болезни Паркинсона и увеличивает содержание BDNF

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Российская Федерация

В НИИ фармакологии имени В.В. Закусова был сконструирован и синтезирован димерный дипептидный миметик 4-й петли фактора роста нервов (NGF), гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-глутамил-L-лизина, получивший лабораторный шифр ГК-2 (Ru Patent №2410392, 2010; US Patent US 9,683,014 B2, 2017; CN Patent CN 102365294 B, 2016; Патент ЕПВ EP 2397488, 2019). Этот дипептид активировал специфический для NGF тирозинкиназный рецептор TrkA и обладал нейропротекторной активностью в экспериментах как *in vitro*, так и *in vivo* на моделях нейродегенеративных заболеваний. Для ГК-2 были также выявлены антипаркинсонические эффекты в экспериментах *in vivo* на моделях галоперидоловой каталепсии и паркинсонического синдрома, индуцированного МФТП или 6-гидроксидофамином (6-ОНДА). Болезнь Паркинсона характеризуется гибелью дофаминэргических нейронов, на которых отсутствуют TrkA рецепторы, но экспрессируются специфические для мозгового нейротрофического фактора (BDNF) рецепторы TrkB. BDNF также способен защищать нейроны от гибели и проявлять антипаркинсонический эффект. Поскольку известно, что NGF повышает экспрессию BDNF в нейронах, то мы предположили, что способность миметика NGF ди-

пептида ГК-2 проявлять антипаркинсоническую активность связана с его способностью влиять на содержание BDNF в нейронах.

Цель исследования состояла в доказательстве предположения о связи антипаркинсонического эффекта ГК-2 с индукцией синтеза BDNF.

Материалы и методы. Дипептид ГК-2 был синтезирован в отделе химии НИИ фармакологии им. В.В. Закусова. Для изучения влияния на содержание BDNF методом Вестерн-блот анализа ГК-2 использовали в конечной концентрации 10-8М, установленной в экспериментах по нейропротекторному действию этого соединения на культуре гиппокампальных клеток линии HT-22. Для исследования антипаркинсонической активности на клетках SH-SY5Y использовали ГК-2 в диапазоне концентраций 10-5 – 10-8М. В качестве положительного контроля использовали NGF в конечной концентрации 10-9М. Жизнеспособность клеток определяли с помощью МТТ-анализа. Для оценки межгрупповых различий при сравнении двух групп при обсчете результатов Вестерн-блот анализа использовали U-критерий Манна-Уитни и критерий Краскела-Уоллиса с последующим тестом по Данну (ANOVA) при обработке данных МТТ-теста. Данные считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Результы. Нейротоксин 6-ОНДА, внесенный в культуру клеток SH-SY5Y в концентрации 100 мМ, через 48 ч приводил к статистически значимому снижению их жизнеспособности. NGF в концентрации 10-9 М при добавлении за 24 ч до 6-ОНДА полностью предотвращал развитие повреждающего действия нейротоксина, а при добавлении через 24 ч после 6-ОНДА обладал 100%-ным лечебным эффектом. Дипептид ГК-2 в концентрации 10-5М, подобно NGF, проявлял статистически достоверный как профилактический, так и лечебный защитный эффект. Однако эти эффекты были менее выраженными по сравнению с эффектами полноразмерного нейротрофина. По данным Вестерн-блот анализа NGF в конечной концентрации 10-9М через 24 ч после внесения достоверно ($p \leq 0,05$) увеличивал содержание BDNF в клетках HT-22 в 1,6 раза по сравнению с контролем с $2,3 \pm 0,1$ до $3,6 \pm 0,3$ о.д.е (относительные денситометрические единицы). Дипептид ГК-2 в концентрации 10-8М также достоверно ($p \leq 0,05$) увеличивал содержание BDNF в этих же клетках в 1,4 раза по сравнению с контролем, с $2,3 \pm 0,1$ до $3,2 \pm 0,6$ о.д.е.

Выводы:

1. низкомолекулярный миметик NGF дипептид ГК-2 обладает активностью на клеточной модели болезни Паркинсона;
2. ГК-2 подобно NGF увеличивает содержание BDNF в культуре нейронов HT-22.

О формировании элементов вторичной структуры белков при рН=9

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

При повышении рН в растворе белка наблюдается закономерный сдвиг равновесия в сторону процессов депротонирования функциональных групп аминокислотных остатков. Такие процессы должны существенно влиять на возможность образования водородных связей, ионных и полярных контактов между функциональными группами. Так, депротонирование карбоксильной группы аспарагиновой кислоты лишает её возможности быть донором водородной связи, но повышает вероятность формирования ионного контакта, так как группа приобретает отрицательный заряд. Вторичная структура белка, сама по себе являющаяся результатом появления регулярных паттернов водородных связей между атомами кислорода и азота пептидных связей, образуется, в том числе, и благодаря формированию других типов контактов между аминокислотными остатками. Ответить на вопрос, насколько защелачивание среды влияет на способности аминокислотных остатков к образованию альфа-спиралей, бета-тяжей и петель, можно путём анализа трёхмерных структур белков, полученных при рН=9,0 и рН=7,4.

Цель исследования – сравнить вероятности формирования аминокислотными остатками альфа-спиралей, бета-тяжей и петель при рН=9,0 и рН=7,4.

Материалы и методы. Количество изученных негомологичных белков эукариот из базы данных Protein Data Bank, структуры которых получены при рН=9,0, составило 203. Количество негомологичных белков, структуры которых получены при рН=7,4, равно 116. Вторичная структура белков была определена с помощью метода DSSP. После расчёта аминокислотного состава альфа-спиралей, бета-тяжей и петель этих белков, были рассчитаны вероятности образования каждым остатком соответствующих элементов вторичной структуры. Вероятности сравнивали с помощью t-теста для относительных величин.

Результаты. Сравнение вероятностей образования альфа-спиралей, бета-тяжей и петель аминокислотными остатками в выборках белков, структуры которых были получены при рН=9,0 и при рН=7,4, не выявило каких-либо существенных сдвигов: преимущественно альфа-спирали образуют аланин, аргинин, глутаминовая кислота, глутамин, лейцин, метионин и лизин; преимущественно бета-тяжи образуют ва-

лин, изолейцин, треонин, триптофан, цистеин, фенилаланин и тирозин; преимущественно петли образуют глицин, пролин, серин, аспарагиновая кислота, гистидин и аспарагин. Сами по себе величины вероятностей образования элементов вторичной структуры достоверно отличались лишь в трёх случаях. Аспарагиновая кислота, оставаясь формирователем петель в обоих выборках, с достоверно более высокой вероятностью включается в бета-тяжи при $\text{pH}=9,0$, чем при $\text{pH}=7,4$. При этом общая частота использования Asp в обоих выборках одинакова. Действительно, в экспериментах с короткими пептидами было установлено, что на величину pK_a аспарагиновой кислоты существенно влияет гидрофобность микроокружения: в экспонированном состоянии $\text{pK}_a = 3,83$, в частично экспонированном $\text{pK}_a = 6,69$, в ещё менее экспонированном – $\text{pK}_a = 9,99$ [1]. Судя по этим данным, защелачивание среды может влиять, в основном, на те остатки аспарагиновой кислоты, которые окружены гидрофобными боковыми цепями, но при этом не лишены возможности взаимодействовать с растворителем. Остатки тирозина с достоверно большей вероятностью формируют петли в белках, структуры которых получены при $\text{pH}=7,4$, чем в белках при $\text{pH}=9,0$, при этом оставаясь преимущественно формирователями бета-структуры. Действительно, pK_a для гидроксильной группы тирозина находится в районе 10,5: при защелачивании происходит сдвиг в сторону его депротонирования, что способствует его включению как в альфа-спирали, так и в бета-тяжи. Остатки лейцина (формирователя альфа-спиралей), наоборот, имеют достоверно большую вероятность включения в состав петель при $\text{pH}=9,0$, чем при $\text{pH}=7,4$. Такой сдвиг может быть связан с изменением состояния других аминокислотных остатков, в частности, аспарагиновой кислоты: Asp из N-концов альфа-спиралей может депротонироваться, и первый виток спирали, содержащий остатки лейцина, может «раскручиваться», превращаясь в петлю.

Выводы. Защелачивание среды не влияет на то, какой именно элемент вторичной структуры преимущественно образует каждый аминокислотный остаток. Тем не менее, некоторые достоверные изменения вероятности образования петель при увеличении pH до 9.0 отмечены для остатков Thr и Leu, повышение вероятности образования бета-структуры – для остатков Asp.

Литература

1. Urry, D.W., Gowda, D.C., Peng, S., Parker, T.M., Jing, N., Harris, R.D. Nanometric design of extraordinary hydrophobic-induced pK_a shifts for aspartic acid: relevance to protein mechanisms. Biopolymers. – 1994. – Vol. 34. – P. 889-896.

**Анализ ИК-Фурье спектров олигосахаридов из растения
E. hissaricus, выращенных в разных условиях**

¹Институт химии им. В.И. Никитина НАН Таджикистана, Душанбе,
Республика Таджикистан

²Институт ботаники, физиологии и генетики растений НАН Таджики-
стана, Душанбе, Республика Таджикистан

Олигосахариды (ОС) – углеводы, содержащие от 2 до 10 моносахаридных остатков, а также являющиеся пищевыми продуктами с интересными питательными свойствами. Они могут естественно присутствовать в продуктах питания, в основном, во фруктах, овощах, зернах, или производятся путем биосинтеза из природных сахаров или полисахаридов [1, 2]. Некоторые результаты показывают, что ферментация ОС в слепой кишке может способствовать защите организма против рака толстой кишки: (1) повышение иммунитета и модуляция выработки муцина; (2) производство бутирата, который может играть роль в регуляции пролиферации измененных клеток, т.е. проапоптотическая активность; (3) пребиотический эффект, который может способствовать снижению активации канцерогенных молекул в толстом кишечнике [3].

Однако сведения по вопросам выделения и характеристики ОС из корнеклубней этих растений отсутствуют, что явилось **целью** данной работы.

Материалы и методы. В работе использовали корни растения Эремуруса Гиссарского (*Eremurus hissaricus* Vved.), выращенного на высокогорной биологической станции Сиякух Института ботаники, физиологии и генетики растений НАНТ (южный склон Гиссарского хребта, 2200 м над уровнем моря). Для сравнения выхода ОС также использовалось и растение *E. Hissaricus*, выращенное на экспериментальном участке в г. Душанбе (860 м над уровнем моря). Выделение основных компонентов биохимических соединений: жирно-восковая фракция, фенольные соединения, белки и азотистые соединения, водорастворимые моно- и олигосахара, полисахариды, были осуществлены согласно методам, описанным в работе [4].

Для характеристики ОС ИК-Фурье спектры высушенных образцов ОС-1 (Биостанция Сиякух) и образцов ОС-2 (г. Душанбе) были записаны с использованием спектрометра Spectrum 65 (Perkin Elmer), снабжённого приставкой НПВО (на кристаллах ZnSe). Каждый зарегистрированный спектр представляет собой среднее из 16 сканирова-

ний в диапазоне 4000 – 500 см⁻¹ с разрешением 4 см⁻¹, с учётом фонового спектра перед каждым анализом.

Результаты и выводы. В ИК-спектре олигосахаридов *E. Hissaricus*, выращенного на станции Сиёкух, наличие сильных полос при 3307, 2935, 1622, 1408, 1256, 1024, 928, 870 и 595 см⁻¹ отнесено к углеводам. В то время как в ИК-спектре олигосахаридов *E. Hissaricus*, выращенного на экспериментальном участке в г. Душанбе наблюдается небольшое смещение этих полос при 3296, 2941, 1621, 1407, 1026, 930, 874, 818, 776 и 595 см⁻¹, что указывает на отличие в формировании данных углеводов.

Полосы при 870 и 818 см⁻¹ характерны для D-маннозы, а полосы при 928 и 930 см⁻¹ характерны для глюкозы, присутствующей в олигосахаридах. В соответствии с литературными данными по другим видам растений *E. Hissaricus*, произрастающих в Российской Федерации и Иране, пик при 893 см⁻¹ характерен для β-D-маннозы и колебание на ИК-спектре при 871 см⁻¹ указывает на бета-конфигурацию сахаров в полисахаридах. Тем не менее, в случае *E. Hissaricus* первым пиком является 928 см⁻¹, а не 893 см⁻¹, что свидетельствует о существовании другой структуры полисахарида.

Полученные данные являются научной основой для дальнейших разработок условий последовательно-раздельного выделения олиго- и полисахаридных фракций из корнеклубней Эремуруса, которые могут целенаправленно использоваться в различных областях пищевой промышленности, косметологии, в медицинской и фармацевтической практике.

Литература

1. Delzenne N. M. Oligosaccharides: state of the art Proceedings of the Nutrition Society. 2003, 62, P. 177–182. DOI:10.1079/PNS2002225.
2. Costa J.R., Tonon, R.V. Cabral L., et al. A Review. ACS Sustainable Chemistry & Engineering. 2020, 8 (35), P.13112-13125. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c02087>.
3. Pool-Zobel B, Van Loo J, Rowland I & Roberfroid M.. British Journal of Nutrition. 2002, 87, Suppl. 2, P.273–281.
4. Muhidinov Z.K., Bobokalonov J.T., Ismoilov I.B., Strahan G.D., Chau H.K., Hotchkiss A.T., Liu L.S.. Food Hydrocolloids, accepted for publication. FOODHYD_ Volume 105, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105768>.

Потенциальная возможность определения концентрации пируваткиназы М2 и HIF1 α в сыворотке крови при ранней диагностике немелкоклеточного рака лёгкого

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

В связи с наблюдаемой в РБ тенденцией роста числа пациентов с онкологией легких остро поднимается тема своевременной диагностики данного заболевания. Однако существующие в настоящее время рутинные методы диагностики немелкоклеточного рака легких (НМРЛ) не позволяют выявить опухоль на ранней стадии, требуют дорогостоящего оборудования и особых навыков, не являются прогностическими и не позволяют оценить риск возникновения рецидивов.

Перспективным, легкодоступным, значительно более дешевым и на порядок более безопасным методом для постановки диагноза НМРЛ может быть исследование показателей сыворотки крови пациентов. Поиск сывороточных маркеров, которые могли бы не только диагностировать рак лёгкого, но и установить его стадию непрерывно продолжается

Цель: оценить перспективу использования определения уровня пируваткиназы М2 (РКМ2) и гипоксия индуцибельного фактора HIF1 α в сыворотке крови для диагностирования НМРЛ и дифференцировки его стадии.

Материалы и методы. В работе исследовалась сыворотка крови 89 человек, 46 из которых имели диагноз НМРЛ, 43 – составляли контрольную группу. Определение концентрации РКМ2 и HIF1 α проводилось с помощью ИФА-наборов Fine Test (КНР) на автоматическом ИФА-анализаторе Brio (Seac, Италия). Статистический анализ полученных результатов выполнен с использованием компьютерных пакетов статистических программ SPSS Statistics v23, Excel 2013 («Microsoft Office»), различия в значениях между малыми выборками оценивались по U-критерию Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. Выявлены статистически значимые различия в значениях концентраций РКМ2 в крови пациентов с НМРЛ по сравнению с контрольной группой (111,48 против 10,22 пг/мл). Обнаружена выраженная тенденция к росту концентраций данного фермента в сыворотке крови пациентов по мере усугубления тяжести заболевания: 73,16 пг/мл на второй стадии, 89,57 - на третьей и 123,61 - на четвертой стадии, соответственно, однако данное повышение не было статистически достоверным. Исследование уровня HIF1 α в сыворотке крови пациентов не обнаружило достоверных различий меж-

ду группами (0,45 пг/мл в контрольной группе, 0,52 при первой, 0,53 – второй, 0,46 – третьей и 0,45 – четвертой стадиях, соответственно).

Выводы. Измерение концентрации РКМ2 в сыворотке крови может рассматриваться как перспективный маркер НМРЛ, в то время как определение уровня HIF1 α с целью диагностики данного заболевания не является целесообразным.

Басалай А.А.

Влияние избыточного потребления модифицированных жиров растительного происхождения самками крыс линии Wistar на характер и частоту встречаемости врожденных пороков развития у потомства с индуцированным фетальным вальпроатным синдромом

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Введение больших доз вальпроевой кислоты (ВПК) животным во время беременности используется для моделирования у их потомства фетального вальпроатного синдрома (ФВС) – модель для изучения аутизма. Данное вещество является мощным тератогеном, вызывающим врожденные дефекты и пороки развития, есть сведения о связи между использованием ВПК во время беременности и риском рождения детей с неврологическими расстройствами. Проведены исследования, которые показывают, что метаболические нарушения в организме матери, вызванные алиментарными причинами (избыточный вес, ожирение, сахарный диабет), могут влиять на риск развития аутизма у потомства. Однако мало изучено сочетанное воздействие двух вышеперечисленных факторов на организм потомства.

Цель. Изучение влияния избыточного потребления модифицированных жиров растительного происхождения самками крыс на характер и частоту встречаемости врожденных пороков развития у потомства с индуцированным ФВС.

Материалы и методы. Работа проводилась на крысах линии Wistar с соблюдением правил биоэтики. Экспериментальные группы животных: «Потомство. Контроль» состояла из 60 крыс самцов, рожденных от самок, содержащихся на стандартном питании; «Потомство. ФВС» включала 31 самца с индуцированным ФВС, рожденных от самок, находившихся на стандартном питании; группа «Потомство. Жиры» насчитывала 88 самцов, рожденных от самок, получавших жировую диету; группа «Потомство. ФВС+Жиры» включала животных (самцы, n=61), с индуцированным ФВС, рожденных от самок, находившихся

на жировой диете. Для моделирования у потомства ФВС самкам на 12,5 день беременности однократно внутривбрюшинно вводилась инъекция большой дозы (600 мг/кг) натриевой соли ВПК. Жировая диета применялась у самок крыс в течение 8-ми недель до беременности, в пренатальный и ранний постнатальный период и состояла из дополнительного добавления в рацион модифицированных жиров растительного происхождения из расчета 20 % от суточной калорийности. Для выявления врожденных пороков развития проводился внешний осмотр животных от каудального до краниального отдела позвоночника.

Результаты. У крыс самцов из групп «Потомство. Контроль» и «Потомство. Жиры» врожденных пороков развития выявлено не было. В то время как у 68 % животных из группы «Потомство. ФВС» было установлено наличие врожденных деформаций хвоста (проксимального, центрального или дистального отделов), что связано с влиянием ВПК на дифференцировку и развитие хорды хвоста у плода крыс. В дальнейшем возникающие пороки развития данного органа могут приводить к нарушению физиологических процессов, связанных с балансировкой и терморегуляцией у животных. В группе сочетанного воздействия «Потомство. ФВС+Жиры» частота встречаемости врожденных пороков развития была выше, чем в группе с монофакторным влиянием натриевой соли ВПК, и составила 80 % от всех исследуемых животных. Также в данной группе выявлено наличие нескольких видов врожденных аномалий: у 75 % крыс самцов отмечалось наличие только врожденных деформаций хвоста, а у 5 % животных наблюдались как деформации хвоста, так и появление мальформаций передних конечностей или паралич задних конечностей.

Выводы. Сочетанное воздействие двух факторов – содержание самок крыс на избыточном потреблении модифицированных жиров растительного происхождения до беременности, в пренатальный и ранний постнатальный период и инъекция натриевой соли вальпроевой кислоты во время беременности – сопровождается появлением разнообразных пороков развития (мальформации передних конечностей, паралич задних конечностей) и увеличением часто встречаемых дефектов (деформации хвоста) у потомства с индуцированным ФВС.

Dielectric parameters for cell model calculation

¹Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

²Warsaw University of Technology, Warsaw, Poland

The study of the dielectric properties of erythrocytes opens up wide opportunities in assessing various pathological conditions of living organisms, in the development of new technologies in the field of medicine, virology, biotechnology [1, 2]. In such dispersed systems as cell suspensions, in which cells are distinguished by a large variety of shapes and heterogeneity of structure, it is necessary to take into account the geometric and structural factors that make up the cell membrane. Suspension of erythrocytes in blood serum is a cellular matrix system. The role of the matrix is played by the fluid surrounding the erythrocytes; each erythrocyte with a shell assigned to it from the corresponding portion of the matrix medium can be considered as an elementary cell, of which the cell suspension consists. As you know, according to the structure of their surface, all red blood cells are a heterogeneous population. Under physiological conditions, the erythrocyte is stable, which is ensured by the rate of cell formation and destruction. In conditions of pathology of various origins, the erythrocyte system is characterized by molecular and biochemical changes, which have features of both a compensatory-adaptive and maladaptive nature.

This paper presents a brief description of mathematical modeling, which describes the effective dielectric constant of a suspension of erythrocytes, for the cases of three geometric shapes, when the erythrocyte is considered as a dispersed particle. The change in the values of the dielectric constant are calculated depending on the shape of the particle, and takes into account ε_0 and ε_p – the dielectric permittivity of the matrix medium and inclu-

sions, δ – the volume fraction of inclusions, A_i – the depolarization coefficients of the particles-inclusions. To calculate the dielectric constant, the most suitable approximation model for an arbitrarily oriented particle is a suspension of balls. This approximation is accurate, since the arbitrary orientation of the particles averages the effect of their shape on the dielectric constant of the suspension. Indeed, for plates, the limiting values of the depolarization coefficients A_i are $A_i = 1$ (plate perpendicular to the field) and $A_2 = A_3 = 0$ (parallel orientation); for cylinders $A_i = 0$, (cylinders are field oriented) and $A_2 = A_3 = 1/2$. For small concentrations of erythrocytes in suspension, the maximum deviation in the dielectric constant of the suspensions associated with the cell shape is approximately 10% of the

change in dielectric constant caused by the addition of particles to the dispersed medium. The lamellar shape of the particle gives a much larger change in dielectric constant compared to the cylindrical shape. The native shape of red blood cells is an oblate ellipsoid, and they can be approximated by plates. Experimental estimate of the change in the value of the dielectric constant caused by the change in the shape of the cell from an oblate ellipsoid to a sphere of approximately 0.3 units ε for the case $\delta = 0.02$. This value is approximately 2.5 times higher than the theoretically calculated one. This may be due to the fact that we do not take into account the mutual interaction of cells with each other, as well as the interaction of cells with the environment. More research is needed to account for such interactions. It follows from the foregoing that when studying any effects on erythrocyte suspensions (which in native conditions can be approximated by flattened ellipsoids of rotation), in addition to changes in the dielectric constant of cells, it is also necessary to take into account the change in the shape of cells and their aggregation (if it takes place and the shape of aggregates differs from the shape of the original particles). The presented results can be used to study biological suspensions and colloids.

References

1. L. Batyuk and N. Kizilova, Information Processing Systems, 3 (162), 13-20 (2020).
2. C. H. Villa, A. C. Anselmo, S. Mitragotri and V. Muzykantov, Adv Drug Deliv Rev, 106, 88-103 (2016).
3. L. V. Batyuk and N. N. Kizilova, Book of Abstracts of the VIII Intern Con, Kyiv, 176-179 (2019).

Белевич Е.И., Слобожанина Е.И.

Влияние ионов лития на перераспределение фосфатидилсерина в мембранах эритроцитов человека

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
Минск, Республика Беларусь

Положительный эффект антипсихотических препаратов на основе солей лития, широко применяемых при биполярных расстройствах, связывают с его антиапоптотическим нейропротекторным действием, которое объясняют снижением уровня перекисного окисления липидов. В то же время было показано, что в высоких концентрациях ионы лития (20 мМ) усиливают передачу апоптотических сигналов. Ранее нами было выявлено, что инкубация эритроцитов в буфере, содержащем LiCl в концентрациях от 0,3 до 10 мМ, приводила к снижению жизнеспособности эритроцитов на 20 – 25 % [1, 2]. Одним из последствий снижения жизнеспособности эритроцитов может быть запуск эритроптоза – запрограммированной гибели эритроцитов, который будет

проявляться перераспределением маркерного фосфатидилсерина (ФС) в плазматической мембране и его экспонированием на поверхности эритроцитов, а также везикуляцией.

Цель работы – изучить влияние ионов лития в фармакологических и токсических концентрациях на везикуляцию и перераспределение ФС в мембранах эритроцитов.

Материалы и методы. Эритроциты доноров инкубировали со следующими концентрациями LiCl: 1 мМ (максимальная терапевтическая) и 10 мМ (токсическая) в течение 3 часов при 37°C. Экспонирование ФС во внешнем монослое липидного бислоя оценивали с помощью FITC-конъюгированного аннексина V. Измерения выполнены на проточном цитофлуориметре BD FACS Canto II (Becton Dickinson, США).

Результаты. Установлено, что инкубация эритроцитов в среде, содержащей LiCl в концентрациях 1 мМ и 10 мМ, не приводила к существенному изменению количества аннексин-V-положительных эритроцитов по сравнению с контрольными клетками. Так, в контрольных образцах число аннексин-V-положительных эритроцитов составляло $3,6 \pm 0,6\%$, а в образцах, подвергшихся воздействию 1 мМ и 10 мМ LiCl, число таких клеток составляло $2,2 \pm 0,8\%$ и $2,4 \pm 0,6\%$, соответственно. Выявлено, что в образцах эритроцитов, обработанных 1 мМ LiCl, происходило уменьшение числа FITC-аннексин-V-окрашенных везикул, тогда как при воздействии 10 мМ LiCl наблюдалось увеличение числа таких везикул по сравнению с контролем. Однако, эти различия не носили достоверный характер. Так, число аннексин-V-окрашенных везикул в контрольных образцах составляло $8,2 \pm 1,1\%$, тогда как в образцах, подвергшихся воздействию 1 мМ и 10 мМ LiCl, число таких везикул составляло $6,1 \pm 1,6\%$ и $11,2 \pm 2,8\%$, соответственно.

Выводы. Показано, что инкубация *in vitro* эритроцитов человека в среде, содержащей с 1 мМ и 10 мМ LiCl, в течение 3 ч при 37°C не приводила к статистически значимым изменениям уровня перераспределения ФС в плазматической мембране эритроцитов и не имела значимого влияния на везикуляцию клеток по сравнению с контролем. Наблюдаемое незначительное снижение числа аннексин-V-положительных эритроцитов при воздействии 1 мМ и 10 мМ LiCl и количества аннексин-V-окрашенных везикул, при воздействии 1 мМ LiCl может быть обусловлено как цитопротекторным действием лития так и прямым взаимодействием ионов лития с молекулами ФС, изменяющим сродство ФС к аннексину-V.

Литература

1. Белевич, Е.И. Влияние ионов лития на протекание свободнорадикальных процессов и жизнеспособность эритроцитов человека / Белевич Е.И., Тамашевский А.В.,

Канаш Ю.С., Гармаза Ю.М. // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения: сб. ст. V-ой Междунар. научно-практич. конф. молодых ученых и студентов, Екатеринбург, Россия, 9–10 апреля 2020 г. – Екатеринбург, 2020. – Т.2. – С. 216–220.

2. Белевич, Е.И. Влияние хлорида лития на протекание свободнорадикальных процессов в эритроцитах человека *in vitro* / Е.И. Белевич, А.В. Тамашевский, Ю.С. Канаш, Ю.М. Гармаза, Е.И. Слобожанина // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : сб. тез. докл. Междунар. науч. конф., Минск, 17-19 июня 2020 г. / Ин-т биофиз. и клет. инжн. НАН Беларуси, Белорус. гос. ун-т, Белорус. обществ. объедин. фотобиол. и биофиз. ; редкол.: И.Д. Волотовский (отв.ред) [и др.]. – Минск, 2020. – С. 105.

Билецкая Е.С., Mahfat Chalaki, Зинчук В.В.

Влияние озона на средство гемоглобина к кислороду в условиях гипоксии и модуляции системы газотрансмиттеров

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

Распространенность выраженной хронической гипоксии может достигать 15% среди населения планеты, что является стрессорным фактором, ведущим к развитию гипоксии [1]. Озон доставляет в ткани достаточное количество кислорода за счет изменения соотношения различных факторов внутриэритроцитарной системы реакции кислородсвязывающих свойств крови [2].

Цель. Изучить влияние озона на средство гемоглобина к кислороду в условиях гипоксии.

Материалы и методы. Эксперимент проводился в условиях насыщения гипоксической газовой смесью. Образцы крови (n=10) были разделены на 6 аликвот по 3 мл. В группах 2, 4, 5, 6 осуществляли обработку крови гипоксической газовой смесью (4,2% CO₂; 5,3% O₂, 90,5% N₂) на протяжении 30 минут. К аликвотам добавляли озонированный изотонический раствор хлорида натрия в объёме 1 мл (в контроль и 2-ю без озонирования) и 0,1 мл растворов, содержащих газотрансмиттеры (в 5-ю – нитроглицерин в конечной концентрации 0,05 ммоль/л, 6-ю – гидросульфид натрия в конечной концентрации 0,38 ммоль/л), в остальные группы – изотонический раствор хлорида натрия, после чего пробы перемешивались. Время инкубации составляло 60 мин. Изотонический раствор хлорида натрия барбатировался озоно-кислородной смесью, которая создавалась установкой УОТА-60-01-Медозон (Россия). Средство гемоглобина к кислороду оценивали спектрофотометрическим методом по показателю $p50_{\text{реал}}$ (pO₂ крови при 50% насыщении ее кислородом). Все показатели проверяли на соответствие признака закону нормального распределения с использо-

ванием критерия Шапиро-Уилка. С учетом этого были использованы методы непараметрической статистики с применением программы «Statistica 10.0».

Результаты. Установлено, что система газотрансмиттеров участвует в эффекте озона на кислородтранспортную функцию крови в условиях гипоксии. Показатель сродства гемоглобина к кислороду $p50_{\text{реал}}$ увеличивается в группе с озоном с 27,16 [26,26; 27,66] ($p < 0,05$) до 30,84 [27,96; 37,21] ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой. Схожая динамика изменений отмечается и по $p50_{\text{станд}}$ наблюдается рост с 26,75 [26,60; 27,00] ($p < 0,05$) в контроле до 31,95 [27; 36,8] ($p < 0,05$). Добавление озона в кровь, обработанную гипоксической газовой смесью приводит к росту $p50_{\text{реал}}$ с 30,84 [27,96; 37,21] ($p < 0,05$) до 37,90 [36,73; 39,03] ($p < 0,05$), а $p50_{\text{станд}}$ с 31,95 [27; 36,8] ($p < 0,05$) до 36,95 [36,6; 37,80] ($p < 0,05$) в сравнении с 3-ей группой (озонирование без гипоксии). Введение нитроглицерина усиливает эффект данного газа на кислородтранспортную функцию, что проявляется в росте $p50_{\text{реал}}$ и $p50_{\text{станд}}$ в сравнении с группой в которую вводился озон в условиях гипоксии. При добавлении гидросульфида натрия подобный эффект не наблюдается.

Выводы. Таким образом, результаты выполненного исследования демонстрируют, что озон в условиях гипоксии и коррекции системы газотрансмиттеров способен участвовать в процессах формирования кислородсвязывающих свойств крови. Нитроглицерин, как непосредственный донор монооксида азота, усиливает влияние данного газа на показатели сродства гемоглобина к кислороду.

Работа выполнена при финансовой поддержке международного проекта «БРФФИ–РФФИ-2020» (№ M20P-428 от 04.05.2020).

Литература

1. New aspects in the pathomechanism of diseases of civilization, particularly psychosomatic disorders. Part 2. Chronic hypoxemia and hypercapnia in the medical practice / A. Sikter, Z. Rihmer, R. Guevara // Neuropsychopharmacol Hung. – 2017. Vol. 19, № 3. – 159-169.
2. Potential Role of Oxygen-Ozone Therapy in Treatment of COVID-19 Pneumonia / A. Hernández // Am J Case Rep. – 2020. № 21. – P. 1-6. doi: 10.12659/AJCR.925849.

Биричевская Л.Л.¹, Винтер М.А.¹, Булатовский А.Б.¹, Зинченко А.И.¹,
Квасюк Е.И.²

Ферментативный синтез 6-тио-2'-дезоксигуанозина и его фосфо- липидного производного

¹ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

²Международный государственный экологический институт имени А.Д. Сахарова Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь

Лекарственные средства на основе модифицированных компонентов нуклеиновых кислот (нуклеозидов, нуклеотидов и др.) составляют одну из важнейших групп химиотерапевтических препаратов для лечения ряда тяжелых вирусных и онкологических заболеваний. К сожалению, большинство соединений, пригодных для терапии онкозаболеваний, обладают нежелательными свойствами – невысоким терапевтическим индексом, выраженными токсическими эффектами, быстрым катаболизмом в русле крови до неактивных соединений. Одним из подходов в решении этой проблемы является разработка нового поколения лекарственных препаратов («prodrugs») на основе конъюгатов нуклеозидов с липидами.

Нуклеозид 6-тиодезоксигуанозин (6TdG) относительно недавно предложен в качестве нового, перспективного соединения, проявляющего высокую противоопухолевую активность и обладающего уникальным механизмом действия на опухолевые клетки [1].

Целью данной работы являлось биокаталитическое получение 6TdG, а также его фосфолипидного производного – 5'-димиристоилфосфатидил-6-тио-2'-дезоксигуанозина (DMP-6TdG), с использованием ферментов микробного происхождения.

Материалы и методы. В работе использовали рекомбинантную ПНФазу штамма *Escherichia coli* БМ-Д6, рекомбинантную ТФазу штамма *E. coli* TDP и нативную фосфолипазу D (ФЛД) *Streptomyces netropsis* БИМ В-428Д. (Штаммы хранятся в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов).

Синтез модифицированного нуклеозида проводили в реакционной смеси объемом 100 мл, содержащей 0,1 М 2'-дезокситимидин, 0,02 М 6-тиогуанин, 0,01 М К-фосфатный буфер (pH 7,0), 50 ед/мл ТФазы и 100 ед/мл ПНФазы. Смесь инкубировали при 45 °С в течение 60 мин. Динамику процесса накопления продукта реакции в смеси оценивали путем тонкослойной хроматографии (ТСХ) в системе растворителей изопропанол/хлороформ/25% водный аммиак (10:10:1, об./об.).

Синтез фосфатидильного производного 6TdG осуществляли в двух-фазной реакционной смеси объемом 20 мл, состоящей из 6,5 мл 0,2 М натрий-ацетатного буфера (рН 6,0) с 0,1М CaCl₂ и 13,5 мл хлороформа. Реакционная смесь содержала 57 мг (200 мкмоль) нуклеозида, 250 мг (390 мкмоль) 1,2-димиристоилфосфатидилхолина и 9 мг сухого препарата ФЛД (3,6 ед. трансфосфатидилирующей активности). Реакцию вели в течение 10 ч при температуре 37 °С и постоянном перемешивании. Ход реакции контролировали при помощи ТСХ в системе растворителей хлороформ/метанол/вода (65:30:5 об./об.). Очистку целевого продукта осуществляли методом колоночной хроматографии на силикагеле в системе растворителей хлороформ/метанол в соотношении 70:30 по объему. Фракции, содержащие DMP-6TdG объединяли и упаривали с использованием роторного испарителя.

Результаты и их обсуждение. С использованием “в одном флаконе” рекомбинантных ПНФазы и ТФазы *E. coli*, выделенных из сконструированных нами ранее штаммов [2], осуществлен ферментативный синтез 6TdG из 6-тиогуанина и природного нуклеозида 2'-дезокситимидина. При этом не менее 80-90 % модифицированного основания конвертируется в целевой нуклеозид. После выделения конечного продукта из реакционной смеси и его очистки выход составил 330 мг (58 мол.% в пересчете на введенный в реакцию 6-тиогуанин). Структура полученного соединения подтверждена данными УФ-, ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии.

Фосфолипидное производное – DMP-6TdG, было получено при помощи реакции трансфосфатидилирования, катализируемой микробной ФЛД. В качестве источника фосфатидильных групп служил синтетический фосфолипид 1,2-димиристоилфосфатидилхолин. Конверсия нуклеозида 6TdG в фосфатидил-нуклеозид в реакции составила 65 мол.%. Выделение целевого соединения проводили методом колоночной хроматографии на силикагеле. Конечный выход DMP-6TdG составил 78 мг (46 мол.% в расчете на введенный в реакцию нуклеозид).

Выводы. Нами разработан ферментативный способ получения субстанции противоопухолевого нуклеозида 6TdG, отличающийся по сравнению с химическими аналогами простотой, экологичностью и высоким выходом целевого продукта. Впервые получено новое, ранее не описанное соединение – фосфолипид DMP-6TdG, предположительно способное выступать «prodrug»-формой исходного противоопухолевого нуклеозида.

Литература

1. Induction of telomere dysfunction mediated by the telomerase substrate precursor 6-thio-2'-deoxyguanosine / I. Mender [et al.] // *Cancer Discov.* – 2015. – Vol. 5, № 1. – P. 82–95.
2. Application of recombinant enzymes for the synthesis of pharmaceutically valuable nucleosides and nucleotides / D. V. Burko [et al.] // *Biotechnology in Medicine, Food-stuffs, Biocatalysis, Environment and Biogeotechnology.* – New York: Nova Science Publ., 2010. – P. 1–13.

Блоцкая Д.Н., Стубеда Н.А.

Фонд нейроактивных аминокислот в отделах головного мозга крыс на фоне энцефалопатии печёночного генеза

УО «Гродненский государственный университет имени Янки Купаль», Гродно, Республика Беларусь

Исследование специфических механизмов обмена аминокислот в различных органах, тканях (в особенности – ЦНС) и разработка способов регуляции внутриклеточного фонда этих соединений – высокоактивных регуляторов обмена веществ - одна из наиболее актуальных проблем современной фундаментальной и прикладной биохимии. При этом относительно недостаточно изучены механизмы поддержания внутриклеточной концентрации нейроактивных аминокислот, хотя и показано, что указанные процессы определяют формирование сложных патогенетических последовательностей, приводящих к поражению печени и энцефалопатии печёночного генеза

Целью настоящей работы явилось определение сдвигов в концентрациях нейроактивных аминокислот в отделах головного мозга крыс с различной функционально-метаболической ориентацией на фоне энцефалопатии печёночного генеза, индуцированной хронической алкогольной интоксикацией.

Материалы и метода. Опытная группа крыс-самцов содержалась на стандартном рационе с внутрижелудочным введением 25% раствора этанола утром и вечером в дозе 3,5 г/кг в течение 14 суток. Контролем служили 8 белых крыс-самцов гетерогенной популяции, получавшим аналогичным образом 25% раствор крахмала.

Крыс выводили из эксперимента декапитацией. Головной мозг извлекали и препарировали отделы (гипоталамус, средний мозг и стриатум) при 4 °С; Отделы мозга фиксировали и хранили до исследования в жидком азоте; Время от забоя животных до погружения тканей в жидкий азот составляло: для гипоталамуса – 40-50 с, для ствола мозга – 80-100 с, для стриатума – 140-160 с, что обеспечивало приемлемый уровень точности результатов.

Определение нейроактивных аминокислот проводили в хлорнокислых экстрактах гомогенатов отделов головного мозга. Определение свободных аминокислот проводили на ВЭЖХ-системе Agilent 1100 (НР, США) методом обращенно-фазной хроматографии с изократическим элюированием Na^+ - ацетатным буфером, содержащим ацетонитрил и тетрагидрофуран (85:3:12) при скорости потока 0,8 мл/мин, температуре 30°C после предколоночной дериватизации с о-фталевым альдегидом и 2-меркаптоэтанолом и флуориметрическим детектированием (338/425нм).

Результаты и выводы. На фоне печёночной энцефалопатии алкогольного генеза, вызванного введением этанола, в стриатуме увеличивалось содержание нейромедиатора тормозного типа глутамина, снизилась концентрация возбуждающего глутамата, что может предполагать активацию глутаминсинтетазы и нарушение превращений указанных аминокислот в глиальном и нейрональном компартментах.

Одновременно, на фоне хронической алкогольной интоксикации и печёной энцефалопатии установлено двукратное повышение содержания триптофана, что предполагает ингибирующее действие этанола на серотонинэргическую систему

Кроме того, во всех исследованных отделах мозга при алкогольном гепатите повышалось содержание тирозина, что подтверждает ингибирование дофаминовой системы при алкогольной энцефалопатии.

Результаты и выводы представленной работы, наряду с теоретическим характером, имеют практическую значимость: получены новые данные о закономерностях формирования аминокислотного дисбаланса в центральной нервной системе при патологии, индуцированной этанолом.

Борава М.І., Лахвіч Т.Т.

Даследаванне *in silico* узаемазалежнасці структура-біялагічная актыўнасць інгібітараў сінтэзу мікалавых кіслат на аснове маноз

УА «Беларускі дзяржаўны медыцынскі універсітэт», Мінск,

Рэспубліка Беларусь

Туберкулез – інфекцыйнае захворванне, якое выклікаецца *M. Tuberculosis*. На сёння галоўнай праблемай фтызіятрыі з’яўляюцца рэзістэнтныя штаммы мікабактэрый, якія ўзнікаюць у выніку мутацый у іх геноме. Так, у 2019 годзе амаль у 500000 пацыентаў быў дыягнаставан туберкулёз, устойлівы да ізіаніязіду і рыфампіцыну - лекавых сродкаў (ЛС) першай лініі. Таму пошук новых супрацьтуберкулёзных ЛС сярод іншых класаў злучэнняў можа

павысіць трываласць і якасць жыцця пацыентаў з туберкулёзам. Ферменты, якія забяспечваюць сінтэз мікаловых кіслот з'яўляюцца перспектыўнай мішэнню ў распрацоўцы супрацьтуберкулёзных ЛС. Мікалавыя кіслоты ў складзе клетачнай сценкі забяспечваюць кіслотаўстойлівасць мікабактэрыі, што дазваляе ім персіставаць ў клетках макрафагаў. KasA – ключавы фермент, які ўдзельнічае ў сінтэзе мікаловых кіслот. Апошнія, з'яўляючыся фрагментамі клеткавай сценкі *M. tuberculosis*, абараняюць бактэрыі ад уздзеяння кіслага асяроддзя, тым самым дазваляючы ім захоўвацца ў арганізме чалавека. Інгібіраванне гэтага фермента прыводзіць да парушэння сістэмы FAS-II, прадухіляючы назапашванне ланцуга тлустых кіслот [1]. Гэты механізм ляжыць у аснове дзеяння некалькіх супрацьтуберкулёзных лекавых сродкаў, у тым ліку Ізаніазіду.

У рабоце была даследавана ўзаемазалежнасць структура-біялагічная актыўнасць малекул-патэнцыйных супрацьтуберкулёзных ЛС. Іх дызайн праведзены на аснове монацукрыднага шкелету. Гэта дае магчымасць правесці даследаванне шырокага кола злучэнняў, якія, у залежнасці ад тыпу функцыяналізацыі і адноснай канфігурацыі, забяспечваюць розную афіннасць малых малекул да рэцэптара. З гэтага вынікае, што выбар аб'екта і мэты даследавання з'яўляюцца актуальнымі і практычна значнымі.

Мэта даследавання: дызайн і малекулярны докінг інгібітараў сінтэзу мікалавай кіслаты на аснове даступных для сінтэзу субстратаў монацукрыдаў.

Матэрыялы і метады. Дызайн структур выкананы з дапамогай рэсурсу ChemOffice. Выбар бялковых рэцэптараў праведзены з банка даных 3D-структур пратэінаў і нуклеінавых кіслот Protein Data Bank. Быў выбраны ланцуг А пратэіна KasA ў комплексе з малекулай паліэтыленглікаля, якая імітуе тлустыя кіслоты; код структуры – 2WGF [1]. Малекулярны докінг *in silico* праведзены пры дапамозе праграмы Dockingserver з выкарыстаннем напauмпірычнага метаду разліку PM6, метаду геаметрычнай аптымізацыі MMFF94 і метаду апрацоўкі Gasteiger пры значэнні рН 7,0. Для знаходжання аптымальнай канфармацыі ліганда з некалькімі стэрэагеннымі цэнтрамі ажыццяўлялі як найменей 100 прабегаў.

Вынікі і іх абмеркаванне. У выніку даследаванняў *in silico* адпаведных пентозам і гексазам альдонамідаў і іх аміна-аналагаў была выяўлена ўзаемазалежнасць структура-біялагічная актыўнасць (уплыў прыроды функцыянальнай групы і адноснай канфігурацыі). Так, колькасць атамаў і канфігурацыя вугляроднага шкелету, а таксама прырода тэрмінальных груп, уплываюць на афіннасць ліганда да

рэцэптара. Альтронаміды і глюконаміды паказалі найбольшую энэргію звязвання (напрыклад, значэнне $\Delta G = -10,93$ для N-трэбутьл-L-альтронаміда; $\Delta G = -11,48$ для N-бензіл-L-альтронаміда). Мы прапаноўваем структуру фармакафора, які змяшчае вугляродны шкілет з L-альтра- альбо D-глюкаканфігурацый, канцавую гідрафобную N-бензіл- альбо N-трэбутьламідную групу, а таксама (магчыма) амінагрупу ў C4 для альтра-канфігурацыі.

Высновы. Дызайн рэчываў, якія змяшчаюць прапанаваны ў даследаванні *in silico* фармакофор з альтра- і глюкаканфігурацыяй, з'яўляецца асновай для пошуку біялагічна актыўных рэчываў, патэнцыяльных ЛС для лячэння туберкулезу.

Літаратура

1. Luckner, S.R. Crystal structures of Mycobacterium tuberculosis KasA show mode of action within cell wall biosynthesis and its inhibition by thiolactomycin. / S.R. Luckner, CA. Machutta, C. Kisker // Structure (2009) 15; 17(7):1004

Борисевич С.Н.¹, Гришенкова Л.Н.², Зайтуллаева Л.Э.¹

Структура острых летальных отравлений в Республике Беларусь в 2016-2019 годах

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

²НПЦ Государственного комитета судебных экспертиз Республики
Беларусь, Минск, Республика Беларусь

По данным Всемирной организации здравоохранения, в мире непреднамеренные отравления ежегодно приводят к смерти 193 000 человек, при этом основная их часть вызывается внешними химическими воздействиями. При оценке ВОЗ структуры детской и подростковой смертности показано, что и здесь доминирующую позицию занимают внешние причины. Для снижения смертности населения необходимо целенаправленно воздействовать на ее предотвратимые причины. При разработке мероприятий по преодолению негативных последствий нужна своевременная и достоверная информация о масштабах и тенденциях явления.

В работе представлены результаты ретроспективного исследования случаев острых летальных отравлений взрослого населения и детей в Республике Беларусь за 2016-2019 годы

Цель работы – изучение частоты, структуры и динамики смерти взрослых и детей от отравлений в регионах Беларуси, городе Минске и в целом по стране в 2016-2019 годах.

Материалы и методы. Материалом для исследования явились данные журналов регистрации умерших, заключения судебно-медицинских экспертов, результаты судебно-химических исследований управлений судебно-медицинских экспертиз по г. Минску и регионам управлений Государственного комитета судебных экспертиз за 2016-2019 годы. Метод исследования – статистико-аналитический.

Результаты и их обсуждение. Диагностика отравлений, закончившихся летальным исходом, представляет собой ответственную задачу, при этом, важная роль в судебно-медицинской диагностике конкретного случая отравления принадлежит данным судебно-химического исследования. Только с использованием современных высокоточных, специфичных и чувствительных химико-аналитических методов может быть произведено определение токсикантов в биологическом объекте или вещественных доказательств с места происшествия, и сделано заключение о причине смерти.

За период с 2016 по 2019 годы в Республике Беларусь зарегистрировано всего 9266 случаев смерти от острых экзогенных отравлений. Смертельные отравления этиловым спиртом (63%) существенно опережали все другие виды отравлений и в абсолютном и в относительном показателях. Причиной 22% отравлений явился угарный газ, в большей части случаев – на фоне алкогольной интоксикации, 16% – иные химические экзогенные вещества. Структура летальных отравлений в областях аналогична общей по стране. В Минске структура отличается, и вторую позицию занимают отравления наркотическими и психотропными веществами, примерно половина из них – на фоне потенцирующего влияния алкоголя.

Из общего числа судебно-медицинских вскрытий, произведенных в названный период в связи с экзогенными отравлениями, 45 случаев – это аутопсии детей и подростков, что составило 0,5% от их общего числа.

Распределение наблюдений случаев детской смерти по видам отравляющих веществ выглядит следующим образом: смертельные отравления угарным газом (28 наблюдений, 62,2%) существенно опережают все другие виды отравлений; меньшее количество таких отравлений в г. Минске, в сравнении с регионами, вероятно, объясняется особенностями теплоснабжения, более высокой доступностью и качеством оказания специализированной медицинской помощи. Причиной семи (15,6%) таких отравлений явились лекарственные средства, преимущественно действующие на сердечно-

сосудистую систему, трех (6,7%) – этиловый алкоголь. За этот период имели место: 2 случая смертельных отравлений при попадании в организм других спиртов и суррогатов алкоголя, 2 случая отравлений средствами бытовой химии, 1 случай отравления сельскохозяйственными ядами, а также 2 случая произошли под действием «прочих» токсикантов, которые объединяют соли тяжелых металлов, цианиды, стрихнин и другие. Структура детских летальных отравлений по виду токсиканта в регионах Беларуси аналогична общей по стране.

Следует отметить положительную динамику количества отравлений. В изучаемый период наблюдается снижение числа летальных отравлений детей: от 16 – в 2016 году, к 13 случаям в 2017 году, 12 отравлениям – в 2018 году и 4 случаям в 2019 году, что может свидетельствовать об определенной эффективности комплекса мероприятий по их профилактике.

Бурлака А.П.¹, Ганусевич И.И.¹, Бурлака А.А.², Лукин С.Н.¹

Супероксид- и NO-зависимые механизмы формирования метастатического микроокружения отдаленных сайтов метастазирования больных колоректальным раком

¹Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев, Украина

²Национальный институт рака МОЗ Украины, Киев, Украина

Установлено, что хронические заболевания печени связаны с накоплением повреждений в митохондриях, так как они координируют метаболизм углеводов, липидов и белков, а также играют ключевую роль в выживании гепатоцитов, выступая медиаторами апоптоза и некроза. Длительное влияние нерегулируемых уровней супероксидных радикалов (СР) и NO является одним из основных факторов развития и прогрессирования онкологических заболеваний. Целью работы было изучение уровней молекул, формирующих редокс-состояние тканей у больных с метастазами (М) в печень. Объект и методы исследования. Исследовалась ткань метастазов (ТМ); ткань печени (ТП), которая контактирует с М; ТП, отобранная на расстоянии 5 см от М; моча и нейтрофилы крови 183 больных колоректальным раком (КРР), которым проведено хирургическое лечение по удалению первичной опухоли и метастазов в печени. Контролем служила ТП (биопсийный материал) пациентов с доброкачественными новообразованиями печени, которые не получали химиотерапию, без гепатита и других заболеваний печени в анамнезе. Также исследовали образцы крови и мочи

больных КРР (n=12) категории M₀ (5 больных II стадии заболевания и 7 больных III стадии, категории N₁₋₂). Группы больных сопоставимы по возрасту (32-56 лет). Уровни CP, NO регистрировали методом ЭПР с использованием технологии Spin Traps. Состояние электронтранспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий, редокс-цикла эндоплазматического ретикулума (CYP 1A2, CYP1B1), уровни лактоферрина (ЛФ) и «свободного железа» (СЖ) оценивали методом ЭПР при температуре 77К. Состояние межклеточного матрикса оценивали по активности ММП-2 и -9 методом зимографии в полиакриламидном геле. Результаты и их обсуждение. В митохондриях ткани М, а также ТП, прилегающей к М и отобранной на расстоянии 5 см от М, выявлены дефекты в ЭТЦ, которые вызывают дисфункцию митохондрий, нарушение транспорта электронов и генерирование CP. Ткань М и ТП, которая контактирует с ним, характеризуются активацией источников генерирования CP и NO, а также активности ММП-2 и ММП-9 по сравнению с показателями ТП на расстоянии 5 см от М. В изученных тканях больных КРР выявлено снижение активности низкоспиновой формы цитохрома P-450 и его изоформ CYP 1A2 и CYP1B1, а также возрастание CP и NO-генерирующей активности нейтрофилов, уровней ЛФ и СЖ. Считаем, что формирование метастатического микроокружения в ТП обеспечивают, с одной стороны, CP и NO, которые продуцируются митохондриями, NOX и iNOS нейтрофилов и активация ММП, а с другой - возрастанием уровней ЛФ и СЖ, которые являются сигналами активации пролиферативных процессов в клетках. Молекулярные нарушения редокс-состояния оперированной ТП могут вызвать полиорганную недостаточность у больных КРР, которая является результатом супероксид- и NO-зависимых повреждающих реакций при ответе органа на резекцию. Полученные результаты редокс состояния ТП, оперированной по поводу удаления М КРР, могут быть использованы для оценки функционального состояния органов отдаленного метастазирования, рисков возникновения послеоперативных рецидивов и усовершенствования терапевтических подходов.

Анализ сохранности покрытий из стеклоиономерных цементов при менеджменте кариеса дентина временных зубов путем его приостановления

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Стеклоиономерные цементы (СИЦ) являются перспективной группой материалов для менеджмента кариеса временных зубов путем его приостановления. Для этой цели предложено использование материала «Vitrebond» («3М») [2], в последующем разработаны СИЦ «Clinpro XT Varnish» («3М») и «Ketac Universal» («3М»), обладающие улучшенными свойствами. Актуальность настоящего исследования связана с тем, что в литературе отсутствуют данные о сохранности покрытий из СИЦ, применяемых для приостановления кариеса дентина временных зубов.

Цель: проанализировать сохранность покрытий из СИЦ, применяемых для приостановления кариеса дентина временных зубов.

Материалы и методы. Проведена мотивация родителей 73 детей с выдачей рекомендаций по гигиене полости рта, режиму употребления углеводов, подавлению активности кариесогенной микрофлоры и последующее лечение кариеса дентина временных зубов методами приостановления. В группе 1 (n=55) приостановление кариеса временных зубов классов III и V по Блэку проводили путем нанесения покрытия из «Clinpro XT Varnish» («3М»). В группы 2 (n=35) и 3 (n=31) включены кариозные полости класса I по Блэку, протокол лечения предусматривал удаление нависающих краев эмали ручными инструментами и аппликации «Clinpro XT Varnish» («3М») [1] и «Ketac Universal» («3М»), соответственно. В случае выпадения или скола материала проводились его повторные нанесения. Длительность наблюдения составила 18 месяцев.

Результаты. В группе 1 за период наблюдения полная сохранность покрытия отмечена в 31 случае (56,36%), что статистически значимо отличалось от группы 2 (27 случаев, 77,14%, $\chi^2=4,0$; $p<0,05$) и группы 3 (26 случаев, 83,87%, $\chi^2=6,7$; $p<0,01$). В группе 1 выпадения покрытия за 18 месяцев (n=21, 38,18%) происходили в большем числе кариозных очагов, чем в группе 2 (n=7, 20,00%, $\chi^2=5,3$; $p<0,05$) и в группе 3 (n=5, 16,13%, $\chi^2=6,7$; $p<0,01$). По данным параметрам (полная сохранность и выпадение покрытия) отличия между группами 2 и 3 не обнаружены.

Поскольку оригинальная методика использования СИЦ для приостановления кариеса учитывает возможность выпадения материала и его

своевременное повторное нанесение [2], то интерес представляет оценка частоты этого осложнения. Общее число случаев выпадений покрытия в группе 1 составило 51 (в среднем 0,93 на кариозный очаг), в группе 2 – 11 (0,31) и в группе 3 – 5 (0,14). За время наблюдения сколы покрытия в группе 1 произошли в 5 кариозных очагах (9,09%), в группе 2 – в 2 (8,57%), в группе 3 – сколы покрытия не зафиксированы (статистически значимые отличия между группами отсутствовали). В группе 1 зафиксированы 9 случаев сколов покрытия (в среднем 0,16 на кариозный очаг) и в группе 2 – 3 (0,09).

Заключение. Полная сохранность покрытия «Clinpro XT Varnish» была отмечена в 56,36% кариозных поражений классов III и V по Блэку, что статистически значимо отличалось от его сохранности в полостях класса I по Блэку (77,14%, $p < 0,05$) и сохранности покрытия из «Ketac Universal» в кариозных очагах на жевательной поверхности (83,87%, $p < 0,01$).

Литература

1. Терехова, Т.Н. Научное обоснование применения модифицированного стеклоиономерного цемента “Clinpro XT Varnish” для приостановления кариеса временных зубов / Т.Н. Терехова, А.В. Бутвиловский // Вестник СГМА. – 2018. №3. – С. 141-146.
2. Raadal M., Interceptive versus restorative caries therapy in preschool children / M. Raadal // Eur. J. Paediatr. Dent. – 2000. Vol. 1 (1). – P. 31-33.

Бутвиловский А.В., Терехова Т.Н., Колб А.В., Бутвиловский В.Э.

Сравнительный анализ цветового расстояния при различных способах применения фторида диамминсеребра

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Применение фторида диамминсеребра (ФДС) для приостановления кариеса временных зубов характеризуется высокой клинической эффективностью, но при этом наблюдается окрашивание обработанных тканей зуба, что определяет неудовлетворительный эстетический результат лечения [1]. Для минимизации окрашивания зубов при аппликациях ФДС предложены различные способы его применения в сочетании с йодидами (10%-ным раствором повидон-йода [2] и насыщенным раствором йодида калия [3]), однако сравнительный анализ изменения цвета зубов при их использовании не проводился, что определяет актуальность настоящего исследования.

Цель: проанализировать цветовое расстояние при различных способах применения ФДС.

Материалы и методы. Удаленные резцы верхней челюсти, имеющие кариозные полости средней глубины, очищали щеточкой с пастой без фтора, промывали водой и высушивали. Затем с помощью спектрофотометра «Vita EasyShade Advance» («Vita Zahnfabrik») определяли цвет изучаемых поверхностей с фиксацией параметров L (светлота; 0 – черный, 100 – белый), а (положение цвета в плоскости от зеленого до красного) и b (положение цвета в плоскости от синего до желтого). В группе №1 (n=10) наносили аппликатором 38%-ный раствор ФДС («Аргенат однокомпонентный», «ВладМиВа») на 30 секунд, в группе №2 (n=11) – после нанесения раствора ФДС проводили аппликацию 10%-го раствора повидон-йода («Бетадин», «EGIS») на ватном тампоне в соотношении 3:110, в группе №3 (n=11) – после нанесения раствора ФДС проводили аппликацию на ватном тампоне насыщенного раствора KI. Далее зубы помещали в физиологический раствор на 7 суток (24 часа пребывания на свету), затем проводили повторное определение цвета. Цветовое расстояние (ΔE) определяли по формуле цветового отличия [4].

Результаты. Установлено, что в группе 1 цветовое расстояние составило 31,13 (26,00-41,44), что свидетельствует о значительном изменении цвета. По сравнению с группой 1 в группе 2 цветовое расстояние было меньше на 65,44% (10,76 (5,10-20,77)), в группе 3 – меньше на 80,95% (5,93 (4,17-9,96)), что подтверждает меньшее изменение цвета зуба при сочетанном применении ФДС и йодидов. При апостериорных сравнениях зафиксированы 2 случая $p < p_{\text{крит}}$: при сравнении группы 1 с группой 2 ($z=3,096$; $p=0,002$) и с группой 3 ($z=4,072$; $p<0,002$), при этом различия между группами 2 и 3 не были статистически значимыми ($p>0,05$).

Выводы. При изолированном применении ФДС на кариозном дентине временных зубов происходит значительное изменение их цвета ($\Delta E=31,13$). При последовательных аппликациях ФДС с 10%-ным раствором повидон-йода цветовое расстояние статистически значимо меньше (по сравнению с нанесением только ФДС) на 65,44%, при последовательных аппликациях ФДС с насыщенным раствором KI – статистически значимо меньше на 80,95%.

Литература

1. Терехова, Т.Н. Возможности применения препаратов фторида диамминсеребра в детской стоматологии / Т.Н. Терехова, А.В. Бутвиловский, Ж.М. Бурак // Современная стоматология. – 2009, №1. – С. 57-59.
2. Терехова, Т.Н. Способ приостановления карнеса зубов с помощью фторида диамминсеребра / Т.Н. Терехова, А.В. Бутвиловский, В.В. Хрусталеv // Современная стоматология. – 2019, №3. – С. 28-30.

3. Craig, G.G. Clinical evaluation of diamine silver fluoride/potassium iodide as a dentine desensitizing agent. A pilot study / G.G. Craig, G.M. Knight, J.M. McIntyre // Aust. Dent. J. – 2012. Vol. 57 (3). – P. 308–311.
4. Mokrzycki, W. Color difference Delta E – A survey / W. Mokrzycki, M. Tatol // Machine Graphics and Vision. – 2011. Vol. 20. – P. 383–411.

Бутов Д.А.¹, Бутова Т.С.²

Особенности содержания миелопероксидазы нейтрофилов у больных с туберкулезом легких

¹Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, Украина

²Мерефянская центральная районная больница, Мерефа, Украина

Туберкулез (ТБ) остается одной из самых актуальных проблем во всем мире и в том числе в Украине. Согласно современным представлениям об ТБ, фагоцитоз является одним из ключевых звеньев в защите организма от микобактерий туберкулеза. Фагоцитирующие клетки играют одну из ведущих ролей в клеточной взаимодействии, переработке и представлении антигена при туберкулезной инфекции. Все разнообразные изменения в состоянии систем гуморально-клеточной регуляции первично являются реакциями защиты, адаптации или компенсации, но, в то же время, течение и завершение заболевания во многом зависят от синтеза, действия цитотоксических факторов фагоцитов. Многочисленные исследования последних лет посвящены роли фагоцитирующих клеток в механизмах ТБ. Однако многие вопросы, связанные с взаимосвязью фагоцитоза и миелопероксидазы при ТБ, остаются открытые.

Целью нашего исследования было изучить особенности содержания миелопероксидазы (МП) в нейтрофилах (НФ) относительно здоровых людей и больных с впервые диагностированным деструктивным туберкулезом легких (ТБЛ) до лечения и после месяца стандартной противотуберкулезной терапии.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находилось 31 больной с ТБЛ (основная группа) и 29 практически здоровых доноров (контрольная группа). У всех больных наблюдался инфильтративный ТБ. Исследование проведено на мазках капиллярной крови. Мазки крови были крашенные методом Грэхема-Кноллюя. Количественный анализ проводился с использованием микроскопа «Axiostar plus» (Ziess, Германия) с морфометрией и с помощью программного обеспечения микроскопа (ВидеоТест, Российская Федерация).

Результаты. В группе относительно здоровых людей гранулы МП в цитоплазме НФ находятся в неупорядоченном состоянии, а у больных ТБ наблюдается концентрация гранул МП у клеточной стенки в виде

«бус», и сами по себе размеры этих гранул – большие по объему и количеству. До начала лечения в основной группе наблюдалось достоверно выше концентрация МП ($8,74 \pm 0,31$ с.у.о.опт.п.) в сравнении с контрольной группой ($5,49 \pm 0,25$ с.у.о.опт.п.) ($p \leq 0,05$). Через месяц проведенной химиотерапии наблюдались не достоверные изменения ($8,78 \pm 0,32$ с.у.о.опт.п.) в основной группе ($p > 0,05$).

Выводы. У больных с ТБЛ по сравнению с практически здоровыми людьми обнаружена активизация МП в нейтрофилах: гранулы миелопероксидазы более крупные, расположены по периферии нейтрофилов, оптическая плотность цитоплазмы при постановке цитохимической реакции на МП повышена. Стандартная месячная противотуберкулезная терапия не изменяет содержание МП в нейтрофилах.

Viletska Y¹, Minchenko D.^{1,2}

Molecular mechanisms of the development of metabolic complications in obesity

¹Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine;

²Bogomolets National Medical University Kyiv, Ukraine,

Obesity is an ever-growing global problem that may cause several metabolic complications including insulin resistance, hyperlipidemia, hypertension, atherosclerosis, and type 2 diabetes. Furthermore, chronic diabetic complications are leading causes of morbidity and mortality worldwide. The occurrence of overweight is due to numerous factors: genetic predisposition, sedentary lifestyle, reduced physical activity, and socio-economic conditions, as well as others. Much attention is paid to the clarification of mechanisms of growth of adipose tissue and the disturbance of metabolic processes at the molecular level. This will help to better understand the nature of obesity, as well as its complications, in particular glucose intolerance. It is important to note that the number of people with obesity is constantly growing, and the development of metabolic complications associated with it is the causes of premature death. The study of changes in the expression of genes that control the growth of adipose tissue and the development of obesity associated metabolic complications is a significant trend in this area, as it may contribute to finding ways to prevent and treat these pathologies.

The purpose of this study was to investigate the level of gene expression encoding the key factors of proliferation and differentiation in subcutaneous adipose tissue of men with obesity and insulin resistance to clarify their role in the development of obesity and its metabolic complications.

Materials and methods. The studies were performed on subcutaneous fatty tissue, which was taken by biopsy in three groups of men aged close to 45 years: no signs of obesity (control), obesity and normal glucose tolerance, as well as obesity and impaired glucose tolerance. The methods of RNA isolation from adipose tissue, spectrophotometric methods for determining the amount of RNA and their spectral characteristics, synthesis of complementary DNA, real-time polymerase chain reaction are used in the work.

Results. It was shown that in subcutaneous adipose tissue in adult obese men the expression of key genes encoded proliferation factor (*LEP*, *LEPR*, *IGF2*, *IGFBP5*, *IGFBP7*, *HTRA1* and miR-19a) is increased, but the expression level of *INSR*, *IGF1*, *IGFBP2*, *IGFBP3*, *IGFBP6* and miR-143 is decreased as compared to control group. Glucose intolerance in obesity is associated with decreased level of *LEP*, *IGF1*, and *IGF2*, but the expression level of *LEPR* is increased in subcutaneous adipose tissue of adult obese men as compared to obese patients with normal glucose tolerance. Glucose intolerance in obesity is associated with decreased level of *INSR*, *IGFBP2*, *IGFBP3*, *IGFBP5* i *IGFBP7*, but the expression level of *IGFBP6*, and *HTRA1* is increased as compared to control group. Results of this investigation clearly demonstrated an important role of changes in the expression level of key regulatory factors in obesity and its metabolic complications.

Conclusions. The result of quantitative polymerase chain reaction studies indicate genome reprogramming in adipose tissue under conditions of obesity and its etabolic complication, including insulin resistance and provide information on the important role of regulatory genes in the development of obesity and this is an important basis for developing new approaches to the prevention and treatment of metabolic diseases.

Войнаровский В.В., Мартинович Г.Г.

Регуляция структурной стабильности эритроцитов с участием окисленных форм гемоглобина: математическая модель и эксперимент

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Одним из важнейших механизмов повышения структурной стабильности мембран эритроцитов является их взаимодействие с основным белком клетки гемоглобином. Гемоглобин является регулятором гомеостаза эритроцитов и ключевым участником внутриклеточных окислительных процессов. Связывание гемоглобина с мембраной ре-

гулирует множество внутриклеточных процессов, таких как энергетический метаболизм, деформируемость мембраны, эритроцитоз и др. Связывание происходит с мембранными белками за счёт ковалентных и не ковалентных взаимодействий или с липидами мембраны в результате гидрофобного взаимодействия. Константы скорости образования и распада комплекса гемоглобин–мембрана зависят от состояния гемоглобина. Высокой константой связывания с компонентами мембраны характеризуется процесс взаимодействия метгемоглобина, образующегося при окислении оксигемоглобина. Это позволяет предположить его важную роль в регуляции стабильности мембраны в условиях окислительного стресса.

В работе построена математическая модель, описывающая ключевые этапы образования метгемоглобина и феррилгемоглобина при действии внеклеточного пероксида водорода и их связывания с мембраной. Результаты численного моделирования показывают, что обратимое связывание метгемоглобина с мембраной может являться адаптивным механизмом, направленным на стабилизацию липидного бислоя мембраны. С другой стороны, рост концентрации более окисленной формы гемоглобина – феррилгемоглобина, и его связывание с мембраной приводит к усилению патофизиологических процессов (переокисление липидов, нарушение взаимодействия мембраны с цитоскелетом и др.), снижающих структурную стабильность клеток. На основе численного моделирования процессов взаимодействия метгемоглобина с мембраной эритроцитов установлена область концентраций внеклеточного пероксида водорода, при которых наблюдается активация адаптационных процессов. Результаты численного моделирования были подтверждены экспериментально.

В эксперименте использовали кровь здоровых доноров, полученную в ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий». Эритроциты выделяли и промывали путём центрифугирования при 1500 об/мин в фосфатно-солевом буфере (ФСБ). Кинетики гемолиза эритроцитов измеряли с использованием спектрофлуориметра Solar CM-2203 (SOLAR, Беларусь) путём регистрации оптической плотности клеточной суспензии ($3 \cdot 10^7$ клеток/мл) на длине волны 640 нм. Окислительный гемолиз инициировали путём добавления 0,2 мМ HOCl к суспензии эритроцитов в ФСБ при предварительном инкубировании с H_2O_2 в течение 5 и 15 минут при концентрациях 10–250 мкМ. Показано, что предварительное инкубирование клеток с пероксидом водорода в концентрациях 10–200 мкМ действительно позволяет снизить долю гемолизированных эритроцитов. Максимальный протекторный эффект, как и предсказывала

модель, зависит от времени инкубирования клеток с окислителем. При предварительном инкубировании клеток в течение 5 минут наблюдается стабилизирующий эффект, достигающий 30% от контрольных значений. При инкубировании клеток в течение 15 минут с пероксидом водорода наблюдается более выраженный стабилизирующий эффект. Доля неразрушенных эритроцитов достигает 60% для пероксида водорода в концентрации 175 мкМ, но при более высоких концентрациях проявляется обратная зависимость: с увеличением концентрации окислителя снижается доля неразрушенных эритроцитов, что, вероятно, обусловлено ростом количества комплексов феррилгемоглобин–мембрана. Увеличение количества комплексов феррилгемоглобина с мембраной может инициировать процессы перекисного окисления липидов и нарушить взаимодействие цитоскелета с мембраной, что приводит к снижению эффекта увеличения структурной стабильности при высоких концентрациях H_2O_2 .

Таким образом, в результате теоретических и экспериментальных исследований показано, что при действии пероксида водорода в концентрации 10–200 мкМ активируется адаптационный механизм эритроцитов, обусловленный ростом числа мембранносвязанного метгемоглобина, что повышает структурную стабильность мембраны при окислительном стрессе. Полученные данные позволяют расширить представления о механизмах защиты эритроцитов, построить прогнозы о защитных свойствах клеток при окислительном стрессе.

Вьюн Т.И., Цимох И.Э.

Значение биохимических маркеров минеральной плотности костной ткани для диагностики остеопоротических состояний при хроническом панкреатите сочетанном с гипертонической болезнью

Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, Украина

Хронический панкреатит (ХП) – полиэтиологическое заболевание поджелудочной железы, которое имеет склонность к рецидивированию, характеризуется постепенным замещением ацинарной и островковой ткани, что приводит в дальнейшем к развитию экзокринной и эндокринной недостаточности. Также социально значимой болезнью считается гипертоническая болезнь (ГБ). В общей популяции показатель заболеваемости составляет от 28 до 45%. Среди пациентов с ГБ патология системы органов пищеварения выявлена в 62,35% случаев, среди них ХП встречается в 28% случаев. Коморбидность данных па-

тологий способствует возникновению осложнений, среди которых частым являются остеопоротические состояния, что существенно повышает уровень летальности в группе данных пациентов.

Цель – определение роли фракций кальция и общей кислой фосфатазы в диагностике остеопоротических состояний у больных с сочетанной патологией хронического панкреатита и гипертонической болезнью.

Материалы и методы исследования. В исследовании приняло участие 120 пациентов с ХП, который в 70 случаях был в сочетании с ГБ (основная группа). 50 пациентов составляли группу сравнения (пациенты с изолированным ХП). Группы были сопоставлены по возрасту $32,2 \pm 2,1$ (основная), $31,9 \pm 3,1$ (сравнения). Са в сыворотке крови определяли биохимическим методом (набор реактивов PLIVA-Lachema, Чехия). Ионизированный кальций сыворотки крови рассчитывали по формуле Д.И. Мицуры. Активность общей кислой фосфатазы определяли кинетическим методом (DAC-SpectroMed, Молдова). Полученные данные обработаны с помощью программного обеспечения «STATISTICA».

Результаты. У больных с сочетанием ХП и ГБ отмечается формирование гипокальциемии, как за счет содержания белоксвязанного ($2,33 \pm 0,01$ ммоль/л против $2,51 \pm 0,01$ ммоль/л в группе сравнения ($p < 0,05$)), так и свободного кальция ($1,16 \pm 0,01$ ммоль/л; $1,18 \pm 0,01$ ммоль/л соответственно ($p < 0,05$)) с увеличением показателя кальциевого коэффициента до $49,8 \pm 0,2$ % ($p < 0,05$). То есть, указанные нозологии приводят не только к количественным, но и к качественным изменениям: нарушение соотношения фракций кальция. Установлено увеличение содержания общей кислой фосфатазы - маркера костной резорбции, как в группе с изолированным ХП у 88 % ($7,4 \pm 1,4$ % Ед/л), пациентов, так и у 91% ($7,9 \pm 2,1$ % Ед/л) лиц в группе сочетанной патологией.

Выводы. Сочетание ГБ и ХП – кальций зависимых заболеваний – происходит за счет количественных и качественных изменений основных фракций кальция, что провоцирует поступление кальция из депо – костной ткани. Доказано, что формирование остеопенических состояний происходит несколькими путями: как в случае уменьшения поступления кальция, так и вследствие уменьшения синтеза костной ткани и увеличение костной резорбции.

Сайты связывания катионов цинка на бактериальных белках

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

³УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Республика Беларусь

Бактериальные белки имеют некоторые особенности аминокислотного состава по сравнению с белками эукариот. В частности, частота использования остатков цистеина в них достоверно ниже [1]. Известно, что специфическим мотивом для координации катионов Zn^{2+} является «Zinc finger», в большинстве случаев включающий два остатка цистеина и два остатка гистидина [2].

Цель исследования – изучить аминокислотный состав и особенности вторичной структуры сайтов связывания Zn^{2+} на бактериальных белках.

Материалы и методы. Количество изученных негомологичных бактериальных белков из базы данных Protein Data Bank в выборке – 443. Изучено 178 сайтов связывания Zn^{2+} с участием остатков Cys и 567 сайтов связывания – без участия Cys. Для описания сайтов связывания Zn^{2+} использовали алгоритм PLIP и оригинальный алгоритм ХАИ. Первый алгоритм находит аминокислотные остатки, функциональные группы которых приближены к катиону на расстояние до 3 ангстрем, второй – на расстоянии, заданном пользователем. Вторичная структура была определена с помощью метода DSSP. Фрагменты вторичной структуры проклассифицированы в зависимости от фланкирующих их элементов: Н – альфа-спираль, В – бета-тяж, С – петля. Статистическая обработка проведена с помощью t-теста для относительных величин.

Результаты. На расстоянии до 3 ангстрем Zn^{2+} координируется преимущественно остатками His (один из атомов азота из боковой цепи наиболее приближен к катиону в 97% случаев), Cys (атом серы из боковой цепи наиболее приближен к катиону в 98% случаев), Asp и Glu (один из атомов кислорода из карбоксильной группы боковой цепи наиболее приближен к катиону в 99% случаев). На расстоянии от 3 до 4 ангстрем от Zn^{2+} достоверно перераспределены остатки His, Asp, Glu и Tyr; на расстоянии от 4 до 5 ангстрем перераспределены исключительно остатки His.

Остатки цистеина достоверно чаще координируют катионы цинка, будучи расположенными в петлях между двумя бета-тяжами (на рас-

стоянии до 3 ангстрем и на расстоянии от 3 до 5 ангстрем) и петель между бета-тяжом и альфа-спиралью (на расстоянии до 3 ангстрем). Расположение остатков Cys в мотиве BCB характерно для мотива «Zinc-finger». Остатки His, Asp и Glu, координирующие Zn^{2+} совместно с остатками Cys, демонстрируют не столь чёткую предпочтительность к определённым мотивам вторичной структуры: все три остатка чаще координируют Zn^{2+} на расстоянии от 3 до 5 ангстрем, находясь во фрагментах BCB (в тех же, в которых расположен Cys), остатки Asp – в мотивах BCH на том же расстоянии. Все четыре остатка (Cys, His, Asp и Glu) достоверно реже связывают Zn^{2+} на близком расстоянии, если расположены во фрагментах HCB и HNB.

Среди сайтов связывания Zn^{2+} без участия остатков Cys можно выделить два типа. Остатки Asp достоверно чаще связывают Zn^{2+} , находясь во фрагментах BCH, как на расстоянии до 3 ангстрем, так и на расстоянии от 3 до 5 ангстрем, так же как His и Glu – на расстоянии от 3 до 5 ангстрем. Эти остатки формируют «бета-структурный» сайт связывания Zn^{2+} вместе с остатками His, достоверно чаще связывающими интересующий нас катион, будучи расположенными в бета-тяжах BBV (до 3 ангстрем), и HBN (от 3 до 5 ангстрем). Второй, «альфа-спиральный», тип сайтов связывания Zn^{2+} образуют остатки His и Glu, достоверно чаще координирующие Zn^{2+} на расстоянии до 3 ангстрем, располагаясь в альфа-спиралях типа HNN. Остатки His (на расстоянии до 3 ангстрем) и Glu (на расстоянии от 3 до 5 ангстрем) также достоверно чаще связывают Zn^{2+} , будучи расположенными в альфа-спиралях VNN. В таком случае сам остаток находится в альфа-спирали, но по направлению к N-концу от неё находится бета-тяж.

Выводы. Катионы цинка координируются, как минимум, в трёх типах сайтов связывания. При этом сайты связывания типа «Zinc finger» с участием остатков Cys составляют менее 24% из всех изученных. Наиболее распространённым мотивом в сайтах связывания Zn^{2+} является «бета-тяж по направлению к N-концу», как и в сайтах связывания катионов Mg^{2+} , Mn^{2+} и Co^{2+} [3]. Встречаются в изученной выборке бактериальных белков и «альфа-спиральные» сайты связывания Zn^{2+} , характерные для катионов Mn^{2+} .

Литература

2. Хрусталёв, В. В. Репликация, транскрипция, мутационное давление : Монография / В. В. Хрусталёв; под ред. Е. В. Барковского. – Минск: БГМУ, 2011. – 278 с.
3. Abbehausen, C. Zinc finger domains as therapeutic targets for metal-based compounds - an update. *Metallomics*. – 2019. – Vol. 11. – P. 15-28.
4. Khrustalev, V.V., Khrustaleva, T.A., Poboinev, V.V., Karchevskaya, C.I., Shablovskaya, E.A., Terechova, T.G. Cobalt(ii) cation binding by proteins. *Metallomics*. – 2019. – Vol. 11. – P. 1743-1752.

Математическое моделирование дифференциальных кривых плавления ДНК, модифицированных противоопухолевым препаратом цисплатин и его неактивным аналогом трансплатином
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Противоопухолевый препарат цисплатин и его неактивный аналог трансплатин образуют ковалентные связи с ДНК, что изменяет стабильность ее двойной спирали. Нами было найдено, что и промежуточные и конечные продукты, образуемые цисплатином, дестабилизируют двойную спираль. В то же время, промежуточные монофункциональные продукты трансплатина дестабилизируют двойную спираль, тогда как конечные бифункциональные продукты ее стабилизируют. Это особенно четко проявлялось при проведении экспериментов по плавлению в щелочной среде. Однако в нейтральной среде дестабилизация, вызванная цисплатином, не превышала ($-4,3^{\circ}\text{C}$). Для трансплатина наблюдалось воспроизводимое значение дестабилизации в ($-0,7 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$) и примерно такая же стабилизация в ($+0,6 \pm 0,25^{\circ}\text{C}$). Такое смещение температуры незначительно и близко к погрешности в калориметрических экспериментах. Поэтому можно не зафиксировать особенностей в воздействии соединений платины на стабильность ДНК, что затрудняет понимание механизма противоопухолевого действия.

Цель – точное измерение воздействия на стабильность ДНК промежуточных и конечных продуктов химической модификации противоопухолевым препаратом цисплатин и его неактивным аналогом трансплатином при помощи техники отрицательных вторых производных, применяемой к кривым плавления, полученных методом дифференциальной сканирующей калориметрии.

Материалы и методы. Инкубацию ДНК с цисплатином и трансплатином проводили в темноте в течение 0 (контроль), 0,5, 3 и 48 часов при 37°C , молярном отношении Pt/нуклеотид $r_b=0,05$, $[\text{Na}^+]=110$ мМ, рН 7. Дифференциальные кривые плавления записывали с помощью дифференциального сканирующего микрокалориметра ДАСМ 4 (Био-прибор, Россия) с объёмом ячейки 0,5 мл. Дифференциальные кривые плавления моделировали методом отрицательных вторых производных.

Результаты. На дифференциальной кривой плавления ДНК тимуса теленка хорошо заметны четыре узких пика, расположенных на фоне основного широкого пика. Узкие пики соответствуют плавлению сателлитных участков ДНК, имеющих квазипериодическую структуру и

составляющих до 20% генома. Применение метода отрицательных вторых производных позволило нам значительно улучшить разрешение сателлитных пиков и использовать их для оценки изменения стабильности ДНК. Однако в ходе платинирования узкие пики сателлитной ДНК постепенно исчезают. Но первый минимум на кривой вторых отрицательных производных, остается хорошо выраженным не только для исходной ДНК, но и сохраняется для цисплатина, а также для трансплатина после 0.5 и 3 часовой инкубации с ДНК. Величина смещения этого минимума в целом совпадает с изменением температуры плавления и измеряется с высокой точностью ($\sim 0.1^{\circ}\text{C}$). Однако после 48 часов инкубации с трансплатином и данный пик сильно искажается. Поэтому мы использовали другую характерную точку - первое пересечение кривых с нулевой осью. Это позволило четко зафиксировать стабилизацию, вызванную трансплатином.

Выводы. 1. Математическое моделирование методом отрицательных вторых производных дифференциальных кривых плавления ДНК, модифицированных соединениями платины, позволяет фиксировать изменения стабильности двойной спирали с высокой точностью. 2. Увеличение стабильности двойной спирали при связывании трансплатина связано не столько с увеличением количества межцепочечных сшивок, необходимо учитывать структурные изменения как спиральной, так и расплавленной форм ДНК. Внутрицепочечная сшивка трансплатина охватывает более длинный участок цепи ДНК по сравнению с цисплатином, и поэтому может вызвать более сильные ограничения в подвижности участка расплавленной ДНК. Это дополнительно уменьшает энтропию расплавленного состояния и энтальпию перехода спираль-клубок. Поскольку температура плавления равна отношению энтальпии и энтропии перехода спираль-клубок, дополнительное уменьшение энтропии увеличивает температуру плавления.

Гармаза Ю.М.¹, Тамашевский А.В.¹, Слобожанина Е.И.²

Окислительный стресс в системе внутриклеточной цинковой сигнализации

¹ГУ «РНПЦ Трансфузиологии и медицинских биотехнологий»,
Минск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
Минск, Республика Беларусь

В последние десятилетие опубликовано большое число научных работ о важной физиологической функции цинка в качестве второго, наряду с кальцием, основного сигнального иона при передаче внутриклеточ-

ной информации и коммуникации между клетками. Как межклеточные, так и внутриклеточные сигнальные функции Zn^{2+} влияют на процессы, которые контролируют пролиферацию, дифференцировку и апоптоз. Подобно кальцию, внутриклеточный статус цинка изменяется динамично в ответ на внешние стимулы, и он способен их преобразовывать во внутриклеточные сигнальные процессы. Для возможности регуляции внутриклеточных процессов необходимо изменение концентрации «свободных» ионов цинка в клетке от базального уровня до сотен пМ. Как и для кальция, цинку нужна жесткая система контроля на клеточном уровне этих переходных процессов, т.к. повышение его концентрации может привести к цитотоксичности. К настоящему времени представлены детальные аспекты, характеризующие эту систему контроля (например, депонирующие белки металлотионеины), а также, какие нарушения на уровне клетки и организма могут происходить, если этот контроль нарушен.

Цель данной работы – изучить связь цинкового гомеостаза с функционированием эритроцитов человека (в частности с индукцией эритроза) и выявить участие внутриклеточного лабильного пула Zn^{2+} в формировании защитных механизмов клеток при окислительном стрессе.

Материалы и методы. В работе использована кровь здоровых доноров в консерванте “гепарин”. Модификацию цинкового гомеостаза в клетках проводили путем инкубации эритроцитов *in vitro* с сульфатом цинка, хелаторами N',N'-тетраakis-(2-пиридил-метил)-этилендиамином (TPEN) и диэтилен тридаминпентауксусной кислотой (DTPA), пероксидом водорода. Оценка внутриклеточной концентрации лабильных ионов цинка была проведена с использованием флуоресцентного зонда FluoZin-3. Уровень восстановленного глутатиона (GSH) определяли спектрофотометрически по методу Элмана. Оценку содержания металлотионеинов I/II типов (MTs) проводили с помощью моноклональных антител UC1MT. Жизнеспособность эритроцитов контролировали по эстеразной активности клеток с помощью кальцеина-АМ. Статистическая обработка результатов экспериментов проводилась с использованием непараметрических критериев Уилкоксона и Спирмена.

Результаты и их обсуждение. Используя внутриклеточный и внеклеточный хелаторы для Zn^{2+} – TPEN и DTPA, продемонстрировано существование специфических рецепторов на поверхности эритроцитов и внутриклеточных депо, отвечающих за поддержание цинкового гомеостаза. В тоже время было показано, что увеличение цитозольного пула лабильного Zn^{2+} свыше 100 нМ приводит к запуску процессов

эриптоза, а цитотоксические эффекты цинка обусловлены внутриклеточными молекулярными механизмами, приводящими к выходу Zn^{2+} из клеточных депо. Более того, выявлена обратная зависимость между изменением внутриклеточного пула лабильного цинка и эстеразной активности эритроцитов, при моделировании окислительного стресса, используя H_2O_2 *in vitro*, что свидетельствует о прямом участии Zn^{2+} в запуске эриптоза, а дисбаланс “прооксиданты/антиоксиданты” в пользу первых выступает в качестве триггера данного процесса. Установлено, что одним из механизмов, приводящих к высвобождению Zn^{2+} из внутриклеточных связывающих сайтов в эритроцитах человека при H_2O_2 -индуцированном окислительном стрессе, может являться уменьшение количества небелковых тиольных групп за счет снижения уровня GSH. При этом обнаружен рост уровня экспрессии цитозольных тиол-содержащих белков MTs, как в эритроцитах, истощенных по Zn^{2+} , так и в клетках после индукции окислительного стресса *in vitro* путем воздействия TREN и H_2O_2 соответственно. Это свидетельствует о функционировании данных белков в качестве вспомогательного антиоксиданта в защитной системе эритроцитов в условиях окислительного стресса.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о существовании в эритроцитах человека механизмов регуляции лабильного пула цинка и концентрационной грани между его «эссенциальными» и токсичными свойствами, нарушение которой может привести к запуску патологических процессов, что было продемонстрировано нами ранее на примере сахарного диабета II типа, где цинковый гомеостаз в этиопатогенезе данной патологии играет важную роль.

Гладчук А.С.^{1,2}, Краснов К.А.¹, Гафт С.С.¹, Александрова М.Л.¹, Рейнюк В.Л.¹, Суходолов Н.Г.^{2,3}, Подольская Е.П.^{1,3}

Исследование механизмов образования катионов при анализе полипrenoлов методом МАЛДИ масс-спектрометрии

¹ ФГБУ «Научно-клинический центр имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Российская Федерация

² ФГБОУВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ ФГБУН «Институт аналитического приборостроения РАН», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Полипrenoлы, как непредельные спирты, относятся к неионогенным веществам, и поэтому сложно ожидать от них выраженного взаимо-

действия с ионами щелочноземельных металлов в нейтральных водно-органических средах. При этом анализ полипренолов с использованием масс-спектрометрии с мягкими методами ионизации затруднен, ввиду их низкой полярности.

Новый подход к анализу полипренолов методом масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (МАЛДИ-МС) основывается на формировании мономолекулярных слоев полипренолов непосредственно на поверхности МАЛДИ мишени. Образование монослоев происходит в процессе нанесения раствора полипренолов в гексане на водную каплю, содержащую ионы бария. В результате МАЛДИ-МС анализа полученных монослоев полипренолы регистрируются в виде сигналов, соответствующих $[M-H+Ba]^+$ ионов, несмотря на их неионогенную природу.

В связи с этим нами было проведено исследование возможных механизмов образования $[M-H+Ba]^+$ ионов полипренолов при использовании предложенного подхода. Было выдвинуто предположение о двух вероятных способах формирования данных ионов: в ходе реакции на границе раздела органической и водной фаз или в результате ионно-молекулярных реакций в газовом облаке при облучении образца лазерным импульсом.

Первый предложенный механизм предполагает образование монослоя полипренолов с захватом ионов бария в процессе формирования с последующим образованием $H-(C_5H_8)_n-O-Ba-OAc$ либо на границе раздела фаз, либо при воздействии лазерного импульса на монослой с дальнейшим отщеплением ацетогруппы и образованием $[M-H+Ba]^+$ ионов. При втором механизме образование $[M-H+Ba]^+$ ионов происходит после облучения лазером в газовом облаке в результате ионно-молекулярных реакций путем замещения протона ионом двухзарядного бария в гидроксильной группе молекулы полипренола. Для того чтобы выяснить, какой из механизмов вносит основной вклад при образовании $[M-H+Ba]^+$ ионов было проведено исследование по определению чувствительности анализа при минимизации вероятности прохождения реакции на границе раздела фаз. Нами были рассмотрены четыре способа нанесения образца на мишень:

1. раствор полипренолов в гексане наносился на каплю водного раствора ацетата бария и 2,5-дигидроксibenзойной кислоты (DHB);
2. раствор полипренолов в изопропанолe наносился на каплю водного раствора ацетата бария и DHB;
3. раствор полипренолов в изопропанолe наносился на кристаллы ацетата бария и DHB;

4. раствор полипrenoлов в гексане наносился на кристаллы ацетата бария и DHB.

По результатам исследования наибольшая чувствительность достигалась при использовании гексана в качестве органического растворителя (5 нг/мл), при этом изменение свойств поверхности не приводило к снижению чувствительности, что свидетельствует о реализации первого из предложенных механизмов. При использовании изопропанола возможность прохождения реакции на границе раздела фаз практически исключается, при этом сигналы полипrenoлов также были зарегистрированы, хотя и с более низкой чувствительностью, что подтверждает образование соответствующих катионов именно в газовом облаке.

Таким образом, анализ полипrenoлов методом МАЛДИ-МС в виде $[M-H+Ba]^+$ ионов возможен как при формировании монослоев полипrenoлов непосредственно на МАЛДИ мишени, так и путем смешения компонентов (раствор полипrenoлов, соль бария, МАЛДИ матрица) с последующей лазерной ионизацией. Однако первый вариант проведения анализа оказался более чувствителен и, в связи с этим, гораздо более перспективен.

Глинник С.В., Ринейская О.Н., Романовский И.В.

Уровень свободных аминокислот в головном мозге крыс с экспериментальным гипотиреозом в условиях стрессового воздействия

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Гипотиреоз является одним из самых частых заболеваний эндокринной системы в Республике Беларусь. Актуальность проведенного исследования объясняется тем, что недостаточность тиреоидных гормонов сказывается на функционировании всех органов и тканей и сопровождается значительными нарушениями различных видов обмена, в том числе обмена аминокислот (АМК). Поскольку аминокислотам принадлежит роль интермедиатов, связывающих между собой основные метаболические пути, исследование аминокислотного состава мозга может служить интегральным показателем функционального состояния регуляторных систем организма. Учитывая участие тиреоидных гормонов в процессах адаптации, представляет научный интерес исследование изменений содержания аминокислот в головном мозге крыс с гипотиреозом при стрессовом воздействии на организм.

Цель исследования - изучение содержания аминокислот в мозге крыс с экспериментальным гипотиреозом при тепловом и холодовом стрессе.

Материалы и методы. Работа выполнена на белых крысах-самцах массой 180-200 г, содержащихся на обычном рационе вивария БГМУ. Было проведено II серии экспериментов. В каждой серии животные были разделены на 4 группы (по 8 особей в каждой): 1-я группа (контроль) – интактные крысы, получавшие на протяжении эксперимента (14 суток) обычную воду; 2-я группа (стресс) – крысы, получавшие на протяжении двух недель обычную воду и на 14-е сутки подвергнутые стрессу; 3-я группа (гипотиреоз) – крысы с экспериментальным гипотиреозом (ЭГ), который создавался при употреблении в качестве питья 0,02 % раствора пропилтиоурацила в течение 14 суток из поилок при постоянном доступе (0,78 мг ПТУ на 100 г массы тела в сутки); 4-я группа (гипотиреоз + стресс) – крысы с ЭГ, подвергнутые на 14-е сутки стрессу. Тепловой стресс (ТС) вызывался путем помещения животных на 2 часа в суховоздушный термостат при t 40-42°C. Холодовой стресс (ХС) создавался путем погружения крыс в воду с температурой 10°C на 10 минут. Оценку степени выраженности стресса проводили по изменению индивидуального поведения животного в тесте «Открытое поле», ректальной температуры после стрессового воздействия, уровней кортизола и инсулина в сыворотке крови крыс и степени увеличения весового коэффициента надпочечников. Животные снимались с эксперимента под тиопенталовым наркозом забором крови из сонной артерии. Содержание в сыворотке крови тироксина, трийодтиронина, кортизола и инсулина определялось методом радиоиммунного анализа. Для анализа аминокислот (АМК) (аспарагиновой (*Asp*) и глутаминовой (*Glu*) кислот, глицина (*Gly*), гистидина (*His*), таурина (*Tau*), серина (*Ser*), треонина (*Thr*), фенилаланина (*Phe*), метионина (*Met*), аргинина (*Arg*)) в мозге экспериментальных животных использовался метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с диодно-матричным детектированием.

Результаты и обсуждение. Результаты показателей теста «Открытое поле», измерения ректальной температуры, весового коэффициента надпочечников, уровней кортизола и инсулина свидетельствовали о значительной выраженности холодового и теплового стрессов. Исследование пула свободных АМК тканей мозга при ТС и ХС выявило следующие особенности. При ТС обнаружено увеличение концентраций *Ser*, *Met*, *His*, *Tau*, *Glu*, *Gly*. При ХС у экспериментальных животных обнаружено снижение содержания в мозге всех исследованных АМК. Особенно выраженным было снижение уровней *Met* – на 72%,

Phe, *Gly*, *Thr*, *Arg* (на 54-59%). При всех видах стрессовых воздействий на фоне ЭГ в мозге крыс обнаружено увеличение уровней *Glu* и *Tau*, наиболее выраженное при ХС (на 61% *Glu* и в 6 раз *Tau*). Выявлено также увеличение в 2 раза содержания метионина в мозге гипотиреоидных животных. Интересно также 4-кратное увеличение уровня *His* при ТС у животных с ЭГ. Интерес представляют также изменения концентрации серина, который для мозга рассматривается как незаменимая аминокислота, из которой образуется холин и соответствующие фосфолипиды. Вместе с *Gly* и *Glu* серин может использоваться для синтеза пуриновых оснований. В целом, следует отметить увеличение содержания большинства АМК в мозге крыс с ЭГ в ответ на ХС. При тепловом воздействии обнаружено снижение содержания большинства аминокислот в мозге гипотиреоидных животных.

Выводы. Тепловое и холодовое стрессовые воздействия характеризовались значительными изменениями АМК-го состава тканей мозга эу- и гипотиреоидных животных. ТС характеризовался увеличением концентраций большинства исследованных АМК в мозге эутиреоидных крыс. При холодовом стрессе и тепловом воздействии на гипотиреоидных животных выявлены разнонаправленные изменения содержания свободных аминокислот в мозге.

Глинская Н.Д., Сидоров А.В.

Устойчивость ядерной ДНК в клетках центральных нервных ганглиев моллюска *Lymnaea stagnalis* в условиях пролонгированного действия пероксида водорода

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Пероксид водорода рассматривается как возможный участник внутри- и межклеточной коммуникации. С другой стороны, данная молекула может служить источником для генерации гораздо более реакционно-способных активных форм кислорода (АФК), таких как гидроксильный радикал ($\text{OH}^\cdot$), при наличии металлов с переменной валентностью (такие микроэлементы как Fe, Cu) в среде инкубации. Возрастание уровня АФК сопровождается свободно-радикальным повреждением разнообразных внутриклеточных мишеней, в том числе и нуклеиновых кислот (ДНК, РНК), приводя к гибели клеток. Существенная продукция АФК отмечена в отношении клеток с высоким уровнем метаболизма, в том числе и нервных. Нервная система беспозвоночных функционирует в достаточно широком диапазоне ряда физико-химических условий, таких как температура и pH (Сидоров, 2011), что

предполагает относительную стабильность её активности и при окислительном стрессе.

Целью данной работы было изучить устойчивость ядерной ДНК клеток нервной ткани моллюска *Lymnaea stagnalis* в условиях пролонгированного (часы) действия пероксида водорода.

Материалы и методы. В работе использовали препараты ДНК, выделенной из центральных нервных ганглиев *Lymnaea stagnalis*. Изолированные нервные системы (по 4 на пробу) предварительно инкубировали в течение 2 часов, в темноте, в нормальном растворе Рингера (контроль) содержащем (конечная концентрация): пероксид водорода, 1 мМ; пероксид водорода (1 мМ) и ОН⁻-генерирующую смесь (0,5 мМ CuCl₂ + 0,5 мМ аскорбата); ОН⁻-генерирующую смесь. По окончании инкубации и последующего выделения ДНК (экстракция смесью хлороформ : изоамиловый спирт, добавление РНК-азы А в течение последнего часа инкубации препарата ЦНС в смеси для лизиса клеток), проводили гель-электрофорез (агароза, 1%), анализируя полученную картину посредством приложения Image Lab (Bio-Rad Laboratories Inc., 2017).

Результаты. Установлено, что действие одного пероксида водорода ассоциируется с появлением следовых продуктов деградации ДНК, без выраженных полос, в диапазоне от 100 до 200 п.н. с более высокой интенсивностью по сравнению с контрольными условиями. Других низкомолекулярных фрагментов ДНК обнаружено не было. Добавление к пероксиду водорода ОН⁻-генерирующей смеси выражалось в появлении отчётливых полос продуктов деградации ДНК размером ~180 п.н. или кратным ему, т.е. ~360, 540, 720 и 900 п.н. (заметны не менее 5-ти полос), что позволяет говорить об апоптотической деградации молекулы ДНК клеток нервной ткани в этих условиях. Интересно, что даже в отсутствие в среде инкубации пероксида водорода, добавление ОН⁻-генерирующей смеси, так же, приводило к появлению полос низкомолекулярных фрагментов ДНК размером ~180, 360 и 540 п.н. (хорошо заметны 3 последовательные полосы) интенсивность которых была несколько ниже с таковыми для препаратов, содержащих и пероксид водорода в инкубационной среде.

Вывод. Наличие металлов с переменной валентностью (в частности, меди), способных провоцировать образование высоко реакционноспособных АФК, в том числе используя в качестве субстрата для их работы относительно устойчивые сигнальные молекулы (пероксид водорода), может существенно модифицировать редокс равновесие в нервной ткани *Lymnaea stagnalis*, тем самым определив устойчивость

организма беспозвоночных к действию провоцирующих развитие стресса факторов внешней и внутренней среды.

Литература

Сидоров А.В. Функциональная активность нервных центров беспозвоночных. Минск: БГУ, 2011. –247 с.

Глуткин С.В., Гуляй И.Э., Зинчук В.В., Щурко А.С.

Моно- и комбинированный эффект адаптогена на активность процессов перекисного окисления липидов

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

Изучение механизмов клеточного ответа и адаптации на изменения концентрации кислорода продолжает вызывать интерес у ученых и специалистов медицинских профессий. Важным является поиск способов профилактики и повышения защитно-адаптационных механизмов организма в условиях гипоксических состояний [1].

Цель. Изучить моно- и комбинированный эффект мелатонина на показатели перекисного окисления липидов в условиях гипоксии.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проведены на беспородных крысах-самцах массой 220-270 грамм с соблюдением всех норм гуманного обращения с животными. В течение одного часа животных помещали в специальную замкнутую камеру, куда подавался воздух с содержанием 12 % кислорода. Предварительно за 30 минут до гипоксического воздействия крысам внутрибрюшинно вводили некоторые препараты. Таким образом, были сформированы следующие группы: 1 – контроль (интактное животное), 2 – гипоксия, 3 – мелатонин+гипоксия, 4 – L-аргинин+гипоксия, 5 – мелатонин+L-аргинин+гипоксия, 6 – L-NAME+гипоксия, 7 – мелатонин+L-NAME (Nw-nitro-L-arginine)+гипоксия, 8 – NaHS +гипоксия, 9 – мелатонин+NaHS (гидросульфид натрия)+гипоксия, 10 – PAG +гипоксия, 11 – мелатонин+PAG (DL-пропаргилглицин)+гипоксия. Забор крови осуществляли сразу после извлечения крысы из камеры. Активность свободнорадикальных процессов оценивали по содержанию первичных – диеновые (ДК) и триеновые конъюгаты (ТК), и промежуточных – малоновый диальдегид (МДА), продуктов перекисного окисления липидов в плазме (пл) и эритроцитарной массе (эр) крови. Для анализа полученных результатов использовали методы непараметрической статистики – Н-критерий Краскела-Уоллиса и U-критерий Манна-Уитни. Проводили многофакторный анализ параметров в группах. Результаты представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (25–75%). Критический уровень значимости принимали $p < 0,05$.

Результаты. В группе «гипоксия» наблюдается увеличение продуктов ПОЛ в эритроцитах: ДКэр – 23,76 [22,68;24,48] $\Delta D_{278}/\text{мл}$ ($p<0,05$), ТКэр – 14,28 [12,96;15,12] $\Delta D_{278}/\text{мл}$ ($p<0,05$), МДАэр – 7,63 [6,83;9,47] мкмоль/л ($p<0,05$), в сравнении с контролем. Назначение мелатонина приводит к снижению первичных продуктов ПОЛ (20,94 [17,76;22,2] $\Delta D_{278}/\text{мл}$, ($p<0,05$) и 10,935 [9,665;13,02] $\Delta D_{278}/\text{мл}$ ($p<0,05$)) в эритроцитах относительно группы «гипоксия». Введение L-аргинина вместе с мелатонином способствует уменьшению уровней ДКэр (20,84 [17,33;23,52] $\Delta D_{278}/\text{мл}$, $p<0,05$) и ТКэр (11,9 [10,33;12,84] $\Delta D_{278}/\text{мл}$, $p<0,05$) в эритроцитах в сравнении с животными, подвергнутыми только гипоксическому воздействию. Назначение L-NAME приводит к снижению концентрации продуктов ПОЛ в плазме крыс (ДКпл – 0,59 [0,55;0,77] $\Delta D_{278}/\text{мл}$, $p<0,05$; ТКпл – 0,57 [0,55;0,625] $\Delta D_{278}/\text{мл}$, $p<0,05$; МДАпл – 1,66 [1,4105;2,538] мкмоль/л, $p<0,05$), а комбинированное введение L-NAME и мелатонина понижением их в эритроцитах (ДКэр – 18,78 [15;20,28] $\Delta D_{278}/\text{мл}$, $p<0,05$, ТКэр – 12 [9,48;12,6] $\Delta D_{278}/\text{мл}$, $p<0,05$) относительно группы «гипоксия». Введение модуляторов сероводорода обеспечивает снижение концентрации первичных продуктов ПОЛ в эритроцитах после гипоксии.

Выводы. Таким образом, в нашем исследовании выявлены эффекты моно и комбинированного назначения модификаторов L-аргинин-NO системы и модуляторов продукции сероводорода при участии мелатонином

Литература

1. Сороко, С.И. Значение стресс-реакции в интегративном ответе организма человека на острое гипоксическое воздействие / С.И. Сороко // Вестник образования и развития науки Российской академии естественных наук. – 2016. – Т. 20, № 4. – С. 88-95.

*Голуб Н.В., Бычковский П.М., Юркитович Т.Л., Юркитович Н.К.,
Костерова Р.И.*

Получение и изучение свойств макромолекулярной системы карбоксиметилцеллюлоза-мирамистин

НИИ Физико-химических проблем Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь.

Создание новых пролонгированных форм лекарственных веществ в широком спектре фармакологической активности остается актуальной задачей химии, медицины, фармакологии.

Цель настоящей работы – получение и исследование свойств макромолекулярной системы мирамистин–натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы в виде гидрогеля.

Материалы и методы. Для приготовления макромолекулярной системы с включенным биологически активным веществом использовали натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) фирмы «Ashland specialiaby ingredients», BlanonoseTM 7HXF с молекулярной массой 395 кДа, степенью замещения по карбоксиметильным группам 0,74. В качестве активного вещества был использован мирамистин (ФС 42-3498-98), применяемый для профилактики и лечения бактериальных, грибковых и вирусных инфекций. Растворы готовили путем смешения водных растворов Na-КМЦ и мирамистина. Молекулярную массу полимера определяли методом вискозиметрии, используя уравнение Марка-Хаувинка-Куна. Содержание мирамистина в гидрогеле определяли хроматографическим методом. Для выяснения особенностей структуры композиции Na-КМЦ – мирамистин методами сканирующей электронной микроскопии, ИК-спектроскопии были получены салфетки, сформированные путем лиофильной сушки.

Результаты. Впервые изучено влияние процесса стерилизации композиции Na-КМЦ - мирамистин на средневязкостную молекулярную массу КМЦ, ее реологические свойства в воде. Установлено, в результате повышения температуры до 120°C (время обработки ≤ 30 мин.), средневязкостная молекулярная масса Na-КМЦ с разной степенью полимеризации остается практически неизменной. Показано, что введение мирамистина в терапевтической дозе 0,5% в состав растворов Na-КМЦ с разной молекулярной массой инициирует термодеструкцию КМЦ и приводит к понижению динамической вязкости композиции. Проведено сопоставительное исследование закономерностей высвобождения мирамистина из состава Na-КМЦ, кинетики химического гидролиза композиции в форме гидрогеля в средах, имитирующих биологические. Показано, что все кривые выделения мирамистина из гидрогелей аналогичны и для них характерно наличие двух участков: быстрая десорбция некоторой части лекарственного вещества (до 20 % в течение 30 мин) и протяженный линейный участок. Для описания процесса высвобождения лекарственных веществ из состава эфиров полисахаридов была использована модель Ritger-Peppas, на основании графического решения которой установлен диффузионный механизма высвобождения. Установлено, что профиль высвобождения цитостатических лекарственных веществ из микросфер соответствует динамике контролируемого высвобождения. Показано, что введение лекарственного вещества в состав полимера не влияет на скорость гидролитической деструкции КМЦ за исключением начального отрезка времени, который отличается более высокой устойчивостью к гидролизу.

Выводы. На основании полученных экспериментальных данных сделан вывод о возможности использования композиции КМЦ-мирамистин в качестве антиспаечного препарата, глазных капель.

Гольцев М.В., Гузелевич И.А., Белая О.Н.

Метапредметная парадигма в биофизическом образовании

УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Республика Беларусь

Современные мировые образовательные стратегии указывают на необходимость формирования метапредметных компетенций, которые могут быть обозначены деятельностьюными и рефлкторными индикаторами. Однако, метапредметная педагогика ориентирована в целом на общеобразовательную школу, в высшей школе этот процесс происходит намного пассивнее, что приводит к амбивалентности проблемы качества образования в целом. В связи с этим актуальным является использование метакомпетентностного подхода при изучении биологической физики.

В настоящее время количественные показатели используются во всех основных направлениях медицины: диагностики, лечения, реабилитации и профилактики заболеваний [1]. Широкий спектр новейшей информации о медико-физических технологиях и аппаратуре в областях лучевой диагностики и терапии, ядерной и лазерной медицины, радиационной безопасности и других областях взаимодействия физики и медицины ставит перед современной медициной проблему нехватки, а точнее недостаточности профессиональной подготовки специалистов со знаниями в области медицинской и биологической физики. Проникая в различные области медицины, биологическая физика позволяет овладеть фундаментальными понятиями и логическими концептуальными схемами, характерными для науки в целом, что важно для проблемы не только фундаментальности, но и для специализации высшего медицинского образования. Медицинская и биологическая физика охватывает широкий диапазон применений во многих областях деятельности, и недавно она была классифицирована на международном уровне как профессия [2]. Общие роли и обязанности медицинских физиков были сведены воедино Международной организацией медицинской физики (ИОМР) [3]. Основные функции и обязанности медицинских физиков основаны на их профессиональной подготовленности в одной или более специальностей медицинской биофизики, клиническом знании основополагающих понятий, основ анатомии и фи-

зиологии для проведения соответствующих клинических исследований, владении методами проведения медицинских процедур и т.д. Подготовка специалистов, работающих по одной или более специальностей лучевой терапии, ядерной медицины или диагностической и интервенционной радиологии, должна проводиться и в медицинских вузах нашей страны, при этом необходимо разработать рекомендации в отношении требований к академическим образованию и клинической подготовке. Задачи биофизики состоят в глубоком познании явлений жизни, что способствует улучшению качества подготовки специалистов, обучающихся в высших учебных заведениях медицинского профиля, а также обеспечению опережающего развития фундаментальных исследований.

Исследование методологических основ метапредметного подхода в высшем медицинском образовании позволяет сформулировать понятие метакомпетентности медицинского работника, под которой понимается готовность к многоаспектному профессиональному и личностному самосовершенствованию и повышению эффективности профессиональной врачебной деятельности на основе развития метакогнитивных, социально-коммуникативных, креативных и организационно-управленческих навыков, облегчающих приобретение профессиональных компетенций.

Внедрение данного подхода в систему высшего образования предполагает использование и развитие оптимальных способов обучения с целью формирования у студентов метапредметных компетенций, что позволят им качественно выполнять профессиональную деятельность врача с учетом трансформации современной клиники в научно-производственный комплекс, оснащенный высокотехнологичным оборудованием для диагностики и лечения.

Литература

1. Белая, О.Н. Медицинская физика как средство формирования метапредметной компетентности / О. Н. Белая, И. А. Гузелевич // Физико-химическая биология как основа современной медицины : тез. докл. участников Респ. конф. с междунар. участием, посвящ. 80-летию со дня рождения Т. С. Морозкиной, Минск, 29 мая 2020 г. / под ред. А. Д. Тагановича, В. В. Хрусталёва, Т. А. Хрусталёвой. – Минск: БГМУ, 2020. – С. 24-25.
2. Smith, P.H.S., Nusslin, F. Benefits to medical physics from the recent inclusion of medical physicists in the international classification of standard occupations (ICSO-08), Med. Phys. Int. J. 1 (2013).
3. The Medical Physicist: Role and Responsibilities, Working Group on Policy Statement No. 1, IOMP, York, UK (2010).

N-acetylcysteine neuroprotective effect on restraint-induced oxidative stress in rat brain

¹Bogomoletz Institute of Physiology National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine

²National Aviation University, Kiev, Ukraine

Restraint as neuroendocrine stress leads to the elevation of stress hormones and increased metabolic rate, which is accompanied by oxidative damage, antioxidant disorders and disruption in cellular redox state. Glutathione is crucial for neuroprotection in brain under stressful conditions since directly reacts with reactive oxygen metabolites and electrophilic intermediates, maintains intracellular redox homeostasis [1]. Therefore compounds modulating GSH biosynthesis such as GSH precursor N- Acetylcysteine (NAC) can play more significant role in providing of oxidative insult protection. However, mechanisms of NAC positive effect were examined insufficiently. NAC influence on intensity of oxidative processes and glutathione system state of rat brain under restraint exposure was studied. Wistar rats were divided into groups: 1- served as control; 2- animals, which were exposed to restraint for 6h; 3- rats, which were exposed to restraint and received NAC. NAC (100mg/kg) was administered i.p. once per day for 1 week prior to restraint exposure. The restraint was performed using plastic rodent restrainer that allowed limiting rat movement. In brain homogenates the contents of secondary products of lipid peroxidation (LPO) were determined. To assess the state of glutathione pool, an amount of oxidized (GSSG) and reduced (GSH) glutathione, as well as activity of GSH-dependent and NADP⁺-generating enzymes were measured. Protein expression of GSH-related enzymes was evaluated by Western blot analysis. We found that 6h restraint caused intensification of LPO, significant reduction of GSH content and GSH-related enzymes that denoted disorders in GSH biosynthesis, absence of adequate antioxidative defense in rat brain after restraint exposure. Our results indicated that prophylactic NAC administration weakened oxidative processes. Thus, we registered a decrease in content of secondary products of LPO and GSSG, an increase in ratio GSH/GSSG in comparison with restraint group. Pretreatment with NAC diminished stress-induced overactivation of MnSOD to control level. Gradual recovery of glutathione pool was promoted by increase in activity of glutathione reductase and NADP⁺-isocitrate dehydrogenase that confirm enhancement of NADPH level, required for regeneration of GSH from oxidized glutathione. Increased activity and protein expression of glutathione peroxidase and γ -glutamylcysteinyl ligase indicated both increase of antiperoxide protection and inductions of GSH recycle. Neuroprotective actions of NAC under re-

straint stress were also confirmed by significant decrease in corticosterone concentration, which was important indicator of stress state. Thus, NAC administration restored restraint-induced depleted antioxidant glutathione pool and free radical scavenging enzyme system in brain. Since glutathione is major antioxidant in brain, modulation of its biosynthesis by NAC through upregulating key enzyme for glutathione biosynthesis γ -glutamylcysteinyl ligase, recovery of GSH recycle and as consequence cellular redox state could be mechanisms that protect neuronal cells under oxidative stress conditions.

References

1. Gonchar O., Klyuchko E., Mankovskaya I. Role of complex nucleosides in the reversal of oxidative stress and metabolic disorders induced by acute nitrite poisoning. *Indian Journal of Pharmacology*, 38(6), 2006, p. 414-418.

Горбунов А.Ю.^{1,2}, Бабаков В.Н.¹, Подольская Е.П.^{2,3}

МАЛДИ мишень, модифицированная TiO_2 : платформа для изучения окислительной биотрансформации ксенобиотиков

¹НИИ Гигиены, профпатологии и экологии человека Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Лекарственные поражения печени представляют серьёзную клиническую проблему и являются одной из основных причин отзыва лекарственных средств с рынка. В большинстве случаев гепатотоксичность обусловлена биоактивацией лекарственных средств путём их окислительного метаболизма в печени, приводящего к образованию высокоактивных метаболитов, способных ковалентно модифицировать биологические макромолекулы с образованием стабильных аддуктов.

Перспективным и развивающимся методом неферментативного моделирования окислительного метаболизма ксенобиотиков *in vitro* является фотокаталитическое окисление (ФКО) с использованием УФ-облучения в присутствии TiO_2 (УФ/ TiO_2).

Нами было сделано предположение, что УФ/ TiO_2 -ФКО и последующее получение аддуктов могут быть проведены непосредственно на МАЛДИ-мишени. Целью настоящей работы была разработка подхода, позволяющего последовательно осуществлять обе процедуры на TiO_2 -модифицированной МАЛДИ-мишени, с дальнейшим масс-спектрометрическим анализом.

Возможность применения данного подхода была продемонстрирована на примере нестероидного противовоспалительного препарата диклофенак (DCI), окислительная биотрансформация которого приводит к образованию высокоактивных метаболитов, определяющих его гепатотоксический эффект.

В работе использовали стандартную МАЛДИ-мишень МТР 384 (Bruker), на поверхность которой был нанесен слой нанопорошка TiO_2 . На модифицированную TiO_2 МАЛДИ-мишень наносили водные растворы DCI после чего подвергали ее УФ облучению. После высыхания капли проводили идентификацию образующихся продуктов окисления методом MALDI-FT-ICR с использованием прибора Solarix XR 7T (Bruker). На основе точного измерения массы продуктов окисления DCI были идентифицированы следующие метаболиты: DCI+O (m/z 310.0032); DCI+2O (m/z 323.9825); DCI+2O-2H; и DCI+O-CO₂-2H (m/z 279.9926).

Для оценки возможности ковалентного связывания образующихся продуктов окисления с белками на МАЛДИ-мишень после завершения ФКО наносили 2 мкл гемоглобина и инкубировали при комнатной температуре до полного высыхания капли. Масс-спектрометрический анализ проводили методом MALDI-TOF на приборе AXIMA Performance (Shimadzu). На масс-спектрах, снятых в линейном режиме, был обнаружен массовый сдвиг величиной около +310 Да, соответствующий аддукту α -цепи гемоглобина с DCI+O - основным продуктом окислительного метаболизма DCI *in vivo*.

Таким образом, мы предлагаем простой методический подход, позволяющий проводить ФКО ксенобиотиков и оценку реакционной способности продуктов их окисления в отношении макромолекул непосредственно на МАЛДИ-мишени с последующим масс-спектрометрическим анализом. Объем образца, необходимый для анализа, составляет 1 мкл, одновременно может быть исследовано до 384 образцов.

Горуко И.В.¹, Григорьева Д.В.¹, Живолковская А.Д.¹, Реут В.Е.¹,
Соколов А.В.^{2,3}, Графская Е.Н.³, Панасенко О.М.³, Лазарев, В.Н.³
Влияние антимикробных пептидов медицинской пиявки *Hirudo medicinalis* на клетки крови человека

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Москва, Российская Федерация

Антимикробные пептиды (АМП), компоненты врожденного иммунитета всех живых организмов, являются перспективными лекарственными средствами нового поколения для борьбы с бактериальными инфекциями. Недавно на основе биоинформатического анализа генома медицинской пиявки *Hirudo medicinalis* были идентифицированы и синтезированы катионные пептиды, обладающие антимикробным действием. Важно, чтобы АМП, оказываясь в организме человека, не только проявляли свою бактерицидную активность в отношении патогена, но и были минимально токсичны для эукариотических клеток, особенно клеток крови. Целью данной работы явился сравнительный анализ влияния четырех искусственно синтезированных АМП медицинской пиявки с различной аминокислотной последовательностью, обладающих выраженной антимикробной активностью, на свойства эукариотических клеток: гемолиз эритроцитов, жизнеспособность и морфологию нейтрофилов, а также их способность образовывать нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ).

В работе использовали следующие АМП: Phe-Arg-Ile-Met-Arg-Ile-Leu-Arg-Val-Leu-Lys (3967_1), Lys-Phe-Lys-Lys-Val-Ile-Trp-Lys-Ser-Phe-Leu (12530), Arg-Trp-Arg-Leu-Val-Cys-Phe-Leu-Cys-Arg-Arg-Lys-Lys-Val (536_1) и Arg-Pro-Ile-Leu-Ile-Arg-Val-Arg-Arg-Ile-Arg-Val-Ile (19347_2). Максимальное значение среди минимальных концентраций АМП, необходимых для достижения 100 %-ого ингибирования роста микроорганизмов (МИК_{max}) *Escherichia coli*, *Chlamydia trachomatis* и *Bacillus subtilis*, для 536_1 составило 17 мкМ, для 12530 – 90 мкМ, для 3967_1 – 10 мкМ и для 19347_2 – 77 мкМ.

Гемолиз эритроцитов оценивали спектрофотометрически по выходу гемоглобина. Жизнеспособность нейтрофилов оценивали методом проточной цитометрии по регистрации пропидиум йодид (PI)-положительных клеток. Образование НВЛ регистрировали в образцах изолированных нейтрофилов методом проточной цитометрии с применением непроницаемого для плазматической мембраны ДНК-

связывающего зонда SYTOX Green. Морфологию нейтрофилов оценивали методом сканирующей электронной микроскопии.

После 30-минутной инкубации клеток с синтезированными АМП медицинской пиявки в концентрациях, соответствующих MIK_{max} , количество PI-положительных нейтрофилов и гемолизированных эритроцитов увеличивалось (незначительно, но достоверно) только после инкубации клеток с АМП 536_1. Остальные АМП не влияли на жизнеспособность нейтрофилов и гемолиз эритроцитов. В качестве положительного контроля – соединения, обладающего цитолитическим действием по отношению к эукариотическим клеткам, использовали мелиттин – полипептид, выделенный из пчелиного яда. Как и ожидалось, мелиттин оказывал сильный цитотоксический эффект, лизируя более 60 % нейтрофилов и все эритроциты в концентрации 10 мкМ.

Для регистрации НВЛ нейтрофилы были проинкубированы с АМП в концентрациях, соответствующих MIK_{max} , в течение 30 мин при 37 °С, после чего образцы инкубировали с SYTOX Green (50 нМ) в течение 5 мин при комнатной температуре. Было установлено, что процент SYTOX Green-положительных событий увеличивался только после инкубирования нейтрофилов с АМП 536_1. Однако все АМП, кроме 3967_1, усиливали образование НВЛ, инициированное стандартным активатором нейтрофилов – 4-форбол-12-миристат-13-ацетатом. В присутствии АМП 536_1 и 12530 значительным образом изменялась морфология нейтрофилов, что выражалось в образовании выростов на поверхности клеток (псевдоподий).

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования синтезированных АМП медицинской пиявки для разработки на их основе противоинфекционных терапевтических средств.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов БРФФИ (Б20Р-215), РФФИ (20-515-00006) и МД-1901.2020.4.

Горшков Д.А., Глубокова М.Н., Жданова А.В., Катунина Е.Е.

Антиоксидантные свойства гуминовых веществ из отработанных лечебных грязей

ФГОУВО «Самарский государственный медицинский университет»,
Самара, Российская Федерация

Гуминовые кислоты – часть гуминовых веществ, образующихся вне живых организмов, но под их влиянием, имеющие темную окраску, мало растворимы в щелочах и практически нерастворимы в кислых растворах, не вызывают побочного действия, аллергических реакций и являются перспективными для использования с лечебной и профилак-

тической целью при различных воспалительных аутоиммунных заболеваниях.

Пригодность грязей к терапевтическому применению определяется по установленным физико-химическим, санитарно-бактериологическим и токсикологическим нормативам. Бывшая в употреблении лечебная грязь на длительное время выходит из технологического процесса и регенерируется в отстойниках. На процессы самоочищения пелоидов влияют температура, степень бактериального загрязнения, минерализация грязевого раствора и др.

Цель исследования - исследование антиоксидантных свойств гуминовых кислот пелоидов физико-химическими методами.

Материалы и методы. Для количественного определения антиоксидантов наиболее надежным представляется амперометрический метод, который позволяет непосредственно измерить содержание всех антиоксидантов в пробе, он основан на измерении электрического тока, возникающего при электрохимическом окислении исследуемого вещества (или смеси веществ) на поверхности рабочего электрода при определенном его потенциале. В условиях амперометрического детектирования хорошо окисляются соединения, содержащие гидроксильные группы, предел их

Нами была измерена антиоксидантная активность растворов гуминовых кислот различных концентраций 1%, 0,1%, 0,01%, 0,001%.

Результаты. Значения сигнала гуминовых кислот 0,001% концентрации 516 нАс свидетельствует о том, что суммарное содержание антиоксидантов составляет менее 0,0001 мг/мл. С увеличением концентрации гуминовых кислот значения цифровых сигналов, а следовательно, суммарное содержание антиоксидантов увеличивается. При концентрации гуминовых кислот 0,01% суммарное содержание антиоксидантов 0,00058 мг/мл, при концентрации 0,1% - 0,00387 мг/мл, а при концентрации гуминовых кислот 1% значение суммарного содержания антиоксидантов достигает 0,043 мг/мл.

Изучение антиоксидантных свойств гуминовых кислот манометрическим методом проводилось на модельной реакции радикально-цепного инициированного окисления 1,4-диоксана в стандартных условиях. Кинетические опыты проводили: в стеклянном реакторе, в который загружали раствор инициатора в 1,4-диоксане, термостатировали при температуре 75°C, затем следили за поглощением кислорода с помощью универсальной манометрической дифференциальной установки. Скорость окисления V_0 определяли по тангенсу угла наклона кинетической кривой поглощения кислорода. Ингибированное окисление 1,4-диоксана проводили в присутствии ионола или экс-

трактивных образцов. В этом случае скорость V_{in}^0 определяли по начальному участку кинетической кривой. Скорость иницирования рассчитывали по уравнению $V_i = k_i \cdot [АИБН]$, где k_i – константа скорости иницирования, c^{-1} . При расчете скорости иницирования полагали, что $k_i = 2ek_p$, где k_p – константа скорости распада АИБН, e – вероятность выхода радикалов в объем. При этом для k_p принимали значение, измеренное в циклогексанол: $\lg k_p = 17.70 - 35/\theta$ ($\theta = 4.575 \cdot T \cdot 10^{-3}$, $e = 0.5$). Таким образом, $V_i = 1 \cdot 10^{-7}$ моль/л·с.

Введение в реакционную смесь антиоксидантов приводит к снижению скорости окисления модельного субстрата вследствие обрыва цепи на молекулах ингибирующей примеси. С увеличением концентрации гуминовых кислот происходит закономерное снижение скорости окисления 1,4-диоксана, что служит доказательством его антиокислительного действия.

Выводы. Результаты экспериментов амперометрического и манометрического определения антиоксидантных свойств гуминовых кислот, выделенных из отработанных лечебных грязей, свидетельствуют о том, что они обладают антиоксидантной активностью, позволит использовать отработанные лечебные грязи для создания биологически активных соединений, обладающих антиоксидантным и противовоспалительным действием.

Григорьева Д.В.¹, Горуко И.В.¹, Графская Е.Н.², Соколов А.В.^{2,3},
Панасенко О.М.², Лазарев В.Н.²

Влияние антимикробных пептидов медицинской пиявки *Hirudo medicinalis* на ферментативную активность миелопероксидазы

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

²ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Москва, Российская Федерация

³ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация

В связи с быстрыми темпами роста устойчивости возбудителей инфекционных заболеваний к антибиотикам необходимо создание альтернативных терапевтических средств, резистентность к которым у микроорганизмов будет отсутствовать. В основе таких препаратов могут быть антимикробные пептиды (АМП), синтезируемые различными организмами. В организме человека основными клетками, обеспечивающими защиту от инфекционных агентов, являются нейтрофилы. Взаимодействие АМП с основными секреторными гранулярными бел-

ками нейтрофилов может приводить к изменению свойств как АМП, так и нейтрофильных белков. Целью данной работы явилось изучение влияния новых искусственно синтезированных АМП медицинской пиявки *Hirudo medicinalis* на ферментативную активность главного бактерицидного белка нейтрофилов – миелопероксидазы (МПО).

В работе использовали четыре АМП, синтезированные на основе биоинформатического анализ генома медицинской пиявки *Hirudo medicinalis*: 536_1 (Arg-Trp-Arg-Leu-Val-Cys-Phe-Leu-Cys-Arg-Arg-Lys-Lys-Val), 12530 (Lys-Phe-Lys-Lys-Val-Ile-Trp-Lys-Ser-Phe-Leu), 3967_1 (Phe-Arg-Ile-Met-Arg-Ile-Leu-Arg-Val-Leu-Lys) и 19347_2 (Arg-Pro-Ile-Leu-Ile-Arg-Val-Arg-Arg-Ile-Arg-Val-Ile). Максимальное значение среди минимальных концентраций АМП, необходимых для достижения 100 %-ого ингибирования роста микроорганизмов ($МИК_{max}$) *Escherichia coli*, *Chlamydia trachomatis* и *Bacillus subtilis*, для 536_1 составило 17 мкМ, для 12530 – 90 мкМ, для 3967_1 – 10 мкМ и для 19347_2 – 77 мкМ. МПО выделяли из замороженных лейкоцитов здоровых доноров. Пероксидазную активность МПО ($ПА_{МПО}$, 0,5 нМ) оценивали спектрофотометрическим методом по скорости окисления ферментом *o*-дианизидина (*o*-DA, 380 мкМ) после добавления H_2O_2 (50 мкМ).

После предварительной инкубации МПО с АМП 536_1 $ПА_{МПО}$ изменялась бифазным образом: увеличивалась (в ~1,2 раза) при использовании АМП 536_1 в концентрациях 0,5-2,5 мкМ и значительно снижалась при концентрациях 20-40 мкМ (например, в присутствии АМП 536_1 в концентрации, соответствующей $МИК_{max}$, $ПА_{МПО}$ уменьшалась в ~2 раза). В присутствии АМП 12530 в концентрациях, соответствующих $МИК_{max}$ и выше, $ПА_{МПО}$ увеличивалась в ~1,2-1,3 раза, в малых концентрациях (до 45 мкМ включительно) данный АМП не влиял на $ПА_{МПО}$. При изучении $ПА_{МПО}$ в суспензии, содержащей АМП 3967_1, была замечена тенденция к увеличению каталитической активности фермента, однако она не была статистически достоверной. АМП 19347_2 в концентрации, соответствующей $МИК_{max}$ и выше, концентрационно-зависимым образом ингибировал $ПА_{МПО}$.

Нами также было изучено, как изменяются эффекты АМП после их модификации хлорноватистой кислотой (НОСl), генерируемой МПО. Так, после модификации 5-кратным мольным избытком НОСl способность АМП 536_1 модулировать ферментативную активность МПО снижалась (в малых концентрациях модифицированный АМП 536_1 терял способность усиливать $ПА_{МПО}$, а в больших концентрациях его ингибирующее действие уменьшалось в ~2 раза). В присутствии АМП 12530, модифицированного 10-кратным мольным избытком НОСl,

ПАМПО увеличивалась значительно (в ~1,4-1,6 раза), чем в присутствии нативного АМП 12530. В присутствии же 0,5-5 мкМ АМП 3967_1, модифицированного 20-кратным мольным избытком HOCl, ПАМПО увеличивалась на 30-40 %. После обработки АМП 19347_2 20-кратным мольным избытком HOCl его способность ингибировать ферментативную активность МПО снижалась в ~2 раза.

Из полученных данных можно заключить, что АМП 536_1 в малых концентрациях (0,5-2,5 мкМ) и АМП 12530 в концентрациях, сопоставимых с МИК_{max} (45-200 мкМ), могут проявлять синергический эффект с МПО, усиливая продукцию бактерицидных высокореакционных соединений. АМП 19347_2 и АМП 536_1 в концентрациях, соответствующих МИК_{max} и выше, ингибируют ферментативную активность МПО. После модификации HOCl способность АМП регулировать активность МПО изменяется. Полученные данные необходимо учитывать при разработке на основе АМП противомикробных терапевтических средств.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов БРФФИ (Б20Р-215), РФФИ (20-515-00006) и МД-1901.2020.4.

Грищенко А.Н., Меленец М.А.

Оценка внешнего дыхания в условиях ношения медицинской маски

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

Коронавирусная инфекция (COVID-19) относится к инфекционным заболеваниям с преимущественным поражением органов дыхательной системы. Данное заболевание вызывается бета коронавирусом SARS-CoV-2, которое получило распространение по всему миру в 2020 г. Использование медицинской маски является одной из профилактических мер по ограничению распространения различных вирусных респираторных инфекций, в том числе и коронавирусной. Однако существует вероятность, что при постоянном ношении масок может развиваться гипоксемия [1]. В связи с чем в настоящее время для ученых представляется интересным вопрос о влиянии медицинских масок на функции внешнего дыхания. Внешнее дыхание, происходящее в легких, обеспечивает газообмен между внешней средой и кровью легочных капилляров. Некоторые изменения функций внешнего дыхания, механизмы адаптации к воздействию каких-либо факторов, в том числе и к длительному ношению медицинской маски, можно выявить

только при использовании специальных функциональных легочных проб, а именно пробы Штанге и Генчи [2].

Цель – оценить влияние масочного режима на функции внешнего дыхания.

Материалы и методы исследования. В исследовании приняли участие студенты 2 курса (15 юношей) лечебного факультета УО «Гродненский государственный медицинский университет». Обеспеченность организма кислородом оценивали с помощью двух проб: проба Штанге и проба Генчи. Перед замером обследуемому в положении сидя необходимо сделать три обычных цикла вдох-выдох, примерно на 3/4 глубины полного вдоха. Затем, при проведении пробы Штанге, ему необходимо задержать дыхание после глубокого вдоха. Время задержки регистрируется по секундомеру. Здоровые люди в среднем задерживают дыхание после вдоха на 45 – 60 секунд. Проба Генчи проводится после максимального выдоха. С помощью секундомера подсчитывается время задержки дыхания. В норме задержка дыхания после максимального выдоха составляет 20 - 40 секунд [3]. Данные две пробы выполняются дважды: до ношения медицинской маски и спустя час ношения маски. Статистическая обработка полученных результатов проводили с помощью программного обеспечения Statistica 10.0. Для сравнения двух выборок (до ношения медицинской маски и спустя час ношения) использовали непараметрический статистический тест (критерий) Уилкоксона при установленном уровне значимости $p=0,05$.

Результаты. Средние значения времени задержки дыхания по функциональным пробам Штанге и Генчи составляют 56,26 секунд и 21 секунда соответственно, что является нормой. Среднее значение пробы Штанге спустя час ношения медицинской маски незначительно снизилось до 53,4 секунд, которое соответствует нормальному диапазону. Среднее значение пробы Генчи незначительно увеличилось и составило 22,8 секунды, что также соответствует нормальному диапазону. При сравнении двух выборок значения уровня значимости для проб Штанге и Генчи оказались равны 0,481 и 0,178 соответственно, которые являются выше 0,05, т.е. критерии незначимы.

Выводы. Полученные в данном исследовании результаты позволяют констатировать, что ношение медицинской маски не оказывает особого влияния на функциональное состояние организма.

Литература

1. Пандемия COVID-19. Меры борьбы с ее распространением в Российской Федерации / Н.И. Брико [и др.] // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2020. – Том 19. – doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-2-4-12.

2. Пробы Штанге, Генчи и Серкина (тесты на кислородное обеспечение организма) [Электронный ресурс] / Медицина.рф. – Москва, 2019. – Режим доступа: <https://xn--80ahcnbt9b7a1f.xn--plai/>. – Дата доступа: 13.04.2021.
3. Воронин. Р.М. Адаптационные возможности лиц молодого возраста по результатам пробы Штанге / Р.М. Воронин - 2011. - №10 (105) – С. 173 – 175.

Гросу В.В.

Состояние перекисного окисления липидов в эволюции острого инфекционного миокардита у детей

Государственный университет медицины и фармации имени Николая
Тестемицану, Кишинев, Молдова

В основе развития миокардита у детей лежат сложные патогенетические механизмы, обусловленные изменениями иммунных и метаболических процессов. Среди факторов неспецифической защиты часто влияющих на возникновение и течение острого инфекционного миокардита, важное место занимает состояние системы ПОЛ, которая, с одной стороны, является важной составной частью механизмов адаптации организма, а с другой может самостоятельно приводить к существенным нарушениям функции других защитных систем [1]. Чрезмерный уровень промежуточных и конечных продуктов ПОЛ становится токсичным для клеток большинства органов и является одним из механизмов развития «порочного круга» патологических процессов при развитии миокардитов [2].

Цель – изучение динамики интенсивности процессов перекисного окисления липидов и изменение состояния антиоксидантной защиты при различных методах лечения острого инфекционного миокардита у детей.

Материал и методы. Обследовано 60 больных (25 мальчиков и 35 девочек) с острым инфекционным миокардитом, средний возраст – $7,3 \pm 1,2$ лет, которые были разделены на 2 группы в зависимости от лечения: 1-ю группу составили 30 детей (14 мальчиков и 16 девочек), получавших витамин Е 30% раствор в возрастной дозе и ингибитор АПФ Каптоприл по 1 мг/кг массы тела, 2-ю группу составили 30 детей (11 мальчиков и 19 девочек), которые принимали лечение ингибитором рецепторов альдостерона Спиронолактоном в дозе по 1 мг/кг и метаболическую терапию препаратами магния. Определяли уровни сердечных ферментов, печеночных трансаминаз, общего холестерина (ХС), ХС липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), ХС липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), триглицеридов, общую антиоксидантную активность, С-реактивный белок (СРБ).

Результаты. Нарушение липидного обмена у больных обеих групп проявлялось повышением в плазме крови содержания ХС ЛПНП ($p<0,001$) и снижением ХС ЛПВП и его холестерин-акцепторных свойств ($p<0,001$). В I группе больных, отмечалось пониженное содержание общего ХС, триглицеридов ($p<0,001$), у больных II группы уровень общего ХС и триглицеридов определялся в пределах нормы ($p>0,05$). В сыворотке крови отмечали повышение уровня С-реактивного белка в обеих группах ($p<0,001$). Показатели активности системного воспаления выше у больных с острым миокардитом, осложненным II-III функциональным классом ХСН. Уровень общей антиоксидантной активности (ОАА) в I группе в начале заболевания составил $34,48\pm 1,75$ ммоль/л, в II группе – $46,3\pm 2,34$ ммоль/л, в динамике наблюдений уровень ОАА в I группе снизился до $22,27\pm 1,13$ ммоль/л и до $16,4\pm 2,1$ ммоль/л в II группе.

Выводы. Установлено, что оксидативный статус при остром инфекционном миокардите характеризуется активацией перекисного окисления липидов при достаточном уровне антиоксидантной защиты, а при тяжелом течение – углублением оксидативного стресса и угнетением активности антиоксидантной защиты. Анализ эффективности проведенной комплексной терапии острого инфекционного миокардита у детей показал статистически достоверное преимущество предложенного комплекса лечения с включением в стандартную терапию препаратов антигипоксического и антиоксидантного действия.

Литература

1. Shekerdeman L., Bohn D. Acute viral myocarditis: Epidemiology and pathophysiology. Guidelines for the Treatment of Myocarditis. In: Pediatric Critical Care Medicine, 2006, vol. 7, nr. 6, (Suppl), p. S2-S7.
2. Charles E. Canter and Kathleen E. Simpson. Diagnosis and Treatment of Myocarditis in Children in the Current Era. Originally published 7 Jan 2014 <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.001372> Circulation. 2014; 129:115–128

Гросу В.В.

Диагностическое значение биомаркеров ремоделирования миокарда при хронической сердечной недостаточности

Государственный университет медицины и фармации имени Николая Тестемицану, Кишинев, Молдова

В настоящее время для диагностики сердечной недостаточности (СН) на практике широко используются биомаркеры такие как натрийуретический пептид (NT-proBNP, высокочувствительный тропонин I и T (hs-cTn I, hs-cTn T) и миоглобин. Высокочувствительные

тропонины, являющиеся маркерами повреждения миокарда, высвобождаются при гибели кардиомиоцитов, в том числе провоцируемой их перегрузкой при СН. Однако данные биомаркеры не могут быть корректно использованы в дифференциальной диагностике различных типов СН. В научных исследованиях было установлено, что содержание тропонина Т в кардиомиоцитах примерно в 2 раза превышает уровень тропонина I. Около 93 % тропонина Т содержится в сократительном аппарате миоцитов, эта фракция может быть предшественником для синтеза тропонинового комплекса и 7 % – в цитолизе. Тропонин Т из сердечной мышцы по аминокислотному составу и иммунным свойствам отличается от тропонина Т других мышц [1].

Цель исследования. Оценить изменения биомаркеров Тропонина I, Тропонина Т и миоглобина в прогрессировании хронической сердечной недостаточности у больных артериальной гипертензией.

Материалы и методы. В исследование были включены 56 больных артериальной гипертензией, осложненной СН (средний возраст $16,3 \pm 1,6$ лет), которые были разделены на 2 группы, различающиеся по приему медикаментозной терапии – 1-ю группу составили 28 больных, находящихся на монотерапии ингибиторами АПФ, 2 – группу составили 28 больных, получающих лечение β -адреноблокаторами. Статистический анализ проводили при помощи пакета программы «Statistica», версия 6.0, включал критерий t Стьюдента, статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Тропонин I определяли иммуноферментным методом с использованием тест-системы *Status Firs Tn I* с помощью анализатора DX Press Reader с использованием биотинизированных/стрептовидина антител Tn I, с учетом его молекулярной массы 24 kDa. Тропонин Т определяли по тест-системе: TNT-HS Roche Diagnostics (Германия), нормальная концентрация в крови (0,00-0,03 нг/мл), молекулярная масса 39,7 kDa.

Результаты. При поступлении уровень Tn I в первой группе составил $1,20 \pm 0,3$ нг/мл, в динамике через 6 месяцев эволюции заболевания $0,03 \pm 0,01$ нг/мл ($p < 0,01$), во второй группе больных уровень Tn I составил $0,21 \pm 0,06$ нг/мл, через 6 месяцев $0,01 \pm 0,01$ нг/мл ($p > 0,05$). Сывороточная концентрация TnT в I группе составила $0,1 \pm 0,01$ нг/мл, во II группе – $0,02 \pm 0,01$ нг/мл ($p > 0,05$), в динамике значения в обеих группах нормализовались ($p > 0,05$). Уровень миоглобина в крови в I группе исходно составил $33,2 \pm 1,7$ нг/мл, через 6 месяцев $19,5 \pm 1,3$ нг/мл ($p < 0,001$), во II группе – $28,4 \pm 1,7$ нг/мл, через 6 мес $18,8 \pm 1,4$ нг/мл ($p < 0,001$). Всем больным проводилась двухмерная эхокардиография при которой были анализированы параметры сердечной гемодинамики и выявлены признаки ремоделирования миокарда, которые

корелировали с продолжительностью заболевания (увеличение массы миокарда ЛЖ, явления разных типов гипертрофии ЛЖ, индекс подвижности стенки ЛЖ, изменения со стороны ФВЛЖ, увеличение индекса ММ ЛЖ).

Выводы. Диагностический уровень белков миоглобина, тропонинов Т и I в крови может быть использован для оценки тяжести сердечной недостаточности у больных с артериальной гипертензией, а также для определения степени поражения миокарда, пиковый уровень тропонинов в крови строго обратно пропорционален индексу подвижности стенки, фракции выброса левого желудочка, измеренным с помощью двухмерной эхокардиографии.

Литература

1. Сereжина Е.К., Обрезан А.Н. Новые биомаркеры повреждения, воспаления и ремоделирования в дифференциальной диагностике типов сердечной недостаточности. Российский кардиологический журнал 2021; 26(1):3914. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-3914>.

Гросу В.В.

Диагностическая значимость нейрого르몬ов при миокардитах осложненных сердечной недостаточностью у детей

Государственный университет медицины и фармации имени Николая Тестемицану, Кишинев, Молдова

Исследование сердечной недостаточности широко применяется в различных клинических ситуациях в детском возрасте и представляет собой ранний критерий оценки нарушения работы сердца и прогноза заболевания, а также является показателем эффективности проводимой терапии.

Цель работы – изучить параметры гемодинамики и уровни катехоламинов у больных с миокардитами в зависимости от степени тяжести синдрома сердечной недостаточности (СН).

Материалы и методы. В исследование были включены 58 больных с диагнозом острый миокардит, осложненный сердечной недостаточностью, в возрасте $12,4 \pm 1,2$ лет и контрольная группа (здоровые) $11,6 \pm 0,8$ лет ($p > 0,05$). Критерии включения: острый миокардит, включительно осложненный нарушениями ритма и проводимости. Критерии исключения: сахарный диабет, ожирение, хроническая печеночная и почечная недостаточность. Оценивали: систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД), пульсовое АД (ПАД), частоту сердечных сокращений (ЧСС), Эхо КГ показатели. Статистическая обработка данных проводилась программой Статистика 6,0. Результаты оценивались используя сред-

ние значения ($M \pm m$), статистически значимые различия оценивали при $p < 0,05$.

Результаты. Были выявлены следующие симптомы, предшествующие ухудшению состояния сердечной гемодинамики: преимущественно систолическая дисфункция миокарда (со сниженной фракцией выброса левого желудочка) усиливалась одышкой в покое в 93, 6% случаев, проявлением выраженной утомляемости в 96,3% случаев, отсутствием аппетита в 2% случаев, сонливостью в 8% случаев, беспокойством в 3 % случаев, признаками умеренной недостаточности ЛЖ на Эхо КГ со сниженной ФВЛЖ $< 55\%$ выявилось в 42,8% случаев. Остро возникшие нарушения ритма и/или проводимости наблюдались в 24,2 % случаев, среди них можно отметить желудочковую экстрасистолию в 12% случаев, синусовую тахикардию в 86,4% случаев, наджелудочковую тахикардию в 2,3% случаев, атриовентрикулярную блокаду I степени в 3,2% случаев. Средние цифры САД у пациентов составили $104 \pm 3,1$ мм.рт.ст., были ниже чем в группе здоровых $112,8 \pm 2,3$ мм.рт.ст. На фоне прогрессирования СН отмечено увеличение уровня нейrogормонов (уровень адреналина в крови составил $523,2 \pm 12,5$ пг/мл, что достоверно выше группы контроля ($p < 0,05$), и норадреналина $1384 \pm 28,6$ пг/мл в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$)), и подтверждает клинически развитие на первичных стадиях симптомов СН. Были выявлены и различия ДАД в исследуемой группе: значения были повышены $84,6 \pm 6,8$ мм.рт.ст., по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). При анализе пульсового АД выявлено уменьшение ПАД менее на 20 мм.рт.ст среди пациентов с изменениями гипоксическисшемического характера ST-T сегмента $29,4 \pm 4,32$ мм.рт.ст. по сравнению с группой контроля $36,4 \pm 3,24$ мм.рт.ст. Оценка ПАД в динамике в группе исследуемых с миокардитами и явлениями СН в зависимости от формы СН отметила увеличение $51,3 \pm 4,2$ мм.рт.ст, что выше средних значений в группе контроля ($p < 0,05$). Среднее значение частоты сердечных сокращений у больных миокардитами были выше $128 \pm 2,6$ уд/мин, по сравнению с группой контроля $88,6 \pm 4,2$ уд/мин на фоне усугубления симптомов СН и увеличения ее степени по данным клинических исследований и ЭхоКГ. Полученные данные подтверждают увеличение нейrogормональной активности симпатической нервной системы у больных миокардитами, которая отражается в прогрессировании степени СН при выраженной гипоксемии.

Выводы. Раннее выявление предикторов сердечной недостаточности параметров дисфункции миокарда, нейrogормонов симпатoadреналовой системы является особенно важным этапом в эволюции

заболевания и способствует использованию необходимых методов лечения для предупреждения смертности.

Губич О.И., Шляхтина Е.А., Копылева Д.В., Джаафар Н.С.

Исследование гепатопротекторных и антиоксидантных свойств падуба парагвайского (*Ilex paraguariensis*) на экспериментальной модели хронической алкогольной интоксикации

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Падуб парагвайский – дикорастущее и культивируемое растение Южной Америки, используемое для приготовления мате – традиционного тонизирующего напитка из его высушенных листьев, а также в качестве популярного фитотерапевтического средства коренных народов указанного региона. В листьях и стеблях падуба установлено наличие алкалоидов (кофеин, теofilлин, теобромин), мате-сапонинов, флавоноидов (рутин, кверцетин), хлорогеновой кислоты, фенольных гликозидов, дубильных веществ, витаминов (группа В, С, РР), ряда микроэлементов. В настоящее время подтверждена противовоспалительная, ДНК-протекторная, антиатерогенная, антидепрессантная, сахароснижающая, нейропротекторная, болеутоляющая, диуретическая, противогрибковая, антибактериальная активность водных и водно-спиртовых экстрактов падуба. Способность препаратов падуба поддерживать функционирование печени в условиях алкогольной интоксикации прежде не изучалась.

Целью настоящей работы явилось исследование антиоксидантных и гепатопротекторных свойств отвара листьев падуба парагвайского на экспериментальной модели хронического алкоголь-индуцированного поражения печени.

Материалы и методы. Работа выполнена на беспородных белых крысах-самцах массой 180–200 г в соответствии с этическими нормами обращения с животными. В работе использовали листья *Ilex paraguariensis* («MetaMate Ind.», Бразилия), отвар которых (50 мг листьев/200 мл воды) предоставляли для питья экспериментальным животным вместо питьевой воды (среднее потребление составило 12 мл/сутки/крыса). Для создания экспериментальной модели хронической алкогольной интоксикации 15 % этанол предоставляли для питья (как альтернативу воде) в течение 6 недель лабораторным крысам, имеющим предрасположенность к алкоголизму, то есть добровольно употреблявшими этиловый спирт в объеме 10–12 мл/сут. В качестве эталонного растительного препарата гепатопротекторного действия

использовали «Шрот расторопши пятнистой (*Silybum marianum*)» (ООО «Клуб Фарм-Эко», Беларусь). Водную суспензию (2 г / 200 мл воды) шрота предоставляли крысам с алкогольным поражением печени в течение 7 суток вместо питьевой воды (среднее потребление составило 10 мл/сутки/крыса).

Определение активности щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы, γ -глутамилтранспептидазы, содержание альбумина и общего билирубина проводили с помощью коммерческих наборов реагентов, активность каталазы – по методу Aebi, содержание ТБК-активных продуктов – спектрофотометрическим методом. Для статистических расчетов использовали лицензионный пакет программ Stadia 6.0.

Результаты. Показано, что хроническое 6-инедельное спаивание крыс этанолом приводит к нарушению целостности и функционирования гепатоцитов, что сопровождалось увеличением активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови на 181,8%, лактатдегидрогеназы – на 191,8%, γ -глутамилтранспептидазы – на 77,7%, содержания общего билирубина – на 150,0%, снижением содержания альбумина – на 60 %. Фиксировалось увеличение содержания ТБК-активных продуктов в печени крыс на 197%, активности каталазы – на 75,1%.

Потребление отвара падуба интактными крысами в течение 7 суток не сопровождалось изменением величин анализируемых биохимических маркеров, в то время как ежедневный прием отвара крысами с алкогольным поражением печени обеспечил снижение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови на 167,1 %, лактатдегидрогеназы – на 121,6%, γ -глутамилтранспептидазы – на 68,4%, уровня общего билирубина – на 171,2%, повышение уровня альбумина – на 65%. Гепатопротекторное действие коррелировало со снижением содержания ТБК-активных продуктов и активности каталазы в печени до значений, характерных для интактных животных.

Указанный эффект может быть реализован благодаря высокому содержанию в водных экстрактах падуба флавоноидов, аскорбиновой и хлорогеновой кислот, обеспечивающих проявление ими антиоксидантной активности. Примечательно, что действие отвара падуба оказалось сопоставимым с эффектом классического растительного гепатопротектора – расторопши пятнистой.

Заключение. В работе установлено наличие выраженного антиоксидантного и гепатопротекторного эффектов отвара падуба парагвайского на экспериментальной модели алкогольного поражения печени.

Изучение влияния падуба парагвайского (*Ilex paraguariensis*) на углеводный и энергетический обмен лабораторных мышей в экспериментальной модели интенсивной физической нагрузки
Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Как известно, листья и стебли падуба парагвайского – сырье для изготовления традиционного для стран Южной Америки и набирающего популярность в Европе, в том числе Республике Беларусь, тонизирующего напитка – мате. В странах произрастания и США употребление мате рекомендуется для увеличения выносливости, при переутомлении, мышечной слабости, в качестве кардиотонического и антидепрессантного средства. Популярность данного напитка предопределяет необходимость его фармакологического исследования.

В нашей работе оценено содержание общего пула макроэргов и креатинфосфата в скелетной мускулатуре, а также концентрация глюкозы и уровень пирувата крови. Информация о влиянии отвара падуба на указанные биохимические параметры в доступной литературе не представлена.

Цель работы: исследование влияния отвара листьев падуба парагвайского на указанные биохимические показатели углеводного и энергетического обмена лабораторных мышей при интенсивной физической нагрузке.

Материалы и методы. Работа выполнена на беспородных белых мышах-самцах массой 30-50 г в соответствии с этическими нормами обращения с животными. В работе использовали листья *Ilex paraguariensis* ("MetaMate Ind.", Бразилия), отвар которых (50 мг листьев/200 мл воды) вводили животным в максимально эффективной экспериментально подобранной дозе 2 мл/кг однократно перорально перед началом экспериментальной нагрузки, представлявшей собой 10-минутное плавание в воде комнатной температуры (24,5 °C). В качестве препаратов сравнения использовали энергетический напиток «Wild Jaguar» (ЗАО «ОСТ-Аква», РФ) и отвар кофе (*Coffea arabica*) («Lavazza», Италия). Препараты сравнения вводили лабораторным мышам однократно перорально с помощью пипетки в экспериментально подобранных максимально эффективных дозах (2 мл/кг - для энергетика, 4 мл/кг – для кофе) за 15 минут до начала эксперимента. Количественное определение суммарного содержания основных макроэргов осуществлялось по реакции с молибдатом аммония в присутствии аскорбиновой кислоты, содержание креатинфосфата - по методу Фиске и Суббароу, пирувата – методом Умбрайт, содержание глюко-

зы – с помощью коммерческого набора реагентов. Для статистических расчетов использовали лицензионный пакет программ Stadia 6.0.

Результаты. Экспериментальная физическая нагрузка приводила к наступлению у животных состояния утомления, что являлось проявлением снижения содержания макроэргов в скелетной мускулатуре (суммарное содержание макроэргов было ниже начальных значений на 60,8%, содержание креатинфосфата – на 43,6%), почти полного истощения глюкозы в крови (17,7% к контролю) и накопления пирувата (+262,1 % к контролю).

При аналогичной нагрузке, но после однократного приема животными отвара падуба за 15 минут до начала эксперимента, снижение уровня макроэргов в скелетной мускулатуре было менее выраженным (суммарное содержание составило 60,3% от исходного), как и снижение концентрации глюкозы в крови (-10,5% к контролю). При этом мышцы по-прежнему находились в состоянии активного плавания. Данный эффект может быть обусловлен достаточно высоким содержанием в листьях падуба кофеина, стимулирующего нервную систему, а также процессы липолиза и гликогенолиза протекающие в мышечной и сердечно-сосудистой системах. Определенную роль играет и наличие в листьях падуба простых углеводов, облегчающих физическую активность.

Примечательно, что эффект отвара падуба несколько уступал действию кофеин- и сахаросодержащего энергетика «Wild Jaguar», однако значительно превосходило таковое, присущее отвару кофе.

Заключение. Таким образом, падуб парагвайский обладает стимулирующим и адаптогенным эффектами и в условиях физической нагрузки обеспечивает адаптацию путем более экономного расходования энергетических субстратов.

Гусаковская Э.В., Максимович Н.Е., Трусова И.С., Рыбаков Р.В.

Мышечная сила крыс с экспериментальным перитонитом в условиях модуляции NO-синтазной активности

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

Показатели мышечной силы (МС) экспериментальных животных могут свидетельствовать о выраженности патологического процесса. Известно, что аминокислота L-аргинин (L-Arg) является источником креатина, структурным компонентом белковых молекул, субстратом NO-синтазы (NOS), продуцирующей монооксид азота (NO), который влияет на кровообращение, регулирует иммунные реакции в очаге

воспаления (эффекты эндотелиальной (eNOS), нейрональной (nNOS) и индуцируемой (iNOS) NO-синтазы). Предполагается, что влияние на метаболизм L-Арг может изменить течение ЭП, а МС животных может выступать в роли одного из показателей выраженности воспалительного процесса.

Цель – оценить мышечную силу крыс с экспериментальным перитонитом в условиях сочетанного введения субстрата NO-синтазы – аминокислоты L-аргинин и ингибитора индуцируемой NO-синтазы – аминогуанидина.

Материалы и методы. Исследования проведены на крысах-самцах, 230-250 г (n=54). Все животные разделены на 4 равные группы (n=18), которым внутривентрально вводили, 0,6 мл/100 г: 1) «контроль» – 0,9 % хлорида натрия; 2) «ЭП» – 15 %-й каловой взвеси; 3) «ЭП+L-Арг+АГ» – 15 %-й каловой взвеси, с внутримышечным введением L-Арг, 300 мг/кг, и аминогуанидина (АГ), 15 мг/кг. Крысу помещали в емкость, заполненную на 6-7 см водой с температурой 10-12 °С, с вертикально установленной в емкости решеткой. После опускания в воду, животное взбиралось на решетку; фиксировали время его удержания на решетке. Животные всех групп разделены на 3 равные подгруппы, п/г (n=6): 1-ю, 2-ю и 3-ю, в соответствии со сроками исследования – полсуток, 1 и 3 суток ЭП. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США).

Результаты. У крыс с ЭП отмечалось уменьшение МС, по сравнению со значением в «контроле», спустя полсуток – до 26,5 (20,0; 30,0) с, или на 77,8 % ($p<0,001$), 1 сутки – до 15,5 (13,0; 19,0) с, или на 87% ($p<0,001$), 3 суток – до 20,0 (17,0; 24,0) с, или на 83,3 % ($p<0,001$). При этом животные 2-й п/г удерживались на решетке меньшее количество времени, по сравнению с крысами 1-й п/г, – меньше на 41,5 % ($p<0,05$). Уменьшение МС у крыс с ЭП может быть обусловлено катаболизмом мышечного белка, истощением запасов АТФ, активацией iNOS и окислительного стресса, ингибированием eNOS с нарушением кровообращения. Сочетанное введение L-Арг и АГ при ЭП приводило к увеличению МС спустя полсуток – до 43,5 (39,0; 51,0) с, или на 64,2 % ($p<0,01$), 1 сутки – до 42,0 (39,0; 46,0) с, или на 171,0 % ($p<0,01$), 3 суток – до 59,0 (56,0; 62,0) с, или на 195,0 % ($p<0,01$), по сравнению со значениями в соответствующих п/г без введения препаратов. При этом МС крыс 3-й п/г была на 35,6 % ($p<0,05$) и 40,5 % ($p<0,05$) больше, чем в 1-й и во 2-й п/г, соответственно. По сравнению с животными в «контроле», продолжали сохраняться различия во времени удержания животного на решетке, оно было меньше на 63,6 %

($p < 0,01$) в 1-й п/г, на 64,9 % ($p < 0,01$) – во 2-й и на 50,6 % ($p < 0,01$) – в 3-й п/г. Таким образом, введение крысам с ЭП комбинации L-Арг и АГ приводило к увеличению у них МС, что может быть опосредовано через эффекты L-Арг – увеличение образования белковых молекул и креатина, уменьшение выраженности микроциркуляторных нарушений (активация eNOS), а также АГ – подавление образования пероксинитрита и развития инициируемых им эффектов (ингибирование iNOS).

Выводы. При использовании модуляторов пути «L-аргинин-NO» – комбинации L-аргинина и аминоксидов отмечалась положительная динамика изменения мышечной силы, что может быть обусловлено ингибированием iNOS аминоксидом с уменьшением выраженности окислительного стресса и его повреждающих эффектов, и влиянием L-аргинина как субстрата образования креатина мышцами, субстрата eNOS и nNOS.

Danilovskyi S.V., Kryvdiuk I.V., Minchenko D.O.

Regulation of the expression of TP53 and its associated proteins under hypoxia in glioma cells is ERN1 dependent

Palladin Institute of Biochemistry National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Endoplasmic reticulum stress and hypoxia are necessary components of malignant tumors growth and suppression of ERN1 (from endoplasmic reticulum to nuclei-1) signalling pathway, which is linked to the apoptosis and cell death processes, significantly decreases proliferative processes.

The endoplasmic reticulum is a key organelle in the cellular response to hypoxia, ischemia, and some chemicals which activate a complex set of signaling pathways named the unfolded protein response. This adaptive response is activated upon the accumulation of misfolded proteins in the endoplasmic reticulum and is mediated by endoplasmic reticulum-resident sensor named ERN1.

Misfolded proteins in the endoplasmic reticulum lumen activate two distinct catalytic domains of ERN1, which display serine/threonine transautophosphorylation and endoribonuclease activities, respectively. ERN1-associated endoribonuclease activity is involved in the degradation of a specific subset of mRNA (RADD) and also initiates the cytosolic splicing of the pre-XBP1 (X-box binding protein 1) mRNA whose mature transcript encodes a transcription factor that stimulates the expression of unfolded protein response specific genes. It was shown that inhibition of the ERN1

enzyme leads to the inhibition of tumor vascularization and also to a significant decrease in the growth of tumor cells.

The aim of this work was to investigate the mechanisms of regulation of the expression of genes encoding TP53 and related to TP53 factors, namely: TP53 inhibitors - NME6, TOPORS and MDM2, TP53 activators - TP53BP1 and USP7, as well as its effectors - ZMAT3 and PERP in U87 glioma cells with suppressed function of the ERN1 enzyme under conditions of hypoxia.

The studies were carried out on U87 glioma cells and its subline from a dominant-negative construct based on the pcDNA3.1 vector containing cDNA of the sensor-signaling enzyme ERN1 without kinase and endoribonuclease domains (dnERN1). The expression level of TP53 mRNA and its activators was assessed by the data of the quantitative polymerase reaction in real time. The values of the studied genes mRNA expressions were normalized to the expression of beta-actin mRNA and represent as percent of control (100 %). Western blot analysis was also performed to confirm whether the mRNA expression level corresponded to the protein level. Using bioinformatic analysis microRNA binding sites were identified in the studied genes.

In this study, cells were cultured at a low oxygen level (3% oxygen, 5% carbon dioxide and 92% nitrogen) for 16 hours in an incubator at 37 °C.

Studies have shown that hypoxia has a different effect on the expression level of TP53 and its dependent genes while inhibiting the sensory - signaling enzyme ERN1. Expression of TP53, USP7 and ZMAT3 genes decreases under hypoxic conditions only in control glioma cells, but if the function of the ERN1 enzyme is excluded, these genes show clear resistance to hypoxia. Hypoxia condition is more meaningful to MDM2 and PERP genes, since their expression increase was observed in both cell types. Thus, we can say that the effect of hypoxia on the expression of the MDM2 and PERP genes depends on both the ERN1 activity and other factors.

It was found that hypoxia-induced changes in gene expression with the exclusion of the function of the sensory - signaling enzyme IRE1 lead to increased expression of the TP53BP1 gene and a decrease in the expression of TOPORS and NME6 genes.

Our data indicate that hypoxia exhibits a pro-tumor effect, and inhibition of the sensory-signaling enzyme ERN1 increases the expression of not only TP53 mRNA, but also its activators (TP53BP1 and USP7), which is consistent with a possible effect on suppressing tumor growth.

Thus, the cellular response to endoplasmic reticulum stress is an important mechanism by which tumor cells maintain the ability to continuously divide rapidly; therefore, the influence on the signaling pathways of the cellu-

lar response to endoplasmic reticulum stress and the identification of potential target genes can be used as a strategy for development of new anti-cancer drugs.

Денисов А.А.^{1,2}, Никифоров А.В.¹, Сахарук Д.С.¹, Токальчик Д.П.²,
Пашкевич С.Г.², Губкин С.В.²

Аппаратно-программная система для исследования электрической активности и синаптических процессов в нервной ткани *in vitro*

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Разработка высокопроизводительных систем регистрации электрической активности возбудимых тканей необходима для изучения механизмов функционирования мозга в норме и при моделировании различных патологических состояний. Использование переживающих препаратов головного мозга (*in vitro*) позволяет исследовать различные нейробиологические процессы в более контролируемых условиях, чем *in vivo*. Совершенствование электрофизиологических методов идет по пути миниатюризации регистрирующих и стимулирующих устройств и увеличения числа их каналов, повышения вычислительной мощности для обработки больших объемов принимаемой информации в режиме реального времени. Технические решения, обеспечивающие многоканальную регистрацию и визуализацию данных, автоматизация варьирования состава внеклеточной среды и возможность поддержания и быстрого изменения условий, при которых проводится эксперимент, повышают оперативность принятия решений и позволяют вносить изменения на любой стадии исследования. При электрофизиологических исследованиях *in vitro* широко применяются срезы гиппокампа — отдела мозга, вовлеченного в процессы обучения и формирования памяти. Гиппокамп обладает характерной слоистой структурой, позволяющей сохранить основную систему синаптических связей в поперечных срезах. С использованием срезов гиппокампа исследуют процессы синаптической передачи, тестируют нейротропные свойства новых фармакологических препаратов, моделируют патологические процессы, такие как ишемия, эпилепсия и многие другие.

Целью работы являлась разработка оборудования, методик и программных средств для проведения биофизических и нейрофизиологических исследований с применением срезов мозга крыс *in vitro*.

Материалы и методы. Исследования выполняли на срезах гиппокампа крыс Вистар с применением методик внеклеточной регистрации и стимуляции электрической активности нейронов. Регистрацию и стимуляцию осуществляли при помощи вольфрамовых микроэлектродов, для усиления электрической активности использовали интегральный многоканальный усилитель, данные обрабатывали при помощи микрокомпьютеров.

Результаты. Для регистрации вызванных ответов нейронов разработана система регистрации и стимуляции электрической активности на базе 16-канального интегрального усилителя биопотенциалов с цифровым последовательным интерфейсом. Для управления процессом эксперимента, обработки получаемых данных, устранения наводок и артефактов создано специальное программное обеспечение на языках C и Python. Для поддержания жизнеспособности и нормального уровня электрической активности в срезах гиппокампа *in vitro* разработана и изготовлена с применением метода трехмерной печати проточная регистрационная камера. Камера обеспечивает подведение оксигенированной перфузионной среды и тестируемых препаратов, снабжена системами регулировки уровня и демпфирования колебаний раствора. Для регулирования температуры в камере разработан термостабилизатор, включающий в себя нагреватель и теплообменник. С применением разработанного комплекса зарегистрирована характерная электрическая активность нейронов срезов гиппокампа крысы *in vitro* в виде полевых возбуждающих постсинаптических потенциалов и популяционных спайков, проведено индуцирование синаптической пластичности путем высокочастотной стимуляции.

Выводы. Выполненные эксперименты свидетельствуют о том, что созданный комплекс оборудования обеспечивает условия для реализации функциональной активности нервной ткани *in vitro* и позволяет экспериментально воссоздавать и контролировать нейробиологические процессы, ответственные за формирование памяти. Многоканальная программируемая система регистрации и стимуляции открывает возможности для разработки новых методик исследований взаимодействия групп нейронов в срезах гиппокампа на нейросетевом уровне. Параметры системы регистрации позволяют использовать ее для разработки систем нейроинтерфейса человек-компьютер. С применением разработанной аппаратуры открываются возможности для

проведения экспериментов не только с нервной тканью, но и с другими электровозбудимыми тканями, например, миокардом.

Довнар Р.И.¹, Васильков А.Ю.², Соколова Т.Н.¹, Наумкин А.В.²

Количественные характеристики антибактериального действия наночастиц серебра

¹УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь

²ФГБУН «Институт элементоорганических соединений имени А.Н.
Несмеянова РАН», Москва, Российская Федерация

К настоящему времени широкое применение антибиотиков, наряду с их доступностью, необоснованным назначением, нерациональной дозировкой и неполным курсом лечения привели к повсеместному распространению антибиотикорезистентных штаммов. Механизмы появления антибиотикорезистентности заложены природой и уже достаточно полно изучены. Они, в частности, включают появление спонтанных мутаций, а также взаимный обмен бактериями своими плазмидами. Несмотря на исследованность данных механизмов количество полиантибиотикорезистентных штаммов бактерий продолжает расти. К примеру, метициллинрезистентный золотистый стафилококк впервые был описан в 1968 году и определенное время оставался только внутрибольничной инфекцией. Однако уже в 1980 году стали высеваться внебольничные штаммы данного микроорганизма у людей, не проходивших лечения в больницах [1]. К настоящему времени в отдельных исследованиях процент его высеваания у пациентов достигает до 80 % среди всех изолятов золотистого стафилококка. Проблема лечения таких пациентов заключается в невосприимчивости микроорганизма к применяемым антибиотикам. Одной из альтернатив может рассматриваться применение наночастиц металлов, в частности серебра.

Цель – определить количественные характеристики антибактериального действия наночастиц серебра по отношению к метициллинрезистентному золотистому стафилококку.

Материалы и методы. Специально для выполнения исследования был проведён анализ высеянных штаммов у хирургических пациентов с гнойными ранами с целенаправленным выделением клинического штамма метициллинрезистентного золотистого стафилококка. На микробиологическом анализаторе Vitek 2 Compact фирмы «BioMérieux» произведена идентификация, типирование и определение антибиотикограммы микроорганизма.

Наночастицы серебра, применяемые в работе, были синтезированы методом металлопарового синтеза в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт элементоорганических соединений имени А.Н.Несмеянова Российской академии наук (Российская Федерация). Перед исследованием формировался золь наночастиц с использованием метода ультразвуковой кавитации.

Для количественного описания антибактериального действия наночастиц серебра было выбрано изучить два показателя: минимальная ингибирующая концентрация и минимальная бактерицидная концентрация. Обе определялись с использованием метода разведений в питательном бульоне в 96-луночных стерильных планшетах с крышкой в пятикратной повторности. Рост бактерий для определения минимальной ингибирующей концентрации контролировался спектрофотометрически, а для минимальной бактерицидной – высеванием на питательную среду.

Результаты. Выполненные исследования показали, что наличие генов метициллинрезистентности не создаёт устойчивости к наночастицам серебра, по всей видимости обусловленной иным механизмом действия наночастиц. После математической обработки полученных микробиологических данных было выявлено, что минимальная ингибирующая концентрация наночастиц серебра по отношению к метициллинрезистентному штамму золотистого стафилококка составляет 7,81 мкг/мл. Минимальная бактерицидная концентрация превышает последнюю в 4 раза, и равна 31,25 мкг/мл.

Выводы. 1) Минимальная ингибирующая концентрация наночастиц серебра по отношению к метициллинрезистентному штамму золотистого стафилококка составляет 7,81 мкг/мл, а минимальная бактерицидная – 31,25 мкг/мл.

2) В качестве альтернативы антибактериальным препаратам следует в перспективе рассматривать широкое применение наночастиц металлов, в частности серебра.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект М20Р-086) и Российского фонда фундаментальных исследований (проект 20-53-00030 Бел-а).

Литература

1. Emerging trends in antibiotic resistance: implications for emergency medicine / A. Pourmand [et al.] // American journal of emergency medicine. – 2017. – Vol. 35, № 8. – P. 1172–1176.

Изучение биологической активности стероидов с гетероциклическим фрагментом в боковой цепи

ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Целью работы является синтез, изучение биологической активности гетероциклических аналогов стероидных гормонов. Хорошо известно, что стероидные гормоны играют значительную роль в регуляции функций организма человека и во многих случаях недостаток или избыток определенного гормона является причиной тяжелых заболеваний и расстройств. Установлено, что ряд ферментов (17 α -стероидгидроксилаза-17,20-лиаза, ароматаза, 14 α -деметилаза и др.) контролируют ключевые стадии метаболизма экзогенных и эндогенных стероидов и их функции могут быть блокированы или изменены под действием различных химических агентов, в том числе и модифицированных химическим путем стероидных гормонов. Результатом такого взаимодействия может быть как ингибирование фермента, так и конкурентное связывание. Последнее, в ряде случаев, позволяет получить выраженный терапевтический эффект при отсутствии характерного гормонального отклика на введение стероида. Эти факторы используются для разработки лекарственных препаратов избирательного действия. Кроме того, 14 α -деметилаза является одной из приоритетных мишеней противогрибковой терапии. Возникновение устойчивости патогенных грибов к существующим противогрибковым препаратам приводит к необходимости поиска новых эффективных лекарственных веществ, обладающих высокой специфичностью в отношении действия на резистентные штаммы грибов.

На сегодняшний день существует лекарственный препарат «Абиратерон», который представляет собой селективный ингибитор цитохрома P450 C¹⁷ (CYP17) – фермента, проявляющего 17 α -гидроксилазную и C17, 20-лиазную активность. Фермент CYP17 участвует в биосинтезе андрогенов и эстрогенов в яичках, надпочечниках и предстательной железе, включая раковые клетки. Абиратерон представляет собой стероид, содержащий пиридиновый цикл при C¹⁷. В связи с этим, представляется актуальной оценка связывания структурно подобных стероидов с активным центром других клинически значимых цитохромов P450 человека и патогенных микроорганизмов. Наш интерес к такого рода соединениям обусловлен высокой биологической активностью веществ, имеющих в своей структуре как эстрановый скелет, так и остатки фармакофорных гетероароматических кислот. Настоящая ра-

бота посвящена изучению биологической активности синтезированных веществ.

В качестве объектов для изучения биологической активности нами были выбраны две монооксигеназы: CYP51 патогенного гриба *Candida glabrata* и CYP11B1 человека. Выбор объектов обусловлен необходимостью глубокого изучения данных ферментов для разработки противогрибковых препаратов и лечения заболеваний, связанных с гиперсинтезом глюкокортикоидов, а также высоким структурным подобием синтезированных соединений с субстратами данных ферментов. Кроме того, оценка связывания гомологичных соединений с ферментами позволит оценить топологию активного центра данных монооксигеназ.

В результате анализа взаимодействия 7-замещенных 19-нортестостеронов с активным центром монооксигеназ человека и патогенных грибов было показано, что с активным центром CYP11B1 человека связываются производные стероидов эстранового ряда, содержащих метильную группу при C7 и остатки гетероароматических кислот при C17 β , а именно:

7 α -метил-19-нортестостерон,

17 β -(6-хлорникотиноилокси)-7 α -метилэстр-4-ен-3-он,

17 β -(6-хлорникотиноилокси)-7 β -метилэстр-4-ен-3-он,

17 β -(6-метоксиникотиноилокси)-7 α -метилэстр-4-ен-3-он,

17 β -(2-хлорникотиноилокси)-7 α -метилэстр-4-ен-3-он,

17 β -(2-хлорникотиноилокси)-7 β -метилэстр-4-ен-3-он,

17 β -никотиноилокси-7 α -метилэстр-4-ен-3-он и

17 β -пиразинкарбонилокси-7 α -метилэстр-4-ен-3-он.

Полученные аналоги стероидных гормонов могут рассматриваться в качестве потенциальных ингибиторов грибковых инфекций. Высокоочищенные рекомбинантные ферментные препараты в настоящее время рассматриваются как эффективный инструмент, позволяющий непосредственно оценить параметры взаимодействия ингибиторов с мишенью, и широко используются в качестве тест-систем для оперативного скрининга разнообразных соединений, что зачастую позволяет заменить на первых стадиях дорогостоящий скрининг соединений с использованием клеточных культур.

*Дыбов О.Г., Воробей А.В., Адамович А.Ю., Шадрина В.К.,
Нижегородова Д.Б., Старостин А.М., Владимирская Т.Э.,
Зафранская М.М.*

Сравнение моделей язвенного колита у крыс

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Республика Беларусь

Язвенный колит (ЯК) является актуальной проблемой современной медицины. Для изучения патофизиологических механизмов ЯК разработано множество экспериментальных моделей, однако они не могут в полной мере отразить всю сложность патогенеза заболевания.

Цель: определить наиболее приближенную к клинической практике модель ЯК у лабораторных крыс.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование проведено на 24 половозрелых (6-8 недель) крысах линии Wistar (самцах), массой 295-380 гр.

1. Двухэтапная модель с применением уксусной кислоты (УК) (n=2). Первый этап (2-е сутки): предварительное суточное голодание; наркоз; введение 5 мл/кг 4% раствора УК ректально на глубину 4-8 см. Вторым этапом (10-е сутки) воспроизведены все шаги предыдущего, но с повышением концентрации и дозировки УК до 10 мл/кг и 12%. На каждом этапе кишечник крыс предварительно очищали водным раствором высокомолекулярного макрогола из расчета 2,5 мл/100 г.

2. Модель с введением 5мл 5% декстрана сульфат натрия (ДСН) посредством желудочного зонда и с предварительным суточным голоданием (n=6).

3. Модель с применением 15 мг 2,4-динитробензолсульфоновой кислотой (ДНБС, n=8): а) после суточного голодания животным вместо питьевой воды давали водный раствор высокомолекулярного макрогола; б) через 7 часов крысам под кетаминным наркозом выполняли трансректальное введение 15 мг ДНБС, растворённой в 0,25 мл 50 % этанола, на глубину до 8 см.

4. Модель с применением 30 мг ДНБС (n=8). Алгоритм моделирования схож с предыдущей моделью.

Результаты и выводы. Оценка моделей выполнена по следующим критериям: выживаемость животных при моделировании, клинические проявления, состояние толстой кишки при аутопсии и микроскопическая оценка её пораженных участков.

1. УК. Смертность 100% на 11-14 сутки. Зафиксировано резкое снижение двигательной активности и потеря массы тела. У животных была диарея с кровянистыми элементами и сильное загрязнение кожи

вокруг ануса. При аутопсии выявлены токсический мегаколон; гнойно-некротические язвы, покрытые фибрином; гипертрофия эпителия слизистой. Модель не соответствует цели из-за высокой смертности.

2. ДСН. Выживаемость 100%. Из клинических признаков выявлено незначительное уменьшение времени активности животного. При аутопсии явных патологических изменений толстой кишки не отмечено. Микроскопически - очаговая десквамация эпителия и распространенный умеренный отёк подслизистой основы (ПО). Модель не соответствует поставленной цели из-за недостаточного клинического эффекта.

3. ДНБС 15 мг. Выживаемость составила 100%. Клинические проявления модели: потеря массы тела более 5%, следы каловых масс желтого цвета вокруг ануса, уменьшение времени двигательной активности, учащение стула и изменение его консистенции. При аутопсии обнаружен отёк стенок толстой кишки с признаками воспаления слизистой оболочки (СО). Микроскопически выявлены: повреждение СО и ПО, преобладание в инфильтрате сегментоядерных лейкоцитов, крипт-абсцессы, поверхностные плоские язвы СО. Модель соответствует ЯК.

4. ДНБС 30 мг. Выживаемость 100%. Потеря массы тела составила более 5%, отмечено наличие темно-коричневого кала с примесью крови вокруг ануса, уменьшение времени активности и диарея. В стенке толстой кишки обнаружен отек с глубокими язвами в области СО. Микроскопия: поражение СО и ПО; крипт-абсцессы не визуализируются; глубокие афтозные и щелевидные язвы; встречаются гранулемы саркоидного типа. Модель по всем признакам схожа с болезнью Крона.

Исходя из полученных результатов, наиболее приближенной ЯК является модель с применением 15 мг ДНБС и высокомолекулярного макроглола.

Жаворонок И.П.¹, Ерофеева А.-М.В.¹, Семёник И.А.¹, Лисовская М.В.²

Влияние производных 5-аминолевулиновой кислоты на опухолевый рост асцитной карциномы Эрлиха у экспериментальных животных

¹ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Новые производные 5-аминолевулиновую кислоту, предположительно, способны обладать цитостатическими и цитотоксическими свойствами, а также вызывать меньшую степень интоксикации организма. Выявлению противоопухолевых свойств этих веществ была посвящена данная работа.

Цель исследования – изучить влияние N-пальмитоил-5-аминолевулиновой кислоты (ПалАЛК), бутил-4-оксо-5-пальмитамидопентаноата (б.э.ПалАЛК) и N-стеароил-5-аминолевулиновой кислоты (С-5-АЛК) в липосомах с фосфатидилхолином (ФХ) на пролиферативную активность и фазы роста асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ).

Материалы и методы. Изучение противоопухолевого действия ПалАЛК, б.э.ПалАЛК и С-5-АЛК в эквимоллярных дозах проводили у мышей-самок линии Af с индуцированной АКЭ. АКЭ моделировали путем введения в брюшную полость мышей-реципиентов 3×10^6 опухолевых клеток в объеме 0,2 мл 9% NaCl. Клетки АКЭ извлекали из брюшной полости на 7-е, 10-е, 14-е, 17-е и 21-е сут, проводили их подсчет с использованием камеры Горяева и определяли их концентрацию, вычисляя по формуле. Оценку противоопухолевого эффекта по увеличению продолжительности жизни проводили по окончании опыта и гибели всех животных. Определяли среднюю продолжительность жизни (СПЖ, дни) в группах и вычисляли показатели увеличения продолжительности жизни (УПЖ, %). Значимость отличий оценивали с помощью непарного двухвыборочного теста Стьюдента. Вывод о статистической значимости делали при $p < 0,05$.

Результаты. В результате динамического контроля за течением опухолевого процесса при ежедневных инфузиях исследуемых веществ животным с индуцированной АКЭ было установлено, что инъекции ПалАЛК, б.э.ПалАЛК и С-5-АЛК в липосомах с ФХ животным-опухоленосителям положительно влияли на их общее состояние. Внешне животные выглядели менее болезненными, увеличение размеров брюшной полости за счет нарастания объемов транссудата у мышей с ас-

цитной формой АКЭ было менее интенсивным, изъязвлений на слизистых не отмечали.

Полученные данные свидетельствуют о достоверно значимом увеличении продолжительности жизни животных с АКЭ при применении исследуемых субстанций: СПЖ_{мышь с АКЭ} = 16,83 ± 0,24 сут (контроль); СПЖ_{мышь с АКЭ+ ФХ} = 14,83 ± 1,07 сут, УПЖ = -12,00%; СПЖ_{мышь с АКЭ+ПалАЛК} = 21,00 ± 0,00 сут, УПЖ = 25,00%; СПЖ_{мышь с АКЭ+б.э.ПалАЛК} = 20,16 ± 0,94 сут, УПЖ = 20,00%; СПЖ_{мышь с АКЭ+С-5-АЛК} = 21,00 ± 0,00 сут, УПЖ = 25,00%.

Было установлено, что наиболее выраженными противоопухолевыми свойствами обладала субстанция, содержащая ПалАЛК в липосомах с ФХ, инъекции которой ингибировали пролиферацию опухолевых клеток, снижая жизнеспособность и вызывая деструктивные процессы в ядрах клеток АКЭ на стадии лог-фазы, что проявлялось в статистически значимом снижении концентрации этих клеток в транссудате.

Применение эмульсии, содержащей б.э.ПалАЛК в липосомах с ФХ, вызывало снижение количества опухолевых клеток в транссудате у экспериментальных животных с асцитной карциномой Эрлиха, при этом изменения были статистически незначимы.

Инъекции препарата, содержащего С-5-АЛК в липосомах с ФХ, пролонгировали лог-фазу развития АКЭ, что свидетельствует об отсрочке наступления терминальной фазы. В свою очередь данные факты указывают на наличие противоопухолевых свойств у данного вещества, однако выраженных деструктивных изменений морфологии опухолевых клеток после инъекций препарата установлено не было.

Выводы. Установлено, что инъекции производных 5-аминолевулиновой кислоты в липосомах с фосфатидилхолином, вводимые внутрибрюшинно животным с асцитной карциномой Эрлиха, достоверно увеличивали продолжительность жизни животных-опухоленосителей и улучшали их общее состояние, снижали концентрацию опухолевых клеток в транссудатах.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ по проекту M19M-042.

Набор реагентов для количественного определения фактора свертывания крови VII человека в плазме крови человека и лекарственных средствах хромогенным методом

ГУ «РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий», Минск, Республика Беларусь

В настоящее время в лабораторной диагностике и производстве лекарственных средств из плазмы крови человека широко применяются коагуляционные и хромогенные наборы реагентов для определения активности факторов свертывания крови человека. Согласно Государственной фармакопее Республики Беларусь хромогенный метод является основным для контроля качества лекарственных средств, содержащих фактор свертывания крови VII.

Использование наборов с хромогенным субстратом позволяет определять активность фактора свертывания крови VII и назначать необходимую терапию пациентам, что приводит к уменьшению расхода дорогостоящих препаратов, а также позволяет оценивать более точно состояние гемостаза и избежать возможных осложнений при травмах и хирургических вмешательствах.

Цель. Разработать макет набора реагентов для количественного определения фактора свертывания крови VII человека в плазме, продуктах крови и лекарственных средствах хромогенным методом.

Материалы и методы. Объектами исследования являлись: фактор свертывания крови VII человека (FVII), фактор свертывания крови X человека (FX), плазма крови доноров, препарат протромбинового комплекса, тромбопластин собственного производства.

Результаты. В основу определения активности FVII положен двустадийный фотометрический метод. На первой стадии фактор FVII в комплексе с тромбопластином и катионами кальция активируется и переходит в форму FVIIa, которая, в свою очередь, активирует фактор X (FX) и переводит его в активную форму FXa. На второй стадии FXa селективно расщепляет хромогенный субстрат бензилоксикарбонил-D-аргинин-глицил-аргинин-*n*-нитроанилид с образованием *n*-нитроанилина. Исследование образца проводят фотометрическим методом при длине волны 405 нм. Значение оптической плотности прямо пропорционально количеству фактора VII.

Основной компонент набора реагентов – FX, был выделен и очищен из плазмы крови доноров анионообменной и гидрофобной хроматографией. Удельная активность реагента составила 120 международных единиц активности (МЕ) на миллиграмм белка. Все компоненты

набора (хромогенный субстрат, тромбопластин, FX) лиофилизированы, стандартизованы и стабилизированы для длительного хранения. Определение активности фактора VII проводили, используя разработанный набор реагентов, следующим образом. Во флаконы, содержащие фактор X и тромбопластин, вносили по 2,0 мл очищенной воды. Во флакон, содержащий хромогенный субстрат, вносили по 4,0 мл очищенной воды. Содержимое флакона с концентратом буферного раствора переносили в мерный термостойкий химический стакан объемом 50 мл и доводили объем до 50 мл очищенной водой. Калибровочные пробы готовят путем серийных разведений калибровочной пробы, содержащей 2 МЕ/мл. Для определения активности фактора VII образцы плазмы необходимо развести в 1000 раз. Калибровочные пробы и разведенные образцы плазмы вносили по 50 мкл в лунки микропланшета и инкубировали при 37 °С в течение 5 мин. Затем добавляли комбинированный реагент, содержащий тромбопластин, хлорид кальция и фактор X, и инкубировали при 37 °С в течение 10 минут. Затем во все лунки добавляли раствор хромогенного субстрата и инкубировали при 37 °С в течение 10 минут. Реакцию останавливали добавлением 50 мкл раствора 20% уксусной кислоты. Измеряли оптическую плотность при длине волны 405 нм на планшетном спектрофотометре. Активность фактора свертывания крови VII в МЕ/мл определяли по калибровочной кривой.

Набор позволяет количественно определять фактор свертывания крови VII в широком диапазоне и с высокой чувствительностью.

Выводы. Разработан лабораторный макет набора для количественного определения фактора свертывания крови VII человека с диапазоном измерений 0,01 – 1,5 МЕ/мл, чувствительностью 0,01 МЕ/мл.

Занкевич В.А., Просвирякова И.А., Гриценко Т.Д.

К вопросу влияния загрязнения атмосферного воздуха мелкодисперсными твердыми частицами на показатели заболеваемости детского населения

РУП «НПЦ Гигиены», Минск, Республика Беларусь

На территории Республики Беларусь вклад твердых частиц в уровень многокомпонентного загрязнения атмосферного воздуха составляет от 7 до 25 %. Твердые частицы входят в пятерку загрязняющих веществ, формирующих до 70 % технологических выбросов.

Всемирной организацией здравоохранения твердые частицы дисперсностью 10 микрон (PM₁₀) и 2,5 микрон (PM_{2,5}), содержащиеся в атмосферном воздухе, отнесены к значимым факторам влияния загрязне-

ния воздуха на здоровье населения [ВОЗ, 2011, 2013]. На проникающую способность твердых частиц в организм человека влияет их дисперсность. PM_{10} способны достигать бронхов и, накапливаясь в тканях легких, вызывая воспалительные процессы. $PM_{2,5}$ при вдыхании достигают нижних отделов легких, проникая в кровоток и другие органы человека [J. D. Kaufman, 2010].

Цель – выявить закономерные количественные связи между уровнями риска здоровью и показателями заболеваемости населения при различной степени загрязнения атмосферного воздуха PM_{10} и $PM_{2,5}$.

Материалы и методы. Исследования проводились в период максимальных производственных выбросов твердых частиц (2010–2013 гг.) стационарными источниками 30 предприятий промышленности строительных материалов и в период реализации предприятиями мероприятий по снижению выбросов (2014–2017 гг.). Указанные периоды характеризовались статистически значимыми различиями в уровнях загрязнения атмосферного воздуха твердыми частицами. Концентрации PM_{10} и $PM_{2,5}$ в атмосферном воздухе в районе размещения исследуемых предприятий определены на основании результатов моделирования рассеивания выбросов. Для верификации результатов моделирования использованы данные производственного лабораторного контроля. Проведена оценка фактических и расчетных концентраций твердых частиц, значений комплексного показателя «Р», позволившего установить степени опасности загрязнения атмосферного воздуха твердыми частицами, индекса качества атмосферного воздуха «IQA», используемого для прогнозирования степени выраженности вредных эффектов со стороны здоровья населения при определенном диапазоне концентраций твердых частиц в атмосферном воздухе. Анализ общей заболеваемости, в том числе по нозологическим формам детского населения 0–17 лет включительно, проживающего в районе размещения предприятий, проведено по данным выкопировки из государственной статистической отчетности Форма 1-дети (Минздрав) за период 2010–2017 гг.

Результаты и выводы. В ходе проведения исследований установлена однонаправленная динамика и достоверно высокая связь между темпами прироста значений индексов опасности, рисков острого/хронического действия PM_{10} , $PM_{2,5}$ и темпами прироста общей заболеваемости детского населения болезнями органов дыхания ($R=0,93–0,98$, $p<0,05$) и системы кровообращения ($R=0,94–0,98$, $p<0,05$) при «умеренной» и «неблагоприятной» степени загрязнения атмосферного воздуха мелкодисперсными твердыми частицами.

Установленные взаимосвязи между величиной выброса твердых частиц и индекса качества атмосферного воздуха «IQA» ($R=0,47$, $p=0,05$), а также общие закономерности изменения показателей «IQA» и динамики общей заболеваемости детского населения ($R=0,89$, $p=0,01$), в том числе болезнями органов дыхания ($R=0,81$, $p=0,03$) и острыми респираторными инфекциями верхних дыхательных путей ($R=0,78$, $p=0,04$) позволили рекомендовать применение величины «IQA» в качестве интегрального количественного показателя (критерия) гигиенической оценки степени загрязнения атмосферного воздуха твердыми частицами с учетом их дисперсного состава.

Установленные количественные связи между показателями риска острого/хронического действия PM_{10} , $PM_{2,5}$, индексов опасности и показателями общей заболеваемости детского населения, заболеваемости болезнями органов дыхания во всех анализируемых возрастных группах детей ($R=0,78-0,83$, $p<0,05$ в группе 1–4 года, $R=0,74-0,87$, $p<0,05$ в группе 5–14 лет, $R=0,82-0,97$, $p<0,05$ в группе 15–17 лет) позволяют применять в качестве гигиенических критериев оценки влияния загрязнения атмосферного воздуха мелкодисперсными твердыми частицами на здоровье населения, значения рисков острого и хронического действия, индексов опасности для критических органов и систем.

Захарова И.А.

Анализ динамики показателя рН раствора местного анестетика в течение 2-х лет

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Работа врача-стоматолога связана с частым проведением местного обезболивания с использованием современных местных анестетиков, поскольку протоколы лечения большинства заболеваний в полости рта включают этап обезболивания.

Местные анестетики – лекарственные вещества, временно подавляющие возбудимость окончаний чувствительных нервов и блокирующие проведение импульсов по нервным волокнам, а также способные вызывать местную или регионарную потерю чувствительности. Известно, что водородный показатель местного анестетика имеет большое значение, так как более кислый раствор анестетика отличается замедленным временем наступления обезболивания. Высокое значение показателя рН местных анестетиков способствует уменьшению болевых ощущений у пациентов во время инъекции и более ком-

фортному проведению вмешательства. В настоящее время отсутствуют данные о динамике во время хранения показателя pH отечественного раствора артикаина с эпинефрином «Борисовского завода медпрепаратов», что определяет актуальность исследования.

Цель: изучить изменение показателя pH раствора артикаина гидрохлорида (Борисовский завод медпрепаратов) в процессе хранения.

Материалы и методы. Проведено измерение показателя pH раствора артикаина с эпинефрином «Борисовский завод медпрепаратов» (свежей партии, с датой выпуска менее 1 месяца) в течение 2-х лет с интервалом исследования 3 месяца. Каждое измерение проведено 10 раз. Определение показателя pH выполняли с использованием pH/ORP метра «HI 2211» («Hanna Instruments») с основными техническими характеристиками: разрешающая способность 0,001 pH; точность измерений $\pm 0,01$ pH. Описание количественных переменных представлено в виде медианы, нижнего и верхнего квантиля Me (Q1–Q3). Достоверность различий определена по критерию W Вилкоксона (с критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез равном 0,05).

Результаты и их обсуждение. Установлено, что свежая партия изучаемого лекарственного средства имеет показатель pH 3,62 (3,61–3,64), что соответствует значениям ГОСТ (3,5–5,5). Через 3 месяца хранения значение водородного показателя раствора артикаина составило 3,59 (3,58–3,60), что на 0,83% меньше по сравнению с первым измерением ($W=45$; $p<0,01$). Через 6 месяцев показатель pH изучаемого раствора оказался равным 3,55 (3,55–3,56), на 1,93% меньше по сравнению с первым измерением ($W=45$; $p<0,01$). Через 9 месяцев показатель pH изучаемого раствора оказался равным 3,45 (3,43–3,46), на 4,7% меньше по сравнению с первым измерением ($W=45$; $p<0,01$). Через год показатель pH изучаемого раствора оказался равным 3,39 (3,34–3,43), на 6,35% меньше по сравнению с первым измерением ($W=45$; $p<0,01$).

Через 15 месяцев хранения значение водородного показателя раствора артикаина составило 3,34 (3,30–3,36), что на 7,73% меньше по сравнению с первым измерением ($W=45$; $p<0,01$). Через 18 месяцев показатель pH изучаемого раствора оказался равным 3,33 (3,30–3,35), на 8,01% меньше по сравнению с первым измерением ($W=45$; $p<0,01$). Через 21 месяца показатель pH изучаемого раствора оказался равным 3,31 (3,30–3,33), на 8,56% меньше по сравнению с первым измерением ($W=45$; $p<0,01$). Через 2 года показатель pH изучаемого раствора оказался равным 3,30 (3,29–3,32), на 8,84% меньше по сравнению с первым измерением ($W=45$; $p<0,01$).

Выводы. Установлено статистически значимое снижение показателя рН раствора артикаина гидрохлорида в процессе хранения на 0,83% через 3 месяца, на 1,93% через 6 месяцев, на 6,35% через год и через 2 года на 8,84%.

Зорин В.П.^{1,2}, Зорина Т.Е.¹, Кравченко И.Е.¹, Коблов И.В.¹

Сравнительный анализ структурных и кинетических характеристик комплексов фотосенсибилизатора метатетрагидроксифенилхлорина с различными типами наноносителей

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

²Международный государственный экологический институт имени А.Д. Сахарова БГУ, Минск, Республика Беларусь

Среди основных факторов, определяющих результативность ФДТ решающее значение имеют процессы распределения и локализации фотосенсибилизаторов (ФС) в тканях мишенях. В настоящее время имеется ограниченный арсенал средств (изменение химической структуры ФС, величина дозы и дробность введения ФС, продолжительность drug-light интервала), позволяющих модифицировать фармакокинетику и характер локализации ФС в тканях при проведении ФДТ. Дополнительные возможности в контроле процессов биораспределения ФС появляются при его введении в составе различных типов наноносителей [1]. В этом случае в качестве факторов, влияющих на связывание ФС в организме, выступают процессы взаимодействия наноносителя с различными биологическими структурами, а также скорость выхода ФС из состава наноносителя. Применение в качестве наноносителей стимулзависимых материалов, а также структур, содержащих векторные системы доставки, обеспечивает дополнительные возможности контроля процессов биораспределения ФС в организме.

Цель работы – оценка роли равновесных и кинетических характеристик комплексов фотосенсибилизатора метатетрагидроксифенилхлорина с рядом наноразмерных носителей в контроле механизмов биораспределения этого ФС в организме.

Материалы и методы. На основании результатов анализа равновесного распределения в смешанных системах проведена количественная оценка аффинности ФС к липидным везикулам различного состава, циклодекстринам, мицеллам сополимеров и конъюгатам декстрана с поли-N-изопропилакриламидом. С использованием специально разработанных флуоресцентных методов проведено сравнение скоростей

элиминации ФС из состава комплексов и связывания с биологическими структурами.

Результаты. Использование наноносителей полностью предотвращает агрегацию после введения водонерастворимого ФС в кровь. В условиях отсутствия в составе наноносителей векторных систем процессы локализации ФС в клеточных и тканевых структурах опосредованы выходом его молекул из состава комплексов и связывания с биологическими структурами, тип наноносителя не влияет на распределение молекул ФС между основными транспортными белками плазмы (альбумин, липопротеины низкой плотности, липопротеины высокой плотности).

Скорость процесса выхода ФС из состава комплексов с липидными везикулами, в основном, контролируется константой скорости диссоциации из липосомальных мембран и скоростью их разрушения в присутствии белков сыворотки крови. При использовании стерически стабилизированных липосом роль деструкции везикул в процессах биораспределения ФС снижается.

Механизм влияния циклодекстринов на процессы распределения в биосистемах преимущественно зависит от концентрации наноносителя. Если при высоких концентрациях циклодекстрина основной эффект связан со снижением активности ФС, то присутствие циклодекстрина в небольшой концентрации, в основном, опосредовано его влиянием на скорость диссоциации из состава белков и мембранных структур.

В случае полимерных наноносителей скорость элиминации ФС является основным параметром, контролирующим биораспределение ФС в крови. Величина данного параметра может изменяться в десятки раз в зависимости от модификации структуры полимерных мицелл вследствие действия внешних стимулов.

Заключение. Параметры равновесных и кинетических характеристик комплексов ФС с наноносителями определяют особенности их биораспределения при проведении ФДТ.

Литература

1. Yakavets I., Millard M., Zorin V. et.al. Current state of the nanoscale delivery systems for temoporfin-based photodynamic therapy: Advanced delivery strategies // Journal of Controlled Release. – 2019. – Vol. 304. – P. 268-287.

Особенности течения, обусловленные строением дочерних сосудов подмышечной и плечевой артерий

¹Кишинёвский государственный медицинский университет им.

Н.Тестемицану, Кишинёв, Молдова

²УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Беларусь

Гемодинамические факторы, обусловленные индивидуальными особенностями строения, играют роль в формировании гидравлического сопротивления и напряжения сдвига на стенке сосуда. Эти факторы могут быть причиной некоторых патологий, развитие которых можно прогнозировать. Такой прогноз является актуальным, поскольку сердечно-сосудистые заболевания по-прежнему являются лидирующим фактором смертности во всем мире. Численное моделирование взаимосвязи гемодинамических и морфометрических особенностей может быть объективной основой такого прогноза.

Цель: посредством численного математического моделирования выяснить, как изменяется напряжение сдвига и градиент скорости течения на стенке сосуда в связи анатомическим строением отрезках плечевой, локтевой и подмышечной артерий.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили созданные 3D геометрические модели подмышечной, плечевой, локтевой и лучевой артерии плеча. Морфометрические параметры сосудов: диаметр, угол бифуркации между ними - были изучены в результате антропометрии. Для упрощения расчетов и сравнительного анализа результатов использовались отрезки артерий одинаковой длины. В качестве параметра сравнения использовался перепад давления, определяемый объемной скоростью и гидравлическим сопротивлением. Посредством численного метода конечных разностей изучается трехмерное установившееся течение несжимаемой ньютоновской жидкости и градиент скорости течения крови на стенке, текущей из среды неограниченного объема в искривленный сосуд при наличии бифуркации. На стенках артерии и бифуркаций предполагается условие прилипания, при выполнении условий неразрывности. В качестве начальных условий было принято, что объемная скорость течения на входе в данный сосудистый сегмент постоянная величина, находящаяся в диапазоне 10 – 30 мл/с, вязкость жидкости – 5мПа·с. Давление на выходе артерии полагалась равным нулю.

Результаты. Напряжение сдвига на стенке сосуда связано с градиентом скорости

$\frac{\Delta u}{\Delta r}$ следующим соотношением.

$$\tau_w = \eta \cdot \frac{\Delta u}{\Delta r}$$

Чем выше градиент скорости на стенке сосуда и чем выше вязкость, тем выше напряжение сдвига на стенке сосуда. Наиболее значительных значений градиент скорости сдвига достигает на изгибах или перегибах сосудов и в местах соединения сосудов в области бифуркации. В данном случае напряжение сдвига на стенке находится в диапазоне от 2 до 6 Па или 20 до 60 дин/см².

Выводы. Наиболее значительных значений градиент скорости сдвига достигает на изгибах или перегибах сосудов и в местах соединения сосудов, следовательно, в этих местах следует ожидать и наибольших значений напряжения сдвига. Напряжение сдвига участвует как в физиологической, так и в патофизиологической биологии сосудов. Изменение механического поведения сосудистой стенки в областях нарушенного кровотока в сочетании с воздействием системных сосудистых факторов способствует хронической фибровоспалительной реакции на результирующее повреждение артерии. Этот ответ связан с обезвреживанием атеропротекторных защит, поддерживаемых ламинарным кровотоком. Последствия этого динамического равновесия между изменениями, вызванными напряжением сдвига, и системными факторами риска не только способствуют развитию атеросклероза, но также влияют на эффективность тех терапевтических методов, которые используются для изменения прогрессирования заболевания и клинических исходов.

Зорина Т.Е.¹, Кравченко И.Е.¹, Ермилова Т.И.², Шман Т.В.², Зорин В.П.¹

Термочувствительные липосомальные носители фотосенсибилизаторов

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

²РНПЦ Детской онкологии, гематологии и иммунологии,
Боровляны, Республика Беларусь

Использование специальных фармакологических форм для водонерастворимых фотосенсибилизаторов (ФС) позволяет предотвратить их агрегацию в крови после введения, а также существенно влиять на уровень и кинетику накопления ФС в клетках- и тканях-мишенях. Липосомальные формы ФС (ЛФ) являются фотоактивными наноструктурными комплексами, свойства которых в значительной степени влияют на эффективность применения ряда ФС. Ранее было показано, что использование ЛФ для введения этерифицированных производ-

ных хлорина e_6 (ПХл e_6) существенно влияет на уровень накопления и цитотоксичность их в клетках [1]. Способность липидных наноносителей модифицировать процессы биораспределения ФС в значительной степени контролируется фазовым состоянием их липидного бислоя. Изменение физического состояния липидных мембран посредством вариаций температуры среды или состава наноносителей может быть использовано для управления процессами распределения ФС в клеточных и тканевых системах.

Цель работы. Оценка роли температурного фактора в процессах накопления и перераспределения ФС, введенных в составе липидных везикул, в клеточных культурах.

Материалы и методы: Работа проведена на культуральных клетках лейкемических линий Raji и K562 с использованием экструзионных липосом (метод Бенгема), из димеристоилфосфатидилхолина (ДМФХ), дипальмитоилфосфатидилхолина (ДПФХ), а также пегилированных ЛФ с включенными ПХл e_6 - диметилowym и триметилowym эфирами хлорина e_6 (ДМЭ, ТМЭ соответственно).

Процессы накопления, выведения и межклеточного перераспределения ФС исследовали на проточном цитофлуориметре FC 500 (Beckman Coulter, США).

Результаты. Исследовано влияние температуры среды на скорость накопления в клетках ПХл e_6 , введенных в составе липосомальных наноносителей, а также на кинетику элиминации хлоринов из клеток при перераспределении на белки сыворотки и неокрашенные клетки. Скорости внутриклеточного накопления для всех типов ЛФ хлоринов минимальны при температурах $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ – $6\text{ }^{\circ}\text{C}$. Спустя 3 часа инкубирования в среде, содержащей ЛФ ПХл e_6 , наблюдается лишь незначительная флуоресценция клеток. При нагреве клеточных культур происходит ускорение процессов связывания и локализации хлоринов в клетках практически во всем исследованном интервале температур (до $43\text{ }^{\circ}\text{C}$). Данная закономерность нарушается лишь в температурных интервалах, соответствующих фазовым переходам липидного бислоя в липосомальных носителях. При температуре $20\text{--}23\text{ }^{\circ}\text{C}$ для ЛФ из ДМФХ и $39\text{--}42\text{ }^{\circ}\text{C}$ для ЛФ из ДПФХ происходит скачкообразное снижение скорости накопления фотосенсибилизаторов в клетках. Данный эффект более выражен в случае неполярных ДМЭ и ТМЭ по сравнению с Хл e_6 .

В отличие от процессов накопления ЛФ хлоринов кинетические характеристики элиминации ПХл e_6 из клеток в сыворотке и клеточных суспензиях при изменении температуры строго монотонны.

Стерическая стабилизация липидных везикул не влияет на процессы накопления и распределения неполярных ПХл e_6 в исследованных системах. Можно предположить, что скорость выхода исследованных хлоринов из липосом превышает скорость разрушения липидных везикул в сыворотке крови как для стабилизированных, так и для классических ЛФ.

Полученные результаты согласуются с данными о влиянии фазового состояния липидного бислоя на равновесные и кинетические характеристики распределения хлоринов в биологических и клеточных мембранах.

Заключение: Температура, липосомальная композиция являются важными детерминантами, определяющими процессы распределения ФС в клеточных системах.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ, грант №M20P-279.

Литература

1. Zorina T.E., Yankovsky I.V., Kravchenko I.E., Shman T.V., Belevtsev M.V., Zorin V.P. Evaluation of Phototoxicity and Cytotoxicity for Chlorin e_6 Ester Derivatives and Liposomal Forms//Biophysics. – 2015. – V. 60, № 5. – P. 759-766.

Зубрицкая Г.П.¹, Венская Е.И.¹, Климкович Н.Н.², Скоробогатова А.С.¹, Лукьяненко Л.М.¹, Козарезова Т.И.², Слобожанина Е.И.¹

Изменение элементного состава и общей антиоксидантной активности плазмы крови у детей с железодефицитной анемией в процессе терапии

¹ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

²ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Республика Беларусь

Анемические состояния у детей обычно расценивают как нарушение только метаболизма железа без учета других микроэлементов, однако ряд литературных и собственных данных указывает на то, что в нем участвуют и другие микроэлементы, нарушение содержания которых в крови могут отражать дисбаланс в эритроцитарной системе антиоксиданты/прооксиданты. Наиболее уязвимым контингентом в отношении возникновения железодефицитных анемий (ЖДА) являются дети дошкольного и школьного возраста (частота встречаемости ЖДА у детей составляет до 47%).

Цель данного исследования – выявить изменения микроэлементного состава и общей антиоксидантной активности (ОАА) плазмы крови у

детей с ЖДА после лечения ферропрепаратами (мальтофер, ферронал и сорбифер).

Объектом исследования явилась плазма периферической крови пациентов с ЖДА в возрасте от 5 до 17 лет до и после лечения ($n=30$). Образцы крови детей получены из ГУ «Республиканская детская больница медицинской реабилитации».

Определение элементного состава плазмы крови проводили методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (ICPE-9000, Shimadzu, Япония), измерение ОАА плазмы крови осуществляли с помощью коммерческого набора Antioxidant assay kit (Cayman, США) согласно протоколу производителя.

Известно, что железо является эссенциальным микроэлементом, который обеспечивает синтез гемоглобина и транспорт кислорода с помощью гемоглобина эритроцитов из легких в органы и ткани. Установлено, что уровень железа в плазме крови у детей с ЖДА после ферротерапии достоверно увеличен по сравнению с группой детей до лечения ($0,51 \pm 0,1$ и $0,199 \pm 0,09$ мг/л соответственно, $P < 0,05$). Так как железо может способствовать усвоению кальция, а участие кальция и марганца в эритропоэзе и гемоглобинообразовании подтверждено экспериментальными и клиническими наблюдениями, нами был определен уровень этих элементов в плазме. Достоверных различий концентрации марганца в плазме крови детей с ЖДА после лечения ферропрепаратами не обнаружено, а уровень кальция после лечения имел тенденцию к снижению. Важными эссенциальными элементами, участвующим в большом количестве метаболических путей, являются магний и цинк, дефицит которых сопровождается развитием патологических состояний. Цинк влияет на включение и высвобождение железа из ферритина. Нами установлено, что концентрация магния и цинка в плазме крови у детей с ЖДА практически не различались до и после лечения, что, возможно, может быть следствием либо активации компенсаторных механизмов, либо устойчивым гомеостазом данных элементов. Известно, что ионы калия приводят к активации многих ферментов, принимают участие в транспортировке различных веществ в клетку. Наши эксперименты показали, что в плазме крови детей с ЖДА после лечения концентрация калия достоверно увеличена по сравнению со значениями до терапии ($227,9 \pm 45,8$ и $147,9 \pm 29,0$ мг/л соответственно, $P < 0,05$).

Нами обнаружено снижение ОАА плазмы крови детей с ЖДА после лечения ферропрепаратами по сравнению с данными пациентами до лечения. Полученные нами ранее результаты показали, что в эритроцитах детей с ЖДА на фоне лечения также достоверно уменьшается

активность гем-содержащего фермента каталазы и глутатионпероксидазы по сравнению с аналогичными показателями до лечения. Таким образом, полученные результаты указывают на то, что при проведении ферротерапии детей с ЖДА необходимо обращать внимание на элементный состав и ОАА крови для предотвращения окислительного стресса.

Ivanchenko S.V.

Features of the clinical course of pneumonia in the elderly

Kharkov National Medical University, Kharkov, Ukraine

Old age is an important risk factor for developing pneumonia. Pneumonia in these patients is a serious problem due to the significant frequency, difficulties in diagnosis and treatment, high mortality and functional characteristics. It should be kept in mind that in the group of people over 60 years, pneumonia usually develops under conditions of anatomically altered pulmonary parenchyma as well as ventilation and perfusion disorders.

The aim of our work was to study the features of the clinical course of pneumonia in elderly patients. We analyzed the case histories of 85 patients aged 61 to 91 years (mean age 76.8 ± 2.5 years) who were treated in the therapeutic department of the hospital in 2018-2020.

Results and discussion. According to the results of the study, it was found that 69.2% of patients had scant clinical symptoms of pneumonia. Characteristic was the gradual onset of the disease with an increase in body temperature to sub febrile numbers. The main complaints were weakness, decreased appetite, a rare dry or with a small amount of mucous sputum cough. In most patients over 80 years pneumonia was atypical and clinically manifested by symptoms from the central nervous system such as lethargy, drowsiness, weakness, impaired consciousness, mental changes, headache and dizziness. There was a sudden onset or progression of respiratory, heart or renal failure on the 5-10th day of illness in 10% of patients. Hospitalization at a later date (5 days or more from the onset of the disease) was recorded in 54.7% cases. The untimely appointment of antibiotic therapy contributed to the development of complications, worsened the course and prognosis of the disease. A severe course of pneumonia was observed in 96.4% of cases, and the most frequent complication of the disease was exudative pleurisy (28.3%).

A characteristic feature of elderly patients was the presence two or more concomitant diseases, which aggravated the course of the underlying disease and increased the likelihood of complications. The most common cas-

es were ischemic heart disease, arterial hypertension, bronchial asthma, vascular diseases of the brain, and diabetes mellitus.

The peculiarities of the laboratory study were the absence in the majority of patients of an adequate increase in leukocytes in the peripheral blood, a slight increase in the erythrocyte sedimentation rate, as well as in the level of fibrinogen and C-reactive protein.

Conclusions. The clinical features of pneumonia in elderly patients are a blurred clinical picture, an atypical course with a predominance of extrapulmonary symptoms or symptoms of decompensation of concomitant diseases, moderate changes in acute phase parameters. The presence of objective difficulties in timely diagnosis contributes to the development of complications, worsens the prognosis and course of the disease, which must be taken into account when making a diagnosis and prescribing treatment for patients in this cohort.

*Ильюшонок С.К.¹, Подольская Е.П.^{2,3}, Горбунов А.Ю.⁴, Краснов Н.В.³,
Кельцеева О.А.^{2,3}, Мурадымов М.З.⁴*

Модификация малди мишени металл-афинными сорбентами в ходе электрораспыления в нормальных условиях

¹Институт биомедицинских систем и биотехнологий Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Научно клинический центр токсикологии имени академика С.Н.Голикова Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

В наше время молекулярная биология, а также смежные с ней отрасли науки, такие как протеомика и фосфопротеомика, достигли пика своего развития. Стимулирующим фактором стало изучение и расширение возможностей одного из самых чувствительных аналитических методов анализа: масс-спектрометрия с мягкими методами ионизации, в частности, матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация и ионизация электрораспылением.

Известны различные методы пробоподготовки, способствующие концентрированию целевого компонента (аналита) и очищению пробы от примесей.

Нами предложен принципиально новый способ модифицирования поверхности мишени для МАЛДИ масс-спектрометрии: ее покрытие металл-аффинными сорбентами посредством бескапельного электрораспыления при атмосферном давлении в нормальных условиях. Такими сорбентами в нашей работе выступали материалы на основе диоксида циркония ZrO_2 двух видов (нанопорошок Sigma-Aldrich и пористый нанодисперсный порошок).

Для покрытия поверхности мишени указанными материалами суспензия сорбента в растворе для электрораспыления (50% водный ацетонитрил с 1% муравьиной кислотой) подавалась через металлический капилляр, находящийся под напряжением 4,7 кВ. Роль противоионного электрода выполняла МАЛДИ мишень. При таком распылении образовывавшийся жидкостный менис принимал форму конуса Тейлора, с острия которого имела место быть полевая десорбция заряженных частиц. В итоге на поверхности ячеек мишени образовались пятна нанопорошка ZrO_2 и пористого нанодисперсного ZrO_2 . Данные пятна демонстрировали устойчивость к механическому воздействию и различным растворителям, которые были использованы в процессе пробоподготовки.

На полученных в ходе бескапельного электрораспыления пятнах ZrO_2 была проведена металл-аффинная хроматография смеси триптического гидролизата глобина человека и синтетических фосфорилированных пептидов. По результатам МАЛДИ масс-спектрометрического анализа исходной смеси были обнаружены только сигналы пептидов гемоглобина и двух нефосфорилированных форм синтетических пептидов. В свою очередь по результатам анализа образцов после металл-аффинной хроматографии на пятнах пористого нанодисперсного ZrO_2 и нанопорошка ZrO_2 были детектированы интенсивные сигналы фосфорилированных пептидов. При этом следует отметить, что сигналы фосфорилированных пептидов в случае использования пористого нанопорошка ZrO_2 имели более высокую интенсивность по сравнению с неспецифически связывшимися пептидами глобина. По всей видимости, это связано с преимуществами пористой структуры частиц сорбента.

По итогам работы установлена возможность модификации МАЛДИ мишени нанопорошком диоксида циркония посредством бескапельного электрораспыления. Ячейки мишени, покрытые ZrO_2 подобным образом, были успешно использованы для специфичной экстракции фосфорилированных пептидов из смеси синтетических пептидов и триптического гидролизата глобина методом металл-аффинной хроматографии.

Изучение особенностей образования *in silico* комплексов VEGF-A-рецептор

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

²Брянский государственный технический университет, Брянск, Российская Федерация

Теоретическое исследование взаимодействия белковых лигандов с рецепторами является актуальной задачей, так как именно в результате лиганд-рецепторного взаимодействия развивается биологический эффект клетки на эндогенное или экзогенное воздействие. В изучение основных механизмов лиганд-рецепторного взаимодействия в большой вклад вносит молекулярный докинг, который позволяет предсказать пространственную структуру комплекса лиганд-рецептор. В осуществлении лиганд-рецепторного взаимодействия обычно принимают участие различные виды нековалентных связей (водородные, Ван-дер-Ваальса, ионные и т.д.). Нековалентное взаимодействие обратимо, так как характеризуется низкой энергией химического связывания (10-50 кДж/моль). Однако в некоторых случаях между лигандом и рецептором могут образовываться ковалентные связи, энергия которых составляет 400-500 кДж/моль. Такое связывание приводит к необратимому изменению молекул. Если говорить о комплексах лиганд-рецептор, образование которых происходит при онкологических заболеваниях, то первоначально следует отметить, что главным фактором развития и роста опухолей является неопластический ангиогенез. Здесь особый интерес представляют сведения о белке, стимулирующем образование рост новых сосудов в уже существующей сосудистой системе, так называемом факторе роста эндотелия сосудов (VEGF, от англ. *Vascular endothelial growth factor*). Известно несколько различных факторов данного семейства – VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C и т.п. В настоящее время VEGF-A является наиболее изученным белком данного семейства. Положительная корреляция между уровнем экспрессии VEGF-A в первичных опухолях и вероятностью рецидивов показана в исследованиях различных видов злокачественных новообразований: острой миеломной лейкемии, раке молочной железы, толстой кишки, гепатоклеточной карциноме, немелкоклеточном раке легкого и яичников и т.п. То есть VEGF-A является необходимым условием развития и прогрессии опухолей. В свою очередь, ингибиторы VEGF-A предотвращают активацию его рецепторов и дальнейшую трансдукцию проангиогенного сигнала, подавляя пролиферацию и

миграцию эндотелиальных клеток и препятствуя формированию сосудистой сети, питающую раковую опухоль.

Цель – изучить особенности связывания 20 изоформ лиганда VEGF-A с 6 изоформами его рецептора для выявления наиболее прочно связанных комплементарных комплексов VEGF-A–рецептор с дальнейшим использованием выявленных образцов в исследованиях по разработке ингибиторов факторов роста эндотелия сосудов VEGF-A, экспрессированных раковыми опухолями.

Материалы и методы. Выбор белков-рецепторов и лигандов VEGF-A проведен из банка данных NCBI/GENE. Молекулярный докинг *in silico* осуществлен с помощью программы Hex protein.

Результаты исследования. В ходе проведения молекулярного докинга и анализа полученных данных было определено, что лучшими показателями связывания с рецепторами обладают изоформы q и h лиганда VEGF-A. Свободная энергия связывания с рецептором на этих образцах варьирует от -450 до -600 Кдж/моль.

Выводы:

1. Наиболее прочные комплементарные комплексы со всеми изоформами рецептора образуют предшественники белков VEGF-A, а не зрелые белки.
2. Изоформы VEGF-A, являющиеся предшественниками, имеют одинаковую со зрелыми белками длину экзонов, но различные кодирующие участки.
3. Величина энергии Гиббса ΔG (от -450 до -600 кДж/моль) при образовании комплементарных комплексов VEGF-A–рецептор может свидетельствовать либо об образовании большого числа нековалентных связей между лигандом и рецептором, либо об образовании небольшого числа ковалентных связей. Этот пункт выводов требует более детального изучения в дальнейших исследованиях с использованием компьютерных программ, позволяющих на молекулярном уровне рассмотреть места сцепления VEGF-A–рецептор.
4. Результаты исследования могут быть применены в разработке ингибиторов факторов роста эндотелия сосудов VEGF-A, экспрессированных раковыми опухолями.

Study of the effect of the structure of pioglitazone derivatives on the main parameters of binding to the endothelial growth factor of blood vessels VEGF-A in silico

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus,

²Bryansk State Technical University, Bryansk, Russian Federation

Pioglitazone is a drug of the thiazolidinedione class that is used as a hypoglycemic agent in type 2 diabetes. The very effect of this drug is manifested in its ability to reduce insulin resistance. Recently, there is more and more information in the literature about new functionalized derivatives of pioglitazone that exhibit a wide range of antitumor activity with different molecular mechanisms of action [1]. It is also known that fast-growing tumor cells produce protein molecules that stimulate the germination of blood capillaries that provide its nutrition. These molecules are called growth factors. The main one is vascular endothelial growth factor (VREF), better known by the English name “vascular endothelial growth factor” (VEGF). The VEGF family of molecules includes several factors: VEGF-A, -B, -C, -D, -E, and placental growth factor PlGF. VEGF-A, -B and PlGF are the main regulators of blood vessel growth, VEGF -C and -D are essential for the formation of lymphatic vessels. VEGF-A is one of the most well-studied factors of angiogenesis, which is considered as a point of application of a number of new drugs for the treatment of cancer and retinal diseases [2]. Many of them were included in the first and second lines of treatment for renal cell carcinoma, breast cancer and other localizations, as well as age-related and vascular lesions of the retina. In this paper, we studied the effect of the introduction of new functional groups into the structure of pioglitazone on the main parameters of the binding of pioglitazone derivatives to the endothelial growth factor of blood vessels (VEGF-A).

Objective. To identify the functionalized pioglitazone derivative with the lowest free binding energy, the lowest inhibition constant, and the largest binding area to VEGF-A.

Materials and methods. The design of pioglitazone derived structures (13 samples) was performed using specialized chemical programs ChemOffice. The selection of receptor proteins was carried out from the 3D protein structure and nucleic acid data Bank (PDB). Molecular docking in silico is performed using the Dockingserver program.

The results of the study. In the *in silico* study, the relationship between structure (structure and stereochemistry) and biological activity was established. It is shown that the nature of the functional groups and the relative configuration of the stereoisomers affect the binding energy of the studied compounds to VEGF-A. In the course of molecular docking and analysis of

the obtained data, it was determined that the best indicators of the free binding energy, the inhibition constant, and the binding area were found in a sample with an S-configuration of the chiral center, containing two chlorine atoms in the benzene cycle, an m-bromophenyl radical, and morpholine in the thiadol cycle (-5.92 Kcal/mol; $K_i = 45.99 \text{ uM}$; $S = 663.829$).

Conclusions. As a result of the study, pioglitazone derivatives with strong binding to VEGF-A were identified, and the structure-biological activity relationship was established. The results of the study can later be used for the synthesis of pioglitazone derivatives when studying them as VEGF-A inhibitors.

References

1. Rahid M. Synthesis and sar strategy of thiazolidinedione: a novel approach for cancer treatment / M. Rashid, N/ Shrivastava, A. Husain // J. Chil. Chem. Soc. – 2020., 65, N 2. – 4819–4832.
2. De Falco S. Antiangiogenesis therapy: an update after the first decade / S. De Falco // The3. Korean J. of Internal Medicine. – 2014. – N 29 (1). – P. 1–11.

Кажаева Н.М.¹, Гладчук А.С.^{2,3}, Подольская Е.П.^{3,4}, Мельникова М.В.³, Шустов Е.Б.³, Кельцьева О.А.³, Александрова М.Л.³, Краснов К.А.³

Исследование биологически активных веществ лиофилизата гонада зеленого морского ежа

¹Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Морские ежи – донные обитатели северных и бореальных морей Атлантического и Тихого океанов. Гонады морских ежей широко используются в современной медицине из-за уникального набора биологически активных веществ (БАВ). Икру морских ежей рекомендуют для ускорения реабилитации после различных заболеваний, профилактики атеросклероза и онкологических заболеваний, в качестве гепропротекторного средства и многих других целей.

В ходе исследования был проанализирован состав сублимированной икры камчатского морского ежа *S. droebachiensis* – одного из важнейших промысловых представителей данного семейства. К наиболее важным группам биологически активных веществ (БАВ), входящих в

состав гонад морского ежа, относят жирные кислоты, фосфолипиды, каротиноиды, микроэлементы и белки.

При изучении жирнокислотного состава было обнаружено, что в лиофилизате содержится 4,2 % жирных кислот (ЖК) в различных формах. В основном ЖК присутствуют в связанной форме в виде глицеридов, при этом доля свободных ЖК сравнительно невелика.

При изучении белкового состава лиофилизата гонад зеленого морского ежа было идентифицировано более 100 белков, среди которых были обнаружены ядерные белки; митохондриальные структурные белки и ферменты, локализованные на митохондриях, рибосомальные и цитоскелетные белки, ряд регуляторных белков: кальмодулин, галестин, ферритины, и основной запасной белок икры – вителлогенин.

В элементном составе исследуемой лиофилизированной икры *S. droebachiensis* было выявлено около 1% органического фосфора. Это позволило оценить общее количество фосфолипидов, составившее около 6%. Кроме того, вклад в биологическую активность могут вносить цинк, йод, селен, магний и другие элементы, также обнаруженные в составе лиофилизата.

Набор каротиноидов является достаточно типичным для гонад представителей рода *Strongylocentrotus*. Основным каротиноидом икры зеленого морского ежа является эхиненон.

Установленный набор БАВ, обладающих высокой антиоксидантной активностью, может определять онкопротекторные, кардиопротекторные и адаптогенные свойства гонад зеленого морского ежа, а также их профилактическую эффективность при различных возрастных нарушениях, вызываемых свободнорадикальными процессами.

Для определения острой токсичности было проведено биотестирование на зоогидробионтах *Daphnia magna* Straus. Была установлена средняя летальная концентрация LC_{50} лиофилизата при времени экспозиции, равному 24 и 48 часов, методом пробит-анализа с использованием таблиц, предложенных В.Б. Прозаровским [1]. Среднее значение LC_{50} трех независимых экспериментов равно $252,0 \pm 102,0$ мг/л и $151,1 \pm 53,2$ мг/л при экспозиции в течение 24 и 48 часов, соответственно.

Кроме того, было проведено исследование острой токсичности лиофилизата при внутрижелудочном введении на крысах в дозе 2000 мг/кг. Гибель животных отсутствовала, их клиническое состояние было удовлетворительным на протяжении всего эксперимента. Проведенное вскрытие экспериментальных групп животных не выявило выраженных макроскопических изменений внутренних органов. По показателям острой токсичности лиофилизат гонад морского ежа

S. droebachiensis относится к 5 классу «практически не токсичных веществ».

Также была проведена оценка пролиферации клеток гепатомы человека линии НераRG. Обнаружено, что низкие концентрации лиофилизата (5-10 мкг/мл) усиливают пролиферацию клеток НераRG, а концентрации выше 100 мкг/мл обладают цитостатическим влиянием.

Литература

1. Прозоровский В.Б. // Психофармакология и биологическая наркология. 2007. Т. 7. № 3-4. С. 2090-2120.

Канаи Ю.С.¹, Тамашэўскі А.У.², Гармаза Ю.М.², Слабажаніна К.І.¹
Функцыянаванне мембраназвязаных транспартных бялкоў MRP1 і RLIP76 у эрытрацытах чалавека пры мадыфікацыі іх рэдокс-статусу *in vitro* антыаксідантамі рознай прыроды

¹ДНУ «Інстытут біяфізікі і клетачнай інжынерыі НАН Беларусі»,
Мінск, Рэспубліка Беларусь

²ДУ «РНПЦ трансфузіялогіі і медыцынскіх біятэхналогій», Мінск,
Рэспубліка Беларусь

Вядома, што мембрана эрытрацытаў чалавека забяспечана сістэмай актыўнага транспарту кан'югатаў глутатыёну з рознымі энда- і экзогеннымі злучэннямі, якая выконвае важную ролю ў ахове арганізма ад ксенабіётыкаў, у прыватнасці, пры развіцці акісляльнага стрэсу. Гэты транспарт з'яўляецца АТФ-залежным і асацыяваны з бялком множнай лекавай устойлівасці 1 (MRP1), які здольны транспартаваць ксенабіётыкі глутатыён-залежным і глутатыён-незалежным чынам. Таксама адным са звёнаў паміж біяхімічнымі шляхамі глутатыён-апасродкаванага метабалізму ксенабіётыкаў і АТФ-залежнага экспарту электрофільных злучэнняў з клеткі з'яўляецца дынітрафеніл-S-глутатыён АТФаза (DNP-SG АТФаза або RLIP76), які таксама прымае актыўны ўдзел у працэсах клетачнай сігналацыі і мембранавай рэгуляцыі пры ўздзеянні стрэсавых фактараў. Універсальнымі пратэктарамі мембран клетак ад акісляльнага пашкоджання з'яўляюцца антыаксіданты (АА). Аднак інфармацыя пра ўплыў АА рознай прыроды на функцыянаванне бялкоў-транспартэраў ксенабіётыкаў пры фізіялагічных умовах дастаткова супярэчлівая.

Мэта дадзенай працы – вывучэнне транспартнай актыўнасці бялкоў-пераношчыкаў MRP1 і RLIP76 пры ўздзеянні гідрафільных і гідрафобных антыаксідантаў на эрытрацыты донараў *in vitro*.

Матэрыялы і метады. У працы выкарыстана кроў здаровых донараў (кансервант "гепарын"). Дзеля мадыфікацыі рэдокс-балансу ў

эрытрацытах *in vitro* выкарыстоўвалі гідрафобныя антыаксіданты - кверцэтын і α -такаферол (α -Т) і гідрафільныя - N-ацэтилцистеїн (NAC) і аскарбінавая кіслата (АК), час уздзеяння - 3 і 24 г. Жыццяздольнасць эрытрацытаў кантралявалі па актыўнасці ўнутрыклеткавых эстэраз, выкарыстоўваючы кальцэїн-АМ тэст. Мадыфікацыю рэдокс-статусу ацэньвалі па хуткасці праходжання свабоднарадыкальных (СР) працэсаў, выкарыстоўваючы флуарэсцэнтны зонд CM-H₂DCFDA. Функцыянальную актыўнасць RLIP76 вызначалі спектрафотаметрычным метадам па ступені выхаду DNP-SG-каньюгатаў, а MRP1 - метадам праточнай цытафлуарыметрыі па ўтрыманні кальцэіна ў клетках. Узровень экспрэсіі бялкоў-транспартэраў MRP1 і RLIP76 у мембранах эрытрацытаў вызначалі метадам прамой і непрамой імунафлуарэсцэнцыі. Адрозненні паміж групамі разлічвалі з дапамогай непараметрычнага крытэрыю Вілкса-Сана ($n = 5-8$, $p < 0,05$).

Вынікі і абмеркаванне. Праведзеная ацэнка жыццяздольнасці эрытрацытаў пасля ўздзеяння на іх АА ў шырокім спектры канцэнтрацый, дазволіла абраць аптымальны ўзровень значэнняў, які для большасці даследаваных злучэнняў належыць да тэрапеўтычнага дыяпазону, а менавіта 10-1000 мкм. Даследаванне мадыфікацыі рэдокс-статусу эрытрацытаў пасля іх прадінкубацыі *in vitro* з даследванымі групамі АА у вышэй адзначаных дыяпазонах канцэнтрацый паказала рознабаковы клеткавы адказ. Выяўлена, што α -Т і кверцэтын інгібіравалі працяканне СР працэсаў, г.зн. выступалі ў якасці аднаўляльнікаў, а АК і NAC - актывавалі іх, г.зн. з'яўляліся акісляльнікамі. Ацэнка транспартнай актыўнасці бялкоў MRP1 і RLIP76 у АА-мадыфікаваных эрытрацытах таксама выявіла рознакіраванасць іх дзеяння. Калі інкубацыя клетак з гідрафільнымі АА прыводзіла да статыстычна значнай актывацыі транспартных функцый і MRP1, і RLIP76, то ўздзеянне гідрафобнага α -Т насіла рознабаковы характар – назіралася ўзмацненне транспартнай актыўнасці RLIP76, але інгібіраванне актыўнасці MRP1. У сваю чаргу, уздзеянне на эрытрацыты гідрафобнага АА - кверцэтына значна зніжала функцыянальную актыўнасць RLIP76, але не ўплывала на работу MRP1. Ацэнка экспрэсіі даследваных бялкоў у мембранах эрытрацытаў пры фізіялагічных умовах выявіла ў сярэднім 1-4% MRP1-пазітыўных клетак ў даследванай папуляцыі і 9-18% - RLIP76-пазітыўных клетак.

Атрыманыя вынікі сведчаць аб цеснай узаемасувязі паміж функцыянальнай актыўнасцю RLIP76 / MRP1 і працяканнем СР працэсаў у эрытрацытах. Пры гэтым у працэсе падтрымання

акісляльна-аднаўленчага балансу пасля ўздзеяння АА на клеткі
донараў асноўная роля належыць нізкамалекулярнаму бялку RLIP76.

Падзяка. Аўтары выказваюць шчырую падзяку Кацярыне Бялевіч за дапамогу ў карэктуры тэзісаў.

Карамзина Л.А.

Речевая коммуникация: насыщенность слуховой диспансеризации

ГУ «Институт общественного здоровья им. А.Н. Марзеева Национальной академии медицинских наук Украины», Киев, Украина

Известно, что общение людей происходит с участием вербально-зависимых (слух, экспрессивная речь) и вербально-независимых (зрение, жесты, мимика, письмо) систем.

При отсутствии физиологических отклонений в коммуникативной сфере, процесс общения совершается автоматически с соучастием всех систем, причем ведущей является слухо-речевая система.

Если в слухо-речевой функции появляются отклонения, то у человека возникает коммуникативный дискомфорт, который в дальнейшем может негативно повлиять на его психо-эмоциональный статус. В таких случаях использование повышенной громкости голоса для контакта больше мешает общению, чем поможет, вызывая при этом так называемый разрыв процесса коммуникации. Здесь надо подозревать, что в коммуникативной системе человека возникли нарушения.

Выявление таких нарушений не всегда происходит просто. При стандартном психоакустическом исследовании нарушения не документируются и аудиограмма соответствует нормальной. Поэтому жалобы на плохую разборчивость речи не принимают во внимание, и пациент, ложно успокоенный надуманностью дефектов, уходит, пока нерешённая проблема снова не приведёт к специалистам.

В этой связи становится очевидной необходимость привлечения объективных методов исследования: импедансометрии или КСВП, которые идентифицируют наличие нарушений в слуховых проводящих путях, формирующих коммуникативное расстройство.

Как показывает наша практика, было бы совсем нелишним после объективных методов провести повторное исследование разборчивости речи с акцентом на воспроизведении одно- и двуслоговых слов (одинаковых для обеих ушей): здесь можно выявить дефект воспроизведения, особенно высокочастотных составляющих слов.

При документировании нарушения восприятия речи по данным воспроизведения коротких слов, необходимо отправить пациента к реабилитологу для квалифицированного динамического наблюдения. Та-

кое динамическое наблюдение по сути и является диспансерным наблюдением. Хотя считается, что при нормальной аудиометрической картине дальнейшие действия не нужны, не говоря уже о диспансерных мероприятиях.

Сегодня как раз и назрел вопрос о взятии под динамическое наблюдение лиц с рече-тональными расхождениями, так называемыми диссоциациями, и особенно в случаях, когда уровень тонального слуха в зоне конвенциональных частот соответствует «норме».

Контрольные субъективно-объективные измерения должны быть абсолютно идентичными как для обеих ушей, так и для каждого последующего исследования.

В практике автора накоплен достаточный материал (более 500 пациентов), доказывающий наличие подобных нарушений в слухо-речевой системе, зарегистрированных методом импедансометрии. Прицельным тестом в этом случае будет тест распада акустического рефлекса (decay-test), который идентифицирует наличие нарушения. Стоит ли привлекать сюда КСВП? Для детализации топике нарушения – да. Однако этот метод требует определённых акустических условий, в то время как метод импедансометрии в таких специальных условиях не нуждается.

Возникает вопрос: что это даст? Восстановится ли слух? Для многих специалистов, к сожалению, это служит оправданием прекращения действий. Но на самом деле это не так. Во-первых, есть шанс получить курс лечения, который может стабилизировать ситуацию. Во-вторых, можно прибегнуть к ранней реабилитации путём слухопротезирования и улучшить коммуникацию с окружением, что для человека будет намного важнее, чем эстетическое непонимание посторонних.

Карая Е.В., Рудик Н.В.

Особенности когнитивных нарушений у больных сахарным диабетом 2 типа с ишемической болезнью головного мозга

Харьковский национальный медицинский университет, Харьков,
Украина

По данным литературы произошло увеличение заболеваемости сахарным диабетом 2 типа, который характеризуется большой распространенностью сосудистой мозговой патологии, что является морфологическим субстратом когнитивных расстройств. К моменту выявления СД 2 типа большинство пациентов имеют артериальную гипертонию (АГ), что отражается на развитии и прогрессирования цереброваскулярной патологии.

Риск развития ишемической болезни мозга (ИБМ) возрастает при сочетании СД 2 типа и АГ. Актуальность изучения ИБМ у больных СД 2 типа определяется не только высокой распространенностью ИМ при данном заболевании, но развитием тяжелых когнитивных расстройств. Смертность среди группы больных с легкими когнитивными расстройствами сосудистого генеза выше, чем у лиц соответствующей возрастной группы без таких нарушений.

Цель работы. изучить клинико-диагностические особенности ранних когнитивных расстройств у больных СД 2 типа ИБМ, их ассоциации с факторами сердечно-сосудистого риска.

Материалы и методы. В исследование было включено 30 пациентов с сахарным диабетом 2 типа, и 8 человек контрольной группы. Возраст обследуемых больных варьировал от 50 до 75. Продолжительность сахарного диабета – от 1 до 25 лет. Контрольную группу составили пациенты без сердечно-сосудистых заболеваний и нарушений углеводного обмена. Пациенты основной и контрольной группы были сопоставимы по полу и возрасту. Клиническое обследование включало сбор жалоб и анамнеза, физикальное обследование, измерения артериального давления, частоты сердечных сокращений. Инструментальные исследования. Оценка состояния сонных артерий и измерения толщины интима - медиа общей сонной артерии осуществлялась по стандартной ультразвуковой методике, нейропсихологическое тестирование. МРТ головного мозга. Статистический анализ.

Результаты. С целью изучения частоты ишемии головного мозга у больных СД2 и определения у пациентов частоты выявления когнитивных расстройств были обследованы 30 пациентов с сахарным диабетом 2 типа с разной длительностью заболевания от 1 года до 25 лет. По данным МРТ головного мозга у больных с СД 2 типа выявлены структурные изменения, соответствующие ишемии мозга. Снижение когнитивных функций у больных СД 2 типа с ишемией мозга на основании комплекса нейропсихологических тестов. Легкие когнитивные расстройства при СД 2 типа характеризуются наибольшей отчетливостью локальных ишемических изменений и величиной индекса третьего желудочка мозга. Для легких когнитивных расстройств характерны: большая частота атеросклероза сонных артерий, выраженность дисфункции эндотелия и нарушений в системе гемостаза. Проведенный корреляционный анализ свидетельствует о патогенетической роли артериальной гипертонии, дисфункции эндотелия и нарушений в системе гемостаза, инсулинорезистентности, микро- и макрососудистых осложнений СД 2 типа в развитии когнитивных расстройств. Не установлено достоверной связи уровня глиальных и нейрональных

белков с наличием и выраженностью ишемии мозга и ранних когнитивных расстройств у больных СД 2 типа.

Присоединение гликозаминогликанов к базисной терапии больным СД 2 типа с ИМ, диабетической нефропатией на стадии микроальбуминурии и когнитивными расстройствами, приводит к существенному улучшению когнитивных функций и снижения экскреции альбумина с мочой.

Выводы. МРТ позволяет прижизненно оценить состояние ткани головного мозга с последующей количественной оценкой, их следует использовать для диагностики ИМ у больных СД 2 типа. Полученные результаты доказывают необходимость ранней диагностики когнитивных расстройств у больных СД 2 типа. При наличии микроальбуминурии у больных СД 2 типа с ИМ присоединения сулодексида в дозе 200 мг в сутки в течение 6 месяцев к базовой терапии оказывает положительное действие.

*Кельцеева О.А.^{1,2}, Калнина Я.К.³, Гладчук А.С.^{1,4}, Томилин Н.В.¹,
Краснова А.А.¹, Краснов К.А.¹, Александрова М.Л.¹, Суходолов Н.Г.⁴,
Подольская Е.П.^{1,2}*

Технология Ленгмюра как способ получения металл-аффинных сорбентов на твердых подложках для анализа долгоживущих продуктов метаболизма галогенсодержащих ксенобиотиков алкилирующего действия

¹ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства»,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Институт аналитического приборостроения Российской Академии
Наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-
Петербург, Российская Федерация

Алкилирующие агенты широко используются в различных производственных процессах в качестве реагентов, полупродуктов и растворителей, а также часто выделяются в окружающую среду при разложении бытовых и промышленных отходов, попадают в организм в результате метаболизма ряда лекарственных препаратов и других ксенобиотиков. Достаточно распространенную группу промышленных и бытовых токсикантов представляют собой галогенсодержащие органические соединения, которые способны вступать в реакции алкили-

рования со многими органическими биоорганическими веществами. Диагностику отравлений различными токсикантами возможно осуществлять путём определения наличия аддуктов белков крови с ними или их метаболитами. При этом при применении метода масс спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (МАЛДИ-МС) пробоподготовку образцов возможно проводить на поверхности МАЛДИ мишени, модифицируя ее поверхность материалом с высокими специфичными свойствами, к которым относятся сорбенты для металл-аффинной хроматографии (МАХ). Высокая избирательная способность сорбентов для МАХ позволяет в процессе пробоподготовки экстрагировать определённые классы веществ, тем самым уменьшая компонентный состав исследуемых образцов, что повышает эффективность последующего анализа.

В работе представлен способ модификации поверхности мишени для МАЛДИ-МС металл-аффинными сорбентами на основе стеаратов металлов. Для формирования сорбента на различные ячейки мишени наносили капли водных солей меди, никеля, железа, кобальта, алюминия, галлия, лантана и иттербия с концентрацией 1 мг/мл по 0,7 мкл. Затем на поверхность капли трижды наносили насыщенный раствор стеариновой кислоты в гексане. Каплю удаляли, всю процедуру повторяли. Для удаления излишков соли сформированные структуры промывали водой, далее мишень высушивали. На полученных сорбентах провели металл аффинную экстракцию образца глобина человека, модифицированного 2,4-дихлор-N-хлорацетанилидом, степень модификации белка 10%. Сорбцию проводили в воде, объём нанесённого образца 1 мкл, инкубировали в течение 20 минут. Затем несвязавшуюся фракцию удаляли, сорбент промывали водой и 0,1% водным раствором трифторуксусной кислоты, затем высушивали. После чего для проведения десорбции наносили 2 мкл 30% водного ацетонитрила и 1,5 мкл раствора матрицы (альфа-циано-4-гидроксикоричная кислота), мишень высушивали. Масс-спектры записывали с поверхности модифицированных ячеек.

Все сорбенты проявили специфичность к хлорсодержащим аддуктам, однако наиболее селективными оказались представители лантаноидов - лантан и иттербий. В спектрах, записанных с ячеек, модифицированных стеаратами этих металлов присутствуют только сигналы целевых соединений. При этом металл-аффинная хроматография на сорбентах, содержащих лантаноиды позволяет экстрагировать хлорсодержащие аддукты глобина при степени модификации белка 0,5%.

Предложенный способ модификации мишени является достаточно простым в исполнении, не требует большого количества времени и

специального оборудования. Такой способ пробоподготовки также отличается своей экономичностью, так как для выполнения работ требуется минимальное количество как сорбента, так и образца.

Клыч А.В., Мигас А.А.

Конструирование и оценка функциональной активности химерного антигенного рецептора к белку CD19 человека

РНПЦ Детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Республика Беларусь

На протяжении длительного периода времени основными методами борьбы со злокачественными новообразованиями остаются хирургия, химиотерапия и лучевая терапия. Тем не менее, успехи последних двадцати лет в области противоопухолевой иммунотерапии привели к бурному росту количества исследований и клинических испытаний по данной тематике. Среди различных классов иммунотерапии рака, включая моноклональные антитела к ингибиторам рецепторов контрольных точек, цитокины, активирующие лимфоциты, противораковые вакцины, онколитические вирусы и биспецифические антитела, adoptивная Т-клеточная терапия становится революционным методом борьбы со злокачественными новообразованиями. Т-клетки, генетически модифицированные для экспрессии химерных антигенных рецепторов (CAR Т-клетки), специфичные к В-лимфоцитарному антигену CD19 человека, продемонстрировали беспрецедентные результаты при лечении рецидивирующих или рефрактерных В-клеточных злокачественных новообразований.

Цель работы: сконструировать и провести оценку *in vitro* функциональной активности химерных антигенных рецепторов (CAR) второго поколения с коротким, либо длинным шарнирным регионом, таргетирующих белок CD19 человека.

Материалы и методы. Оценку специфичности распознавания целевого антигена CD19, а также эффективности активации CD4⁺ Т-клеток проводили с использованием двух вариантов генетически-модифицированной иммортализованной клеточной линии *Jurkat*, экспрессирующих разработанные нами CAR второго поколения (antiCD19-CD28-4-1BB-CD3zeta) с коротким (CAR_S) и длинным (CAR_L) шарнирными участками. Полученные путем лентивирусной трансдукции генетически-модифицированные CD8⁺ Т-лимфоциты донора, экспрессирующие соответствующие варианты CAR, использовали для оценки специфической цитотоксической активности. Продолжительность экспансии CD8⁺ Т-клеток составила 9 суток. Клетки

инкубировали в среде RPMI-1640 с добавлением 10% ЭТС, а также цитокинов ИЛ7 и ИЛ15. В качестве МОСК контролей использовали клетки линии *Jurkat* и CD8⁺ Т-клетки донора, не подвергшиеся генетической модификации. В качестве клеток-мишеней использовали генетически-модифицированную линию *K562* с эктопической экспрессией белка CD19 человека. Соотношение эффектор/мишень в тестах *in vitro* составило 1 к 1. Продолжительность инкубации в тесте на активацию составила 16 часов, в цитотоксическом тесте – 4 часа. Уровень специфической активации CD4⁺ Т-клеток определяли по экспрессии молекулы CD69. Специфическую цитотоксическую активность CD8⁺ Т-клеток определяли по проценту лизированных клеток-мишеней.

Результаты и выводы. Эффективность активации CD4⁺ Т-клеток линии *Jurkat_CAR* была значительно выше для варианта CAR_S (73 %), чем для варианта CAR_L (3 %). Содержание CD8⁺ Т-лимфоцитов с фенотипом стволовых Т-клеток памяти (CD45RA⁺/ CCR7⁺/ CD62L⁺/ CD95high) в конечном клеточном продукте составило 67 %. Общий прирост клеточной массы составил более 18 раз. Абсолютный прирост стволовых Т-клеток памяти составил 660 раз. Нормализованная по МОСК контролю специфическая цитотоксическая активность CD8⁺ CAR Т-клеток для варианта с коротким шарнирным регионом составила 20%, с длинным – 23%.

Заключение. Оценка специфической активации и цитотоксической активности полученных Т-клеток, экспрессирующих на своей поверхности сконструированный нами CAR, показала, что оба варианта рецептора (с коротким или длинным шарнирными регионами) являются работоспособными, и в перспективе могут быть использованы для целей adoptивной CAR Т-клеточной иммунотерапии В-линейных лейкозов и лимфом.

Ковалевская Е.В.¹, Минченко А.Г.²

Исследование влияния цитиколина на экспрессию генов пролиферации и апоптоза в культурах клеток головного мозга

¹УЗ «8-я городская поликлиника», Минск, Республика Беларусь

²Институт биохимии имени А.В. Палладина, Киев, Украина

Известно, что нейротрофины – это факторы роста, обеспечивающие выживание, рост и дифференцировку нейронов. Одним из основных индукторов ангиогенеза, а также нейрональной пролиферации, является VEGF (vascular endothelial growth factor). Поскольку нейротрофины регулируют основные функции клеток нервной ткани, анализ экс-

прессии их мРНК может помочь не только в уточнении деталей патологических процессов, происходящих в условиях ишемии, но и в оценке нейропротекторных свойств лекарственных средств, применяемых при лечении ишемии головного мозга. На данный момент точно не известно, как применение цитиколина в условиях ишемии действует на экспрессию эндогенных нейротрофинов в нервной ткани. Следовательно, такие исследования могут дать более детальные представления о механизмах действия нейропротекторов на молекулярном и клеточном уровнях.

Цель работы: исследовать влияние цитиколина на экспрессию гена VEGF в клетках головного мозга (астроцитах) в норме и в условиях ишемии.

Материалы и методы. Исследования проведены на культуре клеток нормальных астроцитов человека линии NHA/TS в норме (контроль), при отсутствии в среде на протяжении 6 часов глюкозы (модель ишемии), а также при добавлении в среду с клетками 0,02 мл и 0,04 мл цитиколина. Из клеток выделяли мРНК, проверяли ее на чистоту и стабильность, синтезировали кДНК. Относительный уровень экспрессии мРНК VEGF оценивали методом ПЦР в реальном времени, которую проводили на аппарате «Stratagene MX3000P cycler» (США). Анализ результатов выполнялся с помощью специальной компьютерной программы «Differential expression calculator».

Результаты. Было установлено, что в контрольной группе клеток экспрессия VEGF под действием цитиколина существенно не менялась, тогда как в условиях ишемии (при недостаточности в среде глюкозы) наблюдалось достоверное повышение уровня экспрессии VEGF-189 (на 44%) уже при добавлении 0,02 мл цитиколина. А при добавлении 0,04 мл цитиколина экспрессия мРНК VEGF возрастала в 2 раза по сравнению с контролем, то есть, эффект был дозозависимым. Экспрессия VEGF была повышенной и на 2-й день в контрольных клетках при добавлении цитиколина (0,02 и 0,04 мл) на 69 и 90%, соответственно.

Результаты исследования показали, что цитиколин проявляет стимулирующее влияние на экспрессию нейротропных генов только в условиях ишемии, причем уровень экспрессии существенно возрастает уже при добавлении относительно невысокой дозы (0,02 мл) цитиколина к культуре клеток.

Выводы. Установлено, что в культуре нормальных астроцитов человека под влиянием цитиколина увеличивается уровень экспрессии гена VEGF, участвующего в процессах пролиферации и апоптоза, но

только в условиях ишемии, причем это увеличение имеет дозозависимый характер.

Kavalenka A.I.¹, Sobolevskaya E.M.¹, Kulahava T.A.²

Cytotoxic action of graphene nanoplatelets functionalized by serum albumin on leucocytes

¹Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

²Institute for Nuclear Problems of Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

The prospects for carbon nanomaterials in biomedical applications depend on their ability to decompose in organism into products which can be easily eliminated from the body [1-5]. The nanomaterials after enter the body interact with different blood cells including leucocytes. Phagocytes such as neutrophils and macrophages can implement enzymatic digestion of carbon nanoparticles for several days [4-6]. Manifestations of carbon nanotubes interaction with blood leucocytes can be detected already in the early hours of their contact. Previously, we found that multi-walled carbon nanotubes induce an initial amplification of reactive oxygen species (ROS) generation in neutrophils, after which cell activity is suppressed [7]. In this study, we have investigated the influence of graphene nanoplatelets (GNPs) on human blood polymorphonuclear and mononuclear leucocytes in the first hour of their interaction *in vitro*.

GNPs were functionalized by serum albumin (SA). GNPs were added in water solution of SA (0.5 $\mu\text{mol/L}$) and sonicated at frequency of 44 kHz for 30 min. Polymorphonuclear and mononuclear cells were isolated from heparinized donor blood by histopaque-1077 density gradient centrifugation. Cells were resuspended in Earle's medium at pH 7.3. Suspensions of cells were exposed to GNPs-SA (10-100 $\mu\text{g/mL}$) or SA (controls) for 1 hour. The cellular structure and the number of cells were studied by light microscopy and nephelometry methods. Cell viability was investigated using fluorescent stains propidium iodide (PI) and fluorescein diacetate (FDA). PI fluorescence is revealed with emission at λ_{em} 600-700 nm and excitation maximum at λ_{ex} 543 nm after interaction of PI with DNA in cells with damaged membranes, but cell membrane integrity excludes PI from staining viable and apoptotic cells. FDA is a non-fluorescent molecule, which is hydrolyzed intracellularly by esterases in live cells and then fluorescence is observed at emission maximum 518 nm and excitation maximum 490 nm. The cell activity was assessed using 2,7-dichlorofluorescein diacetate (DChFDA, cell-permeable form). DChFDA is de-esterified and converted to membrane-impenetrable dichlorofluorescein (DChF) which remains in-

side the cells. Fluorescence of DChF is appeared under the action of ROS. In this work, the kinetic dependencies of DChF fluorescence intensity I_f during its oxidation in leucocytes activated by n-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (fMLP, 1 μ M) was recorded, and then values of I_f were integrated for 10 min. Suspensions of cells were incubated in the presence of 2.5 μ mol/L DChFDA or 60 μ mol/L PI and 10 μ mol/L FDA for 30 min at 37 °C and then the cells were washed from the unbound probe by centrifugation for 8 min at 1500 rpm.

It was shown that ability to ROS generation of polymorphonuclear and mononuclear leucocytes is decreased under GNPs-SA impact and suppressed significantly in the presence of higher concentration of GNPs-SA. The decline of ability of cells to ROS generation under the influence of GNPs-SA does not correlate with changes of cell viability (in experiments with fluorescence stains PI and FDA), but is accompanied by cellular deformation. A decrease in the number of cells was revealed as a result of GNPs-SA effect in 1 hour after their addition in higher concentration to cell suspension. We found that along with a reduction in the total number of cells exposed to GNPs-SA, there is a decrease in the number of polarized and spread out cells is observed. Thus, the obtained data indicate the cytotoxic effect of GNPs-SA on leucocytes.

References

1. Simon J. Overview of carbon nanotubes for biomedical applications // Materials. 2019. V.12(4), P.624.
2. Kumara Y.R. et al. Graphene quantum dot based materials for sensing, bio-imaging and energy storage applications: a review // RSC Adv. 2020. V.10, P. 23861-23898.
3. Liu Z. Carbon materials for drug delivery and cancer therapy // Materials today. 2011. V.14, P.316-323.
4. González-Lavado E. et al. Biodegradable multi-walled carbon nanotubes trigger anti-tumoral effects // Nanoscale. 2018. V.10(23), P.11013-11020.
5. Farrera C. et al. Extracellular entrapment and degradation of single-walled carbon nanotubes // Nanoscale. 2014. V.6, P.6974-6983.
6. Keshavan S. et al. Nano-bio interactions: a neutrophil-centric view // Cell Death. Disease, 2019. V.10, Article number: 569.
7. Kavalenka A. et al. Effects of multi-walled carbon nanotubes on neutrophil activity in vitro // Abstract book of 63th international scientific conference for students of physics and natural sciences, "Open readings-2020", Vilnius University, 2020. P.467.

Ковальчук М.П.

Расчет факторов риска развития бронхиальной астмы у детей с помощью информационных ресурсов

Высшее учебное заведение им. П.И. Гаврося, Киев, Украина

Распространение бронхиальной астмы у детей в Европе повысилось во второй половине XX столетия. Так, в Европейском регионе показате-

ли этой патологии у детей 4-летнего возраста варьируют от 1,79% до 13%, а в сочетании с хрипами – от 9,82% до 55,37%. Научными исследованиями установлено, что распространенность бронхиальной астмы у детей в Украине составляет от 5 до 22%. Совершенствование социально-гигиенического мониторинга неинфекционных заболеваний, в том числе определение источников потенциального развития бронхиальной астмы у детей для стратегии быстрого реагирования невозможно без привлечения современных информационных ресурсов.

Целью исследования стало выявление состояния предболезни и проведение превентивной медицинской помощи на уровне первичного звена медицинского обслуживания детского населения.

Автором было исследовано 300 детей (150 мальчиков и 150 девочек) в возрасте от 3 до 15 лет с аллергическими реакциями со стороны органов дыхания, как неблагоприятным фоном в формировании бронхиальной астмы.

При формировании групп риска по развитию бронхиальной астмы у детей учитывали следующие факторы:

- 1) наследственная патология аллергических заболеваний органов дыхания;
- 2) частота искусственного вскармливания до года;
- 3) частота проявлений аллергических реакций на введение соков;
- 4) наличие аллергии на пищевые продукты и атопические реакции после первого года жизни;
- 5) наличие аллергического диатеза, конституционные особенности ребёнка;
- 6) сыпь, как проявление аллергической реакции на лекарственные препараты;
- 7) проявления недостаточности воздуха ночью;
- 8) кратность обострений ОРВИ;
- 9) наличие сопутствующей патологии;
- 10) климатические условия зоны проживания;
- 11) неполная реализация профилактических прививок.

Для оптимизации работы врача был создан инновационный online инструмент «*Медицинский калькулятор*» для расчета большого количества коэффициентов, индексов и факторов риска, что поможет специалисту в принятии правильного клинического решения за короткое время.

Также «Медицинский калькулятор» используют при определении закономерности частоты ряда факторов в формировании бронхиальной астмы у детей.

По данным расчёта ресурса «Медицинский калькулятор» наибольшими факторами риска формирования бронхиальной астмы у детей на фоне аллергических реакций со стороны органов дыхания выступают:

- 1) обострения ОРВИ;
- 2) искусственное вскармливание до года;
- 3) ночные проявления недостаточности воздуха;
- 4) аллергический диатез.

С помощью ресурса «Медицинский калькулятор» рассчитывают вероятность возникновения бронхиальной астмы у ребёнка с аллергическими проявлениями со стороны дыхательной системы.

По данным ресурса «Медицинский калькулятор» возможно обоснование профилактических мер, направленных на снижение случаев бронхиальной астмы у детей.

В заключение необходимо отметить, что первостепенной задачей является профилактика, направленная на уменьшение случаев возникновения бронхиальной астмы у детей.

Ковганко Н.Н.¹, Слабко И.Н.¹, Ковганко В.Н.², Принькова Т.Ю.¹

Синтез и антимикобактериальные свойства полифторзамещенных бензальдоксимов

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

²УО «Белорусский государственный технологический университет»,
Минск, Республика Беларусь

Развитие туберкулеза в организме человека связано с патогенным действием микобактерий [1,2]. Поэтому основное направление в лечении этого заболевания связано с применением антимикобактериальных препаратов различных классов. Известно много лекарственных средств, пригодных для терапии туберкулеза. Однако в связи с высокой резистентностью микобактерий к различным антибиотикам поиск новых антимикобактериальных препаратов является актуальной задачей [1,2]. В последнее время поиски активно проводятся среди различных производных альдегидов [2]. Достаточно высокую активность проявляют оксимы – N-гидроксипроизводные альдегидов и кетонов [2]. Нами предположено, что перспективные микобактерициды могут быть получены на основе трифторсодержащих бензальдоксимов. Ранее было показано, что введение атомов фтора может улучшать противотуберкулезные свойства микобактерицидов [1].

Цель работы: получить и исследовать антимикобактериальные свойств оксимов ряда тетра- и пентафторзамещенных бензальдегидов.

Материалы и методы. Синтез фторзамещенных оксимов осуществляли взаимодействием полифторзамещенных бензальдегидов с сульфатом гидроксилamina в присутствии ацетата натрия в метаноле. Выходы целевых соединений составили 59-89%. Исследование антимикобактериальных свойств полученных соединений проведено на штамме *Micobacterium terrae* 15755. Данный штамм является непатогенным и рекомендован для использования в качестве модельного для определения противотуберкулезной активности. Антимикобактериальные свойства полученных соединений оценены на основании минимальной ингибирующей концентрации (МИК, мкг/мл), которые приведены в таблице. В качестве эталонов использованы известные противотуберкулезные препараты: пипразинамид, изониазид, циклосерин [1]. Для этого был использован метод разведений в плотной питательной среде в чашках Петри. Для этого исходный раствор соединения в диметилсульфоксиде (концентрация 2 г/л) добавляли в питательную среду Миддлбука 7Н9 с глицерином для получения требуемых концентраций (200, 100, 50, 25, 12.5 и 6.25 мг/л). Все образцы выдерживали в термостате при 37°C в течение трех недель. Для оценки антимикробных свойств новых соединений определяли минимальную ингибирующую концентрацию (МИК, мг/л), которая соответствует концентрации анализируемого вещества, при которой роста микобактерий в чашке Петри не наблюдалось. В качестве эталонов использованы известные противотуберкулезные препараты: пипразинамид, изониазид, циклосерин.

Результаты. Результаты определения антимикобактериальных свойств синтезированных соединений показали, что МИК синтезированных соединений составила 200 мг/л в случае 2,3,5,6- и 2,3,4,5-фторзамещенных бензальдоксимов. МИК эталонов также составляла 200 мг/л. В случае пентафторзамещенного бензальдоксима МИК составила >200 мг/л.

Заключение. В результате проведенных экспериментов установлено, что полифторзамещенные оксими обладают антимикобактериальной активностью, которая оказалась сравнимой с используемыми в настоящее время противотуберкулезными средствами.

Литература

1. Ковганко Н. Н. Синтез и антимикобактериальные свойства фторарил-2-изоксазолинов. / Н. Н. Ковганко, В. Н. Ковганко, Л. И. Симоненко, И. Н. Слабко // *Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Сер. хім. навук.* – 2013. - №1. - С. 73-77.
2. Худина О.Г. Синтез, строение и противотуберкулезная активность фторалкилсодержащих 3-гидроксиимино-1,5-бензодиазепинов. / О.Г. Худина, Я.В. Бургарт, М.А. Кравченко, В.И. Салоутин // *Хим.-фарм. журн.* - 2011. - Том 45, № 2. - С. 13-16.

Влияние положительно заряженного полиэлектролита полидиаллилдиметиламмония хлорида на сорбционную способность молекул иммуноглобулинов на поверхности твердой фазы, сформированной нанопленками серебра

¹Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт физики им. Степанова НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

В процессе конструирования различных биоаналитических тест-систем и высокочувствительных нанобиосенсоров с использованием наноструктурированного серебра, важным условием является выбор полиэлектролита для покрытия нанослоя серебра, так как физико-химические и электростатические свойства полиэлектролита могут оказывать значительное влияние как на сорбционную емкость твердой фазы, так и на конформационное состояние и функциональную активность иммобилизуемых белковых молекул.

Целью данной работы являлось изучение влияния положительно заряженного полиэлектролита полидиаллилдиметиламмония хлорида на сорбционную способность молекул иммуноглобулинов на поверхности твердой фазы, сформированной нанопленками серебра.

Материалы и методы исследования: нитрат серебра; цитрат натрия; полидиаллилдиметиламмоний хлорид (ПДАДМАХ), иммуноглобулин, меченый флуоресцеином (IgG-FITC). Золь серебра был синтезирован по методу цитратного восстановления нитрата серебра. Серебряные наночастицы осаждали в лунки полистирольного планшета методом электростатического осаждения с разным временем экспозиции от 1 до 24 ч. На полученные нанопленки серебра наносился раствор ПДАДМАХ в разных концентрациях. Иммобилизация иммуноглобулина, меченого флуоресцеином изотианатом (IgG-FITC), проводилась в течение 4 часов при +37°C. Для регистрации спектров флуоресценции применялся планшетный ридер CLARIOstarPlus (BMG Labtech, Германия). Статистическая обработка результатов измерений проводилась с помощью пакета программы Statistica.

Результаты. Наноструктурированные пленки серебра, сформированные на поверхности лунок полистирольных планшетов, были получены с использованием различных условий электростатического осаждения и представляли собой непрерывный слой наночастиц сферической формы размером от 30 до 80 нм, с различной геометрией по-

верхности. Для экспериментов были выбраны варианты нанопленок AgNP1 и AgNP2.

Наличие слоя положительно заряженного ПДАДМАХ на поверхности нанопленки AgNP1 увеличивало сорбцию модельного иммуноглобулина в 1,5 раза по сравнению с данными, полученными в экспериментах по иммобилизации этого белка на поверхности полистирола, покрытой этим полиэлектролитом, а также в 2,5 раза по сравнению с сорбцией на поверхности полистирола класса high binding (Greiner, Австрия).

В экспериментах с использованием нанопленки AgNP2, покрытой слоем ПДАДМАХ, регистрировалось возрастание сорбции модельного иммуноглобулина в 2,5 раза по сравнению с аналогичным параметром в экспериментах где иммуноглобулин иммобилизовался на поверхности полистирола, покрытой слоем этого же полиэлектролита. Иммобилизация модельного иммуноглобулина на поверхности полистирола класса high binding (Greiner, Австрия) была в 3,5 раза ниже показателей иммобилизации этого белка на сформированной твердой фазе «слой ПДАДМАХ-нанопленка серебра AgNP2».

Выводы. Наличие на поверхности наноструктурированных пленок серебра слоя положительно заряженного полиэлектролита ПДАДМАХ приводит к увеличению иммобилизации иммуноглобулиновых молекул в 2,5-3.5 раза по сравнению с аналогичными параметрами в условиях стандартной сорбции на полистироле. Таким образом, полиэлектролит ПДАДМАХ можно рассматривать как перспективный реагент, способствующий формированию твердой фазы с высокой сорбционной способностью и может быть использован для целей создания иммунобиотехнологических тест систем различной конструкции.

Колбас Н.Ю.¹, Колбас Е.А.²

Антиоксидантная способность антоцианов и их метаболитов

¹УО «Брестский государственный университет имени А.С.Пушкина»,
Брест, Республика Беларусь

²УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Антоцианы – это растительные пигменты из класса флавоноидов, представляющие собой гликозиды, при гидролизе которых образуются окрашенные агликоны (антоцианидины, 3-дезоксидантоцианидины, О-метилатантоцианидины). В настоящее время выявлено более 600 этих соединений. В растительных объектах обнаружены гликозиды 17 антоцианидинов, из них 6 – дельфинидин, цианидин, мальвидин, пе-

ларгонидин, пеонидин, петунидин наиболее часто входят в биохимический состав растений, а значит, с пищей попадают в организм человека.

В системе биоантиоксидантов антоцианы являются неферментными низкомолекулярными антиоксидантами прямого действия. Как и другие биоантиоксиданты, антоцианы способны воздействовать в фармакологических концентрациях, без необратимой инактивации ферментативных и генетических систем, а, следовательно, быть относительно безопасными для живого организма. Рекомендуемая разовая доза антоцианов составляет 80–160 мг стандартизированного растительного экстракта (чаще плодов черники), содержащего 25 % действующего вещества в пересчете на конкретный антоциан. Для антоцианов характерна слабая химическая стабильность, но достаточно высокая биодоступность. Они быстро всасываются из желудка и тонкой кишки и обнаруживаются в крови и моче в виде гликозидов. Антоцианы могут также проникать через гематоэнцефалический барьер, а также ткани глаза. В настоящее время для цианидин-глюкозида идентифицировано порядка 35 метаболитов, среди которых гидроксикоричные (например, феруловая), гидроксифенилуксусные и гидроксibenзойные (протокатехиновая, валериановая и изовалериановая) кислоты, а также их конъюгаты. 17 метаболитов цианидин-глюкозида обнаружены в крови, а 31 – в моче.

Целью нашего исследования была оценка антиоксидантной способности (АОС) антоцианов и некоторых их метаболитов.

В исследовании были использованы 3 метода оценки антиоксидантной активности: *ABTS*, *ORAC* и ингибирующая способность индуцированного автоокисления адреналина. АОС трех антоцианов превышает параметр тролокса (водорастворимого аналога токоферола) в 3,36 раз для цианидин-глюкозида, в 2,96 раз для дельфинидин-глюкозида и в 3,12 раз для мальвидин-глюкозида. АОС по методу *ORAC* варьирует от 1,68 до 1,88 в эквиваленте тролокса снижается в последовательности: мальвидин-глюкозид > дельфинидин-глюкозид ≈ цианидин-глюкозид. Для метаболитов в виде антоцианидинов антиоксидантная активность составляет 2,06–3,7 тролокс-эквивалента и снижается в ряду дельфинидин > цианидин > мальвидин. Результаты АОС, полученные методом *ORAC*, колеблются от 1,53 до 3,33 в тролокс эквиваленте и снижаются в ряду: цианидин > дельфинидин ≈ мальвидин. Антиоксидантная активность фенолкарбоновых кислот варьирует от 1,27 до 2,07 тролокс-эквивалента.

В реакции индуцированного автоокисления адреналина при молярном соотношении адреналин/соединение как 1:0,5 и 10 минутного инкуби-

рования при температуре 36,6 °C фенолкарбоновые кислоты проявляют прооксидантное действие, цианидин и дельфинидин ингибируют соответственно на 25,4 % и 25,8 %, мальвидин не проявляет ни антиоксидантного ни прооксидантного действия.

Таким образом, наиболее эффективное антиоксидантное действие антоцианы проявляют в виде гликозидов. Установлено, что АОС антоцианов выше, чем у их метаболитов – фенолкарбоновых кислот.

Kolesnik D.L.¹, Shliakhtova N.A.^{1,2}, Pyaskovskaya O.N.¹

Viability and glucose metabolism of cancer cells with different metastatic potential under deadhesive growth

¹R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²Educational and Scientific Centre «Institute of Biology and Medicine» Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine

A distinctive feature of cancer cells that facilitates metastatic dissemination is resistance to anoikis (a caspase-dependent cell death process triggered by extracellular matrix detachment) the mechanisms of which remain unclear.

The study aimed to investigate the viability and indices of glucose metabolism of cancer cells with different metastatic potential under deadhesive and adhesive growth.

Materials and Methods. In the study, there were used two variants of Lewis lung carcinoma cells with different metastatic potential (LLC and LLC/R9). The cells were cultured under standard in vitro conditions on a deadhesive and adhesive substrate for 3 days. The number of cells was determined using the vital dye trypan blue in a hemocytometer. The level of apoptosis was determined by flow cytofluorometry using propidium iodide. The level of lactate and glucose in the incubation medium was measured using a biochemical analyzer.

Results. It was shown that the growth of both variants of cancer cells as a deadhesive culture was accompanied by a significant decrease in the number of viable cells by more than 33% ($p < 0.01$) compared with that for their adhesive growth. The deadhesive growth of highly metastatic LLC cells caused a decrease in the number of both dead cells (by 56%, $p < 0.01$) and apoptotic cells (by 29%, $p < 0.01$) compared with adhesive growth conditions, indicating the presence of the subpopulation of the cells which are resistant to anoikis. In contrast to LLC, deadhesive growth of low-metastatic LLC/R9 cells caused an increase in the number of apoptotic cells by 80% ($p < 0.005$), without affecting the number of necrotic cells. Deadhesive growth of LLC/R9 cells was accompanied by a decrease in both the

level of glucose consumption and the level of lactate production. Thus, the level of glucose in the incubation medium was 12.6% ($p < 0.05$) higher, and the level of lactate 10% ($p < 0.05$) lower than that of these cells grown in adhesive culture. At the same time, the level of glucose and lactate in the incubation medium of LLC cells was almost the same for their adhesive and non-adhesive growth.

Conclusions. A comparative analysis of the studied parameters showed that under deadhesive growth low metastatic LLC/R9 cells (as opposed to highly metastatic LLC cells) are characterized by reduced glycolysis and increased sensitivity to anoikis. The stability of the glycolysis intensity in LLC cells during the transition to deadhesive growth conditions allow them to maintain a high level of synthesis of antioxidant enzymes and, consequently, to neutralize reactive oxygen species, causing both resistance of these cells (at least in part) to anoikis as well as their high metastatic potential.

Король Ю.С.

Влияние вкусовых раздражителей аминокислотной природы на вариабельность сердечного ритма

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Чувство вкуса предоставляет жизненно важную сенсорную информацию для определения, будут ли проглочены конкретные еда или напиток. Выявление вкусовых стимулов опосредовано координированным действием различных типов вкусовых сенсорных клеток, размещенных во вкусовых почках специализированных сосочков в полости рта. Вкусовые рецепторы, которые обнаруживают соединения, вызывающие сладкий, соленый, кислый, горький и умами вкусы, являются ключевыми игроками при выборе питательных веществ. Одним из таких примеров являются аминокислоты. Механизмы, в которые вовлекаются нейротрансмиттеры аминокислотной природы, в частности, глутамат (возбуждающий нейромедиатор), L-аргинин (предшественник NO), гаммааминомасляная кислота и глицин (тормозной медиатор), реализуются на различных уровнях регуляции функций нервной системой. Реакции функциональных систем организма человека на предъявление возбуждающих и тормозных аминокислот в качестве стимулов вкусового анализатора изучены плохо или даже не описаны. Целью данной работы явилось установление связи рецепции аминокислот в ротовой полости человека с контролем сердечного ритма

симпатической и парасимпатической нервной системой по показателям его вариабельности.

Данная работа была выполнена на базе кафедры физиологии человека и животных биологического факультета Белорусского государственного университета. Было обследовано 27 студентов в возрасте от 17 до 22 лет, 13 юношей и 14 девушек. Регистрация показателей вариабельности сердечного ритма проводилась методом кардиоинтервалографии по Р.М. Баевскому на аппаратно-программном комплексе «VARICARD». Программное обеспечение «VARICARD» использовано совместно с системой «KARDIVAR» и «ISCIM 6», которая обеспечивает неинвазивный мониторинг показателей работы сердца.

При помощи данной методики регистрации электрокардиограммы удалось выявить влияние вкуса аминокислот на регуляцию сердечного ритма автономной нервной системой. Во время регистрации испытуемые удерживали соответствующие растворы в ротовой полости в течение 5 минут. После окончания записи раствор выплевывался, рот промывался водой. Полученные данные обрабатывались в программе Statistica 8.0.

Предъявление испытуемым раствора L-аргинина (1 г в 100 мл воды, 10 мл) вызвало снижение частоты сердечных сокращений, уменьшение значения индекса напряженности функциональных систем, а также уменьшение среднего значения низкочастотных волн и увеличение среднего значения высокочастотных волн кардиоритмограммы, что указывает на вовлечение в регуляцию парасимпатического центра вегетативной нервной системы. Такой же эффект наблюдался при предъявлении раствора препарата «Фенибут» (50 г в 100 мл воды, 10 мл), метильного производного гаммааминомасляной кислоты. Предъявление глицина (100 мг в виде таблетки под язык) в качестве вкусового раздражителя повлекло небольшое снижение частоты сердечных сокращений. Отрицательный хронотропный эффект и повышение индекса ваго-симпатического взаимодействия наблюдались при предъявлении бульона из коммерческого продукта – кубиков, содержащих глутамат и вкусовые добавки. Воздействие глутамата (1 г в 100 мл воды, 10 мл) на вкусовые рецепторы вызывало повышение значения индекса напряженности функциональных систем, что свидетельствует о напряжении физиологических механизмов, отражающих нагрузку на сердечно-сосудистую систему.

Таким образом, вкусовые раздражители аминокислотной природы могут изменять вегетативную регуляцию ритма сердца, воздействуя на вкусовые рецепторы, но не попадая при этом непосредственно в пищеварительный тракт.

Жирнокислотный состав рапсового масла с разным содержанием эруковой кислоты

¹Государственный университет «Одесская политехника», Одесса,
Украина

²Котекна Україна Лімітед

Рапсовое масло характеризуется своими уникальными химическими свойствами и возможностью использования в рационе человека. Масло канолы (масло пищевого назначения) впервые получено в Канаде и с тех пор стало привычным продуктом в рационе многих жителей Канады, США и стран ЕС. Для пищевого назначения используются масла с низким содержанием эруковой кислоты, для Канады не более 2%, для ЕС - не более 5%.

Целью работы было сравнительное исследование жирнокислотного состава масел, полученных из низкоэрукового и высокоэрукового сортов рапса. В ходе работы было определено жирнокислотный состав четырёх образцов рапсового масла пищевого (масло 1,2) и промышленного назначения (масло 3,4).

Материалы и методы исследования. Оборудование: газовый хроматограф Shimadzu GC 2010+/ FID; хроматографическая колонка Thermo Scientific, TR-FAME, length – 30 m, diam. – 0.250 mm, film – 0.25 μ m; орбитальный встряхиватель Vortex SA8; весы аналитические ED 224S. Реактивы: метилат калия (95%), метиловый спирт (вэжх), гексан (вэжх). Методика определения: образцы исследуемого масла тщательно перемешивали и отбирали в стеклянную пробирку 2-3 капли; масло растворяли в 2 мл гексана и добавляли 0,1 мл метилата калия в метаноле с концентрацией 2 моль/л; раствор перемешивали в течении 2 минут с помощью встряхивателя, реакционную смесь отстаивали в течении 30 минут, затем верхний слой переносили в хроматографическую виалу.

Результаты: В исследуемых образцах 1-2 обнаружено <0,05% (масс.) эруковой кислоты, в образце 3 — 53,06%, 4 — 53,16%. Масло с высоким содержанием эруковой кислоты не используется в качестве пищевого, поскольку исследования показывают, что эта кислота не полностью разлагается в организме, у крыс вызывает нарушения сердечно-сосудистой системы, инфильтрацию скелетной мускулатуры, миокарда и цирроз печени [1]. Поэтому такое масло используется только в промышленности для понижения цетанового числа дизеля, в качестве сырья для биодизеля, в производстве пластмасс и т.д.

Пищевое рапсовое масло отличается также от промышленного высоким содержанием олеиновой кислоты (63,63% в масле 1, 62,82% в

масле 2, 11,72% — 3, 10,66% — 4). Это мононенасыщенная кислота, которая способствует снижению уровня холестерина в плазме крови человека [2].

Рапсовое масло содержит такие незаменимые полиненасыщенные жирные кислоты, как альфа-линоленовую кислоту (7,79 и 8,51% в маслах 1,2; 9,37 и 9,13% в маслах 3,4), так и линолевую кислоту (19,59% — 1, 19,76% — 2, 12,60% — 3, 13,04% — 4). Эти кислоты положительно влияют на сердечно-сосудистую систему, функции мозга и психическое здоровье [3].

Выводы: Уменьшение содержания эруковой кислоты в рапсовом масле привело к получению пищевого масла со сравнительно низким содержанием насыщенных жирных кислот и высоким содержанием мононенасыщенных и полиненасыщенных жирных кислот. Благодаря такому составу масло рапса (канолы) благоприятно влияет на здоровье сердечно-сосудистой и центральной нервной системы.

Литература

1. Helle Katrine Knutsen, Jan Alexander, Lars Barregård, Margherita Bignami, Beat Brüschweiler. // Erucic acid in feed and food. EFSA Journal, 2016.
2. Mensink, R.P. // Effects of saturated fatty acids on serum lipids and lipoproteins: a systematic review and regression analysis, 2016, World Health Organization, 1–72.
3. Calder, P.C. // Very long chain omega-3 (n-3) fatty acids and human health. European Journal of Lipid Science and Technology, 2016, 116, 1280–1300.

*Kosyakova H.V.¹, Goridko T.M.¹, Berdyshev A.G.¹, Dyadyun S.T.²,
Asmolkova V.S.¹, Starosila D.B.², Porva Y.I.², Chumak A.A.¹,
Ribalko S.L.², Hula N.M.¹*

Prospects for the use of N-stearoylethanolamine as an effective antiviral agent for the pharmacotherapy of herpes infection caused by human herpes simplex virus

¹O.V. Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²State Institution «Institute of Epidemiology and Infectious Diseases. LV Gromashevsky of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Endogenous N-acylethanolamines (NAEs) are part of a large group of endocannabinoids - compounds that, together with the corresponding cannabinoid receptors, make up the endocannabinoid regulatory system. NAE - derivatives of N-acylated phospholipids (NAPE) - a large and diverse class of signaling minor lipids. The data presented in the literature and the results of our own research indicate that NAE is an attractive target for the development of drugs for the treatment and prevention of cardiovascular, cancer,

neurodegenerative diseases, viral infections and more. We have previously shown that administration of saturated C18: 0 NAE N-stearoylethanolamine (NSE) to influenza virus-infected mice reduced the death of animals from influenza infection (Gula NM et al., 2014). It was also found that NSE in doses of 10-300 mg / kg is non-toxic and does not cause side effects. The aim of our study was to investigate the antiviral activity of NSE against herpes simplex viruses type 1 and 2 in vitro and in vivo.

Methods. In vitro studies used herpes simplex virus type 2 (HSV-2) - a strain of VN obtained from the Museum of Viruses of the Institute of Virology, DI Ivanovsky RAMS. The virus was maintained by serial passages in Vero cell culture. Infectious titer for JRS in cell culture was - 5.0 - 7.0 lg TCD50 / 0.1 ml. A model of herpes meningoencephalitis in mice was used to study the antiherpetic effect of NSE in vivo. Used lyophilized herpes simplex virus type 1 (HSV-1), strain VC. Animals (n = 10) were infected with herpes virus by intracerebral injection in a volume of 0.03 ml of viral suspension. The value of the infectious dose in the experiments was equal to 1-10 LD50 (lethal doses for mice). NSE was administered to animals (n = 10) intraperitoneally at a dose of 0.2 mg / kg body weight. Virolex from KRKA (Slovenia) was used as a reference drug. Infectious activity of the herpes virus was studied by animal mortality and infectious titer of the virus in brain tissue. NSE was administered in two ways: 24 hours before infection - a prophylactic way and 24 h after infection with the herpes virus - a treatment way. Evaluation of drug activity was performed by comparing mortality and inhibition of infectious titer in brain tissue in experimental and control groups.

Results. The mortality of control animals infected with the herpes virus was 100%. NSE was found to be effective in inhibiting the reproduction of herpes virus type 2 at concentrations of 10⁻⁶ to 10⁻⁸ M in Vero cell culture (selectivity index 103). In the group of mice receiving NSE at a dose of 0.2 mg / kg body weight before infection with the herpes virus, 40% of the animals survived. In the group receiving virolex at a dose of 10 mg / kg body weight, 50% of the animals survived. Inhibitory infectious titer in mouse brain tissue in lg ID50 was 2.0 for NSE, and 2.5 for virolex. In the case of NSE according to the treatment regimen, 75% of the animals survived, and in the group of mice treated with virolex - 50% of the animals. In this case, the inhibitory infectious titer in the brain tissue of mice in lg ID50 was equal to 2.5 for NSE and Virolex.

Conclusion. Therefore, NSE exhibits pronounced antiviral activity against herpes simplex virus in both in vitro and in vivo studies and is effective in both prophylactic and therapeutic ways of application. This indicates the

prospect of developing NSE-based drugs for the prevention and treatment of human herpes infections.

Кохановский А.И.¹, Кохановская Е.Ю.²

Взаимодействие эмодина с клеточными мембранами

¹ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

²УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Эмодин (6-метил-1,3,8-тригидроксиантрахинон) – метаболит многих растений, грибов, лишайников, беспозвоночных. Экстракты из растительного сырья, содержащего эмодин, применяются как слабительные средства, но эмодин обладает более широким спектром биологического действия, что подтверждено многочисленными экспериментами. Тем не менее, полностью не выяснен физико-химический и биохимический механизм действия эмодина на живые объекты, также неизвестны пути попадания эмодина в клетки.

Поскольку эмодин обладает липофильными свойствами, то, предположительно, в первую очередь будет происходить взаимодействие с клеточными мембранами. В качестве клеточной модели для исследований на мембранном уровне часто используются эритроциты, мембранная организация которых аналогична мембранам других клеток. Отсутствие в эритроцитах межклеточных сочленений, интерстиция, других тканевых структур и внутриклеточных образований облегчает трактовку полученных результатов, т.к. их легко связать непосредственно с изменениями свойств мембран.

Цель: определить восприимчивость клеточных мембран к эмодину.

Материалы и методы. Коллоидный раствор эмодина получили методом химической конденсации при добавлении раствора эмодина в 0,1М гидроксиде натрия в 0,2М фосфатный буферный раствор с pH 7,4. Коэффициент молярного поглощения эмодина определяли в 0,2М фосфатном буферном растворе с pH 7,4 при максимуме поглощения 480 нм. Осмоляльность растворов рассчитывали по изменению температуры их кристаллизации. Связывание эмодина с мембранами эритроцитов определяли по снижению концентрации эмодина в надосадочной жидкости после инкубирования эмодина с эритроцитами по сравнению с контролями. Резистентность эритроцитов определяли на мышинных эритроцитах. Эритроциты помещались в 0,15М растворы хлорида натрия с эмодином и без эмодина (контроль), затем эритроциты осаждали центрифугированием. Результат учитывался по высво-

бодившемуся гемоглобину, который определяли по оптической плотности надосадочной жидкости при длине волны 414 нм. Статистическую обработку результатов проводили в программе Statistical10. Различия между двумя независимыми выборками определяли по непараметрическому критерию Манна-Уитни, $n=6$ при $\alpha=0,05$.

Результаты. В ходе экспериментов было установлено, что оптическая плотность надосадочной жидкости по сравнению с контролем изменялась более чем в 9 раз (различия между выборками статистически значимы, $p=0,001166$), что свидетельствует о высвобождении гемоглобина из эритроцитов по причине нарушения целостности клеточных мембран. При этом опытным путем установили, что осмоляльность раствора эмодина с концентрацией $1,586 \cdot 10^{-4}$ моль/л и буферного раствора без эмодина составляли 0,2688 осмоль/л, что указывает на то, что нарушение целостности мембран происходило не по причине изменения осмоляльности раствора.

Также была установлена сорбция эмодина клетками. Коэффициент молярного поглощения эмодина в буфере составил $3637,92 \text{ л} \cdot \text{М}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$. Концентрация эмодина в растворе после осаждения эритроцитов составила 35,93 мкмоль/л, в то время как в контрольном растворе составляла 46,12 мкмоль/л (различия между выборками статистически значимы, $p=0,028571$).

Заключение. Исследование показало, что эмодин взаимодействует с клеточными мембранами эритроцитов и приводит к нарушению их целостности. Данный эффект может объяснять некоторые механизмы биологического действия эмодина.

Крутько В.К., Мусская О.Н., Кулак А.И.

Формирование апатитовых структур на кальцийфосфатных биоматериалах *in vitro* в среде SBF

ГНУ «Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси»,
Минск, Республика Беларусь

В последние годы множество научных публикаций посвящено биоминерализации с участием карбонатов, фосфатов, оксалатов и др. при образовании композитных биополимеров в живых организмах в норме и при патологии. Биоминерализация является естественным процессом образования органо-неорганических композитов из биоорганических молекул и неорганических соединений в живых организмах. Биоминералы представляют собой кристаллическую фазу, осажденную в органической матрице. Неорганические компоненты обеспечивают прочность, а органическая матрица определяет форму, размер и

полиморфизм кристаллов. Фактически, «биоминерализаторы» представляют собой нанокристаллиты апатитов, иерархически встроенные в коллагеновую матрицу, формирующие костную ткань. Понимание механизмов таких взаимодействий позволит решить проблемы устранения патологических состояний организма и создавать новые гибридные композиты, имитирующие природные материалы.

В ИОНХ НАН Беларуси разработаны кальцийфосфатные биоматериалы, включающие высокопористую кальцийфосфатную пенокерамику, кальцийфосфатные покрытия на титане и гибридные биокompозиты на основе гидроксиапатита и брушита с фибрином [1, 2]. Биоактивность и апатообразующая способность синтетических кальцийфосфатных биоматериалов коррелируют с фазовыми превращениями и физико-механическими свойствами при их выдерживании *in vitro* в модельной среде Simulated body fluid (SBF). Целью работы являлось исследование физико-химических свойств кальцийфосфатных биоматериалов в условиях SBF, способных формировать биомиметические апатитовые структуры.

Выдерживание кальцийфосфатной пенокерамики в среде SBF в течение 8 нед приводило к повышению прочности до 0,08 МПа, пористость снижалась незначительно, так как формировался ультратонкий слой биомиметического апатита, который не изменял архитектуру пенокерамики. Согласно сканирующей электронной микроскопии после SBF на поверхности керамических балок формировались сферические частицы апатита в виде «пеносфер» диаметром 1–3 мкм, срастающиеся в конгломераты «апатитовой пены», фазовый состав которой представлен гидроксиапатитом и α -трикальцийфосфатом.

Установлено, что брушитные покрытия на титане, электрохимически осажденные при 20–30 мА/см² в течение 20–30 мин, при выдерживании в SBF до 4 нед формировали слой аморфизированного кальцийфосфата с апатитовой структурой. В результате слой пластинчатых кристаллов брушита размером (0,6–1,0)×(4–10) мкм превращался в агломераты размером до 80 мкм, исчерченные щелевидными порами (20–40)×(0,5–1,0) мкм. Рентгеноаморфные кальцийфосфатные апатитовые структуры после 800°C кристаллизовались в гидроксиапатит.

Исследованы превращения кальцийфосфатов в гибридных биокompозитах с фибрином после выдерживания в SBF в течение 10 нед. Брушит частично гидролизировался с образованием 30 масс.% октакальцийфосфата и 17 масс.% апатитного трикальцийфосфата, а его композиты – 15 масс.% октакальцийфосфата и 40 масс.% апатитного трикальцийфосфата. После SBF в биокompозитах на основе гидроксиапатита молярное отношение Ca/P увеличивалось с 1,62 до 1,66 за счет по-

глощения ионов из SBF кальций-дефицитным гидроксипатитом. Обогащение апатитовыми структурами после SBF свидетельствует о высокой апатитообразующей способности гибридных биоконпозитов. Таким образом, индуцированное образование включений аморфных кальцийфосфатов в гидроксипатите и его композитах, а также формирование апатитовых структур на кальцийфосфатных биоматериалах может быть использовано при разработке новых имплантатов для костной пластики с регулируемой скоростью резорбции и приживаемости.

Литература

1. Effect of platelet-poor plasma additive on the formation of biocompatible calcium phosphates / I.E. Glazov, V.K. Krut'ko, A.I. Kulak, O.N. Musskaya, R.A. Vlasov, P.O. Malachovsky, V.G.D. Kumar, P.S. Surya, M.S. Santosh, N. Reddy // Mater. Today Communications. – 2021. – 102224. doi:10.1016/j.mtcomm.2021.102224
2. Гибридные биоматериалы на основе гидроксипатита и компонентов крови / В.К. Крутько, Р.А. Власов, О.Н. Мусская, И.Е. Глазов, А.И. Кулак // Весці НАН Беларусі, Сер. хім. навук. – 2019. – Т. 55, № 2. С.299–308. doi:10.29235/1561-8331-2019-55-3-299-308

Кудря А.А.

Определение уровня такролимуса в крови у реципиентов почечного трансплантата в отдаленном периоде после трансплантации ГУ «РНПЦ Радиационной медицины и экологии человека», Гомель, Республика Беларусь

Реципиенты донорских органов нуждаются в пожизненной иммуносупрессивной терапии. Итоговой целью поддерживающей иммуносупрессии является обеспечение максимальной продолжительности жизни реципиента с функциональным трансплантатом, что определяется адекватностью подавления аллоиммунного ответа и минимизацией риска побочных эффектов иммуносупрессантов.

В настоящее время в качестве базовой иммуносупрессивной терапии используется целый ряд препаратов, одним из которых является такролимус.

Такролимус (Tacrolimus) относится к группе природных макролидов, продуцируется актиномицетом *Streptomyces tsukubaensis* и является ингибитором кальциневрина. Такролимус связывается с цитозольным белком (FKBP12), отвечающим за внутриклеточную кумуляцию препарата. Комплекс FKBP12-такролимус ингибирует кальциневрин, что, в свою очередь, приводит к кальцийзависимому ингибированию Т-клеточных сигнальных путей трансдукции и предотвращению транскрипции дискретной группы лимфокинных генов. Также такролимус

подавляет формирование цитотоксических лимфоцитов, которые, в основном, отвечают за отторжение трансплантата, снижает активацию Т-клеток, зависимость от Т-хелперов пролиферацию В-клеток, а также формирование лимфокинов (таких как интерлейкины-2, и 3 и гамма-интерферон), экспрессию рецептора интерлейкина-2.

Дозирование такролимуса должно проводиться с учетом обязательного проведения лекарственного мониторинга, т.е. периодического определения концентрации препарата в крови. Это особенно важно, т.к. такролимус является препаратом «критичной дозы», у которого даже небольшие изменения в режиме дозирования и/или концентрации в крови могут приводить к существенному снижению терапевтического эффекта (при уменьшении дозировки и/или концентрации) или развитию токсичности (при увеличении дозировки и/или концентрации).

В отдаленном периоде после трансплантации почки (более 12 месяцев) мониторинг концентрации такролимуса в крови рекомендуется проводить не реже 1 раза в месяц. При устойчивой концентрации препарата в крови – 1 раз в 2-3 месяца. При этом целевая концентрация такролимуса в крови (рекомендуемый терапевтический диапазон) должна быть на уровне 4,0-6,0 нг/мл. При ряде показаний, а также при повышенном риске отторжения трансплантата, концентрацию такролимуса в крови рекомендуется поддерживать на уровне 6,0-8,0 нг/мл.

Цель – оценить уровень концентрации такролимуса в крови у реципиентов почечного трансплантата в отдаленном периоде после трансплантации почки.

Материалы и методы исследований. За период январь-март 2021 года проведено определение такролимуса в цельной крови у 90 пациентов, находящихся в отдаленном периоде после трансплантации почки (12 месяцев-10 лет).

Количественное определение концентрации такролимуса в цельной крови осуществляли методом хемилюминисцентного анализа на парамагнитных микрочастицах (CMIA) с помощью автоматизированной системы ARCHITECT i1000SR (Abbott Laboratories, США).

Результаты и выводы. У 30 пациентов (33,3%) уровень такролимуса в цельной крови находился в пределах рекомендуемой целевой концентрации (4,0-6,0 нг/мл). У 15 пациентов (16,7%) концентрация такролимуса в цельной крови составляла 3,0-3,9 нг/мл. И только у двух пациентов (2,2%) уровень препарата был ниже 3,0 нг/мл. У 17 пациентов (18,9%) и у 12 пациентов (13,3%) концентрация такролимуса в цельной крови составляла 6,1-7,0 нг/мл и 7,1-8,0 нг/мл соответ-

ственно. У 14 пациентов (15,6%) уровень такролимуса колебался от 8,1 до 10,4 нг/мл.

В итоге, у большинства обследованных пациентов (74 пациента – 82,2%) уровень концентрации такролимуса в цельной крови соответствовал или существенно не отличался от рекомендованного терапевтического диапазона и находился в пределах 3,0-8,0 нг/мл. В 16 случаях (17,8%) концентрация такролимуса в цельной крови была существенно ниже (менее 3,0 нг/мл) или выше (более 8,0 нг/мл) рекомендуемой целевой концентрации, что требовало оценки адекватности дозирования препарата в соответствии с индивидуальными особенностями ведения пациента.

Таким образом, иммуносупрессивная терапия реципиентов почечного трансплантата с использованием такролимуса должна проводиться только при условии налаженного лекарственного мониторинга.

*Кулагова Т.А.¹, Голубева Е.Н.¹, Борисов К.Н.¹, Екимчик В.В.²,
Соболевская Е.М.², Коваленко Е.И.²*

Графеновые квантовые точки как перспективные наноструктуры для исследования окислительно-восстановительных процессов в нейтрофилах

¹НИИ Ядерных проблем Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Одним из перспективных наноматериалов для разработки лекарственных форм препаратов являются графеновые квантовые точки (ГКТ), состоящие из нескольких (до 10) sp²-гибридизированных листов графена, с латеральным размером от нескольких до 10 нм. Край ГКТ может быть функционализирован различными группами (например, гидроксильными, карбонильными, карбоксильными). Показано, что ГКТ обладают высокой стабильностью, низкой токсичностью, хорошей биосовместимостью, флуоресценцией, зависящей от размера и модификации ГКТ. Функционализированные ГКТ водорастворимы и имеют большую стабильность в физиологических средах, чем оксид графена. ГКТ исследуют на применимость для визуализации клеток и тканей, адресной доставки лекарств, биосенсоров, в качестве фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии. Помимо этого, ГКТ могут действовать как доноры и акцепторы электронов, что указывает на их антиоксидантный потенциал.

Целью данной работы было исследовать механизмы взаимодействия ГКТ с нейтрофилами крови – клетками, которые в процессе активации генерируют активные формы кислорода и хлора.

Нейтрофилы изолировали из гепаринизированной крови доноров и ресуспендировали (1 млн/мл) в среде Эрла при pH=7,3. К клеткам добавляли ГКТ в концентрации 50 мкг/мл и инкубировали в течение 30-90 мин при температуре 37 °С. Цитотоксичность исследовали методом световой микроскопии и флуориметрии с использованием иодида пропидиума. Деформацию клеток определяли по анализу индикатрис малоуглового светорассеяния методом нефелометрии. Визуализацию внутриклеточных ГКТ, фибриллярного актина, миелопероксидазы проводили методом флуоресцентной микроскопии с использованием F-актин Cytopainter и FITS-MPO.

Установлено, что при инкубировании нейтрофилов с ГКТ клетки накапливают данные нанообъекты. При этом ГКТ не оказывают цитотоксического действия на фагоциты, однако форма нейтрофилов после взаимодействия меняется, то есть клетки активируются. Методом флуоресцентной микроскопии зарегистрировано достаточно равномерное накопление и распределение ГКТ в цитоплазме нейтрофилов после 30 мин взаимодействия. Следует отметить, что в присутствии ГКТ происходит более выраженная активация нейтрофилов при адгезии, чем в контрольных образцах. Это проявляется в большем распластывании клеток, в модификации их актинового цитоскелета, распределении флуоресцирующих антител к миелопероксидазе, формировании структур, подобных нейтрофильным внеклеточным ловушкам.

Было установлено, что интенсивность флуоресценции ГКТ в нейтрофилах через 30 мин адгезии клеток в три раза выше, чем через 90 мин адгезии. Это свидетельствует о разрушении и/или нарушении структуры ГКТ после проникновения в нейтрофилы. В качестве основных, разрушающих ГКТ веществ можно выделить активные формы кислорода и хлора: супероксидные анион-радикалы, пероксид водорода и гипохлорит-ионы. Проведя оценку спектров флуоресценции ГКТ в модельных системах в присутствии пероксида водорода и гипохлорита натрия, было установлено, что именно гипохлорит-ионы вызывают модификацию структуры ГКТ, значительно снижая интенсивность флуоресценции нанообъектов.

Таким образом, установлено, что при взаимодействии с нейтрофилами ГКТ проникают в клетки, происходит активация клеток и, вероятно, формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек. Структура графеновых квантовых точек нарушается при взаимодействии с гипохлорит-ионами, что приводит к снижению флуоресценции этих нано-

объектов. Следовательно, метаболиты хлорноватистой кислоты являются индукторами биодegradации ГКТ, а по изменению интенсивности флуоресценции ГКТ в процессе взаимодействия с клетками можно судить об интенсивности внутриклеточных окислительно-восстановительных процессов.

*Кулик В.К.¹, Голубева Е.Н.^{2,3}, Кулагова Т.А.², Кужир П.П.²,
Максименко С.А.²*

Моделирование радиационного повреждения опухолевых клеток при использовании бор-нитридных квантовых точек в бор-нейтронной терапии

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

²НИИ Ядерных проблем Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь

³Центр физических наук и технологий, Вильнюс, Литва

Бор-нейтронная терапия (БНТ) – это перспективный нехирургический радиотерапевтический метод лечения инвазивных злокачественных опухолей (первичные опухоли головного мозга, рецидивирующий рак головы и шеи, кожные и внекожные меланомы), который включает в себя две стадии.

1) Пациенту вводят лекарство, определяющее локализацию опухоли, содержащее нерадиоактивный изотоп бор-10 (^{10}B), который имеет высокую склонность к захвату тепловых нейтронов. Поперечное сечение захвата тепловых нейтронов у изотопа ^{10}B (3837 барн) во много раз больше, чем у других элементов, присутствующих в тканях.

2) Пациента облучают надтепловыми нейтронами. После потери части энергии при проникновении в ткань нейтроны захватываются ^{10}B с образованием ^{11}B в возбужденном состоянии, который за пикосекунды распадается на высоко-энергетичные альфа-частицы (^4He), ядра ^7Li и гамма-квант (94% случаев). Ввиду ограниченного диапазона действия (<10 мкм) [1] эти заряженные частицы вызывают радиационно-индуцированные повреждения только в тех клетках, которые поглотили и накопили достаточное количество ^{10}B [2].

Эффективность БНТ зависит, главным образом, от концентрации бора (должно быть избирательно доставлено примерно 10^9 атомов ^{10}B на клетку [1],) и его избирательного накопления и распределения именно в опухолевых клетках-мишенях.

В качестве эффективных «носителей» изотопа ^{10}B в настоящее время рассматривают различные бор-нитридные наноматериалы. К ним от-

носятся бор-нитридные нанотрубки [2], наноструктурированный нитрид бора [3], бор-нитридные наночастицы и др. Ведутся постоянные разработки новых борсодержащих высоко специфичных для опухолевых клеток препаратов для БНТ, исследуются механизмы накопления данных соединений в трансформированных клетках.

Цель настоящего исследования: провести теоретическую оценку эффективности нейтронной терапии при использовании бор-нитридных квантовых точек (БНКТ), учесть вариабельность степени обогащения БНКТ изотопом ^{10}B , локальной концентрации БНКТ, микроокружения БНКТ, а также типа опухолевых клеток.

Процесс взаимодействия ионов с веществом клетки моделировали методом Монте-Карло, реализованном в программном пакете «Stopping and Range of Ion in Matter» (SRIM) [4].

В работе были построены несколько моделей опухолевых клеток, различающихся между собой по нуклеоплазматическому соотношению (клетки лимфомы, меланомы, плоскоклеточной карциномы), а также проведено исследование зависимости радиационного повреждения клеток от характера распределения и локализации БНКТ (в межклеточном пространстве, в мембране, цитоплазме или ядре). В этом исследовании мы рассмотрели ионизирующую энергию, выделяемую ионами ^4He и ^7Li в различных областях опухолевой клетки, при этом учли, что возможны два типа реакции распада ^{11}B , образуемого при поглощении тепловых нейтронов бором-10 ($^4\text{He}^{2+}(1,47 \text{ МэВ})/^7\text{Li}^{3+}(0,84 \text{ МэВ})$ и $^4\text{He}^{2+}(1,78 \text{ МэВ})/^7\text{Li}^{3+}(1,01 \text{ МэВ})$). В результате моделирования определена оптимальная локализация БНКТ в опухолевых клетках в зависимости от типа опухоли, позволяющая реализовать максимальное повреждение опухолевых клеток при БНТ.

Литература

1. Coderre J.A., Morris G.M. The radiation biology of boron neutron capture therapy // Radiation Research. 1999. Vol. 151, № 1. P. 1–18.
2. Ferreira T.H., de Sousa E.M.B. Applications and perspectives of boron nitride nanotubes in cancer therapy // Boron Nitride Nanotubes in Nanomedicine. Elsevier Inc., 2016. P. 95–109.
3. Singh B. et al. Nanostructured Boron Nitride with High Water Dispersibility for Boron Neutron Capture Therapy // Sci. Rep. 2016. Vol. 6.
4. Ziegler J. James Ziegler - SRIM & TRIM. 2017.

Особенности накопления химических элементов в клубнях картофеля в зависимости от типа почвы

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

Здоровье и привычки жителей Республики Беларусь (РБ) были исследованы Минздравом и Всемирной организацией здравоохранения в рамках STEPS — изучения факторов риска возникновения инфекционных заболеваний. По результатам исследования, избыточную массу тела имеют 60,6 % населения. Ожирение есть у каждого четвертого жителя Беларуси — 25,4 %. Висцеральное ожирение зафиксировано у 42 % мужчин и 63,5 % женщин в стране [1]. Проблемы во многом кроются питания: лишь четверть белорусов ест необходимое количество фруктов и овощей [1]. Следует отметить, что основным условием снижения массы тела является режим и рацион диетического питания. В последнее время картофель начинают включать в диетическое питание людей, страдающих повышенной массой тела.

Цель работы - выделить сорта картофеля, обладающие наибольшим уровнем эссенциальнозначимых (Ca, K, Zn, S, Se) элементов и дать рекомендации по их использованию в качестве продукта питания у лиц страдающих повышенной массой тела.

Методы и объекты исследования. Исследования элементного химического состава картофеля и почвы проводили с помощью рентгенофлуоресцентного спектрального анализатора СЕР-01 ElvaX, в соответствии с утвержденными методиками МВИ.МН 3272-2009 [2] и МВИ.МН. 3730-2011 [3]. В качестве исследуемых образцов картофеля были взяты сорта: «Журавинка», «Янка», «Скарб», а в качестве анализируемых почв, в гродненском районе были отобраны 3 типа почв (песчаная, дерново-подзолистая, торфяно-болотная) с различной гигроскопической влажностью, кислотностью (рН в H_2O и KCl), полифенолоксидазной и пероксидазной активностью, элементным химическим составом и содержанием гумуса.

Результаты. Далее проводились исследования основных характеристик исходной почвы. Результаты проведенных исследований позволили установить, что наибольшее содержание эссенциальнозначимых элементов и наименьшее содержание тяжелых металлов (Pb, Fe, Cd, Ni) наблюдается для торфяно-болотной почвы. Так же следует отметить, что данный тип почвы обладает достаточно высоким уровнем гигроскопической влаги и полифенолоксидазной и пероксидазной активности. Главный недостаток данного типа почвы – высокая кислотность (рН в H_2O - $\approx 4,45$; рН в KCl - $\approx 7,47$). Из вышеуказанных типов

почв и сортов картофеля формировалось 9 стендов. После полного созревания картофеля производился отбор клубней и последующие исследование их элементного состава.

Сравнительный анализ результатов исследования элементного состава картофеля, выращенного на различных типах почв, указывает на то, что наименьшее содержание тяжелых металлов и наибольшее содержание эссенциальнозначимых элементов наблюдается для сорта картофеля «Журавинка», выращенного на песчаной почве. Самое большое содержание тяжелых металлов наблюдается для сорта картофеля «Скарб». Так же следует отметить, что в элементном химическом составе всех исследуемых образцах картофеля, выращенных на различных типах почв, присутствует Fe в больших количествах $\approx (41,19-103,02)$ мг/кг. Это связано с тем, что большинство земель РБ загрязнено данным тяжелым металлом.

Заключения. Установлено, что клубни сорта картофеля «Журавинка», выращенного на торфяно-болотной почве рекомендуется использовать в пищу, для профилактики полидисмикроэлементозов, поскольку в данном сорте картофеля содержится наибольшее количество эссенциальнозначимых элементов, а концентрации тяжелых металлов находятся в пределах норм ПДК.

Литература

1. Sputnik Беларусь. [Электронный ресурс]. – 2021. - URL: <https://sptnkne.ws/fzjb>: (дата обращения 12.03.2021).
2. Методика проведения исследований элементного состава почв с помощью рентгенофлуоресцентного спектрометра: МВИ.МН 4092-2011 10.04.11 – Гродно: 2011.
3. Определение массовой доли химических элементов в пробах животного и растительного происхождения рентгенофлуоресцентным методом на приборе СЕР-01: МВИ.МН 3272-2009 10.04.09 – г. Минск: 2009.

Kukharensko L.V.¹, Fuchs H.², Goltsev M.V.¹

Atomic force microscopy use in apoptosis investigation

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

²Westfälische Wilhelms-Universität, Münster, Germany

Due to the numerous advantages of atomic force microscopy (AFM), it is now applied to the investigation of surfaces morphology changes of variety of biological cells [1]. Apoptosis or programmed cell death is a process of controlled cell removal in multi-cellular organisms. Recent studies have demonstrated that reactive oxygen species (ROS) play a pivotal role in apoptosis. Although ROS have been implicated in cell death, the exact mechanism(s) are, as yet, unclear. Insulin-producing pancreatic β -cells have been known to be particularly sensitive to oxidative stress (as

pancreatic β -cells have been reported to be deficient in glutathione peroxidase, catalase, and superoxide dismutase relative to other tissues), making these cells useful models to study of oxidative stress-induced apoptosis mechanism(s).

For observations, the β -cells were cultured on polylysin-coated glass slides. For AFM investigations, the β -cells with and without H_2O_2 -treatment (0.5 mM solution) were fixed with 2% glutaraldehyde for 60 min and postfixed with 1% OsO_4 for 30min. The cells were then dehydrated in 30 – 100% ethanol and dried using a critical point dryer. Surface morphology of pancreatic β -cells with and without hydrogen peroxide treatment was investigated by a Nanoscope (R) IIIa MultiMode atomic force microscope. Images were captured in air using tapping-mode AFM.

The cell body without H_2O_2 -treatment extends in range of $\sim 10\ \mu\text{m}$ and its height is about $2.5\ \mu\text{m}$. Zooming in on the cell the globular structure of the plasma membrane was examined. The xy size of the particles was generally between ~ 30 and $100\ \text{nm}$. Damages of the plasma membrane of the β -cells without H_2O_2 -treatment were not observed. Cell shrinkage and cell fragmentation are visualised after the β -cell treatment with H_2O_2 . Treated with H_2O_2 β -cell on glass flattens, its size in height is $\sim 0.5\ \mu\text{m}$. On the cell surface the local membrane convexities are observed. Possibly, fragments of cell organelles are located under these convexities. Most likely, the formation of apoptotic bodies is visualised. The decreasing of scan area allows to observe plasma membrane blebbing originated from H_2O_2 -treatment. The presence of typical features of apoptotic morphological changes of the β -cells treated with H_2O_2 as observed by AFM let us conclude that apoptotic cell death was observed. Previous studies have demonstrated that H_2O_2 , most probably through the generation of ROS, causes an increase in intracellular calcium levels that precedes, if not causes, cell death in wide variety of cell types. There is no clear consensus in the literature indicating the likely mechanism by which H_2O_2 causes an increase in intracellular Ca^{2+} levels. Without doubt mitochondria, which are responsible for the initial calcium response under oxidative stress play major role in apoptosis. Further AFM investigations should be directed for the study of intracellular organelles surface morphology changes, in particular mitochondria under oxidative stress.

References

1. Dufrêne Yves F., Ando T., Garcia R., Alsteens D., Martinez-Martin D., Engel A., Gerber Ch. & Müller D.// Nature Nanotechnology 2017. Vol. 12. P. 295-307.

О применении метода флуоресцентной спектроскопии для определения остаточного количества билирубина в препаратах альбумина

УО «Белорусский государственный технологический университет»,
Минск, Республика Беларусь

Более половины массы белков плазмы крови составляет альбумин. Уникальная способность молекул альбумина связывать гидрофобные низкомолекулярные вещества определяет одну из основных функций этого белка – транспорт эндогенных и экзогенных соединений по кровяному руслу к органам детоксикации и биотрансформации, что является весьма значимым в обеспечении гомеостаза в норме и при патологии. Нарушение этой функции приводит к накоплению токсичных метаболитов и развитию синдрома эндогенной интоксикации [1]. В таких случаях для детоксикационной терапии применяют препараты альбумина с высокой связывающей способностью [2]. Следовательно, эффективность лечения зависит от наличия свободных центров связывания альбумина.

Анализ литературы [3, 4] показал, что среди лекарственных средств и естественных метаболитов наибольшим сродством к альбумину обладает тетрапиррольное соединение билирубин, который представляет собой желчный пигмент, образующийся при распаде гема в печени. Физиологическое значение связывания билирубина обусловлено его низкой растворимостью в водных средах в результате образования внутримолекулярных водородных связей и токсичностью в свободном состоянии [5].

Цель настоящей работы – обоснование выбора метода определения остаточного количества билирубина в препаратах альбумина.

Известно, что образование комплексов между гидрофобными соединениями и альбумином приводит к конформационным перестройкам белковой молекулы. При этом одним из наиболее информативных и высокочувствительных методов для характеристики структурных изменений молекулы белка является флуоресцентная спектроскопия [6, 7]. Наличие остатка триптофана в аминокислотной последовательности альбумина позволяет использовать метод флуоресцентной спектроскопии для исследования взаимодействий низкомолекулярных веществ с белком, в результате которых происходит тушение триптофановой флуоресценции за счет переноса энергии возбужденного состояния на молекулы тушителя со смещением максимума полосы испускания, обусловленным изменением полярности микроокружения триптофанильного остатка [8].

Таким образом, степень чистоты препаратов альбумина для применения в детоксикационной терапии можно оценить на основании изучения взаимодействия билирубина с белком методом флуоресцентной спектроскопии.

Литература

1. Андреева, О. Л. Изменения свойств связывающих центров сывороточного альбумина в оценке состояния организма при патологии : дис. д-ра биол. наук : 03.00.04 / О. Л. Андреева. – Екатеринбург, 2003. – 226 л.
2. Способ получения высокоэффективного человеческого альбумина для применения в детоксикационной терапии : пат. RU 2424822 / М. Коста Рьерола, П. Ристоль Дебарт, Х. И. Хоркера Ньето. – Оpubл. 27.07.2011.
3. Пшенкина, Н. Н. Сывороточный альбумин: структура и транспортная функция / Н. Н. Пшенкина // Биомедицинский журнал Medline.ru. – 2011. – Т. 12. – С. 1067–1091.
4. Ligand binding strategies of human serum albumin: how can the cargo be utilized? / A. Varshney [et al.] // Chirality. – 2010. – Vol. 22, № 1. – P. 77–87.
5. Vitek, L. Bilirubin chemistry and metabolism; harmful and protective aspects / L. Vitek, J. D. Ostrow // Current Pharmaceutical Design. – 2009. – Vol. 15, № 25. – P. 2869–2883.
6. Sharifi, T. Study of conformational changes in serum albumin by binding of chlorfenvinphos using multispectroscopic techniques and molecular dynamic simulation / T. Sharifi, Y. Ghayeb, T. Mohammadi // Monatshefte für Chemie – Chemical Monthly. – 2017. – Vol. 148, № 4. – P. 781–791.
7. The investigation of interaction between thioguanine and human serum albumin by fluorescence and modeling / X. An [et al.] // Arabian Journal of Chemistry. – 2017. – Vol. 10. – P. 1781–1787.
8. Interaction of tetrandrine with human serum albumin: a fluorescence quenching study / C. Wang [et al.] // Analytical Sciences. – 2007. – Vol. 23, № 4. – P. 429–433.

Лазюка Ю.В., Потапенко В.В., Харченко Е.В., Скроцкая О.И.

Использование сахаромитов для биосинтеза наночастиц серебра

Национальный университет пищевых технологий, Киев, Украина

В наше время нанотехнологии нашли свое применение в различных отраслях промышленности, таких как химическая, косметическая, а также в областях энергетики и медицины. Наночастицы серебра (AgNPs) наиболее широко используются в медицине и фармацевтике в качестве биосенсоров, диагностических агентов, агентов адресной доставки лекарств и контролируемого их высвобождения, а также в качестве антимикробных и антираковых средств. Существует множество методов синтеза наночастиц, которые можно разделить на физико-химические и биологические методы. Химический синтез широко распространен, однако биосинтез более перспективный. Так химический метод предусматривает осуществление реакций синтеза под вакуумом или в атмосфере инертного газа, что делает производство наночастиц дороже. Созданные химическим путем AgNPs склонны к агрегации, а наноматериалы, полученные биологическими методами

являются стабильными в течении нескольких месяцев. При биосинтезе наночастиц используются природные реагенты, что делает производство безопасным для окружающей среды и человека.

Цель – получение наночастиц серебра с помощью метаболитов, содержащихся в супернатанте *Saccharomyces cerevisiae* M437.

Материалы и методы исследования. Культивирование *Saccharomyces cerevisiae* M437 осуществлялось на среде YPD (глюкоза – 20 г/л, пептон – 10 г/л, дрожжевой экстракт – 10 г/л) на протяжении 24 ч при 30 °C и перемешивании 320 об/мин. Клетки дрожжей отделяли от супернатанта с помощью центрифугирования (25 минут; 5 тыс. об/мин). Биогенный синтез AgNPs осуществляли в течение 96 ч при 45 °C и статических условиях путем добавления в супернатант раствора нитрата серебра в конечной концентрации 1 мМ. Спектр поглощения измеряли в УФ диапазоне при длине волны 200-600 нм с использованием спектрофотометра (UV-300). Для определения среднего размера синтезированных наночастиц серебра использовали наносайзер (Malvern Zetasizer).

Результаты и выводы. В процессе биосинтеза AgNPs наблюдали изменение окраски исследуемого раствора с желтого на темно-коричневый. Это свидетельствует о поверхностном плазмонном резонансе металлических AgNPs. Измеряя каждые 24 ч спектры поглощения, наблюдали постепенное увеличение интенсивности поглощения без сдвига длины волны при которой наблюдали максимальное поглощение. Таким образом, можно утверждать, что происходит непрерывное снижение ионов серебра, их восстановление и увеличение концентрации AgNPs. На спектре наблюдали характерный пик при 420 нм, что указывает на присутствие металлических наночастиц серебра. Средний диаметр полученных AgNPs составил 134 нм, а дзета-потенциал – -11,7, что свидетельствует о стабильности синтезированных AgNPs. Возможно в реакции бесклеточного синтеза наночастиц серебра принимают участие биологически активные вещества (ферменты, белки, аминокислоты) которые содержатся в супернатанте дрожжей. Они могут выступать как стабилизирующие и восстанавливающие агенты при биосинтезе AgNPs.

Заключение. В дальнейшем необходимо провести исследования по оптимизации биосинтеза наночастиц серебра с использованием штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* M437, что позволит сократить время их получения.

Crystal structure of bismuth ferrite based compounds prepared by sol-gel method

¹Scientific-Practical Materials Research Centre of NAS of Belarus, Minsk, Belarus

²Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

In the last decade, materials belonging to the class of multiferroics have attracted the increased interest of researchers. One of the most famous multiferroics is bismuth ferrite, which has high transition temperatures to the magnetically ordered and ferroelectric state. Doping in the A- position of perovskite lattice allows to modify the ferroelectric subsystem, even though such doping schemes are usually associated with the difficulties in determination of the crystal structure, especially in the vicinity of the phase boundary regions. The system doped $\text{Bi}_{1-x}\text{La}_x\text{FeO}_3$ exhibits a number of structural transitions driven by changes in ion depend concentration.

Experimental. Samples of $\text{Bi}_{1-x}\text{La}_x\text{FeO}_3$ system with concentrations of the dopant ions up to $x = 0.50$, were prepared by the sol-gel method. Structural measurements have been performed using neutron powder diffraction (NPD) measurements were performed using high-resolution neutron powder diffractometer FIREPOD ($\lambda=1.7977\text{\AA}$, E9 instrument, HZB).

Results and discussion. The neutron powder diffraction patterns obtained for the compositions $\text{Bi}_{1-x}\text{La}_x\text{FeO}_3$ ($x \leq 0.15$) at room temperature were successfully refined using the antiferromagnetic rhombohedral model (space group $R3c$). It should be noted that the structural distortions of the indicated compositions suggest an antiphase tilt of the BO_6 oxygen octahedra ($a^-a^-a^-$ in the Glazer notation) and polar displacements of ions along the $[111]_C$ direction of the base cubic cell. It is assumed that the ordering of the magnetic moments of Fe^{3+} ions in the rhombohedral phase is characterized by spatial modulation with a period of $\sim 50\text{-}100\text{ nm}$; a more accurate determination of the modulation period is limited by the resolution of the diffractometer used in the experiment (FirePod, HZB). The magnetic contribution to the neutron diffraction spectrum is described under the assumption of antiferromagnetic ordering of the Fe^{3+} G-type magnetic moments (the calculated magnetic moment is $\sim 3.6\text{ }\mu\text{B}$), the magnetic moments are oriented along the a - parameter of the hexagonal axis. The diffractogram of the $\text{Bi}_{0.82}\text{La}_{0.18}\text{FeO}_3$ composition was refined in the model assuming an orthorhombic structure (space group Pnm), combining the inclination of oxygen octahedra $(a^-a^-c^+)/(a^-a^-c^-)$, similar to the PbZrO_3 composition with antipolar displacements A cations along the $[110/\bar{1}\bar{1}0]_C$ directions of the original perovskite cell. The magnetic moments of iron ions are oriented along the c - axis of the orthorhombic cell and form an antiferromagnetic

G-type structure. For compounds $\text{Bi}_{1-x}\text{La}_x\text{FeO}_3$ ($0.2 < x < 0.5$), neutron powder diffraction patterns showed a pattern that consists of basic reflections of perovskite, completely consistent with an orthorhombic unit cell with the metric $\sqrt{2}a_c \times 2a_c \times \sqrt{2}a_c$, and small superstructural reflections incompatible with any commensurate superstructure.

Conclusion. The neutron diffraction data obtained for the compositions $\text{Bi}_{1-x}\text{La}_x\text{FeO}_3$ ($x \leq 0.15$) at room temperature are characterized by a single-phase antiferromagnetic rhombohedral structure (space group R3c) for the compositions $\text{Bi}_{1-x}\text{La}_x\text{FeO}_3$. The neutron powder diffraction patterns obtained for the compositions $\text{Bi}_{1-x}\text{La}_x\text{FeO}_3$ ($0.2 < x < 0.5$) at room temperature were successfully refined using the orthorhombic model.

This work was supported by the BRFFR (project # T20P-121).

Лещенко В.Г.¹, Минченя Н.Т.², Инсарова Н.И.¹, Шеламова М.А.¹

Устройство для определения твердости отгискных безводных эластомеров

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

²УО «Белорусский национальный технический университет», Минск,
Республика Беларусь

Одной из важных практически характеристик отгискных стоматологических материалов является их твердость после отвердевания.

Измерение твердости таких материалов осуществляется по методу Шора [1]. Но стандартный соответствующий прибор является весьма дефицитным, а потребность современной стоматологии в отборе и проверке предлагаемых материалов велика. Поэтому нами создан прибор, способный заменить стандартный. Индентор, используемый в нашем приборе, идентичен стандартному, применяемому в методе Шора. Особенностью предлагаемой установки является высокая точность измерения глубины проникновения индентора в исследуемый материал при стандартных нагрузках.

Принцип работы измерительной части прибора основан на применении ферромагнитного элемента-вставки, жестко соединенного с индентором. Смещение индентора, и, следовательно, этой вставки от исходного положения контролируют две индукционные катушки, включены в разные плечи измерительного моста переменного тока. Когда вставка находится посередине этих катушек, их индуктивность одинакова и напряжение на выходе измерительного моста равно нулю. При нагружении индентор смещается вниз и вместе с ним смещается и ферромагнитная вставка. Индуктивность нижней катушки повышается, а верхней падает, на выходе прибора появляется напряже-

ние, пропорциональное величине смещения индентора. Проведенная градуировка прибора показала линейную зависимость между напряжением и перемещением индентора, чувствительность установки составила $k = 3$ мВ/мкм. Перемещение h штока нетрудно определить путем деления зарегистрированного напряжения U на чувствительность: $h = U/k$. Твердость образца определяется как отношение приложенной нагрузки к глубине h проникновения индентора.

Указанный прибор был испытан и успешно использован для оценки твердости 5 различных образцов импортных оттисковых материалов.

Литература

1. ГОСТ 263-75 Резина. Метод определения твердости по Шору А.

Литвинова Т.М.¹, Косенко И.А.², Церковский Д.А.², Демина С.А.¹

Оценка влияния моно- и полихимиотерапии на рост экспериментальных опухолей in vivo

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

²РНПЦ Онкологии и медицинский радиологии им. Н.Н. Александрова,
Лесной, Республика Беларусь

При лечении онкологических заболеваний, цитостатики изменяют биохимические реакции в организме пациента, приводя к летальным, сублетальным повреждениям клеток опухоли и развитию токсических осложнений.

Для повышения эффективности монохимиотерапии в последнее время стали использовать полихимиотерапию, включающую несколько препаратов, имеющих одинаковую противоопухолевую активность, но разную токсичность и механизмы действия на молекулярном и клеточном уровнях.

Представляет интерес изучения в эксперименте схем полихимиотерапии на рост опухолевых штаммов для дальнейшего применения их в онкологической клинике. Исследование в этом аспекте – актуально, поскольку может способствовать повышению эффективности лечения новообразований.

Цель работы. Изучить влияние моно- и полихимиотерапии на рост экспериментальных опухолей in vivo.

Материалы и методы. В исследование вошли 85 белых крыс массой 140-150 г с перевитыми по стандартной методике экспериментальными опухолями: 50 особей (1-я группа) с саркомой-45 (Са-45) и 35 (2-я группа) – с лимфосаркомой Плисса (ЛСП). В зависимости от вводимых химиопрепаратов группы были разделены на 5 подгрупп: кон-

трольную и исследуемые, в 3-х крысам вводили один цитостатик, в одной – все три с уменьшением дозы в 2 раза. Каждая подгруппа 1-й группы состояла из 10 особей, 2-й – из 7. Во время эксперимента животные находились в состоянии нейролептаналгезии.

Крысам с Са-45 производили внутривенные инъекции этопозиды (20 мг/кг), цисплатина (5 мг/кг) и винорельбина (2,5 мг/кг). Животным с ЛСП вводили ифосфамид (200 мг/кг), паклитаксел (20 мг/кг) и цисплатин (5 мг/кг).

Для оценки противоопухолевого эффекта рассчитывали объем опухоли по формуле: $V = (a \times b \times c) \pi / 6$, где: a, b, c – линейные размеры опухоли в см, V – объем в см³; среднюю продолжительность жизни (СПЖ) павших животных и процент излеченных животных.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программы STATISTICA 8.

Результаты. Изучение результатов животных 1-й группы показало, что каждый химиопрепарат уменьшал рост Са-45 по сравнению с контролем: этопозид в 12,3 раза, цисплатин – в 6,9, винорельбин – в 6,3, 3 цитостатика – в 13,6 ($p < 0,001$). Эффект этопозиды соответствовал действию 3-х цитостатиков. СПЖ в контроле у крыс с Са-45 составила $48,5 \pm 5,1$ дня, после введения этопозиды – $80,7 \pm 4,3$; винорельбина – $63,5 \pm 4,3$; цисплатина – $65,4 \pm 10,5$; трех цитостатиков – $85,4 \pm 5,1$ ($p < 0,001$). Излеченность опухоли в подгруппах варьировала от 10,0% до 30,0%.

При оценке влияния цитостатиков на рост ЛСП установлено, что цисплатин по сравнению с контролем уменьшал объем опухоли в 1,5 раза, ифосфомида – в 14,3 ($p > 0,00001$). Введение стандартной дозы паклитаксела крысам привело на 3-7 сутки к гибели 6 животных. После 3-х цитостатиков опухоль исчезла на 15-е сутки, но через 2 дня ЛСП появилась и стала расти. СПЖ в контроле составила $20,9 \pm 4,3$ дня, после цисплатина – $21,0 \pm 4,7$, паклитаксела – $18,3 \pm 20,4$, ифосфомида – $33,7 \pm 11,9$; 3-х химиопрепаратов – $18,0 \pm 6,6$ ($p > 0,05$). После введения ифосфомида излеченность животных составила 14,5%, в остальных группах – 0%.

Выводы:

- все цитостатики, используемые в эксперименте обладают способностью угнетать рост Са-45 и ЛСП;
- объем Са-45 максимально уменьшался после введения животным этопозиды и 3-х цитостатиков: винорельбина, цисплатина и этопозиды; рост ЛСП тормозили ифосфамид и 3 цитостатика;

- длительность жизни крыс увеличивалась после введения этопозида и 3-х цитостатиков, а у животных с ЛСП она не изменялась на фоне цисплатина, паклитаксела и ифосфомида.

*Литвинова Т.М.¹, Сиренко С.Н.², Перхова О.А.², Зубарик Н.А.²,
Пранович И.М.¹*

Первый этап пилотного популяционного скрининга рака шейки матки в г. Минске

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

²Минский городской клинический онкологический диспансер, Минск,
Республика Беларусь

Актуальность. Согласно данным «GLOBOCAN-2018» Беларусь по заболеваемости раком шейки матки (РШМ) среди 185 стран занимает 99 место, по смертности – 133. В РБ эти показатели ниже, чем в мире и соответственно равны 11,3 ‰ против 13,1 ‰ и 3,7 ‰ против 6,9 ‰. Однако процент РШМ III-IV стадий в стране растет из года в год и составил в 2018 г. 34,8%, а в г. Минске – 39,6%, что подтверждает необходимость проведения популяционного скрининга, используемого длительное время в развитых странах мира, снизивший заболеваемость РШМ на 78,0%, а смертность – 72,0%.

По данным ВОЗ популяционный скрининг РШМ возможен лишь в случае исследования мазков, взятых с экто- и экзоцервикса, методом жидкостной цитологии с окраской их по Паппаниколау (Пап-тест). В Беларуси до 2017 г. этот метод окраски не использовался. Он был внедрен в клиническую практику МГКОД после приобретения автоматизированного процессора системы «PrepStain BD».

Цель популяционного скрининга – диагностика предраковых заболеваний и РШМ I стадии, что способствует снижению числа заболевших раком II-IV стадий. Использование в г. Минске популяционного скрининга, который ВОЗ позиционирует, как оптимальный, является актуальным, а проведение на I этапе пилотных исследований – целесообразно.

Цель работы. Проанализировать результаты первого этапа 3-летних пилотных исследований популяционного скрининга, выполненного сотрудниками централизованной лаборатории г. Минска, с помощью метода жидкостной цитологии.

Материал и методы. В исследование включены 52 902 женщины, обследованные в 8 поликлиниках в возрасте от 25 до 60 лет. В 25-й поликлинике взяты мазки с шейки матки у 12847 женщин, 3-й – 11616,

32-й – 10354, 37-й – 8976, 29-й – 4728, 23-й – 4282, 18-й – 1466 и 34-й – 1593. Цитощетку после забора мазка помещали в виалу со специальным раствором. Виалы доставляли в централизованную лабораторию. Там окрашивали мазки по методу Паппаниколау с автоматизированного процессора системы «PrepStain BD». После изучения мазков и их оценки по системе Бетесда заключения о мазках, имеющих патологические изменения, отправляли в поликлиники для дополнительного обследования женщин.

Результаты. Врачами были обнаружены изменения в 2960 (5,6%) мазках. Чаще всего встречались койлоциты, свидетельствующие о наличии в шейке матки вируса папилломы человека. Таких мазков было 2056 (3,9%). Предраковые заболевания легкой степени тяжести LSIL диагностированы у 670 (1,3%) человек, тяжелой – 220 (0,42%). Раковые клетки были обнаружены в мазках у 14 (0,026%) женщин. Изменения типа ASCUS, требующие повторного забора материала, имели место у 630 (0,12%) обследованных. Среди обнаруженных патологических изменений чаще всего встречались койлоциты в 69,5% случаев, LSIL – 22,6%, HSIL – 7,4%, раковые клетки – 0,5%. У женщин до 45 лет в мазках из шейки матки были диагностированы в основном койлоциты и LSIL.

Выводы:

- популяционный скрининг с помощью метода жидкостной цитологии позволяет выявлять LSIL в мазках в 3,1 раза чаще, чем HSIL и в 47,9 раз чаще, чем раковые клетки, а изменений типа HSIL обнаружено в 15,7 больше, чем раковых клеток;
- наличие койлоцитов, выявленных у 3,9% обследованных, свидетельствует о необходимости дальнейшего наблюдения за ними;
- проведение пилотного исследования в г. Минске подтвердило эффективность метода жидкостной цитологии для диагностики предраковых заболеваний шейки матки.

*Логвинов И.О., Николаев С.В., Тарасюк А.В., Сазонова Н.М.,
Антипов П.И., Антипова Т.А., Гудашева Т.А.*

Оценка пролиферативной активности дипептидных миметиков 1-й, 2-й и 4-й петель мозгового нейротрофического фактора *in vitro* ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», Москва, Российская Федерация

Мозговой нейротрофический фактор (BDNF) относится к семейству нейротрофинов. Благодаря своей способности увеличивать выживаемость нейронов, нейротрофины рассматриваются как перспективные

нейропротекторные средства. BDNF особенно привлекателен в этом отношении, так как он регулирует развитие нейронов, синаптическую пластичность, нейрогенез и другие важные функции центральной нервной системы, улучшает выживание нейронов. Нарушение физиологической нормы содержания BDNF сопровождается многими нейродегенеративными и психическими заболеваниями. Из литературных данных также известно, что BDNF может способствовать пролиферации и выживанию опухолевых клеток, и вызывать метастазирование путем подавления апоптоза в клетках различных типов. Поэтому исследование влияния BDNF и его миметиков на пролиферацию клеток представляется очень важной задачей. В рамках развития новой группы нейропротекторов с антидепрессивной активностью в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова на основе гипотезы о том, что фармакофорными участками нейротрофинов являются бета-изгибы их шпилькообразных петель, были синтезированы димерные дипептидные миметики 1-й, 2-й и 4-й петли BDNF – ГСБ-214 (гептаметилендиамид бис-моносукцинил-метионил-серина), ГТС-201 (гексаметилендиамид бис-гексаноил-серил-лизина) и ГСБ-106 (гексаметилендиамид бис-моносукцинил-серил-лизина) соответственно.

Цель настоящей работы состояла в оценке пролиферативной активности BDNF и его миметиков для исключения эффекта гиперпролиферации.

Материалы и методы. Проллиферативную активность исследуемых соединений определяли с использованием МТТ-теста. Гиппокампальные нейроны линии НТ-22 инкубировали с ГСБ-214, ГТС-201, ГСБ-106 в диапазоне концентраций 10^{-5} – 10^{-8} М или BDNF (положительный контроль) (50 нг/мл) в течение 48 и 72 часов. Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Краскела-Уоллиса с последующим тестом по Данну (ANOVA).

Результаты. Для оценки пролиферации был выбран МТТ-тест, так как он характеризуется близкой корреляцией между количеством жизнеспособных клеток и содержанием формазана. Метод основан на способности клеточных оксидоредуктаз восстанавливать желтую соль 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ) до формазана, накапливающегося в результате этой реакции в цитоплазме живых клеток. Адекватность данного метода для оценки пролиферации была показана в ряде публикаций, в которых сопоставлялись результаты, полученные с использованием различных методов. Анализ пролиферативной активности показал, что при инкубации с BDNF в конечной концентрации 50 нг/мл в течение 48 или 72 часов показатель жизнеспособности гиппокампальных клеток НТ-22 не отличался

от контрольных значений. Это свидетельствует об отсутствии пролиферативного эффекта BDNF в данных условиях. Аналогичные результаты были получены и для ГСБ-214, ГТС-201 и ГСБ-106 в конечных концентрациях 10^{-5} – 10^{-8} М. Достоверных отличий от контрольных значений выявлено не было через 48 или 72 часа культивирования клеток НТ-22 в присутствии миметиков BDNF.

Заключение. Таким образом, в экспериментах *in vitro* с помощью МТТ-теста установлено, что BDNF и его димерные дипептидные миметики, созданные на основе бета-изгибов его 1-й петли (ГСБ-214), 2-й петли (ГТС-201) и 4-й петли (ГСБ-106), не обладают пролиферативной активностью при инкубации с гиппокаммальными нейронами НТ-22 в интервале времени 48 или 72 часа. Различий в пролиферативном эффекте у изученных дипептидов выявлено не было. Полученные данные свидетельствуют о том, что нейропротекторная активность миметиков BDNF, показанная нами ранее на культуре клеток НТ-22, не связана с активацией пролиферативных процессов.

Логинова О.П., Шевченко Н.И.

Антигены плесневых грибов в диагностике аспергиллеза

ГУ «РНПЦ Радиационной медицины и экологии человека», Гомель,
Республика Беларусь

Онкогематологические пациенты подвергаются наибольшему риску инвазивного аспергиллеза (ИА) при длительной нейтропении вследствие иммуносупрессивной химиотерапии. Основными факторами риска инвазивного аспергиллеза являются цитостатическая полихимиотерапия (98%), длительные агранулоцитоз (91%) и лимфоцитопения (80%). Прогноз заболевания зависит от ранней диагностики, а также своевременной и эффективной терапии. Определение антигенов плесневых грибов в сыроворотке крови способствует ранней диагностике ИА у онкогематологических пациентов. Антигенным маркером грибов рода *Aspergillus spp.* является галактоманнан (ГМ). Галактоманнан - это гетерополисахарид, состоящий из остатков галактозы и маннозы в разных соотношениях. Он высвобождается во время роста мицелия и является главным составляющим клеточных стенок грибов рода *Aspergillus*. Согласно рекомендациям, EORTC/MSG 2008 определение галактоманнанового антигена *Aspergillus spp.* включено в состав микробиологических критериев диагностики ИА.

За последние годы возросло количество пациентов с иммунодефицитами. У 20% таких пациентов развиваются микозы, а среди последних более 70% приходится на аспергиллёз. По данным авторов, у пациен-

тов с онкологическими заболеваниями крови в Санкт-Петербурге инвазивный аспергиллез (ИА) составляет от 60 до 88% от всех инвазивных микозов. В настоящее время диагностика ИА основывается на оценке факторов риска и клинических признаков развития заболевания, а также на результатах лабораторных и инструментальных исследований. Одним из эффективных антигенных маркеров ИА у онкогематологических пациентов является галактоманнан.

Цель исследования: определить галактоманнанный антигена у онкогематологических пациентов для диагностики инвазивного аспергиллеза.

Исследования выполнялись в группе бактериологических исследований лаборатории клеточных технологий ГУ «РНПЦ РМиЭЧ». Для определения галактоманнана использовались наборы для ИФА «Platelia-Aspergillus EIA» («Bio-Rad Laboratories», США). Материалом для исследования служили сыворотка крови и бронхоальвеолярный лаваж. Комплексное определение галактоманнана (ГМ) в сыворотке крови и бронхоальвеолярном лаваже увеличивает чувствительность теста «Platelia Aspergillus EIA» с 65 до 89%. Положительные результаты данного теста коррелировали с позитивными результатами классических микологических исследований в 30% случаев. Пробоподготовку образцов и постановку ИФА проводили согласно инструкции к набору. Учет результатов теста осуществляли спектрофотометрически при длине волны 450 нм (референсный фильтр 620 нм), подсчитывая индекс оптической плотности (ИОП) образцов по отношению к контрольному образцу cut-off, содержащему 1 нг/мл ГМ. Результаты теста считали положительными при ИОП $\geq 0,5$ для сыворотки крови и бронхоальвеолярного лаважа.

В период с 2018 по 2020 гг. исследовано 680 образцов сыворотки крови от 288 пациентов с нейтропенией, пролеченных в отделениях гематологического профиля для взрослых и детей ГУ «РНПЦ РМиЭЧ». В 2018 году исследовано 176 образцов сыворотки крови, в 2019-170, в 2020- 334 соответственно. Определение галактоманнанового антигена проводили в динамике 2 раза в 7 дней. Получены следующие результаты: в 2018г - 32 положительных образца (18,1%), в 2019г - 33 (19,4%), в 2020г -77 (23,05%) соответственно. Значения уровня ГМ колебались в пределах 0,55-8,1(Хср 1,71) в 2018г, от 0,51 до 6,27(Хср 1,70) в 2019г, от 0,51 до 12,9(Хср 1,71) в 2020 году, что являлось диагностически значимым уровнем. Значения ИОП ГМ выше единицы получены в 27 образцах, что составило 19,01%. У 12 (8,45%) пациентов получены положительные результаты ГМ теста в двух и более последовательных образцах и совпали с положительными результатами

ГМ в бронхоальвеолярном лаваже. Назначение противогрибковой терапии сопровождалось значимым снижением уровня ГМ в группе пациентов с исходно повышенными значениями ГМ, что позволяет сделать вывод об информативности теста ГМ для мониторинга эффективности проводимой противогрибковой терапии.

Таким образом, доступность и информативность иммуноферментного метода выявления антигена ГМ является важной составляющей некультуральных методов подтверждения диагноза ИА у онкогематологических пациентов и мониторинга эффективности терапии.

Логинова О.П., Шевченко Н.И.

Кальпротектин – неинвазивный биомаркер воспалительного процесса кишечника

ГУ «РНПЦ Радиационной медицины и экологии человека», Гомель,
Республика Беларусь

В современных условиях в арсенале лаборатории появилось большое число неинвазивных методов, которые позволяют определять биомаркеры не только в сыворотке, но и в фекалиях. Так определение фекального кальпротектина (ФК) является альтернативой проведения колоноскопии. Кальпротектин — белок с молекулярной массой 36 КДа, связывающий кальций и цинк. Содержится в нейтрофильных гранулоцитах, моноцитах и макрофагах, обладает устойчивостью к метаболическому распаду и, благодаря содержащемуся в нем кальцию, - к высокой температуре, действию протеолитических ферментов. Кальпротектин играет в основном защитную роль. Этот биомаркер применяется для дифференциальной диагностики органических заболеваний кишечника, протекающих с воспалительной инфильтрацией, от функциональных заболеваний. Установлено, что его концентрация в кале коррелирует с интенсивностью нейтрофильной инфильтрации слизистой оболочки кишечника.

Установлена высоко значимая роль кальпротектина как маркера нейтрофильного воспаления при заболеваниях желудочно-кишечного тракта и показателя интенсивности воспалительного процесса в кишечнике. Изменения содержания кальпротектина у детей и взрослых обусловлены клинической активностью воспалительных заболеваний кишечника и тесно связаны с объемом поражения толстой кишки. Установлено, что концентрация кальпротектина достигает максимальных значений у пациентов с сочетанным поражением толстой и подвздошной кишки и тотальным поражением желудочно-кишечного тракта. Кальпротектин выделяется в больших количествах с калом

при повреждении слизистой оболочки кишечника, является маркером активности лейкоцитов и воспаления в желудочно-кишечном тракте и может быть обнаружен даже в небольших (менее 1 г) количествах фекалий. Воспалительные заболевания кишечника дают резкий скачок показателя (уровень кальпротектина может быть повышен от 5 до нескольких тысяч раз по сравнению со здоровыми людьми), что свидетельствует о воспалении кишечника. Нормализация показателя указывает на восстановление слизистой и эффективность проводимого лечения.

Цель исследования — оценить уровень фекального кальпротектина, полученный при определении у пациентов с заболеваниями кишечника неуточненной этиологии.

В исследование было включено 97 пациентов, из них 71 с клинической картиной поражения ЖКТ неуточненной этиологии (абдоминальная боль, диспепсия, диарея) и 26 человек не имели каких-либо заболеваний кишечника (контрольная группа). Возраст пациентов — от 18 до 69 лет. Кальпротектин определяли в фекалиях с использованием анализатора LIAISON с хемилюминесцентной детекцией. Проводилась предварительная обработка клинических образцов фекалий с использованием устройства для экстракции кала с пробоотборником жезлового типа. Результаты считались положительными при концентрации кальпротектина ≥ 50 мкг/г. Все исследования выполнялись в лаборатории клеточных технологий ГУ «РНПЦ РМиЭЧ».

По результатам исследования в группе пациентов с клиническими проявлениями уровень кальпротектина ≥ 50 мкг/г получен у 53 (74,6%) пациентов, отрицательный результат отмечен у 18 (25,4%) пациентов. Уровни кальпротектина в образцах с положительным результатом варьировали от 52 до 800 мкг/г. У таких пациентов подтверждено наличие воспалительных заболеваний кишечника. У 18 пациентов с отрицательным результатом имели место функциональные заболевания ЖКТ. В сравнении с контрольной группой пациентов уровень кальпротектина у пациентов с положительным результатом значимо различался. Так в контрольной группе средний уровень его достигал $19,1 \pm 2,64$ мкг/г, а в группе с положительными результатами — $303,6 \pm 36,4$ мкг/г (то есть, в 15,8 раза выше по сравнению с контролем; $p < 0,00019$).

Таким образом, концентрация фекального кальпротектина может служить достоверным критерием для дифференциальной диагностики функциональных и воспалительных заболеваний толстой кишки. В большинстве случаев, отрицательные значения кальпротектина позволяют сократить необходимость проведения инвазивных исследований,

тем самым избавляя большинство людей с синдромом раздраженного кишечника или функциональной патологией от инвазивных инструментальных исследований. Особенно актуально применение определения кальпротектина в педиатрической практике.

Любас Н.М.², Искра Р.Я.², Стадницкая Н.Е.¹, Монька Н.Я.¹,
Гавриляк В.В.¹, Лубенец В.И.¹

Антиоксидантная активность тиосульфатов в опытах *in vitro* и *in vivo*

¹Национальный университет «Львовська политехника», Львов,
Украина

²Институт биологии животных НААН Украины, Львов,
Украина

Обеспечение защиты продукции растительного происхождения (кормов и продуктов питания) от действия микроорганизмов — продуцентов микотоксинов, недопущения образования грибковых биопленок и их обеззараживания является важной химико-биологической проблемой. Хранение растительной продукции зависит от различных факторов: от эффективности хранения, процессов до и после сбора урожая, содержания влаги, температуры, продолжительности хранения [1]. Для надлежащего сохранения продуктов широко применяют синтетические антиоксиданты, в частности, различные производные фенола - 2-трет-бутил-4-гидроксианизол, 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол, пролилгалат и 2 (1,1-диметилэтил) -1,4-бензолдиол. Чрезмерное их использование может сопровождаться цитотоксическим и канцерогенным влиянием на печень, почки и легкие [2]. Многочисленные сульфурсодержащие соединения, содержащиеся в экстракте чеснока и лука, в частности такие как аллицин, алиин, и другие, проявляют антиоксидантную активность для обезвреживания свободных радикалов в реакциях с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразиловым радикалом, 2,2'-азино- бис (3-этилбензо-тиазолин-6-сульфоновой кислоты) диаммониевою солью или Fe (III) в опытах *in vitro* [3].

Целью наших исследований было определение в опытах *in vitro* радикал поглощающего действия близких структурных аналогов природных фитонцидов растений рода *Allium* тиосульфатов и их влияния на антиоксидантную систему защиты в крыс в опытах *in vivo*.

Объектами исследования были S-алкил- (МТС, ЭТС, ПТС) и S-алилтиосульфаты (АТС, ААТС).

Исследование радикал поглощающей активности тиосульфонов показало, что среди пяти представленных соединений наивысшую активность *in vitro* показали АТС, несколько ниже - ААТС и ЭТС. Скармливания животным корма, в который как антиоксиданты добавляли тиосульфаты из расчета 100 мг/кг массы тела в течение 21 суток, положительно сказалось на состоянии свободнорадикальных процессов и показателях антиоксидантной защиты.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о снижении содержания гидропероксидов липидов и ТБК-активных продуктов в плазме крови крыс, потреблявших с кормом масляные растворы АТС и ААТС, а скармливания крысам кормов с добавками антиоксидантов ЭТС, АТС и ААТС приводило к активации их антиоксидантной защиты.

Литература

1. A. Biabani, L. C. Boggs, M. Katozi, and H. Saboury, "Effects of seed deterioration and inoculation with *Mesorhizobium ciceri* on yield and plant performance of chickpea," *Aust. J. Crop Sci.*, 2011, 5(1), 66–70.
2. Yehye, Wageeh A.; Abdul Rahman, Noorsaadah; Ariffin, Azhar; Bee Abd Hamid, Sharifah; Alhadi, Abeer A.; Kadir, Farkaad A.; Yaeghoobi, Marzieh. Understanding the chemistry behind the antioxidant activities of butylated hydroxytoluene (BHT): A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 101, 295-312 doi: 10.1016/j.ejmech.2015.06.026.
3. Jang, H.J.; Lee, H.J.; Yoon, D.K.; Ji, D.S.; Kim, J.H.; Lee, C.H. Antioxidant and antimicrobial activities of fresh garlic and aged garlic by-products extracted with different solvents. *Food Sci. Biotechnol.* 2018, 27, 219–225. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0246-4>.

*Макаревич Д.А.¹, Рябцева Т.В.¹, Ковганко Н.Н.¹, Принькова Т.Ю.¹,
Штемплук Р.Г.²*

Неспецифическая адсорбция ионов плазмы крови иммобилизованными нанокуглеродными лигандами

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

²НП ЗАО «Синта», Минск, Республика Беларусь

В литературе описаны высокие адсорбционные свойства таких углеродных наночастиц как нанокластеры и фуллерены [1]. Иммобилизация углеродных наночастиц поможет создать новый тип адсорбционных материалов и изменить целевые характеристики уже существующих адсорбентов.

Цель работы – исследовать неспецифическую адсорбцию ионов плазмы крови иммобилизованными нанокластерами.

Материалы и методы исследования. Четыре образца нанокластеров детонационного синтеза с модифицированной поверхностью: образец

1 (УДА-ГО-СП); 2 (УДА-СП ξ^+); 3 (УДА-СП); 4 (УДА-ЧОШ). Модификацию поверхности наноалмазов осуществляли различными химическими методами. Образцы различались содержанием активных поверхностных групп (CO_2H , CO_2R , CH_x , C_6H_x , C-N , C=N , C-O-O , OH , CO). В качестве полимерной матрицы применяли полиакриламид. Синтез геля и иммобилизацию в полиакриламидную матрицу проводили классическими методами радикальной полимеризации [2,3]. Для оценки влияния неспецифической адсорбции ионов цельной крови проводили серию экспериментов *in vitro*, в ходе которых кровь однократно (1-2 минуты) пропускали через адсорбент с наноалмазами. Полиакриламидный гель без лиганда использовали в качестве контроля. В крови исследовали K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- . Подсчет сорбционной активности проводили с учетом разведения по формуле, представленной в публикации Shigeto [et al.] [4]. Результаты представляли в виде медианы и процентилей (25%; 75%).

Результаты исследований. После контакта крови с иммобилизованными наноалмазами, сорбция ионов Na составила 19,2(18,4;19,8)% - образец 1, 22,3(21,6;23,2)% - образец 2, 15,1(14,7;15,6)% - образец 3 и 17,4(16,5;18)% - 4 образец, полиакриламидная матрица – 0%. Отмечено более интенсивное влияние на концентрацию сывороточного кальция. Связывание ионов кальция установлено для образца 1 – 83,9(83,4;84,4)%; образца 2 – 82,6(82;83,2) %; образца 3 – 78,7(78,4;79,2)%; образца 4 – 75,7(75,2;76,1) %, для холостого полиакриламидного геля – 74(73,6;74,5)%. Все иммобилизованные алмазы полностью связывают K^+ , эта особенность относится и к полиакриламидной матрице.

Выводы. Образцы УДА-СП (2) и УДА-ЧОШ (1) обладают наименьшей неспецифической адсорбцией ионов, сопоставимой с показателями адсорбции нелигандизованной полиакриламидной матрицы. Ацилирование наноалмазов не изменяет показатели неспецифической адсорбции ионов крови.

Литература

1. Bogatyreva, G. P., Surface modification of diamond film adsorbents for blood plasma cleaning / G. P. Bogatyreva, M. Marinich // Surface Eng. — 2003. — 19, N 1. — P. 65—66.
2. ОФС 1.2.1.0023.15 Электрофорез в полиакриламидном геле / МЗ Российской Федерации, общая фармакопейная статья.
3. Юровский, В.В. Искусственные пептидные и углеводные антигены. Иммобилизация гаптенных и адъювантных (МТП) на полиакриламиде. / В.В. Юровский [и др.]// Биоорганическая химия. — 1986. — Том. 12, №1. — С. 100-105.
4. Shigeto, O. Cytokine adsorptive property of various adsorbents in immunoadsorption columns and a newly developed adsorbent: an *in vitro* study / O. Shigeto [et al.] // Blood Purif. — 2004. — Vol. 22. — P.530-536.

Макаревич Д.А.¹, Рябцева Т.В.¹, Ковганко Н.Н.¹,
Принькова Т.Ю.¹, Штемплук Р.Г.²

Суспендированные и ковалентно связанные наноалмазы в полиакриламидном геле: сравнительный анализ гемосовместимости *in vitro*

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Беларусь

²НП ЗАО «Синта», Минск, Беларусь

Наноразмерность, наличие пористой структуры и высокое содержание различных химических групп на поверхности наноалмазов, делают их весьма привлекательными для иммобилизации в объеме полимерной матрицы и использования в качестве адсорбента. Иммобилизованные наноалмазы можно будет использовать для удаления билирубина и других токсических метаболитов при гемоперфузии и плазмоперфузии. Для этого необходимо оценить биосовместимость наноалмазов, введенных в структуру полиакриламидного гидрогеля.

Цель работы: сравнить гемосовместимость различных образцов наноалмазов: суспендированных в физрастворе и ковалентно связанных с полиакриламидным гелем.

Материал и методы исследования. В исследовании использовали углеродные наночастицы следующих модификаций: УДА-ЧОШ-СП, УДА-СП, УДА-ГО-СП и УДА-СП (тип ζ+). Для получения сополимера и иммобилизации наноалмазов использовали классический метод радикальной полимеризации акриламида с N,N-метиленабисакриламидом [1]. Гемосовместимость определяли по степени гемолиза эритроцитов донорской крови после кратковременного контакта с сополимером или суспензией. Степень гемолиза эритроцитов представляли в процентах относительно гемолиза 100 мкл цельной крови в 100 мкл дистиллированной воды. Гемолиз оценивали по оптической плотности плазмы крови (разведенной в 100 раз) при 540 нм.

Результаты показали достаточно высокую степень гемолиза только в случае суспензии наноалмазов УДА-ЧОШ-СП: 14,24%. Степень гемолиза остальных наноалмазных суспензий было незначительным и составила от 0,5% до 1,8% гемолиза к 60-й минуте инкубации. Повидимому, высокий процент гемолиза в первом случае связан с наличием достаточно большого количества различных примесей в виде окисляемых форм углерода в составе этой марки наноалмазов. Показано, что введение наноалмазов в полиакриламидную матрицу повышает гемосовместимость образцов. Так, после перфузии крови максимальное значение гемолизасоставило лишь 0,48% и отмечалось только

для полиакриламидного гидрогеля без лиганда. Наноалмазы УДА-ГО-СП и УДА-СП показали низкие значения гемолиза: 0,18% и 0,14%.

Выводы. Ковалентное связывание в структуру полиакриламидного геля повышает гемосовместимость образцов наноалмазов. Наиболее перспективными образцами для создания гемосорбентов можно отнести модификации наноалмазов УДА-ГО-СП и УДА-СП.

Литература

1. ОФС 1.2.1.0023.15 Электрофорез в полиакриламидном геле / МЗ Российской Федерации, общая фармакопейная статья.

Малик Н.В.

Особенности течения транзиторных ишемических атак у пациентов с пролапсом митрального клапана в общеклинической практике

Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, Украина

В настоящее время встречаемость пролапса митрального клапана у пациентов с кардиальной патологией и у практически здоровых людей довольно высока. Транзиторные ишемические атаки (ТИА) являются одной из причин возникновения инсульта у лиц молодого возраста, в связи с чем эта проблема является актуальной.

Цель работы: изучить особенности течения и возможные механизмы развития ТИА у пациентов с пролапсом митрального клапана.

Материалы и методы исследования. Использовались клиничко-неврологическое, инструментальные и лабораторные методы исследования.

На протяжении нескольких лет нами наблюдалось 117 пациентов с ТИА. Из них у 26 пациентов (19 женщин, 7 мужчин) в возрасте от 35 до 52 лет была диагностирована впервые выявленная ТИА. У 24% пациентов наблюдалась общемозговая симптоматика в виде головной боли, тошноты, рвоты, синкопальных состояний. Очаговая неврологическая симптоматика в вертебро - базилярном бассейне диагностирована у 18 пациентов, в каротидном бассейне – у 8 пациентов. У 19 пациентов отмечалась боль в области сердца, сердцебиение, нарушение ритма сердца, вегетативные пароксизмы в анамнезе.

На эхокардиографии (ЭхоКГ) у всех 26 пациентов отмечался впервые выявленный пролапс митрального клапана (ПМК) разной степени выраженности. У 7 пациентов ПМК сочетался с нарушениями интракардиальной гемодинамики.

На электрокардиограмме (ЭКГ) у 5 пациентов выявлено замедление проводимости по правой ножке пучка Гиса, у 7 – вертикальное поло-

жение электрической оси сердца, у 6 – синусовая тахикардия, у 3 – нарушение сердечного ритма.

При УЗДГ-исследовании брахиоцефальных сосудов у 6 пациентов выявлено ускорение и асимметрия кровотока по позвоночным артериям с разной степенью стенозирования. Гипертонический тип реоэнцефалограммы (РЭГ) с признаками венозного застоя определялся у 29% пациентов, гипотонический – у 25%, дистонический с нарушением венозного оттока из полости черепа – у 32% пациентов. Офтальмоскопия глазного дна выявила явления ангиоспазма у 25% пациентов, венозный застой и венозное полнокровие у 60% пациентов.

Результаты. Анализ результатов обследования позволил выделить несколько групп пациентов с различными механизмами развития ТИА при ПМК. Первая группа – это больные с нарушением интракардиальной гемодинамики, склонностью к гиперкоагуляции, нарушениями сердечного ритма (7 чел.). Вторая группа – пациенты без нарушения интракардиальной гемодинамики, сердечного ритма и склонностью к гиперкоагуляции (12 чел.). Третья группа – пациенты с нормальными показателями коагулограммы и без нарушения гемодинамики (7 чел.). Наиболее вероятным механизмом развития ТИА в первой группе являлась кардиогенная микроэмболия церебральных сосудов, для второй группы пациентов наиболее вероятным был механизм артерио-артериальной микроэмболии, третья группа пациентов по результатам исследования определялась с невыясненным механизмом развития ТИА.

Выводы. Проведенные исследования показали достаточно высокий удельный вес пролапса митрального клапана в патогенезе ТИА, позволили рекомендовать патогенетическую терапию в зависимости от механизма развития. Таким образом, полученные результаты имеют большое значение для рациональной тактики диспансерного наблюдения лиц с пролапсом митрального клапана в общеклинической практике и профилактики у них ТИА.

Matvyeyeva S.L.

Immunological parameters in tuberculosis patient with diabetes mellitus and autoimmune thyroiditis with subclinical hypothyroidism

Kharkov National Medical University, Kharkov, Ukraine

Diabetes mellitus is a predictor of an unfavorable outcome of anti-tuberculosis chemotherapy, and a 5-fold risk factor for a patient's death from tuberculosis. Diseases of the thyroid gland are found in patients with diabetes mellitus in 11-30%. Hypothyroidism against the background of

autoimmune thyroiditis worsens the outcomes of anti-tuberculosis chemotherapy especially in persons with concomitant diabetes mellitus due to the suppressive effect of thyroid hormone deficiency on T-cell immunity. It seems relevant to study the parameters of immunity in tuberculosis in persons suffering from diabetes mellitus with decreasing of thyroid function.

Objective of the study is to study the parameters of immunity in tuberculosis patients with diabetes mellitus and with subclinical hypothyroidism against the background of autoimmune thyroiditis.

Materials and methods. The study included 60 patients with destructive pulmonary tuberculosis (TB) with concomitant diabetes mellitus (DM), and in 30 of them the comorbid pathology was accompanied by autoimmune thyroiditis with concomitant subclinical hypothyroidism (SH) (observation group – 1 or TB/DM/SH). Comparison consisted of patients with tuberculosis and diabetes mellitus (TB/DM) without changes in thyroid homeostasis. The state of T- and B-systems of immunity, natural killers was assessed: CD3⁺, T-helpers (CD4⁺), cytotoxic T-cells (CD4⁺), B-lymphocytes (CD19⁺) and natural killer cells (CD16⁺). The cytokine profile was determined: the levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interferon- γ (INT- γ), interleukin-2 (IL-2), -6 (IL-6) and -4 (IL-4). Statistical processing of the obtained data was carried out by the method of variation statistics using a standardized package of calculations Microsoft Excel XP.

Results. The study of the immune system reveals deviations in the parameters of cellular immunity in both groups. In the observation group, there was a lower reactivity of leukocytes, a significant decrease in comparison with the control of the levels of mononuclear cells and pan-lymphocytes (CD3⁺). A decrease in the subpopulations of T-helpers (CD4⁺) and cells with killer-suppressive activity (CD8⁺) indicates a deficiency of the cellular component of immunity in patients with comorbid pathology. But a more pronounced change in CD4⁺ subpopulations was observed in patients with tuberculosis and diabetes mellitus in the presence of AIT with SH. In TB patients with DM+AIT, the level of TNF- α is half the values in patients with normal thyroid status. The level of INT- γ was 2.3 times lower in patients with AIT and SH at the background of tuberculosis and diabetes mellitus when compared with patients suffering from tuberculosis and diabetes mellitus maintaining normal thyroid state. The content of IL-2 in the systemic blood flow of TB/DM patients without thyroid pathology remains within the allowed physiological values with a decrease of 2.5 times in TB/DM patients with AIT and SH. The content of IL-6 in TB/DM patients with AIT and SH 2,5 times lower when compared with TB/DM patients without thyroid pathology – relatively and. Level of IL-4 in TB patients with AIT and SH increases compared with the control group. Higher values

of this indicator is observed in persons with AIT and SH compared with the control.

Conclusions: It has been established that in patients with diabetes mellitus, both cellular and humoral immunity is suppressed. But a significantly more significant suppression of immunity was diagnosed in patients with tuberculosis against the background of diabetes mellitus and autoimmune thyroiditis with subclinical hypothyroidism. Deficiency of thyroid hormones is the negative effect of a more significant suppression of immunity in patients with subclinical hypothyroidism.

Матвеенков М.В.

Эффекты снижения метаболической активности некоторых опухолевых линий клеток человека при их культивировании с экстрактами из *Ramalina pollinaria* и *Evernia prunastri*

ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси», Гомель, Республика Беларусь

Скрининг цитотоксических свойств веществ растительного происхождения является актуальным. В качестве примера можно привести обширную программу по созданию библиотеки цитотоксических свойств экстрактов из различных таксономических групп живых организмов, проводимой Национальным институтом рака США (NCI Program for Natural Product Discovery). Множество исследовательских работ находят различные подобного рода свойства у выделенных из лишайниковой биомассы вторичных метаболитов и их комплексов [1]. Тем не менее в вопросе возможного применения лишайников в качестве ресурса биологически активных веществ остается множество открытых проблем. Еще предстоит выяснить влияние факторов среды обитания и их сезонной динамики на качественный и количественный химический состав набора вторичных лишайниковых метаболитов. Найти оптимальные способы их извлечения и при этом количественно определить изменяемость биологических эффектов. Способствовать преодолению этих и многих других проблем может широкий скрининг биологической активности лишайниковых веществ. Целью данной работы была *in vitro* оценка цитотоксической активности экстрактов лишайников *Ramalina pollinaria* и *Evernia prunastri* в отношении трех опухолевых культур клеток: MCF-7, HeP-2C, A-549 при использовании различных методов экстрагирования вторичных метаболитов из лишайниковой биомассы.

Отобранные образцы лишайника высушивались до воздушно-сухого состояния и экстрагировались в аппарате Сокслета. Характеристика

полученных экстрактов следующая: экстракт №1 (растворитель – этанол, экстракция проводилась при $t = 78,3\text{ }^{\circ}\text{C}$); экстракт №2 (растворитель – ацетон, экстракция проводилась при $t = 56,3\text{ }^{\circ}\text{C}$). Для оценки цитотоксического эффекта использовали Опухолевые эпителиальные линии: MCF-7, HeP-2C, A-549. Количественно цитотоксический эффект определяли по изменению метаболической активности клеточных популяций, при внесении экстрактов в питательную среду с помощью МТТ-теста.

Полученные данные говорят о разной степени изменения цитотоксичности различных экстрактов, выделенных из одного и того же вида лишайника. Для ацетонового экстракта из *Evernia prunastri* в отношении линий MCF-7, HeP-2C, A-549 концентрации полуингибирования метаболической активности клеток следующие (IC_{50}): $5,60 \pm 1,14$; $23,90 \pm 6,84$; $32,80 \pm 3,93$ мкг/мл соответственно. Для этанольного экстракта из того же вида: $64,10 \pm 8,22$; $29,50 \pm 1,58$; $90,45 \pm 3,43$ мкг/мл. Аналогичные по способу получения экстракты из вида *Ramalina pollinaria* демонстрировали следующие цитотоксические характеристики (IC_{50}): $49,40 \pm 2,99$; $40,60 \pm 2,16$; $49,90 \pm 4,15$ мкг/мл – для ацетонового; и $58,50 \pm 6,47$; $22,60 \pm 1,38$; $69,40 \pm 4,48$ мкг/мл – для этанольного экстракта. Это может говорить о выходе основных токсических веществ из принятых к исследованию видов лишайников преимущественно при экстракции ацетоном. Согласно критерию цитотоксичности Национального института онкологии США [2] ($IC_{50} < 30$ мкг/мл) ацетоновый экстракт из *Evernia prunastri* токсичен в отношении MCF-7 и HeP-2C, этанольный экстракт – только для HeP-2C. В случае с видом *Ramalina pollinaria* можно признать достаточно токсичным лишь этанольный в отношении HeP-2C. Таким образом, были выявлены выраженные эффекты снижения метаболической активности в отношении двух опухолевых линий. Наиболее активными в данном плане оказались ацетоновые экстракты из *Evernia prunastri*. Вариации количественных характеристик наблюдаемых эффектов зачастую обусловлены видом лишайника и способом экстрагирования. В меньшей степени изменчивость обусловлена воздействием на различные клеточные линии.

Литература

1. Recent Advances in Lichenology: in 2 vol. / ed.: D.K. Upreti [et al.] – New Delhi: Springer, 2015. – Vol. 2. – XV. – 265 p
2. In vitro cytotoxic activity of Thai medicinal plants used traditionally to treat cancer / A. Itharat [et al.] // J. Ethnopharmacol. – 2004. – Vol. 90. – P. 33–38.

Мельникова Я.И.¹, Коктыш И.В.¹, Кулакович О.С.², Маскевич С.А.¹
Изучение сорбционных характеристик молекул иммуноглобулинового типа фолдинга на поверхности нанопленок серебра, покрытых полилизинном

¹Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт физики им. Степанова НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

В современной биотехнологии наночастицы таких металлов как золото и серебро и их многовариантные композиты широко используются как эффективные оптические преобразователи разнообразных биоспецифических взаимодействий. Это обеспечивается сочетанными явлениями плазмонного резонанса, присущего наночастицам, и флуоресценции, свойственной кластерным соединениям биологического происхождения.

Практическое конструирование модельных иммунохимических тест-систем количественного анализа, иммобилизованных на наноструктурированных пленках из серебра является одной из актуальных задач этого направления.

Целью данной работы было изучение сорбционных характеристик молекул иммуноглобулинов на структурированной поверхности нанопленок серебра, покрытых поликатионным полиэлектролитом полилизинном.

Материалы и методы исследования: нитрат серебра; цитрат натрия; поли-L-лизин гидробромид (поли-L-лизин); хлорид натрия; иммуноглобулин, меченый флуоресцеином (IgG-FITC). Эксперименты проводились в прозрачных 96-луночных полистирольных планшетах для иммуноанализа (Greiner, Австрия). Наночастицы серебра фиксировались на модифицированную поверхность лунок полистирольных планшетов методом электростатического осаждения с разным временем экспозиции от 1 до 24 ч. На полученные нанопленки серебра наносился раствор поли-L-лизина в разных концентрациях. Иммобилизация иммуноглобулина, меченого флуоресцеином (IgG-FITC), проводилась в течение 4 часов при +37°C. Для регистрации спектров флуоресценции применялся планшетный ридер CLARIOstarPlus (BMG Labtech, Германия). Статистическая обработка результатов измерений проводилась с помощью пакета программы Statistica.

Результаты. С помощью различных методов электростатического осаждения в варьирующих условиях на поверхности полистирольных планшетов было получено несколько вариантов нанопленок серебра с

различной поверхностной структурой и физико-химическими свойствами. Все нанопленки характеризовались непрерывностью слоя наночастиц серебра, размер которых находился в пределах от 30 до 80 нм. В экспериментах использовали нанопленки AgNP1 и AgNP2.

Анализ сорбции модельного иммуноглобулина на поверхности нанопленки AgNP1, покрытой слоем положительно заряженного поликатиона поли-L-лизин в стандартной концентрации, показал увеличение этого показателя в 2,5 раза по сравнению с сорбцией этого белка на поверхности полистирола, покрытой слоем поли-L-лизина в такой же концентрации, а также в 3,5 раза по сравнению с сорбцией на поверхности полистирола класса high binding (Greiner, Австрия).

Иммобилизация модельного иммуноглобулина на поверхности нанопленки AgNP2, с нанесенным слоем поли-L-лизина в стандартной концентрации, также привела к увеличению количества иммобилизованного белка на твердой фазе в 3,5 раза по сравнению с поверхностью полистирола, покрытой слоем поли-L-лизина в такой же концентрации, а также в 4,5 раза по сравнению с сорбцией на поверхности полистирола класса high binding (Greiner, Австрия).

Выводы. Использование в качестве поверхностного слоя на поверхности пленок из наночастиц серебра положительно заряженного поликатиона поли-L-лизин способствует увеличению иммобилизации белковых молекул иммуноглобулинового типа фолдинга в 3,5-4,5 раза по сравнению с параметрами сорбции белка в условиях классического иммуноанализа. Этот результат может быть использован при разработке иммунохимических тест систем с флуоресцентным методом детекции на наноструктурированных пленках из серебра, а также при создании нанобиосенсоров различной конструкции.

*Minchenko O.H.¹, Tsymbal D.O.¹, Minchenko D.O.^{1,2}, Khita O.O.¹,
Hnatiuk O.S.¹, Krasnytska D.A.¹, Ratushna O.O.¹*

Endoplasmic reticulum stress plays an important role in tumor growth and chemoresistance

¹Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²Bohomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

The endoplasmic reticulum is a dynamic intracellular organelle which is remarkably sensitive to changes in cell homeostasis. Accumulation of unfolded proteins into endoplasmic reticulum leads to stress, the main purpose of which is protection of cells through maintenance of the functional integrity of this intracellular organelle. The unfolded protein response is

understood as an integrated, adaptive biochemical process that is essential for cell homeostasis and absolutely required for maintenance of normal physiological function. Furthermore, the endoplasmic reticulum stress has appeared as a major pathway in renovation of gene expression programs. Numerous data have shown that malignant tumors use the unfolding protein response as well as hypoxia-induced signaling pathways to enhance cancer cell proliferation and suppression of apoptosis under stressful environmental conditions. The rapid growth of solid tumor generates micro-environmental changes in association to hypoxia, nutrient deprivation, and acidosis, which induce cell proliferation and new blood vessels formation mainly through the activation of endoplasmic reticulum stress signalling pathways. Furthermore, the activation of these signalling pathways is important also for cancer progression, particularly the aggressiveness and chemotherapeutic resistance as well as for other types of resistance. In this regard, the unfolded protein response signaling pathways were selected as promising cancer therapy targets because they are responsible for integrated reprogramming of the cell, including remodeling the gene expression programs, which control cell proliferation, survival, and apoptosis. However, more promising target for cancer therapy is ERN1 signaling pathway of the unfolded-protein response: ERN1 endoribonuclease and ERN1 protein kinase pathways. We have shown that inhibition of ERN1 signaling pathway by dominant-negative construct of ERN1 led to strong suppression of angiogenesis and tumor growth *in vivo* in mouse brain after intracranial implantation of U87 glioma cells expressing either the ERN1 dominant negative construct or the empty vector pcDNA. Similar results were obtained on the chorio-allantoic membrane. Moreover, the ERN1 signaling pathway is responsible for regulation of numerous gene expressions through formation of alternative splice variant of transcription factor XBP1. Therefore, this transcription factor controls the expression of endoplasmic reticulum resident chaperones, growth factors and related proteins, transcription factors, cyclins, proapoptotic factors, and many other proteins, because the inhibition ERN1 signaling pathway affects their expression levels. At the same time, we have shown that the ERN1-mediated expression of epiregulin (EREG) is controlled by ERN1 protein kinase and that silencing of XBP1 by specific siRNA did not affect epiregulin expression in glioma cells. Thus, epiregulin may contribute to glioma progression under the control of ERN1 protein kinase through the autocrine proliferation loop mediated by the growth factor through EGFR in U87 glioma cells. The ERN1-mediated control of gene expression through ERN1 protein kinase represents fundamentally new type of the regulation of gene expressions under endoplasmic reticulum stress condition and possibly in un-

stressed cells also. Therefore, the ERN1 knockdown affects the expression of numerous genes related to the regulation of apoptosis, cell proliferation and survival as well as reprograms the hypoxic regulation of most gene expressions. At the same time, inhibition of ERN1 endoribonuclease only has a stronger suppressive effect on tumor growth and decreases the invasiveness as well as increases the sensitivity of cancer cells to chemotherapy.

Conclusion. ERN1 signaling pathway of endoplasmic reticulum stress plays an important role in tumor growth and chemoresistance because its inhibition has a robust suppressive effect on malignant tumor growth and invasiveness as well as enhances the sensitivity of cancer cells to chemotherapy.

Михальчук А.Л.

N-ацилэтаноламины — биогенные агенты поддержания гомеостаза организма человека и животных в норме и восстановления при патологиях и возрастных изменениях

ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Одним из трендов современных исследований в физиологии и фармакологии являются исследования по выяснению роли и функции N-ацилэтаноламинов (N-АЭА) или в более узком аспекте этаноламидов жирных кислот (ЭАЖК) в поддержании гомеостаза организмов человека и животных в норме и при патологиях. Важной частью таких исследований являются исследования по применению N-АЭА/ЭАЖК в качестве защитных, восстановительных и реабилитационных средств. N-АЭА представляют группу амидных производных карбоновых кислот и являются эндо-/экзогенными биорегуляторами (парафармацевтиками) аутокринно-паракринного или клеточно-тканевого уровней, способствующими поддержанию здоровья, ускоряющих выздоровление и улучшающих качество жизни.

Несмотря на большой объём полученных к настоящему времени данных, свидетельствующих о важной роли N-АЭА в поддержании гомеостаза живого организма, несмотря на практическое применение наиболее распространённого N-АЭА – пальмитоилэтаноламида (ПЭА), достигнутый уровень знаний, в частности понимание роли, места и механизма функционирования N-АЭА-сигнальной системы, всё еще остаётся открытым для исследований и обсуждений.

В настоящее время ПЭА получил широкое распространение как парафармацевтик как в качестве индивидуальных препаратов: PEA (*GIHI Chemicals co.*), Pea Pure (*RSG Ltd.*), peaCURE (*JP Russell Science Global*

Ltd.), PEAm (*Epitech Group*), PEaum (*GIHI Chemicals co.*), Palmidrol (*Spofa, Almirall*), Normast (*Epitech, Ergomax*), так и комплексных препаратов с фармакологическими агентами, например, с ибупрофеном – «Advil» (*Pfizer Consumer Mfg.; Advil SpA*), «Motrin» (*Teva Pharmaceuticals; Par Pharmaceutical*), с лютеолином – «Mirica» (*Young nutraceuticals*), с витаминами «PeaPlex» (*JP RSG Ltd.*) с глюкозамином, с куркумином, и др. В США ПЭА позиционируется как «*a diet supplement*» (диетическая добавка), а в Европе как “*food for medical purposes*” (пища медицинского назначения).

При всех перечисленных достоинствах N-АЭА им свойственны и определённые недостатки, в особенности для ЭАЖК и конкретно для ПЭА – обусловленные низкой растворимостью, низкой биодоступностью. Одним из решений этой проблемы стала разработка микронизированных (PEAm) и ультрамикронизированных (PEaum) препаратов. Однако это решение не снимает всех проблем, связанных с практическим применением ПЭА, поэтому в повестке продвижения N-АЭА и ЭАЖК в практику остаются проблемы повышения биодоступности, повышения стабильности, защиты от нецелевой биodeградации и др.

В качестве объектов исследования в решении отмеченных проблем использовались этаноламиды насыщенных карбоновых кислот от низших C2-C5 до высших C12-C20 и их конгенеры с родственными функционализированными аминспиртами: сериолом (2-амино-1,3-пропандиол), трисом (трис(гидроксиметил)аминометан), диэтаноламином и др. В качестве солюбилизаторов ЭАЖК использовались синтетические трёхблочные блоксополимерные поверхностно активные вещества (ПАВы) — плуроники (проксанолы, коллифоры) и/или природные — яичный или соевый лецитины.

Солюбилизация ЭАЖК с яичным лецитином приводит к смеси мульти-/моноламелярных липосомальных препаратов пригодных как для наружного, так и для внутримышечного или внутривнутрибрюшинного введения. Используя метод гидратации тонкой пленки с последующим озвучиванием были получены и изучены ЭАЖК с этаноламином, сериолом, глицином, аланином, β -аланином, γ -аминомасляной кислотой, 5-амино-4-оксопентановой кислотой и др. В настоящее время исследования распространяются на солюбилизацию указанных ЭАЖК блоксополимерными ПАВами (плуроники, проксанолы), что позволяет повысить биодоступность ЭАЖК, снизить биологическую нагрузку на метаболические и выделительные системы организма, а также принимая во внимание уменьшение размера липосом до 10-25 нм распространить медико-биологические исследования на уровень *in vitro* вследствие повышения фотопрозрачности получаемых препаратов.

Разработка препаратов ЭАЖК с плурониками открывает перспективу получения препаратов ЭАЖК пригодных для инъекционных применений.

*Михаленко В.А.¹, Михалёнок П.А.¹, Кохановская Е.Ю.²,
Кохановский А.И.³*

Сравнение экстракции фенольных соединений из растительного сырья разными экстрагентами

¹*Боровлянская гимназия, Боровляны, Республика Беларусь.*

²*УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь*

³*ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь*

Фенольные соединения растений относятся ко вторичным метаболитам. Они играют важную роль в организме растений, выполняя различные физиологические функции.

Изучение метаболизма фенольных соединений имеет как фундаментальный, так и прикладной интерес. Сравнение метаболических путей различных соединений позволяет лучше понимать эволюцию органического мира. Сами же фенольные соединения обладают широким спектром фармакологического действия. На данный момент препараты на основе фенольных соединений природного происхождения широко используются в медицине в качестве антимуtagenных, антиканцерогенных, антиоксидантных, противовоспалительных, тонизирующих, гипотензивных, желчегонных, диуретических, вяжущих, слабительных и других средств. Детальное изучение фенольных соединений растений позволит расширить их применения в косметологической, пищевой и фармацевтической промышленности.

В растениях фенольные соединения встречаются в виде гликозидов и агликонов, что отражается на их разной растворимости в полярных и неполярных растворителях. Фенольные соединения способны реагировать со щелочами с образованием растворимых в воде фенолятов, тем не менее, чаще всего в качестве экстрагента фенольных соединений из растительного сырья используют водно-этанольные растворы.

Цель: сравнить экстракцию фенольных соединений из растительного сырья водой, 50% этанолом и 0,1М NaOH.

Материалы и методы. Сырье растительное кора крушины порошок в фильтр-пакетах, «Лектравы», Украина.

Экстракция в соотношении сырье (г):растворитель (мл) – 1:100. Экстрагенты: дистиллированная вода, 50% этанол и 0,1М NaOH.

Определение концентрации фенольных соединений: к 1 мл экстракта добавляли 1 мл реактива Фолина-Дениса и 8 мл 0,1М NaOH, спектрофотометрия при длине волны 750 нм.

Определение концентрации антрахинонов: к 1 мл экстракта добавляли 9 мл 0,1М NaOH, спектрофотометрия при длине волны 525 нм.

По градуировочным графикам рассчитывали концентрацию фенольных соединений в экстракте в мкмоль эквивалентов фенола/л и антрахинонов в мкмоль эквивалентов эмодина/л.

Результаты и их обсуждение. Средние значения количества экстрагированных веществ на 1 г сырья составили при щелочной экстракции: 55,588 мкмоль эквивалентов фенола и 1,4276 мкмоль эквивалентов эмодина; водной: 6,775 мкмоль эквивалентов фенола и 0,6524 мкмоль эквивалентов эмодина; этанольной: 10,4495 мкмоль эквивалентов фенола и 0,7647 мкмоль эквивалентов эмодина.

В результате экстракции щелочью общее количество экстрагированных фенольных соединений оказалось в 8,2 раза больше, чем при экстракции водой, и в 5,3 больше, чем при экстракции 50% этанолом, в то же время этанолом экстрагировалось в 1,5 больше, чем водой.

Антрахинонов щелочью экстрагировалось в 2,2 раза больше, чем водой и в 1,9 больше, чем 50% этанолом, в то же время этанолом экстрагировалось в 1,2 больше, чем водой.

Выводы. По сравнению с водой и 50% этанолом, наибольшее количество фенольных соединений, в том числе антрахинонов, экстрагируется при помощи 0,1М NaOH.

Моисеева А.А.¹, Присный А.А.^{1,2}, Скворцов В.Н.¹

Влияние применения фторхинолонов на содержание гемоглобина в крови цыплят

¹Белгородский филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук», Белгород, Российская Федерация

²ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, Российская Федерация

В связи с неизбежностью использования антибактериальных препаратов в терапии заболеваний микробной этиологии, является важным тщательное изучение их возможного негативного влияния на организм. Показатели системы крови представляют собой важный диагностический критерий, способный отражать некоторые нарушения со-

стояния гомеостаза в организме, в том числе и после применения противомикробных средств. Так, например, содержание гемоглобина в крови может отражать степень интенсивности реакций обмена кислорода и диоксида углерода в организме.

Учитывая вышеуказанные факторы, нами было изучено воздействие препаратов группы фторхинолонов на содержание гемоглобина в крови цыплят, для чего было сформировано четыре группы, состоящие из петушков суточного возраста кросса «Хайсекс Браун». Группа I – контроль, получала чистую воду, II группе выпаивали с водой ципрофлоксацин в дозе 200 мг/л на протяжении 10 суток, а также по аналогичной схеме применяли офлоксацин в III и норфлоксацин в IV группах. Отбор крови проводили на 1, 3, 5, 7 и 9 сутки после отмены препаратов. Содержание гемоглобина в крови исследовали колориметрически гематиновым методом Сали.

В результате осуществленного исследования было выявлено некоторое супрессивное воздействие препаратов на изучаемый показатель, проявившееся в волнообразном падении содержания гемоглобина на различные сутки опыта. Тем не менее, анализируя полученные результаты, необходимо указать в целом на непродолжительность обнаруженного негативного эффекта после применения ципрофлоксацина, офлоксацина и норфлоксацина. Так, в группе III зафиксировано достоверное падение данных показателя на третьи сутки исследования на 24 %, что продолжалось на пятые и седьмые сутки, но проявилось уже меньшей разницей в значениях в сравнении с результатами контрольной группы. На девятые сутки после отмены офлоксацина, в опытной группе не отмечены достоверные изменения в содержании гемоглобина в крови цыплят. Иной временной диапазон достоверного снижения данных относительно контрольных результатов выявлен в группе II, где содержание гемоглобина в крови цыплят опытной группы на первые сутки после отмены препарата было достоверно ниже контрольных показателей на 16 %, а также на третьи, седьмые и девятые сутки – на 9, 10 и 16 % соответственно. На пятые сутки разница между уровнем гемоглобина в контрольной и опытной группах не зафиксирована. Достоверное падение содержания гемоглобина в крови цыплят группы IV зарегистрировано только на третьи (12 %) и девятые сутки (10 %) после отмены препарата.

Полученные результаты отражают небольшой токсический эффект после применения фторхинолонов, наиболее выраженный во всех группах на третьи сутки исследования. Тем не менее, стоит отметить, что зарегистрированная достоверная процентная разница данных опытной группы в сравнении с контрольной не является высокой, что

позволяет предположить незначительное, маловыраженное влияние применения ципрофлоксацина, офлоксацина и норфлоксацина на содержание гемоглобина в крови у цыплят.

Монька Н.Я., Бобало И.Ю., Комаровская-Порохнявец О.З., Лубенец В.И.

Антимикробная активность некоторых алкилтиосульфанилатов

Национальный университет «Львовська политехника», Львов, Украина

На сегодняшний день одним из самых распространенных заболеваний внутренних органов является пневмония, на долю которой приходится не менее 10% всех госпитализаций, в частности в Украине регистрируется до 800 тыс. случаев пневмоний в год. Учитывая это, актуальным является поиск новых субстанций, на основе которых могут быть разработаны эффективные лекарственные средства для ее терапии. Среди исследуемых штаммов микроорганизмов есть инфекционные возбудители различных видов пневмоний, в частности нозокомиальной пневмонии (грамотрицательные бактерии *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* [1,2], грамположительные бактерии *Staphylococcus aureus*) и пневмонии при иммунодефиците (*Staphylococcus aureus*). Кроме того, среди них есть возбудители гематогенного распространения инфекции из внелегочного очага. В частности, при инфекционном эндокардите в "инъекционных" наркоманов чаще всего таким возбудителем является *Staphylococcus aureus*, а в хирургический практике при абдоминальных операциях - *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* [3].

Исследование фунгибактерицидной активности проводили методом диффузии вещества в агар с использованием бумажных дисков, как способа внесения исследуемого вещества [4]. В качестве тест-микроорганизмов использовано 10 референтных штаммов: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (F-49), *Staphylococcus epidermidis* 191, *Corynebacterium xerosis* NCTC 12078, *Klebsiella pneumoniae* 43, *Bacillus licheniformis* C, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATC 27853 (F-51), *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus lysodeikticus* AC 634, *Candida albicans* ATCC 885-653 с микробной нагрузкой 10^6 КОЕ/мл среды. В опыте использовали питательную среду мясо-пептонный агар (МПА) для бактериальных культур и сусло-агар (СА) для грибов.

Фунгибактерицидное действие исследуемых соединений, вследствие диффузии веществ в агаризованную питательную среду, проявляется в виде зоны ингибирования роста тест-микроорганизма вокруг диска, которая оценивается по стандартной шкале ингибирования роста микроорганизмов.

Объектами исследований были полученные нами тиосульфаты $R-CH_2-C_6H_4-SO_2SAlk$ (1) и $R-C_6H_4-SO_2SAlk$ (2). Для приготовления исходного раствора в концентрации 0,1 г/мл исследуемых соединений использовали ДМСО, поскольку в физиологическом растворе образовывался осадок. Дальнейшие разведения проводили физиологическим раствором. Растворы соответствующих разведений исследуемых веществ вносили на стерильные диски по 20 мкл. Культивирование референтных штаммов микроорганизмов осуществляли при 37°C 24-48 ч.

Результаты опытов иллюстрируют достаточно эффективное воздействие исследуемых эфиров по отношению ко всем штаммов тест-микроорганизмов, однако бактерицидная активность тиосульфата 1 оказалась выше в сравнении с показателями активности тиосульфата 2. Экспериментально установлено, что тиосульфат 1 является эффективным в отношении возбудителя пневмонии *Klebsiella pneumoniae* в концентрации 0,19 мг/мл - наблюдалась зона задержки роста (ЗЗР) 22 мм, в тоже время тиосульфат 2 проявил такой же уровень активности в концентрации 1,56 мг/мл. Культура *Escherichia coli* оказалась более чувствительной к воздействию тиосульфата 1 в концентрации 0,19 мг/мл (ЗЗР= 24 мм).

По результатам проведенных исследований на различных видах микроорганизмов, установлено, что алкилтиосульфанилаты владеют бактерицидными свойствами по отношению к возбудителям пневмонии, поэтому эти соединения вызывают заинтересованность в их дальнейшем изучении и исследовании в контексте разработки эффективных лекарственных средств для терапии пневмоний.

Литература

1. Чеботарь И.В., Бочарова Ю.А., Подопригора И.В., Шагин Д.А. Почему *Klebsiella pneumoniae* становится лидирующим оппортунистическим патогеном. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2020.-22(1).-С.4-19
2. D. Saha, S. Kundu. A Molecular Interaction Map of *Klebsiella pneumoniae* and Its Human Host Reveals Potential Mechanisms of Host Cell Subversion. Front Microbiol.-2021.-V.12.- P.1-16 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.613067>
3. А. В. Лазарева и соавт. *Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология. Болезни и возбудители.-2015.-17(3).-С.170-186
4. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований/ Лабинская А.С. // М.: Медицина, 1972. - С. 84-93.

Количественные взаимоотношения хемокина CXCL8 и его рецептора CXCR1 в крови пациентов с немелкоклеточным раком легкого

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Рак легкого является одним из самых распространенных онкологических заболеваний в мире. В структуре заболеваемости раком легкого большая часть (85%) принадлежит немелкоклеточному раку (НМРЛ), который, в свою очередь, включает в себя несколько гистологических подтипов. Наиболее распространенными являются: аденокарцинома (40% случаев НМРЛ) и плоскоклеточный рак (30%). Симптомы НМРЛ зачастую неспецифичны и проявляются на III-IV стадиях заболевания, что существенно ухудшает прогноз лечения. При этом на сегодняшний день не существует информативных показателей в доступном биоматериале, на основании которых возможно сделать вывод о степени распространенности опухолевого процесса, в особенности, на ранних стадиях заболевания.

Цель. Оценить концентрацию хемокина CXCL8 и его рецептора CXCR1 у пациентов с НМРЛ и взаимосвязь их уровня со стадиями заболевания и дескрипторами опухоли для определения целесообразности рассмотрения их в качестве потенциальных биомаркеров НМРЛ.

Материалы и методы. Материалом служила кровь 109 пациентов с плоскоклеточным раком легкого (ПКРЛ), 94 пациента с аденокарциномой (АК), 13 человек с гамартомой легкого и 40 здоровых людей. Концентрацию CXCL8 в сыворотке крови определяли методом ИФА. Долю клеток, несущих рецептор CXCR1 и его количество на клеточных мембранах измеряли методом проточной цитометрии. Статистическую обработку данных проводили с помощью программного пакета SPSS Statistics 23. Рассчитывались медиана и интерквартильный размах (25% - 75%). Для оценки различий между двумя независимыми группами применяли U-критерий Манна-Уитни. О взаимосвязи между показателями и дескрипторами опухоли судили на основании расчета коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r).

Результаты. Уровень CXCL8 в сыворотке крови и его рецептора CXCR1 в клетках крови был существенно выше такового здоровых людей и пациентов с доброкачественной опухолью легкого – гамартомой. Доля лимфоцитов, несущих CXCR1, и плотность их расположения на мембранах гранулоцитов возросла уже на I стадии АК и ПКРЛ. На поздних стадиях отмечено еще более выраженное увеличе-

ние этих показателей ($p < 0,05$). Обнаружена их коррелятивная связь средней силы со стадиями АК ($r = 0,558$; $0,662$ соответственно) и ПКРЛ ($r = 0,524$; $0,526$ соответственно), превышающая таковую маркера CYFRA 21-1, использующегося в настоящее время. Вместе с этим, плотность расположения CXCR1 в гранулоцитах увеличивалась с ростом размера опухоли при ПКРЛ и с регионарным и отдаленным метастазированием опухоли вне зависимости от гистологического типа НМРЛ. Доля лимфоцитов с CXCR1 была увеличена у пациентов с большим размером ПКРЛ и меньшей степенью его дифференцировки, а также наличием регионарных и отдаленных метастазов АК. Плотность расположения CXCR1 на лимфоцитах была увеличена у пациентов с размером АК более 5 см и наличием ее отдаленных метастазов ($p < 0,05$). Отмечено также возрастание этого показателя у пациентов с низкой степени дифференцировки клеток АК. Коэффициенты корреляции уровня анализируемых показателей с дескрипторами опухоли указывали на связь слабой или средней силы с дескрипторами АК и ПКРЛ несколько превышали таковые CYFRA 21-1.

Заключение. Существенные изменения показателей и наличие коррелятивной связи их с характеристиками опухоли свидетельствуют о целесообразности оценки их диагностической ценности и ее сравнения с таковой у используемых опухолевых маркеров. Кроме того, результаты проведенного исследования свидетельствуют об однотипности изменения уровня определяемых показателей у пациентов с НМРЛ разных гистологических типов, что определяет возможность дальнейшего определения их диагностической ценности в общей группе пациентов с НМРЛ.

Мусская О.Н., Крутько В.К., Кулак А.И.

Твердеющие композиции на основе фосфатов кальция и магния для 3D-печати костнозамещающих биоматериалов

ГНУ «Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси»,
Минск, Республика Беларусь

В последние годы отмечается значительный интерес в области 3D-печати имплантатов со сложной формой и структурой, повторяющей индивидуальные особенности замещаемых тканей и органов. Такой персонализированный подход обеспечивает сокращение сроков реабилитации пациентов, что является особенно актуальным в случае протекания сопутствующих заболеваний.

При разработке биоматериалов перспективно использовать компоненты, которые входят в состав утраченных тканей. В связи с этим фос-

фаты кальция, являющиеся основными неорганическими соединениями твердых тканей, широко используются при создании костнозамещающих биоматериалов. Для регулирования свойств таких материалов в их состав можно дополнительно вводить биосовместимые соединения магния, влияющие на структурно-фазовые превращения фосфатов кальция.

Целью данной работы являлась разработка твердеющих композиций на основе фосфатов кальция и магния, пригодных для 3D-печати костнозамещающих биоматериалов.

Твердеющие композиции получали путем смешивания порошков фосфатов кальция и магния с затворяющей жидкостью (концентрированной суспензией гидроксиапатита (ГА) либо ее смеси с полимерными связующими – поливиниловым спиртом (ПВС), поливинилпирролидоном (ПВП)). В качестве порошков использовали аморфизированный фосфат кальция, средний фосфат магния и аммонийзамещенный фосфат магния. Соотношение твердых компонентов к затворяющей жидкости варьировали в диапазоне 1:(2,2–2,7). Содержание фосфатов магния в образцах после затвердевания составляло 5–20%.

Фазовый состав твердеющих композиций определяли рентгенофазовым анализом на дифрактометре ДРОН-3 с медным анодом (длина волны $K\alpha_1$ составляет 1,5405 Å). Дифференциальный термический анализ образцов после затвердевания проводили в воздушной атмосфере на совмещенном термическом анализаторе NETZSCH STA 409 PC LUXX. Оценку биологической активности твердеющих композиций проводили путем их выдерживания в течение 2–4 недель в модельной жидкости организма (simulated body fluid – SBF), ионный состав которой соответствует плазме крови.

Полученные композиции характеризуются временем схватывания от 1 до 50 мин, экструдированы через сопла с диаметром 1,5 мм и сохраняют форму после затвердевания. Статическая прочность полученных образцов после затвердевания составляет от 0,2 до 4 МПа. В процессе дегидратации наблюдается объемная усадка образцов 10–40%, что сопровождается потерей массы от 15 до 60%.

Характерно, что введение фосфатов магния в состав композиций повышает прочность образцов после затвердевания, не оказывая при этом заметного влияния на их фазовый состав. Повышение количества твердых компонентов по отношению к затворяющей жидкости порошка (соотношение 1:2,2) приводит к получению очень вязких систем, которые плохо экструдированы. Наличие ПВС и ПВП (5–18% в пересчете на сухие вещества) в составе композиций способствует повышению их пластичности и прочности после затвердевания в 1,5–2

раза по сравнению с аналогичными образцами, не содержащими полимер.

С целью получения керамических материалов можно проводить спекание образцов после затвердевания. Установлено, что высокотемпературная обработка до 1000°C приводит к удалению кристаллогидратной воды и полимерных связующих, а также структурно-фазовым превращениям фосфатов кальция и магния с образованием пирофосфата магния и смешанных кальций-магниевых солей.

Выдерживание в растворе SBF образцов, полученных после затвердевания кальцийфосфатных пластичных композиций с небольшим содержанием фосфатов магния (до 5%), приводит образованию биомиметического апатитового слоя. Наличие полимерных связующих, а также повышение содержания магнийфосфатных компонентов до 20% способствует протеканию конкурирующих процессов, связанных с постепенной резорбцией образцов.

Таким образом, композиции на основе геля ГА в сочетании с полимерными связующими (ПВС, ПВП) и порошками фосфатов кальция и магния могут быть успешно использованы при экструзионном методе получения трехмерных каркасов либо керамических материалов на их основе и перспективны в качестве костнозамещающих биоматериалов.

Мухарлямова А.З., Тремасова А.М., Фицев И.М.

Защитное влияние витамина А при воздействии на организм афлатоксинов

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», Казань, Российская Федерация

Состояние здоровья и особенности питания имеют тесную взаимосвязь. С недавних пор питание является не только источником энергии, но и средством, которое необходимо для нормального функционирования организма и профилактики различных заболеваний. С этой точки зрения ученые и практики уделяют особое внимание витаминам. В общем ряду витаминов самым значимым с практической стороны можно считать витамин А. В организме витамин А выполняет множество функций: он участвует в синтезе родопсина и порфиросина, синтезе гликопротеинов, экспрессии гормонов, плацентарном развитии плода, сперматогенезе, ремоделировании костной ткани, стимуляции дифференцирования миелоидных клеток в гранулоциты, выработки транскляминазы и т.д. Ретинол воздействует на иммунную систему, повышает устойчивость организма к инфекционным и инвазионным заболеваниям. Содержание витамина А непосредствен-

но влияет на возможность организма синтезировать лизоцим (противовирусное вещество).

Одним из основных источников негативного воздействия на организм человека и животных являются микотоксины - токсические продукты жизнедеятельности микроскопических плесневых грибов. Среди них особое внимание уделяется афлатоксинам продуцируемым грибами рода *Aspergillus*. Они обладают канцерогенным, мутагенным и тератогенным действием, аккумулируются в органах и тканях организма. Поражения животных и человека афлатоксинами и микроскопическими грибами рода *Aspergillus*, продуцирующими их, называется афлатоксикозом. На токсичность афлатоксинов влияют различные факторы, к которым относят и витамины. Таким образом, целью данных исследований является определение влияния витамина А на токсические свойства афлатоксина В1.

Материалы и методы исследования. Настоящие исследования проводили на кроликах породы «Шиншилла», разделенных на три группы по 6 голов в каждой, 1-контрольная, 2-опытная с добавлением в корм афлатоксина В1 (75 мкг/кг), 3- опытная с добавлением в корм афлатоксина В1 (75 мкг/кг) и ретинола ацетата (1500 МЕ). Эффективность от применения ретинола оценивали по данным морфо-биохимических исследований крови. Содержание эритроцитов, лейкоцитов, общего гемоглобина определяли по общепринятым методикам на автоматическом гематологическом анализаторе Mythic 22. Количество общего белка - рефрактометрически, количественное соотношение белковых фракций – нефелометрически. Активность аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) определяли на анализаторе EXPRESS PLUS. Остаточные количества афлатоксина определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентным детектированием.

Результаты. Исследования показали наличие клинических признаков афлатоксикоза у животных, потреблявших корм, загрязненный токсином, а также изменения в картине крови. Так, уровень эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина был ниже группы контроля на 24,3; 17,5 и 17,2% соответственно. Содержание общего белка и альбуминов в крови животных первой группы снизилось на 26,0 и 15,3%; активность АСТ и АЛТ была повышена на 8,4 и 35,8% соответственно. Отмечено снижение уровня глюкозы на 18,4%. При этом отмечено, что изменения исследуемых показателей в крови животных третьей группы были менее выражены. Что подтверждает защитные свойства витамина А при воздействии афлатоксина. Так, уровень эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина был ниже группы контроля на 18,5; 14,7 и

9,4% соответственно. Количество общего белка и альбуминов снизилось на 20,8 и 9,0%, активность АСТ и АЛТ была повышена на 3,5 и 21,3%. Уровень глюкозы был ниже на 8,2%. Следует отметить, что уровень афлатоксина в организме после применения ретинола ацетата понизился на 12,8%.

Заключение. В ходе проведенных исследований установлено, что афлатоксин В1 негативно влияет на организм кроликов приводя к значительным нарушениям морфо-биохимических показателей крови. Однако введение в рацион витамина А способствует снижению негативного действия, вызванного употреблением кроликами корма, загрязненного афлатоксином. Механизм смягчения негативных последствий афлатоксикоза связан с нейтрализацией влияния окислительных процессов, вызванных данным токсином, благодаря антиоксидантным свойствам витамина А. Таким образом, результаты опыта свидетельствуют о защитном действии витамина А при воздействии афлатоксина.

*Николаев С.В., Колясникова К.Н., Логвинов И.О., Кузнецова Е.А.,
Антипова Т.А.*

Нейропротекторное антигипоксическое действие циклопролилглицина и замещенных глипролинов на модели химической гипоксии в культуре гиппокампальных клеток линии НТ-22

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Российская Федерация

Гипоксия — это патологическое состояние, которое возникает при воздействии различных внешних и внутренних факторов, в том числе при критических состояниях, связанных с болезнью или повреждением органов и тканей. Дефицит кислорода оказывает влияние на все органы и ткани организма, но наиболее чувствительным к гипоксии является головной мозг. Гипоксия мозга наблюдается при различных болезнях: церебральном атеросклерозе, дисциркуляторной энцефалопатии, гипертонической болезни, ишемической болезни сердца, инфаркте миокарда, сахарном диабете и т.д. Хроническая гипоксия головного мозга вызывает прогрессирующее ухудшение памяти, нарушение внимания, плохое усвоение новой информации, депрессивные состояния и другие психические расстройства. Острая гипоксия мозга может приводить к гибели нейронов (инсульту). Наибольшую перспективу при лечении гипоксии представляют собственно антигипоксанты, которые нормализуют энергетический метаболизм клеток,

подвергшихся ишемии и обеспечивают сохранение клеточного гомеостаза.

Целью данной работы стало исследование антигипоксического действия ряда пептидных аналогов циклопролилглицина – эндогенного прообраза пираретама – и ряда его пептидных аналогов, для которых ранее было показано нейропротекторное действие на модели окислительного повреждения нейрональных клеток.

Материалы и методы. Клетки HT-22 культивировали при температуре 37 °C, 5% CO₂ в среде ДМЕМ, содержащей 5% эмбриональной телячьей сыворотки, 2 mM L-глутамин. Клетки HT-22 рассеивали на 96-луночные планшеты, покрытые поли-D-лизин, с плотностью 1,5 тыс. клеток на лунку. Через 48 часов вносили хлорид кобальта в конечной концентрации 300 mM. Спустя 24 часа среду заменяли на обычную. Исследуемые соединения вносили в диапазоне концентраций 10⁻⁵ – 10⁻⁸ M за 24 часа до хлорида кобальта и сразу после смены среды. Спустя 24 часа после смены среды исследовали жизнеспособность клеток с использованием МТТ-теста. Среду культивирования заменяли раствором МТТ (0,5 мг/мл) и инкубировали 30 мин. Кристаллы формазана растворяли в диметилсульфоксиде. Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Краскела-Уоллиса с последующим тестом по Данну (ANOVA). Данные считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты. Хлорид кобальта вызывает достоверную ($p \leq 0.05$) гибель клеток линии HT-22 (по результатам МТТ-теста на 50 – 60% по сравнению с контролем). L-циклопролилглицин оказывал нейропротекторное действие только при внесении за 24 ч до повреждения в концентрации 10⁻⁵ M ($p \leq 0.05$). ГЗК-121 (этиловый эфир N-фенилацетил-глицил-D-пролина) не оказывал защитного действия ни в одной схеме внесения. Этиловый эфир N-фенилпропионил-глицил-L-пролина (ГЗК-45) проявлял нейропротекторный эффект в обеих схемах эксперимента во всём диапазоне исследуемых концентраций, амид N-фенилпропионилглицил-L-пролина (ГЗК-50) – только при внесении после смены среды диапазоне концентраций 10⁻⁵ – 10⁻⁸ M ($p \leq 0.05$).

Заключение. В экспериментах *in vitro* цикло-L-пролилглицин, ГЗК-45 и ГЗК-50 на модели химической гипоксии в культуре клеток гиппокампа мыши линии HT-22 обладали антигипоксическим действием. ГЗК-121 не проявлял антигипоксических свойств. Такое разное действие аналогов ЦПГ на моделях химической гипоксии *in vitro* связано, возможно, с особенностями их химической структуры и разными мол-

кулярными механизмами защиты клетки, которые они могут активировать.

Никоненко Н.А., Иванов А.А.

Анализ ИК спектров водорастворимых эфиров целлюлозы с применением математических методов обработки спектральных данных

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Целлюлоза и ее производные широко используются в медицине и в фармацевтике для создания разнообразных лекарственных средств. При исследовании структуры производных целлюлозы наиболее информативными являются методы спектрального анализа, в частности, метод инфракрасной (ИК) спектроскопии. ИК спектры полисахаридов состоят из большого числа близкорасположенных перекрывающихся полос, в результате этого число видимых максимумов поглощения в спектре значительно меньше истинного количества частот нормальных колебаний. Данный факт существенно затрудняет проведение детальной интерпретации спектров этих соединений. Применение математических методов обработки спектральной информации позволяет выделять ранее неразрешенные полосы в спектрах сложных соединений и извлекать более детальную информацию об их структуре и конформационных изменениях.

Целью данной работы являлось изучение ИК спектров водорастворимых эфиров целлюлозы с различными видами заместителей (метил-, карбоксиметил-, гидроксиэтил- и карбоксиметилгидроксиэтилцеллюлоза) с применением математических методов обработки спектральных данных (деконволюции и численного дифференцирования) для установления характерных спектральных различий исследуемых соединений.

Результаты. В результате применения математических методов получены тонкоструктурные экспериментальные ИК спектры водорастворимых эфиров целлюлозы, выявлены новые, ранее не разрешенные компоненты. Проведен сравнительный анализ обычных и тонкоструктурных спектров данных соединений.

Обнаружено расщепление полос поглощения, связанное с введением в полимерную цепь целлюлозы объемных заместителей. Так, в спектральном диапазоне $970\text{--}800\text{ см}^{-1}$ все исследуемые производные целлюлозы характеризуются значительным увеличением числа полос поглощения по сравнению с природной целлюлозой. Появление новых

полос может быть главным образом обусловлено колебаниями атомных групп заместителей.

Проведен анализ ИК спектров водных растворов и пленок эфиров целлюлозы (метил-, гидроксипропил-, карбоксиметилцеллюлоза). На основе применения математических методов улучшения разрешения установлено, что в метилцеллюлозе преобладают внутримолекулярные водородные связи, тогда как гидроксипропил- и карбоксиметилцеллюлоза характеризуются широким набором внутри- и межмолекулярных водородных связей.

В ИК спектрах исследуемых эфиров целлюлозы выделена тонкая структура сложной полосы поглощения, обусловленной валентными колебаниями связей С-О. Показано, что растворение производных целлюлозы в воде приводит к изменению числа и относительных интенсивностей индивидуальных составляющих сложных полос поглощения в их спектрах, что свидетельствует об изменении конформаций этих соединений.

Сопоставительный анализ тонкоструктурных ИК спектров эфиров целлюлозы свидетельствует, что наиболее перспективным для проведения конформационного анализа объемных боковых заместителей молекул исследуемых эфиров целлюлозы является спектральный интервал $970-800\text{ см}^{-1}$.

Заключение. Полученные результаты могут быть использованы для более детальной интерпретации ИК спектров водорастворимых эфиров целлюлозы. Установленные в работе спектральные характеристики производных целлюлозы имеют практическое значение для анализа их структурных модификаций с целью создания новых соединений медицинского назначения.

Новаковская С.А., Арчакова Л.И.

Реорганизация ультраструктуры печени при хронической алкогольной интоксикации в эксперименте

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Гепатотоксическое действие этанола находится в прямой зависимости от концентрации в крови ацетальдегида. Метаболит этанола усиливает процессы перекисного окисления липидов, образует соединения с белками и ферментами, что способствует нарушению функции фосфолипидных клеточных мембран, уменьшению активности митохондриальных ферментов, разобщению процессов окисления и фосфори-

лирования, снижению синтеза аденозинтрифосфата, усилению синтеза цитокинов и другим метаболическим нарушениям в клетке.

Целью исследований явилось изучение структурной организации клеток печени и синусоидных капилляров при хронической алкогольной интоксикации в эксперименте.

Материал и методы исследования. Объектом исследования являлась паренхима печени лабораторных крыс линии Вистар. Модель хронического алкогольного поражения печени воспроизводили путем применения методики принудительной алкоголизации крыс, основанной на предоставлении животным в качестве единственного источника жидкости 15% раствора этанола в течение 40 суток. В работе использован электронно-микроскопический метод исследования. Срезы готовили на ультрамикротоме РТРС PowerTome (RMC Bockeler, США) и просматривали в электронном микроскопе JEM-100B (Jeol, Япония).

Результаты исследований. Исследования биоптатов печени выявили характерные изменения ультраструктурной организации органа, наблюдаемые при алкогольной интоксикации. Структурные перестройки затрагивают ядерный аппарат гепатоцитов, а также компартменты цитоплазмы клеток – митохондрии, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи. Отмечается умеренное компенсаторное повышение синтетической функции печеночных клеток за счет эухроматизации ядер, увеличения количества и размеров ядрышек и их примембранной локализации. Митохондриальный аппарат гепатоцитов отличается полиморфизмом. Выявляются органеллы с плотным конденсированным матриксом и слабо выраженными кристами, что свидетельствует об угнетении их функциональной активности. Характерно присутствие гигантских электронноплотных митохондрий и набухших органелл с просветленным матриксом, частично или полностью разрушенными кристами. Выявление гранулярного эндоплазматического ретикулума с обилием рибосом, расширенных элементов гладкой эндоплазматической сети и гипертрофированного комплекса Гольджи свидетельствует об интенсификации метаболических процессов в гепатоцитах, направленных на нейтрализацию метаболитов этанола. В цитоплазме клеток в области митохондриальных скоплений отмечаются многочисленные электронноплотные гранулы гликогена. Здесь же выявляются фибриллярные включения, имеющие характерную гранулярную или агранулярную структуру, которые интерпретируются как алкогольный гиалин, или тельца Маллори. Характерным признаком токсического поражения печени является ее жировая дистрофия. Выявляются печеночные клетки с многочисленными околоядерными липидными включениями. В перисинусоидальных про-

странствах синусоидных капилляров печени отмечаются активированные перисинусоидальные липоциты, содержащие крупные липидные капли. Часть клеток имеет вытянутую фибробластоподобную форму, крупное гетерохромное ядро, вокруг которого концентрируются комплекс Гольджи, многочисленные цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума, единичные митохондрии, лизосомы, вакуоли. Данные клетки обладают высокой синтетической активностью. В областях их локализации наблюдается расширение перисинусоидальных пространств и разрастание коллагеновых волокон. Активируются звездчатые макрофаги, сосредоточенные в стенке синусоидных капилляров печени. Выявление в цитоплазматическом пространстве данных клеток объемных лизосом указывает на интенсификацию фагоцитарных реакций в стенке капилляров печени и об активизации иммунных процессов.

Заключение. Электронно-микроскопическое исследование биоптатов печени показало, что длительное поступление этанола в организм экспериментальных крыс способствует развитию хронического алкогольного поражения печени. Присутствие в цитоплазме гепатоцитов алкогольного гиалина, жировая дистрофия клеток указывает на токсическое поражение органа. Выявление в расширенных синусоидных капиллярах печени звездчатых клеток в состоянии фиброгенной трансформации свидетельствует об активации процессов фиброобразования. Коллагенизация перисинусоидальных пространств приводит к нарушению метаболических процессов в клетках печени и их дисфункции.

Новаковская С.А., Арчакова Л.И.

Структурные особенности ремоделирования миокарда при сахарном диабете и ишемии в эксперименте

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Сахарный диабет (СД) является одним из основных факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. К основным причинам смерти больных СД относят ишемическую болезнь сердца, при которой наблюдаются органные осложнения, тяжелые поражения сердца и сосудов вследствие развития специфических для диабета микро- и макроангиопатий, метаболических нарушений, диабетической автономной нейропатии. СД способствует развитию коронарного атеросклероза, который протекает на фоне диабетического поражения миокарда – диабетической кардиомиопатии. Неблагоприятный прогноз

заболевания связан с прогрессированием миокардиальной ишемии, повторными инфарктами миокарда, развитием застойной сердечной недостаточности.

Целью исследований явилось изучение ультраструктурных изменений миокарда при ишемическом и диабетическом поражении сердца в эксперименте.

Материал и методы исследования. Объектом исследования являлся миокард левого желудочка сердца лабораторных крыс линии Вистар. Модель экспериментального СД формировали путем однократного внутрибрюшинного введения стрептозотоцина (Sigma, США) в дозе 60 мг/кг. Для изучения диабетического и ишемического поражения миокарда экспериментальным животным с 60-ти суточным СД за две недели до окончания эксперимента двукратно подкожно вводился изопротеренол в дозе 80 мг/кг с интервалом 24 ч. В работе использован электронно-микроскопический метод исследования. Срезы готовили на ультрамикротоме RTPC PowerTome (RMC Bockeler, США) и просматривали в электронном микроскопе JEM-100B (Jeol, Япония).

Результаты исследований. Электронно-микроскопическими исследованиями показана динамика развития морфо-функциональных изменений в структурных компонентах миокарда и сосудах микроциркуляторного русла при сочетанном ишемическом и диабетическом поражении сердца. Ишемия миокарда на фоне развившегося СД усиливает ремоделирование сердечной мышцы и формирование микроангиопатий на фоне прогрессирования атеросклеротических процессов. Нарушение структурной организации сердечной мышцы, феномен «disarray», появление волнообразно деформированных мышечных волокон и зон пересокращения кардиомиоцитов (КМЦ) указывают на угнетение сократительной функции миокарда. Выявление очагов миоцитолита, разрушения сердечных миоцитов, их вставочных дисков вплоть до исчезновения поперечной исчерченности сократительных волокон свидетельствует о прогрессировании деструктивных процессов в сердечной мышце. Мишенью повреждающего действия факторов, вызывающих диабетическое и ишемическое повреждение миокарда, является митохондриальный аппарат КМЦ. Характерно появление популяций митохондрий с частично и полностью разрушенным матриксом, а также органелл с поврежденными наружными мембранами, подвергающихся распаду с формированием миелоноподобных структур. Отдельные митохондрии принимают вид вакуолей, заполненных бесструктурной субстанцией. Выявление объемных лизосом в местах распада митохондрий свидетельствует об активации в миокарде процессов аутофагии.

Сочетание метаболических факторов СД и ишемии ускоряет развитие атеросклероза, который служит морфологической основой ишемической болезни сердца. Прогрессирование эндотелиальной дисфункции сопровождается утолщением и уплотнением стенок сосудов микроциркуляторного русла миокарда вследствие их гиалиноза, фиброза и диффузной липидной инфильтрации. Выявление спавшихся сосудов с истонченными и полностью разрушенными стенками свидетельствует о микроциркуляторной недостаточности сердечной мышцы. Отек и расширение интерстициальных и периваскулярных пространств миокарда, активация фибробластов вызывают усиление коллагенообразования и нарастание деструктивных процессов, способствующих ремоделированию сердечной мышцы и развитию сердечной недостаточности.

Заключение. Моделирование ишемии миокарда на фоне СД усиливает тяжесть сердечно-сосудистых осложнений. Фрагментация ядер, массовое разрушение митохондрий с формированием гигантских лизосом, внутриклеточный миоцитоллиз – основные пути повреждения КМЦ, приводящие к их гибели. Прогрессирование интерстициального и заместительного фиброза, атеросклеротические повреждения сосудов микроциркуляторного русла миокарда являются основными признаками ишемического поражения сердечной мышцы.

*Онищенко А.И.¹, Прокопюк В.Ю.¹, Ефимова С.Л.², Максимчук П.О.²,
Ткаченко А.С.¹*

Наночастицы ортованадата гадолиния-иттрия ингибируют липополисахарид-индуцированную генерацию активных форм кислорода

¹Харьковский национальный медицинский университет, Харьков,
Украина

²Институт сцинтилляционных материалов НАН Украины, Харьков,
Украина

Окислительный стресс характеризуется дисбалансом между продукцией активных форм кислорода (АФК) и их элиминацией с помощью антиоксидантной системы. Окислительный стресс и сопутствующее повреждение макромолекул свободными радикалами вовлечены в патогенез множества заболеваний (аутоиммунная патология, нейродегенеративные заболевания, атеросклероз, сахарный диабет и т.д.). Для борьбы с окислительным стрессом используются молекулы-антиоксиданты, которые способны связывать свободные радикалы и АФК. В то же время, использование как встречающихся в природе,

так и синтетических антиоксидантов лимитируется плохой всасываемостью, трудностями при прохождении через клеточные мембраны и проблемами таргетной доставки, что снижает их биодоступность. Таким образом, актуальным вопросом является оценка возможности использования наночастиц с антиоксидантными свойствами. Примером подобного рода наноматериалов являются наночастицы ортованадатов гадолиния-иттрия ($\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$), антиоксидантные свойства которых уже были продемонстрированы в бесклеточных системах.

Целью работы явилось изучение способности наночастиц $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ влиять на липополисахарид (ЛПС)-индуцированную генерацию АФК в лейкоцитах.

Материалы и методы. Эксперимент проводили на 9 половозрелых крысах популяции WAG в соответствии с действующим законодательством, регулирующим правила проведения исследований с участием лабораторных животных. Кровь животных, которую собирали в ЭДТА-содержащие вакутейнеры, инкубировали в течение 2 часов с натрий-фосфатным буфером (контроль), наночастицами $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$, синтезированными в Институте сцинтилляционных материалов НАН Украины (г.Харьков, Украина) в конечной концентрации 20 мкг/мл (группа 1), ЛПС, полученным из *Escherichia coli* O111:B4 (Sigma Aldrich, Израиль), в концентрации 2 мкг/мл (группа 2) и наночастицами + ЛПС в вышеуказанных концентрациях (группа 3). Образцы контрольной группы не содержали наночастиц и ЛПС. После инкубации кровь использовалась для получения суспензии лейкоцитов при помощи лизирующего буфера BD Pharm Lyse™ (Becton Dickinson, США). Интенсивность генерации АФК в лейкоцитах определяли с помощью метода проточной цитометрии с использованием АФК-чувствительного красителя 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеин диацетата (H2DCFDA, Invitrogen™, США), антител к панлейкоцитарному маркеру CD45, меченных APC-Cy™ 7 (BD Pharmingen, США), и 7-аминоактиномицина D (7-AAD, BD Pharmingen, США). Интенсивность флуоресценции дихлорфлуоресцеина, который образуется в клетках из H2DCFDA под действием АФК, регистрировали на проточном цитометре BD FACSCanto™ II (Becton Dickinson, США). Для статистической обработки данных использовали критерий Краскела-Уоллиса и апостериорный критерий Данна.

Результаты. Выделяли регион CD45^+ клеток, т.е. лейкоцитов. Затем в данном регионе гейтировали популяцию 7-AAD⁻ клеток, т.е. жизнеспособных лейкоцитов, в которых оценивали значения средней интенсивности флуоресценции (MFI) дихлорфлуоресцеина. Установлено, что инкубация клеток с наночастицами не приводит к статистически

достоверному увеличению значений MFI в жизнеспособных лейкоцитах по сравнению с контролем ($p > 0,05$). В то же время воздействие ЛПС на клетки сопровождалось статистически достоверным увеличением генерации АФК более чем в два раза ($p < 0,0001$). Совместная инкубация крови с наночастицами $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ и ЛПС приводила к статистически достоверному снижению интенсивности генерации АФК (приблизительно на 25%) лейкоцитами по сравнению с образцами второй группы ($p < 0,0001$), не достигая однако значений контрольной группы.

Выводы. Наночастицы $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ ингибируют ЛПС-индуцированную генерацию АФК в лейкоцитах в эксперименте *in vitro*.

Отеллин В.А., Хожай Л.И., Шишко Т.Т.

Влияние перинатальной гипоксии на мозг новорожденных крыс и возможность фармакологической коррекции ее последствий

Институт физиологии имени И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург,
Российская Федерация

Одной из актуальных задач современной неврологии является изучение динамики становления структур и функций головного мозга на ранних этапах онтогенеза. В перинатальном периоде происходит становление функций, необходимых для самостоятельного существования организма новорожденного. И именно в это время мозг млекопитающих отличается высокой чувствительностью к воздействию неблагоприятных факторов среды. Среди них существенное место принадлежит часто встречающейся гипоксии-ишемии, приводящей к развитию энцефалопатии новорожденных и формированию в последующем онтогенезе психо-неврологической патологии вплоть до инвалидизации. На разработанной в лаборатории модели энцефалопатии новорожденных проведены комплексные морфо-физиологические исследования (светооптические, иммуноцитохимические, электронномикроскопические, поведенческие), позволившие обнаружить неизвестные ранее механизмы патогенеза энцефалопатий (в частности участия в них тормозной ГАМКергической системы – нейронов, рецепторов и транспортёров), проявляющиеся по-разному на всех этапах последующего онтогенеза. Подобные нарушения сопровождались выраженными изменениями в ориентировочно-исследовательской активности, уровне тревожности, способности к обучению, нарушением процессов памяти и гормональной стрессорной реактивности. В наших экспериментах в качестве фармакологической коррекции выявленных струк-

турных и поведенческих отклонений был использован отечественный препарат фенибут (производное ГАМК), который обнаружил нейропротекторные и эндотелиопротекторные свойства (2 патента РФ), способствовал протеканию базисных гистогенетических процессов и улучшению показателей поведенческих тестов. Эти результаты фундаментального характера открывают новые перспективы доклинических и клинических исследований.

Воздействие гипоксии на 2 день жизни к концу периода новорожденности приводит к выраженной реакции исследованных нейронов неокортекса и гиппокампа и их ультраструктур. Часть нервных клеток дегенерирует, у сохранившихся клеток цитоплазма обнаруживает малый объём и слабое развитие каналов эндоплазматической сети шероховатого ретикулума, что свидетельствует о задержке процессов дифференцировки нейронов.

Применение отечественного препарата фенибут после воздействия гипоксии вызывает отчетливый эффект: увеличивается число полисом и рибосом, удлиняются и изгибаются каналы шероховатого эндоплазматического ретикулума, определяются многочисленные митохондрии с сохраненной внутренней структурой и часто повышенной электронной плотностью, рельефно выражен аппарат Гольджи.

В нейропиле, в сравнении с экспериментальной группой после воздействия гипоксии, определяются достаточно многочисленные конусы роста нейронов и их отростков, усиливается иммуногистохимическая реакция на синаптофизин, что является надёжным критерием дифференцировки нервных клеток, включая синаптогенез, т.е. в известной мере активизируются базисные морфогенетические процессы. *Работа поддержана грантом РФФИ № 20-015-00052.*

*Panada J.U.¹, Klopava V.A.^{1,2}, Kulahava T.A.³, Faletrov Y.V.^{1,2},
Frolova N.S.¹, Shkumatov V.M.^{1,2}*

Toxicity of antiproliferative indole-steroid and 5-hydroxyindole in a yeast model system

¹Research Institute for Physical Chemical Problems of the Belarusian State University, Minsk, Belarus

²Belarusian State University, Minsk, Belarus

³Research Institute for Nuclear Problems of the Belarusian State University, Minsk, Belarus

Previously, we reported an indolamine-steroid conjugate to reduce rat C6 glioma proliferation by 52±8% at 10 µM and found a 5-hydroxyindole derivative to rapidly decrease glioma mitochondrial potential [1]. In this

work, we investigated the related indole compounds' toxicity towards *Saccharomyces cerevisiae* yeast, an eukaryote which can be used as a reliable model for some mammalian and cancer metabolic processes [2].

The purpose of this work was to investigate the effect of newly synthesized indoles on *S. cerevisiae* growth and redox condition and compare their relative toxicity towards glioma and healthy non-cancer cells.

Experimental. 16-(5-cyanoindol-3-yl)methylidene-DHEA (16-CIM-DHEA) was obtained by aldol condensation between DHEA and the corresponding indole aldehyde. 5-hydroxy-3-acetyl-2-methylindole (5-HIET) was obtained by Nenitzescu reaction between the corresponding enamine and 1,4-benzoquinone in nitromethane. Compounds were characterized by ESI-MS and IR spectroscopy. For yeast studies, the *YEp5117a* strain grown on minimum YPD medium was used. Cell growth after 24 hrs incubation was estimated by absorption at 600 nm. Cell viability was determined by tetrazolium dye reduction with detection at 520 nm. ROS generation was detected with the fluorescent probe 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCF-DA).

Results. At 10 μ M, 16-CIM-DHEA and 5-HIET reduce *S. cerevisiae* growth by $36\pm 9\%$ and $27\pm 8\%$ relative to control, respectively. The reference compound indole-3-carbinol did not affect yeast growth significantly. Neither compound decreased cell viability significantly as evidenced by tetrazolium assay. Therefore, a non-necrotic cell death is proposed. In addition, a $30\pm 3\%$ increase in ROS levels was detected for 16-CIM-DHEA.

Conclusion. Two compounds, 16-CIM-DHEA and 5-HIET, were found to moderately decrease *S. cerevisiae* yeast growth after 24 hrs without affecting cell viability. An increase in reactive oxygen species was detected in case of 16-CIM-DHEA, which suggests an adverse effect on metabolic function. Further study is underway to investigate the mechanism of the antiproliferative effect in rat C6 glioma and the compounds' side effects in non-cancer cells.

References

1. Panada J., Klopava V., Kulahava T., Faletrov Y., Frolova N., Shkumatov V. New 3β -hydroxysteroid-indolamine conjugates: Design, synthesis and inhibition of C6 glioma cell proliferation // *Steroids*. – 2020. – Vol. 164. – №108728. – doi: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2020.108728>.
2. Matuo R., Sousa F. G., Soares D. G. et al. *Saccharomyces cerevisiae* as a model system to study the response to anticancer agents // *Cancer Chemother. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 70. – P. 491-502. – doi: <https://doi.org/10.1007/s00280-012-1937-4>.

Марганец-супероксиддисмутаза в реализации второй фазы антиоксидантной системы у лиц молодого возраста с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью и аутоиммунным тиреоидитом

Харьковский национальный медицинский университет, Харьков,
Украина

Физиологическая система антиоксидантной защиты имеет четырехступенчатое строение, что позволяет осуществлять полноценный контроль за процессами физиологического и, при необходимости, патологического апоптоза. Первая ступень этой системы представлена наиболее изученными ферментативными (супероксиддисмутаза, каталаза, церулоплазмин и др.) и неферментативными (8-изопростан) представителями, которые исследованы при многих хронических неинфекционных заболеваниях. В тоже время вторая ступень детоксикации ксенобиотиков, кроме глутатионового звена, представлена митохондриальной марганец-супероксиддисмутазой.

Цель работы: установить активность митохондриальной марганец-супероксиддисмутазы и ее зависимость от морфологических изменений в слизистой пищевода при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни в сочетании с аутоиммунным тиреоидитом у лиц молодого возраста.

Материалы и методы: обследовано 120 пациента с коморбидностью гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) и аутоиммунного тиреоидита (АИТ) и 45 лиц с изолированной ГЭРБ в возрасте от 18 до 25 лет и длительностью анамнеза по нозологиям до 3-х лет. Все обследованные – студенты вузов города, что дало возможность сопоставить предикторы заболеваний. 20 практически здоровых лиц с аналогичными выходными данными составили группу контроля.

Активность митохондриальной марганец-супероксиддисмутазы определяли в сыворотке крови иммуноферментным методом - тест-система «Elabscience» (ELISA, США). Результаты обрабатывались с использованием лицензионной программы Statistica Basic Academic 13 for Windows.

Результаты и их обсуждение. Так, активность митохондриальной марганец-супероксиддисмутазы у лиц контрольной группы составила 4,4720 (3,7010; 5,2325) нг/мл. При изолированной ГЭРБ отмечено ее достоверное увеличение в 1,6 раза ($U=513$; $p<0,01$). У больных с коморбидностью ГЭРБ и АИТ показатель митохондриальной марганец-супероксиддисмутазы значительно превышал результат контроля – 9,1965 (7,2480; 11,6385) нг/мл ($U=386$; $p<0,01$) и данные группы с изолированной ГЭРБ ($U=108$; $p<0,01$). При сравнении показателя ми-

тохондриальной марганец-супероксиддисмутазы с изменениями в слизистой пищевода, достоверных изменений выявлено не было, хотя и выявлено его снижение по отношению к среднему по группе у лиц с эрозивной формой заболевания.

Выводы. Сочетанное течение гастроэзофагеальной рефлюксной болезни и аутоиммунного тиреоидита сопровождается повышением активности митохондриальной марганец-супероксиддисмутазы, уровень которой коррелирует с морфологическими изменениями слизистой пищевода: отмечается более выраженное снижение.

Побойнев В.В.¹, Кордюкова Л.В.², Хрусталёв В.В.¹, Хрусталёва Т.А.^{1,3}

Структурная нестабильность подмембранной части гемагглютинина вируса гриппа типа А

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

²НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ,
Москва, Российская Федерация

³ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Подмембранная часть гемагглютинина вирусов гриппа типа А является очень короткой: 13-15 аминокислотных остатков. При этом данный фрагмент гемагглютинина важен для продукции полноценных вирионов, в связи с чем может считаться подходящей мишенью для разработки новых противовирусных средств не только по причине возможного участия в формировании трансмембранной поры для проникновения вируса в цитоплазму, но и по причине непосредственного взаимодействия с матриксным белком вируса М1. Ранее мы показали, что пептиды, соответствующие подмембранной части гемагглютинина подтипа Н1, согласно данным спектроскопии кругового дихроизма и НАТР-FTIR, способны формировать бета-шпильку, состоящую как минимум из двух бета-тяжей длиной в два аминокислотных остатка [1], однако с матриксным белком М1 должен контактировать гидрофильный фрагмент подмембранной части.

Цель данного исследования заключается в определении структурной стабильности подмембранной части гемагглютинина вируса гриппа типа А разных антигенных подтипов.

Материалы и методы исследования. Для установления стабильности структуры подмембранной части гемагглютинина апробированы два различных подхода: на базе стандартной программы DisEMBL 1.5 и на базе оригинального алгоритма PentUNFold, разработанного

нашей научной группой. Использование алгоритма PentUNFold обусловлено тем, что только данный алгоритм не оперирует информацией о структурной неустойчивости N- и C-концов белков, а опирается на вероятностные шкалы для неустойчивых регионов из середины полипептидов. При этом большая часть известных внутренне неупорядоченных фрагментов белков находится именно на концах. Использовано по 5 случайных последовательностей для подтипов гемагглютина H1-H16 и по две известные последовательности для подтипов H17 и H18 из GenBank. Таким образом, для оценки стабильности вторичной структуры использованы 84 последовательности гемагглютина H1-H18.

Результаты. При рассмотрении стабильности структуры подмембранной части гемагглютина вируса гриппа типа А длиной в 15 аминокислотных остатков с помощью DisEMBL 1.5, оказалось, что только первые 5 остатков могут формировать упорядоченную структуру у различных подтипов. Середина и C-конец подмембранной части являются структурно неупорядоченными вне зависимости от подтипа гемагглютина. Для гемагглютина H6 и H8 характерно полное отсутствие упорядоченной структуры согласно DisEMBL 1.5. В составе H12 только один аминокислотный остаток является стабильным, в составе H11, H16, H17 – 2, в составе H1, H2, H5, H10, H13, H14, H18 – 3, в H3, H4, H7, H9, H15 – 4. Под структурной стабильностью в данном случае имеется ввиду способность фрагментов белка находиться в определённом одинаковом структурном состоянии, а не во множестве состояний с близкой вероятностью образования. По всей видимости, на результаты работы DisEMBL 1.5 большое влияние оказал тот факт, что рассматриваемый домен гемагглютина находится на его C-конце.

С помощью оригинального алгоритма PentUNFold получены иные данные: для всех подтипов гемагглютина, кроме H3, характерна упорядоченная структура подмембранной части, т.е. аминокислотные остатки входят в состав регулярных элементов вторичной структуры. Только в гемагглютине H3 возможно формирование внутренне неупорядоченного состояния. Причём, аминокислотой, непосредственно находящейся в этом состоянии, является Asn8, т.е. аминокислота, следующая за шарнирным Gly7. Отдельно PentUNFold рассматривает возможность структурного перехода от койла (ни альфа-спирали, ни бета-тяжа) к бета-тяжу и обратно: т.е., возможность существования фрагмента белка в двух, а не во множестве структурных состояний. Остатки, склонные к таким структурным переходам, были выявлены у большинства подтипов гемагглютина: таковые входят в

состав первого пассивного бета-тяжа на N-конце (чаще все его остатки) и второго, активного, бета-тяжа на C-конце (чаще один остаток). Длина второго бета-тяжа может варьировать от двух до пяти аминокислотных остатков, причём последние два всегда являются стабильными вне зависимости от подтипа гемагглютинина. В гемагглютинине H12, H15, H17, согласно PentUNFold, два бета-тяжа абсолютно стабильны.

Выводы. Таким образом, в подмембранной части гемагглютинина вируса гриппа возможны структурные переходы от койла к бета-тяжам и наоборот. Причины данных переходов могут быть разными: изменение pH среды, мутации или взаимодействие с белком M1 при сборке дочерних вирионов. Однако поиск потенциальных блокаторов такого взаимодействия с целью подавления вирусного патогенеза необходимо вести в зависимости от подтипа гемагглютинина, входящего в состав вируса. Способность подмембранного домена H3 переходить во внутренне неупорядоченное состояние может давать возможность формирования отличной по сравнению с другими подтипами гемагглютинина вторичной и третичной структуры комплекса между подмембранным доменом и белком M1; также, как и наличие стабильных бета-тяжей в H12, H15, H17, которые могут снизить лабильность гидрофильной части подмембранного домена гемагглютинина.

Литература

1. V. V. Khrustalev, L. V. Kordyukova, A. M. Arutyunyan, V. V. Poboinev, T. A. Khrustaleva, A. N. Stojarov, L. A. Baratova, A. S. Sapon, V. G. Lugin. The cytoplasmic tail of influenza A/H1N1 virus hemagglutinin is β -structural. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2020. Doi: 10.1080/07391102.2020.1860827.

*Polish N.V.¹, Yaremkevych O.S.¹, Karkhut A.I.¹, Polovkovych S.V.¹,
Marintsova N.G.¹, Zhurakhivska L.R.¹, Karpenko O.V.²*

Antioxidant activity of compositions based on aminopyrazole derivatives of naphthoquinone and biosurfactants

¹Lviv Polytechnic National University, Lviv, Ukraine

²Institute of Physical Organic Chemistry and Carbon Chemistry named after L.M. Litvinenko of the NAS of Ukraine, Lviv, Ukraine

Today it is well known that there is an interrelation between free radical oxidation and the development of many important diseases such as atherosclerosis, hypertension, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, cancer, arthritis, neurodegenerative disorders, diabetes, etc. Antioxidants are able to inhibit the development of free-radical reactions, preventing the formation of peroxides, which damage the cellular and subcellitic membranes,

which is essential for the development of the body, the normal functioning of the nervous and muscular systems. That is why an important task of scientists is to find new antioxidants that could increase resistance of human organism to active forms of acid and nitrogen and prevent oxidative stress processes.

For this purpose, we investigated antioxidant activity of new composite preparations based on aminopyrazole-containing naphthoquinone derivatives and rhamnolipid biosurfactant. The related 1,4-naphthoquinones play an important biologic role in the human body due to their redox properties, which makes them interesting for the search of new pharmaceuticals. Rhamnolipides are synthesized by *Pseudomonas* and are the most abundant among biogenic surface-active reagents of microbial origin. The main purpose of the simultaneous use of synthetic naphthoquinone and biosurfactants of microbial origin is to reduce therapeutic drug dosage, increase cell membrane penetration and enhance the action of aminopyrazole-based naphthoquinones.

Intensity of processes of lipid peroxidation (LPO) and oxidative modification of proteins (OMP) was investigated. For investigation of the influence of aminopyrazole-containing naphthoquinones and their compositions on lipid peroxidation processes (LPO) and oxidative modification of protein (OMP) their alcoholic solutions (ethanol:water, 1:3) in concentration 10^{-6} M were used. The investigation was carried out on the homogenate of pikefish liver. Two indicators of oxidative stress were measured in one sample. The amount of secondary products of lipoperoxidation (TBA-active products) was determined by reaction of malondialdehyde (MDA) with thiobarbituric acid (TBA) in the selected samples. The principle of the method is based on the activation of LPO by divalent ferric ions to the level that can be detected spectrophotometrically. At high temperatures in the acidic environment MDA reacts with TBC, forming colored trimethine complex with maximum absorption at 532 nm. The amount of protein in the samples was determined by the Laurie method. The level of OMP was determined by the amount of formed additional carbonyl groups (CG) in amino acid chains, the amount of which was determined in the reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine.

The results of the study showed that antioxidant activity in LPO processes is exhibited by all the studied spores, since their action led to a decrease in the amount of TBA-active products: by $30\pm 35\%$. The composite preparation was revealed to decrease the content of secondary lipoperoxidation products by 50%, and additional protein-carbonyl groups by 40%. The effect of rhamnolipid on the permeability of cell membranes and on solubilization of substances is proved by the increase of antioxidant activity of the com-

positions in comparison with aminopyrazol derivatives of 1,4-naphthoquinone. A study with the well-known antioxidant quercetin was carried out in which the rhamnolipid complex exhibited analogous antioxidant activity in OMP processes.

Therefore, the conducted studies of antioxidant activity of aminopyrazole formulations of naphthoquinone-biosurfactant indicate the further prospective of creation of new preparations that would be efficient and ecologically safe for use in modern technologies.

*Полулях О.Е.¹, Митюкова Т.А.¹, Марчук С.А.², Авласенок И.Ю.¹,
Басалай А.А.¹*

Уровень мозгового нейротрофического фактора (BDNF) в сыворотке крови у детей с аутизмом

¹ГНУ Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²РНПЦ психического здоровья Минск, Республика Беларусь

В настоящее время во всем мире наблюдается рост случаев аутизма у детей, однако, до сих пор отсутствует унифицированная теория патогенеза этого заболевания. Известно, что мозговой нейротрофический фактор (BDNF) регулирует синаптическую пластичность, дифференцировку и выживаемость нейронов, баланс возбуждительных и тормозных реакций в ЦНС – процессов, которые нарушены при аутизме. На сегодняшний день существуют противоречивые данные относительно характера изменений концентрации BDNF в периферической крови при этом расстройстве [1, 2].

Цель работы – определить уровень BDNF в сыворотке крови у детей с аутизмом и сравнить с тяжестью и особенностями проявлений данной патологии.

Материалы и методы. Проведено комплексное клинико-психологическое обследование группы детей с аутизмом (30 чел.) в возрасте 3-12 лет и 20 практически здоровых детей аналогичного возраста. Изучался анамнез болезни, специфика психического и речевого развития ребенка, оценка аутистических проявлений по шкале CARS (The Chaildhood Autism Rating Scale) [3,4]. Определение уровня BDNF в сыворотке крови проводили иммуноферментным методом с использованием наборов Human BDNF (DRG, Германия).

Результаты. Наиболее частыми нарушениями психоречевого развития у детей с аутизмом были изменения в сфере вербальной и невербальной коммуникации. Значения CARS колебались в пределах 32-42 балла, что соответствовало легкой и средней степени тяжести аутизма.

Содержание BDNF в сыворотке крови детей с аутизмом составляло 16,4 [14,6; 23,5], а в группе контроля – 14,5 [11,9; 19,5] нг/мл (данные представлены в виде Ме [25; 75]). Достоверной разницы между группами выявлено не было. Однако при аутизме были обнаружены индивидуальные колебания данного показателя, как в большую, так и в меньшую сторону относительно нормы, в качестве которой был взят интервал значений от 5 до 95 перцентиля в группе контроля ([10,6; 22,9] нг/мл). Диапазон колебаний значений BDNF при аутизме находился в пределах 6,3 – 31,3 нг/мл. Причем, у детей с наиболее высоким содержанием BDNF (20-32 нг/мл) отмечались, как правило, повышенные значения CARS, что соответствовало средней тяжести заболевания. Кроме того, наряду с нарушениями вербальной и невербальной коммуникации для них было характерно наличие стереотипий, отставание в развитии и неадекватное поведение. У детей с низким уровнем BDNF симптомы расстройства имели значительно меньшую степень выраженности. Выявленная положительная корреляционная зависимость между уровнем BDNF в сыворотке крови детей с аутизмом и тяжестью заболевания по шкале CARS носила достоверный характер ($r=0,48$, $p=0,007$).

Заключение. Таким образом, содержание BDNF в сыворотке крови детей с аутизмом и в контрольной группе достоверно не отличалось. Однако при аутизме обнаружены индивидуальные колебания данного показателя, как в большую, так и в меньшую сторону относительно нормы, зависящие от степени тяжести заболевания и выраженности отдельных симптомов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект M20-058).

Литература

1. Meta-Analysis of BDNF Levels in Autism / R. Armeanu [et al.] // Cell Mol Neurobiol. – 2017. – Vol. 37. – P. 949–954.
2. Reduced serum levels of brain-derived neurotrophic factor in adult male patients with autism / K. Hashimoto [et al.] // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. – 2006. – Vol. – 30. – P. 1529–1531.
3. Бодалев, А. А. Общая психодиагностика: Учебник / А. А. Бодалев, В. В. Столин. – СПб: Речь, 2004. – 364 с.
4. Childhood Autism Rating Scale (CARS) / E. Schopler, R. J. Reichler, B. R. Renner. – Los Angeles, California: WPS, 1988. – 34 p.

Методические особенности разработки мультиплексной in-house тест-системы для выявления р-РНК *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae* в биоптатах коленного сустава

¹ГНУ «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Республика Беларусь

²ГУ «РНПЦ Травматологии и ортопедии», Минск, Республика Беларусь

Патогенез хламидия- и микопlasма-индуцированных артритов связан со способностью данных микроорганизмов запускать аутоиммунные процессы, приводящие к диссеминации и персистенции возбудителей с последующим инфицированием полости сустава. В настоящее время для диагностики инфекционных артритов используют метод ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ), мишенью которого является молекула ДНК. Тем не менее, в ряде случаев необходим метод, мишенью которого является более чувствительная и короткоживущая молекула, свидетельствующая не только о наличии микроорганизма, но и его жизнеспособности.

Цель исследования: усовершенствовать метод ПЦР-РВ для одновременного выявления жизнеспособных форм *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae* в синовиальной жидкости и синовиальной ткани коленного сустава.

Материалы и методы исследования. В качестве биологического материала для разработки метода использовали синовиальную жидкость и синовиальную ткань 40 пациентов с гонартрозом, находившихся на стационарном лечении в УЗ «Минская областная клиническая больница». Все пациенты были разделены на подгруппы в зависимости от выявленного ранее (при проведении ПЦР в режиме реального времени) этиологического фактора: подгруппа 1 – пациенты с гонартрозом, у которых была выявлена ДНК *Chlamydia pneumoniae*; подгруппа 2 – пациенты с гонартрозом, у которых была выявлена ДНК *Mycoplasma pneumoniae*; подгруппа 3 – пациенты с гонартрозом, у которых была выявлена одновременно ДНК *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae*; подгруппа 4 – пациенты с гонартрозом, у которых ДНК исследуемых микроорганизмов выявлены не была. Для оценки эффективности элиминации возбудителей через 10 дней после последнего дня приема антибактериальных лекарственных средств пациентам подгрупп 1-3 проводили повторная пункцию коленного сустава. Образцы синовиальной ткани предварительно гомогенизировали с использованием TissueLyser II (Qiagen) в течение 3 мин (частота 10/с). Выделение РНК проводили с использованием реагента TRIZol. Каче-

ство и количество выделенной РНК оценивали спектрофотометрически.

Результаты. На первом этапе нами были подобраны специфические пары праймеров (forward и reverse), а также молекулярные зонды (probe). Состав реакционной смеси был универсален и различался только вносимыми парой праймеров и зондом. Пробирки инкубировали при 65°C 5 мин, затем при 41°C 5 мин, после чего вносили раствор. Программа амплификации: 41°C – 2 мин, 95 циклов 41°C – 45 с. Детекцию флуоресценции проводили по каналу FAM; наличие р-РНК возбудителей устанавливали при наличии пересечения кривой амплификации и пороговой линии флуоресценции.

При проведении молекулярно-генетических исследований было установлено наличие жизнеспособных форм возбудителей *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae* как в образцах синовиальной ткани, так и в синовиальной жидкости пациентов подгрупп 1-3, р-РНК исследуемых возбудителей в биологическом материале пациентов подгруппы 4 выявлена не была, что полностью (100%) совпадало с результатами предыдущих исследований методом ПЦР-РВ. Диагностическая специфичность и диагностическая чувствительность разработанного метода составили 100%.

На следующем этапе нами было проведено моделирование мультиплексной ПЦР-РВ для одновременного выявления р-РНК *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae* в исследуемом биологическом материале. Для этого использовали ранее подобранные forward-праймеры, общий reverse-праймер, а также специально подобранные зонды для выявления указанных патогенов.

Заключение. Подтверждено 100%-ое совпадение результатов моно- и мультиплексной ПЦР-РВ по выявлению р-РНК *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae* в образцах синовиальной жидкости и синовиальной ткани пациентов с артропатиями коленного сустава. Показатели диагностической чувствительности и диагностической специфичности составили 100% при использовании в качестве референсного метода как стандартной ПЦР-РВ (с детекцией ДНК возбудителей), так и разработанного метода мультиплексной ПЦР-РВ с детекцией р-РНК патогенов.

Вследствие отсутствия различий в выявляемости р-РНК *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae* в образцах синовиальной жидкости и синовиальной ткани рекомендовано использование синовиальной жидкости как наименее травматичного для получения биологического материала.

Технологические этапы получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами

¹ГНУ «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Республика Беларусь

²ГУ «РНПЦ травматологии и ортопедии», Минск, Республика Беларусь

Обогащенная тромбоцитами плазма – простой, дешевый и минимально инвазивный способ получить естественную концентрацию аутологичных факторов роста. В настоящее время данный препарат широко применяется в различных областях медицины для регенерации тканей с низким заживляющим потенциалом. Предполагаемый эффект от внутрисуставного введения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, – снижение интенсивности и длительность болевого синдрома, улучшение функции суставов, увеличение длительность ремиссии.

Цель исследования: оптимизировать технологические условия получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, для последующего внутрисуставного применения у пациентов с артропатиями коленного сустава.

Материалы и методы исследования. В качестве биологического материала использовали сыворотку крови 15 пациентов с гонартрозом, находившихся на стационарном лечении в УЗ «Минская областная клиническая больница». Контрольную группу составили 15 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту. У каждого пациента проводили взятие периферической венозной крови из локтевой вены в стерильные пробирки объемом 9 мл, содержащие 3,8% гепарина натрия ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$). В качестве главного критерия включения биологического материала в исследование использовали отсутствие тромбоцитозов и тромбоцитопений по данным результата общего анализа крови. Все количественные данные имели непараметрическое распределение (проверка на нормальность проводилась с использованием критерия Колмогорова-Смирнова) и представлены в виде значения медианы и квартилей Me (Q25/75). Для решения задач сравнения двух независимых групп количественных переменных применялся критерий Манна-Уитни (U-тест). Критическим уровнем значимости принят $p < 0,05$.

Результаты. Для определения исходных показателей клеточного состава крови был проведен общий анализ крови с определением лейкоцитарной формулы 30 образцов биологического материала с использованием гематологического анализатора Micros-60 (Hofiba, Япония). В группе пациентов с гонартрозом содержание тромбоцитов состави-

ло Me (Q25/75) составило 202 (153/339) $\times 10^9/\text{л}$, в контрольной группе – 234 (153/358) $\times 10^9/\text{л}$. Статистически значимых достоверных различий в содержании тромбоцитов в периферической крови пациентов с гонартрозом по сравнению с контрольной группой выявлено не было ($p=0,177$), ввиду чего в дальнейших исследованиях разделение на группы не учитывалось.

На следующем этапе нами были протестированы различные режимы центрифугирования образцов периферической крови: количество оборотов (g) и время (мин). Для первого центрифугирования (разделение крови на три фракции: плазма, лейкоцитарная и эритроцитарная массы) были протестированы режимы в диапазоне 400-500g в течение 2-5 минут. По окончании первого центрифугирования верхний слой переносили в стерильные вакуумные пробирки объемом 4,0 мл; для второго этапа центрифугирования проводили тестирование в диапазоне 1500-2500g в течение 1-5 минут. После второго центрифугирования удаляли верхний слой плазмы, нижний слой плазмы использовали для оценки количества тромбоцитов.

Нами было протестировано 8 режимов центрифугирования: 400g 2 мин + 2500g 5 мин, 400g 3 мин + 2500g 4 мин, 400g 4 мин + 2500g 3 мин, 400g 5 мин + 2500g 2 мин, 500g 2 мин + 1500g 5 мин, 500g 3 мин + 1500g 4 мин, 500g 4 мин + 1500g 3 мин, 500g 5 мин + 1500g 2 мин.

Установлено отсутствие статистически значимых ($p>0,05$) достоверных различий в содержании количества тромбоцитов при использовании при первичном центрифугировании при 400g и 500g и времени 2-5 мин. Центрифугирование при 2500g вне зависимости от времени экспозиции также не оказывало статистически достоверного ($p>0,05$) влияния на количество тромбоцитов. При использовании режима 1500g 2 мин количество тромбоцитов составило 2067 (1826/2255) $\times 10^9/\text{л}$, режима 1500g 3 мин – 2467 (2210/2729) $\times 10^9/\text{л}$, режима 1500g 4 мин – 1859 (1647/2038) $\times 10^9/\text{л}$, режима 1500g 5 мин – 1801 (1622/1995) $\times 10^9/\text{л}$.

Заключение. Установлен оптимальный режим получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, – первичное центрифугирование при 500g 5 мин с последующим центрифугированием 1500g 3 мин. Использование данного режима позволяет получить аутоплазму, обогащенную тромбоцитами, в количестве 2467 (2210/2729) $\times 10^9/\text{л}$.

Влияние препарата с гепатопротекторной активностью «Гепатон» на показатели крови лабораторных животных

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация

В настоящее время заболевания печени являются общемировой проблемой. Способность печени, как центрального органа процессов метаболизма, обмена ферментов, гормонов, микроэлементов и витаминов, нейтрализации токсинов к выполнению своих функций нередко снижается из-за многочисленных веществ, к которым относятся в том числе и некоторые лекарственные средства, при приеме в высоких, а иногда и в терапевтических дозах, повреждающие орган.

Острые и хронические заболевания печени, и желчевыводящих путей были и остаются важной проблемой ветеринарной медицины. Поскольку болезни печени широко распространены, профилактика, их лечение, изыскание способов ранней диагностики, коррекции нарушений метаболизма у животных является одной из острых проблем в теоретической и практической работе.

Несмотря на успехи в медицине и ветеринарии, обычные средства для лечения гепатопатий имеют нежелательные побочные эффекты, малоэффективны и являются дорогостоящими. Следовательно, существует большая потребность в безопасных альтернативных терапевтических средствах для лечения болезней печени.

Цель исследования - комплексная оценка безопасности препарата с гепатопротекторной активностью на растительной основе «Гепатон», разработанного на кафедре фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Материалы и методы: эксперименты выполнялись на белых нелинейных крысах возрастом 2,5-3 месяца, массой 150-160 г., количество крыс- 60 (30 самок и 30 самцов). Лабораторные исследования были проведены до начала исследования, а также на 90-й и на 180-й день введения препарата. Согласно протоколу проведения доклинических исследований влияния препарата на кровь, исследовались такие параметры, как: 1. Общий белок. 2. Аспартатаминотрансфераза (АСТ). 3. Аланиноамиотрансфераза (АЛТ). 4. Лактатдегидрогеназа (ЛДГ). 5. Щелочная фосфатаза. 6. Мочевина. 7. Креатинин. 8. Глюкоза. 9. Общие липиды. 10. Холестерин. 11. Билирубин и его фракции. 12. Натрий и калий.

Результаты исследований: Анализы крови были проведены в фоне и через 90 и 180 дней после начала введения препарата внутрь в тера-

пептической (0,5 мл/кг) и максимальной (10 мл/кг) дозировке методом пункции из хвостовой вены.

Анализ показателей биохимического статуса животных всех групп, участвующих в эксперименте, свидетельствовал о том, что состояние обменных процессов (белкового, углеводного, минерального) не подвергалось патологическим изменениям в условиях длительного введения внутрь препарата «Гепатон» во всех исследуемых дозах, и не выходило за границы видовой нормы. Во 2-й и 3-й опытных группах к концу эксперимента наблюдалось снижение уровня аланинаминотрансферазы по сравнению с контрольной группой на 3,8 и 14,8 % соответственно, что может указывать на гепатозащитную активность препарата.

Заключение. Таким образом, введение препарата «Гепатон» как в терапевтических, так и в максимальных дозировках не нарушает биохимический статус крови.

Понамарёв В.С.

Влияние препарата с гепатопротекторной активностью «Гепатон» на показатели мочи лабораторных животных

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация

В последнее время особое внимание в ветеринарной медицине уделяется проблеме роста числа заболеваний гепатобилиарной системы животных, которые негативно влияют на физиологический статус организма животного. Как показывает статистика, патологии печени занимают до 25% от всех незаразных болезней.

Современные экологические условия, увеличение интенсивности воздействия химико-физических и биологических факторов, а также чрезмерное назначение лекарственных препаратов, в том числе антибиотиков и гормонов, несбалансированное кормление, создают предпосылки к росту таких патологий.

Для решения вышеуказанной проблемы ведётся разработка новых препаратов, обладающих гепатопротекторными свойствами.

Цель исследования - комплексная оценка безопасности препарата с гепатопротекторной активностью на растительной основе «Гепатон», разработанного на кафедре фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Материалы и методы: эксперименты выполнялись на белых нелинейных крысах возрастом 2,5-3 месяца, массой 150-160 г., количество

крыс- 60 (30 самок и 30 самцов). Лабораторные исследования были проведены до начала исследования, а также на 90-й и на 180-й день введения препарата. Согласно протоколу проведения доклинических исследований влияния препарата на функциональное состояние почек, исследовались такие параметры, как: удельный вес мочи, pH, микроскопия осадка мочи, количества белка и глюкозы в моче, а также наличие кетоновых тел и желчных пигментов.

Результаты исследований: анализы мочи были проведены в фоне и через 90 и 180 дней после начала введения препарата внутрь в терапевтической (0,5 мл/кг) и максимальной (10 мл/кг) дозировке.

На протяжении опытного периода акты мочеиспускания крыс, участвующих в эксперименте, оставались регулярными, произвольными, безболезненными, проходя в естественной для данного вида животного позе.

Моча имела специфический запах, светло-молочный цвет с легким оттенком мутности, водянистую консистенцию, концентрацию водородных ионов от 8,3 до 8,7 и удельный вес от 1,011 до 1,027. Примеси крови, слизи и хлопьев отсутствовали. Биохимическое исследование проб мочи не выявило наличие белка, желчных пигментов (билирубина и уробилиногена), углеводов и глюкозы. Физико-химические показатели мочи подопытных крыс, оцененные в ходе проведения эксперимента, оставались в пределах видовой нормы, достоверных изменений со стороны выделительной функции почек при введении препарата «Гепатон» подопытным животным не наблюдалось.

Заключение. Таким образом, введение препарата «Гепатон» как в терапевтических, так и в максимальных дозировках не нарушает диурез, клубочковую фильтрацию и канальцевую реабсорбцию воды, и тем самым, не оказывает патологического воздействия на функцию почек и мочевыводящих путей.

Понамарёв В.С.

Влияние препарата с гепатопротекторной активностью «Гепатон» на биохимические показатели мочи у собак

ФГБОУВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация

По данным отечественных и зарубежных авторов внутренние незаразные болезни составляют основную часть заболеваний собак - около 41 %, среди которых болезни печени составляют около 5 %.

Патология пищеварительной системы продолжает оставаться одной из наиболее актуальных проблем теоретической и практической ветери-

нарной медицины. Несмотря на большие успехи в профилактике, диагностике, специализированном лечении, болезни печени остаются тяжелыми заболеваниями, нередко приводящими к падежу животных.

Цель исследования - комплексная оценка безопасности препарата с гепатопротекторной активностью на растительной основе «Гепатон», разработанного на кафедре фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Материалы и методы: эксперименты выполнялись беспородных собак возрастом 3-6 лет, массой 8-16 кг, количество животных - 10 (5 самок и 5 самцов). Лабораторные исследования были проведены до начала исследования, а также на 90-й и на 180-й день введения препарата. Согласно протоколу проведения доклинических исследований влияния препарата на функциональное состояние почек, исследовались такие параметры, как: удельный вес мочи, pH, микроскопия осадка мочи, количества белка и глюкозы в моче, а также наличие кетоновых тел и желчных пигментов.

Результаты исследований: анализы мочи были проведены в фоне и через 90 и 180 дней после начала введения препарата внутрь в терапевтической (0,1 мл/кг) и максимальной (1 мл/кг) дозировке.

На протяжении опытного периода акты мочеиспускания собак, участвующих в эксперименте, оставались регулярными, произвольными, безболезненными, проходя в естественной для данного вида животного позе.

Моча имела специфический запах, светло-молочный цвет с легким оттенком мутности, водянистую консистенцию, концентрацию водородных ионов от 6,0 до 6,7 и удельный вес от 0,991 до 1,011. Примеси крови, слизи и хлопьев отсутствовали. Биохимическое исследование проб мочи не выявило наличие белка, желчных пигментов (билирубина и уробилиногена), углеводов и глюкозы. Физико-химические показатели мочи подопытных собак, оцененные в ходе проведения эксперимента, оставались в пределах видовой нормы, достоверных изменений со стороны выделительной функции почек при введении препарата «Гепатон» подопытным животным не наблюдалось.

Заключение. Таким образом, введение препарата «Гепатон» как в терапевтических, так и в максимальных дозировках не нарушает диурез, клубочковую фильтрацию и канальцевую реабсорбцию воды, и тем самым, не оказывает патологического воздействия на функцию почек и мочевыводящих путей, что свидетельствует о безопасности применения исследуемого препарата для выделительной системы.

Влияние фитосорбционного комплекса на биохимический статус организма телят при бронхопневмонии

ФГБОУВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Фитобиотики, как показывают исследования, стимулируют выработку эндогенных ферментов, таким образом улучшая переваримость питательных веществ кормов; вкусовые качества фитобиотиков увеличивают поедаемость кормов, что положительно сказывается на продуктивности животных. Воздействие на пищеварение и общее состояние здоровья животных проявляется благодаря ряду растительных веществ, таких, как каротиноиды, полипептиды, фитоэстрогены, сапонины и другие. В опыте определяли влияние фитосорбционного комплекса на отстающих в росте и развитии телят, больных бронхопневмонией. Научно-хозяйственный опыт проводили в условиях хозяйства Псковской области, СПК «Смена». Исследования проведены на 10 телятах голштинской породы в возрасте 2 – 2,5 месяца, с исходной массой тела $50,25 \pm 2,18$ кг. Были сформированы 2 группы животных – контрольная, в которую вошли 5 телят и опытная из 5 животных. Вводили фитосорбционный комплекс (ФСК) перорально в дозе 1,5 г/кг. Препарат готовили ежедневно, растворяли в 1,5-2 л теплой воды и задавали орально животным в течение 14 дней. Контрольная группа получала стандартный рацион, без каких-либо добавок. При этом, им вводили внутримышечно стерильный изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, контрольным животным больным бронхопневмонией проводили антибиотикотерапию с применением 5 % раствора энросепта (схема лечения в хозяйстве). Раствор энросепта использовали один раз в сутки, подкожно в дозе 1,0 мл/20 кг массы тела в течение трех суток. Все телята содержались в одной клетке и получали одни и те же корма.

При клиническом исследовании телят обеих групп выявили низкую упитанность, волосяной покров сухой, жесткий и взъерошенный. Активность фермента АЛТ у телят контрольной группы увеличилась по отношению к исходному показателю в 2,4 раза, а у молодняка опытной группы, наоборот, понизилась в 3,0 раза при $p < 0,05$. В отношении активности АСТ отмечен спад его уровня в обеих группах по сравнению с фоновыми показателями на 35,1 и 15,7%, соответственно. В ходе эксперимента концентрация глюкозы у контрольных животных не претерпевала существенных изменений и соответствовала фоновым значениям. В отличие от этого, применение ФСК опытными телятами приводило к снижению уровня изучаемого углевода на 28,3 %, при-

ближая его, таким образом, к референсным показателям. Содержание холестерина в сыворотке крови контрольных телят в конце эксперимента увеличилось на 14,1 %, а у опытных животных, наоборот, отмечено уменьшение его на 3,75 %.

Содержание желчного пигмента билирубина в сыворотке крови животных обеих групп имело тенденцию к увеличению, причем у опытных телят уровень тетрапироллового производного был выше, чем в контроле на 9,0 %. Активность маркерного фермента холестаза - щелочной фосфатазы повысилась, как у телят контрольной, так и опытной группы, но у последних её уровень был ниже на 7,2 %, чем в сравниваемой группе.

Концентрация креатинина в сыворотке крови контрольных животных уменьшилась по отношению к исходным данным на 6,7 %, а у опытных телят, наоборот, отмечено увеличение его уровня на 22,0 %, но данный показатель, как и у особей контрольной группы, соответствовал средним значениям показателей физиологической нормы.

Изменения уровня мочевины в сыворотке крови у животных обеих групп имели равнонаправленный характер и отмечено снижение его по отношению к исходным данным в контроле и опыте на 39,6 и 48,0 % соответственно.

Сложная перестройка организма телят опытной группы после применения ФСК сопровождалась снижением уровня лактатдегидрогеназы, значения которой в конце экспериментального периода уменьшились на 28,1 % и укладывались в рамки референсных значений.

Таким образом, наши исследования позволили оценить влияние ФСК на биохимический статус организма телят при бронхопневмонии, в дозе перорально 1,5г/кг, в течении 14 дней, в сравнении с антибактериальным препаратом.

Попова О.С.

Влияние фитобиотического комплекса с *Saccharomyces Boulardii* на количество общего белка в крови цыплят

ФГБОУВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация

В ответ на рост мирового спроса производство мяса птицы резко выросло на 300% за последние 3 десятилетия и в 2018 году оценивалось более чем в 128 миллионов тонн. Как и в случае с мясом птицы, производство и потребление яиц также увеличилось (ФАО, 2018). Очень часто, в последнее время внимание ученых привлекают вещества природного происхождения.

Пробиотики—это живые микроорганизмы, которые обитают в организме животных и человека и положительно влияют на его жизнедеятельность. Большинство пробиотиков являются бактериями или кокками, продуцирующим и молочную кислоту и относящимися к типичным представителям нормальной микрофлоры животного организма. Препарат *Saccharomyces boulardii* является пробиотиком, согласно определению ВОЗ, это живые микроорганизмы, примененные в адекватных количествах, оказывающие оздоровительный эффект на организм человека. *Saccharomyces boulardii* оказывает антимикробное действие, обусловленное антагонистическим эффектом в отношении патогенных и условно патогенных микроорганизмов. При отборе пробиотических штаммов используют четкие критерии, в соответствии с которыми штаммы не могут обладать патогенными свойствами (должны быть безопасными), должны быть кислотоустойчивыми и обладать способностью выживать в просвете кишечника.

В ряде источников указано, что фитобиотики могут способствовать повышению продуктивности и восстановлению здоровья у животных. Использование фитобиотиков позволяет снизить или даже полностью исключить антибиотики из лечебных и профилактических программ птицеводческих хозяйств. Эфирные масла, входящие в состав фитобиотиков, препятствуют возникновению респираторных заболеваний и уменьшают падеж птицы.

Перечисленные факторы позволили нам создать фитосорбционный комплекс, в основе которого находится матрица (сорбенты), *Saccharomyces boulardii* и растительные компоненты. После успешных испытаний *in vitro*, а также испытаний на лабораторных крысах, мы перешли к изучению его влияния на количество общего белка в крови цыплят-бройлеров.

Исследования проводили на кафедре фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО СПбГУВМ, для опыта брали 3 гр цыплят, суточного возраста. В начале опыта концентрация общего белка не имела достоверных различий и была в нижних пределах физиологических норм ($24,5 \pm 0,05$ г/л). Первой подопытной группе вводили к общему рациону фитосорбционный комплекс (ФСК), в дозе 4 % от суточной нормы потребления корма, 2 –ой -ФСК с сорбентами с добавлением *Saccharomyces boulardii*, 3-я группы была контрольной, которым задавали только общий рацион (стартовая смесь кукуруза мелкого помола, горох; ячмень; пшеница). У цыплят подопытных групп на 20е сутки исследований содержание общего белка в сыворотке крови было выше аналогов из контроля на 3,5%, на 40 сут- соответственно на 21,5%, 22,8 и 20,1% ($p \leq 0,05$), на 60-е сут. на 2,2%, но разность статистически

недостоверна. Данные полученные нами, в ходе испытаний, могут косвенно свидетельствовать о положительном влиянии комплекса на интенсивность белкового обмена, особенно в сочетании с матрицей сорбентов. Новое поколение кормовых пробиотических препаратов в сочетании с ФСК отличается высокой биологической активностью и требует дальнейших исследований. Так как данный вопрос имеет большой практический интерес в области ветеринарии.

Попова О.С.

Влияние фитосорбентов на биохимические показатели крови крупного рогатого скота

ФГБОУВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Целью наших исследований, было изучить влияние нового фитосорбционного комплекса (ФСК), разработанного на кафедре фармакологии и токсикологии СПбГУВМ, на биохимический состав крови лактирующих коров. ФСК содержит в качестве формообразующих веществ набор сорбентов, которые являются матрицей для экстрактов растений, обеспечивает доставку их в организм животного. В кишечнике осуществляется ионный обмен, дополнительно производится сорбция и осуществляется вывод токсических веществ из организма. Благодаря, входящим в состав растительных компонентов, препарат обладает иммуностимулирующим, ростостимулирующим, антимикотическим, антимикробным и адаптогенным свойствами.

Для изучения влияния ФСК, на биохимический состав крови подопытных животных, было создано две группы коров черно-пестрой породы, по 15 голов в каждой группе. Подопытной группе кроме основного рациона вводили ФСК в дозе 60 г/гол., в течении 60 сут. Контрольной группе задавали только основной рацион, без каких-либо добавок.

В крови изучали основные показатели, которые характеризуют функциональное состояние печени, почек и некоторых других органов и систем органов.

Исследования крови проводили на гематологическом и биохимическом анализаторах, с использованием набора «КлиниТест–АЛТ ФС» стандартных наборов НПФ «Абрис+», согласно утверждённым методическим рекомендациям и инструкциям к приборам.

Проведенные исследования показали, что коровы в подопытной группе хорошо поедали корм с добавлением ФСК. Биохимические исследования сыворотки крови показали, что уровень белка в крови живот-

ных подопытной группе находился на верхней границе физиологической нормы 81,2 г/л и был на 2,89% ниже по сравнению с контрольной группой. Рассматривая результаты протеинограммы крови коров, получавших фитосорбционный комплекс можно отметить снижение альбуминов на 14,32%, снижение α -глобулинов на 13,65, β -глобулинов на 7,68% по сравнению с контрольной группой. Количество γ -глобулинов увеличилось на 26,98% по сравнению с контролем, по видимому это связано с тем, что биологически активные вещества фитосорбционного комплекса активизируют естественную резистентность подопытных коров.

Параметры переаминирования АЛТ и АСТ у животных подопытной и контрольной группы находились в пределах физиологических значений, для данного вида животных. При этом показатель АЛТ в крови подопытных коров увеличился на 20,37% по сравнению с контролем, что может свидетельствовать об увеличении нагрузки на печень. Об увеличении нагрузки на печень также указывает увеличение общего билирубина на 9,63%, но все-таки учитывая, что данные показатели не выходят за параметры физиологических значений, можно предположить, что данное увеличение связано с горечами, входящими в фитосорбционный комплекс, оказывающим желчегонное действие. Физиологическую стабильность энергетического обмена подтверждает тот факт, что, не смотря на повышение уровня холестерина на 27%, уровень глюкозы у подопытных коров находился в пределах физиологических значений, следовательно, синтез молока происходит за счет кормовых факторов, без использования резервов организма.

Таким образом, новое поколение ФСК отличается высокой биологической активностью, обосновано их использование в рационах крупного рогатого скота для повышения молочной и мясной продуктивности при снижении затрат кормов на единицу продукции.

Потапович А. И., Яссен А. Т., Костюк В. А.

Природный химиопрофилактический агент куркумин может функционировать как эффективный УФ-фотосенсибилизатор
Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Химиопрофилактика рака давно признана важной стратегией, направленной на снижение смертности от рака. Она применяется, чтобы блокировать, подавлять, предотвращать или обращать вспять развитие инвазивного рака. Куркумин - это природный полифенол, который уже зарекомендовал себя как многообещающее средство для борьбы с

опухолями. Многочисленные эксперименты *in vitro* и *in vivo* подтверждают эффективность цитотоксического действия куркумина на различных культурах опухолевых клеток, но необходимы дальнейшие исследования, направленные на повышение эффективности куркумина как средства химиопрофилактики.

Принимая во внимание, что некоторые средства, используемые для химиопрофилактика рака, и, в частности, пиперин, могут действовать как эффективные фотосенсибилизаторы ультрафиолетового излучения, целью данного исследования явилось изучение цитотоксического действия куркумина совместно с УФ-излучением на раковые клетки человека. Известно, что опухолевая ткань часто находится в условиях низкого снабжения кислородом. Поэтому действие куркумина совместно с УФ-излучением оценивали в нормальных условиях и в условиях аноксии. Объектом исследования являлись культивируемые клетки аденокарциномы молочной железы человека MDA-MB-231. Клетки культивировали в модифицированной среде Игла – DMEM, содержащей 10 % эмбриональной бычьей сыворотки, в стандартных условиях (37°C, 5 % CO₂), клетки подвергали воздействию куркумина и УФ-излучения в 6 или 96-луночных планшетах в течении 30 мин, и затем инкубировали при 37°C 24 ч в нормальных условиях и при аноксии. Для создания аноксии использовали систему для анаэробной инкубации AnaeroGen Compact, которая состоит из пластикового пакета и бумажного газогенератора. Жизнеспособность культивируемых клеток определяли с помощью реактива PrestoBlue™ Reagent (Invitrogen, США) в 96-луночных планшетах, степень некротического повреждения оценивали по выходу цитоплазматического белка лактатдегидрогеназа (ЛДГ) в культуральную среду, используя 6-луночные планшеты.

Установлено, что куркумин проявляет цитотоксическое действие в отношении клеток MDA-MB-231 в концентрации 40 мкмоль/л и выше. В тоже время при совместном действии куркумина и УФ-излучения (6 Дж/см²) выраженный цитотоксический эффект наблюдается при концентрации куркумина 1 мкмоль/л. В этом случае через 24 ч инкубации в условиях нормоксии количество жизнеспособных клеток, оцениваемое с помощью реактива PrestoBlue™ и по выходу фермента ЛДГ снижалось на 55±12 % и 47±6 % соответственно, а при инкубации в условиях аноксии соответственно на 64±10 % и 65±5 %. При увеличении концентрации куркумина до 5 мкмоль/л некротическая гибель наблюдалась у 100 % клеток, инкубируемых как в условиях нормоксии, так и при аноксии.

Таким образом, куркумин способен действовать как УФ-фотосенсибилизатор, активирующий образование активных форм кислорода и других химически активных интермедиатов, которые оказывают сильное цитотоксическое действие на опухолевые клетки и, как следствие, вызывают при последующей инкубации как в нормальных, так и анаэробных условиях их некротическую гибель.

*Пристромова Ю.И., Юркитович Т.Л., Голуб Н.В., Соломевич С.О.,
Костерова Р.И.*

Исследование процессов получения и химического гидролиза полиальдегиддекстрана в опытах *in vitro*

НИИ Физико-химических проблем Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь.

Одним из перспективных путей создания инновационных лекарственных препаратов направленного действия является присоединение биологически активных веществ к природным полимерным носителям или их производным. Среди модифицированных полисахаридов, которые могут быть использованы в качестве полимеров-носителей лекарственных веществ, значительный интерес представляет окисленный декстран, который нетоксичен, биосовместим, обладает способностью ковалентно связывать биологически активные вещества, имеющих в структуре первичную аминогруппу; пролонгировать их высвобождение.

Цель исследования – установление закономерностей окисления декстрана периодатом натрия: выявление влияния длительности реакции, соотношения моль глюкопиранозных звеньев (ГПЗ): NaIO_4 на количество альдегидных групп и физико-химические свойства получаемых производных декстрана, а так же изучение их стабильности *in vitro*.

Материалы и методы исследования. Окисление декстрана с молекулярной массой 60 кДа осуществляли водным раствором периодата натрия различной концентрации в отсутствии света. Соотношение моль ГПЗ : NaIO_4 варьировали от 0,06 до 1,5. Количество альдегидных групп в окисленном декстрани определяли с помощью потенциометрического титрования с гидрохлоридом гидроксилamina. Структуру окисленных глюкопиранозных звеньев определяли с помощью фурье-ИК-спектрометра BRUKER ALPHA в диапазоне от 4000 до 400 cm^{-1} . Молекулярную массу определяли методом эксклюзионной хроматографии с использованием жидкостного хроматографа Agilent 1200 с рефрактометрическим детектором. Термическую стабильность окисленных декстранов изучали методом термогравиметрии.

Результаты. В ходе исследования были получены образцы полиальдегиддекстрана (ПАД) с различной степенью окисления ($\gamma = 5-96$), определяемой как число окисленных звеньев в расчете на 100 глюкопиранозных циклов. Изучено влияние мольного соотношения $\text{ГПЗ}:\text{NaIO}_4$, длительности протекания реакции на состав и структуру окисленного декстрана. Было показано, что по мере увеличения соотношения $\text{ГПЗ}:\text{NaIO}_4$ количество окисленных звеньев в декстране растет, а среднемассовая молекулярная масса ПАД падает. Установлено, что в ИК-спектрах полученных образцов ПАД отсутствует полоса поглощения альдегидных групп при 1730 см^{-1} . Согласно литературным данным, отсутствие данной полосы поглощения связано с существованием окисленных звеньев в виде циклических полуацеталей [1]. На основании ИК-спектроскопического анализа установлено, что продукты окисления декстрана со степенью окисления в интервале 20-40 имеют наиболее высокий индекс симметрии водородных связей ОН-групп, характеризующий их как более однородные продукты.

Установлено, что по мере увеличения содержания окисленных звеньев термическая стабильность образцов ПАД уменьшалась. Оценка деградации образцов с γ 8, 15, 42 проводилась в буферных растворах со значением pH 2,0; 3,5; 7,4 в течение 14 дней при $T=37^\circ\text{C}$. Показано, что немодифицированный декстран наиболее стабилен в указанных условиях (снижение его среднемассовой молекулярной массы составило 26%). Для окисленных образцов скорость биodeградации увеличивается по мере роста степени окисления. Наименее стабильны образцы ПАД в буферном растворе с pH 7,4: для образца ПАД с $\gamma=42$ среднемассовая молекулярная масса уменьшалась за 7 дней примерно в 20 раз, в то время как в растворах с pH 2,0 и 3,5 – в 2 и в 1,5 раза соответственно.

Заключение. Таким образом, оптимальными условиями для получения ПАД со степенью окисления 8-40 являются: мольное соотношение $\text{ГПЗ}:\text{NaIO}_4$ 0,1–0,5; температура 20°C ; время реакции – 1 час. Установлено, что ПАД наиболее устойчивы в буферном растворе с pH 3,5.

Литература

1. Maia, J. Insight on the periodate oxidation of dextran and its structural vicissitudes / J. Maia [et al] // Polymer.–2011.–No.52.–P.258-265.

Оценка состояния перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы при остром отравлении азалептином

¹УО «Минский государственный медицинский колледж», Минск, Республика Беларусь

²УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Республика Беларусь

³УЗ «10-ая городская поликлиника», Минск, Республика Беларусь

Интенсивная терапия острых экзогенных отравлений, помимо максимально быстрого выведения яда из организма и поддержания функций систем жизнеобеспечения, должна включать и меры по предотвращению и снижению гипоксических повреждений, среди которых особое место отводится процессам перекисного окисления липидов (ПОЛ) и системе антиоксидантной защиты. Повышение содержания продуктов перекисного окисления липидов приводит к накоплению токсических продуктов, которые ослабляют барьерную функцию биомембран, нарушают нормальную жизнедеятельность клетки, а также всего организма в целом.

Процесс ПОЛ является универсальным не специфическим патогенетическим звеном в развитии многих заболеваний, поэтому лабораторные данные о содержании продуктов перекисного окисления липидов в биологических объектах может нести в себе информацию о глубине и степени выраженности патологического процесса.

В последнее десятилетие хирургические методы детоксикации получили широкое распространение в интенсивной терапии острых отравлений кардиотоксическими препаратами. При этом, одним из важнейших компонентов эффективности применения сорбционных методов у пациентов с острыми отравлениями является состояние реакций ПОЛ и антиоксидантной системы. Последнее является основанием для изучения показателей свободно-радикального окисления липидов и антиоксидантной системы при проведении гемосорбции (ГС), плазма-сорбции (ПлС) или гемодиализа (ГД).

Целью настоящей работы явилось изучение состояния ПОЛ и антиоксидантной защиты (АОЗ) у больных с острым отравлением лекарственным препаратом азалептином.

Исследования продуктов ПОЛ и антиоксидантов проведены у 8 пациентов в возрасте от 26 до 48 лет в токсикогенной фазе отравления. Для изучения состояния системы ПОЛ определяли уровень содержания диеновых конъюгатов (ДК-233), диеновых кетонов (ДК-278) и малонового диальдегида (МДА) в плазме крови. Оценку состояния АОЗ

проводили на основании исследования содержания витаминов альфа-токоферола (Т) и ретинола (Р) в плазме крови.

Изменения содержания гидроперекисей липидов в плазме крови характеризовалось их существенным увеличением. Так, уровень ДК-233 был выше, чем в контрольной группе на 35,6% (исследуемая группа – 1,58 ед/мл, контрольная – 1,16 ед/мл), а количество ДК-278 достоверно повышено на 70,1% (0,148 ед/мл и 0,087 ед/мл, соответственно).

Наряду с увеличением содержания гидроперекисей липидов, отмечалось снижение уровня МДА у больных по сравнению с контрольной группой на 9,4% (5,72 мкмоль/л и 6,07 мкмоль/л, соответственно).

При анализе содержания витаминов в плазме крови, выявлено, что концентрация токоферола в 3,5 раза, а ретинола в 1,6 раза была снижена у больных по сравнению с контрольной группой. Соответственно, токоферол 5,82 мкмоль/л и ретинол 1,84 мкмоль/л, а контроль 20,23 мкмоль/л и 2,9 мкмоль/л.

Индексы окислительности, у отравленных больных, составили 0,27; 0,025; 0,86; 0,08 (соотношения ДК-233/Т; ДК-278/Т; ДК-233/Р; ДК-278/Р), а в контрольной группе 0,057; 0,004; 0,4; 0,03.

Выводы:

1. у больных с острым отравлением азалептином значительно снижена антиоксидантная защита, особенно отмечается дефицит альфа-токоферола;

2. процессы липопероксидации по отношению к антиоксидантам увеличены у больных в 4,7; 0,6; 2,1; 2,6 раза по сравнению с контрольной группой.

Полученные результаты служат патогенетическим обоснованием для включения витаминов - антиоксидантов в комплексную интенсивную терапию острых отравлений азалептином, которые способствуют снижению перекисного окисления липидов клеточных мембран.

*Прохорова В.И., Красный С.А., Державец Л.А., Цырусь Т.П.,
Грачев Ю.Н., Готько О.В., Грицкова О.А.*

**Информативная значимость факторов роста VEGF и EGF при
опухолевой прогрессии глиальных опухолей головного мозга**
РНПЦ Онкологии и медицинской радиологии им Н.Н. Александрова,
Минск, Республика Беларусь

Повышенный уровень экспрессии факторов роста наблюдается у онкологических пациентов различных локализаций, причем увеличение их сывороточной концентрации указывает на пролиферативную активность опухоли.

Цель – оценить информативную значимость факторов роста при прогрессировании глиальных опухолей головного мозга на дотерапевтическом этапе.

Материалы и методы. Исследование факторов роста VEGF и EGF проведено в сыворотке крови методом ИФА у 20 здоровых лиц и 72 пациентов с глиальными опухолями. У 39 пациентов диагностированы глиобластомы, у 28 – астроцитомы, у 5 – олигоастроцитомы. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. У пациентов с глиальными опухолями полученные данные свидетельствуют об уровне медианы ангиогенного фактора роста VEGF равной 227,8 пг/мл, нижний квартиль при этом равен 131,3 пг/мл, верхний квартиль составил 306,7 пг/мл, а в группе пациентов без онкологической патологии медиана равна 191,7 пг/мл, нижний квартиль – 142,7 пг/мл, верхний квартиль – 300,6 пг/мл. В группе пациентов с глиальными опухолями наблюдался значительный разброс данных. Максимальная концентрация VEGF у пациентов с глиальными опухолями достигала уровня 1020,0 пг/мл. Минимальная концентрация VEGF при этом достигала уровня 56,7 пг/мл. В контрольной группе данный показатель не превышал 373,6 пг/мл и минимальное значение его было равно 12,2 пг/мл.

Исследование эпидермального фактора роста EGF у пациентов с глиальными опухолями установило медиану равную 88,5 пг/мл, нижний квартиль – 61,4 пг/мл, верхний квартиль 163,0 пг/мл, что значимо выше ($p_{\text{Mann-Whitney}} < 0,001$), чем в группе клинически здоровых лиц без онкологической патологии, медиана которых составляла 15,3 пг/мл, нижний квартиль 10,5 пг/мл, верхний квартиль – 21,3 пг/мл. Максимальное значение EGF у онкологических пациентов с глиальными опухолями головного мозга достигало 257,6 пг/мл, а в группе клинически здоровых лиц данный показатель не превышал 50,3 пг/мл.

Важным прогностическим показателем у пациентов с глиальными опухолями является степень злокачественности опухоли. В зависимости от степени злокачественности опухолевого процесса у пациентов с глиальными опухолями выявлена значимая взаимосвязь содержания фактора роста VEGF ($\tau_{\text{Kendall}}=0,36$, $p < 0,003$). Анализ полученных результатов позволил установить, что уровень фактора роста EGF ($\tau_{\text{Kendall}}=0,05$, $p < 0,273$) у пациентов с глиальными опухолями головного мозга в зависимости от степени злокачественности имеет стойкую тенденцию к повышению, но статистическая значимость на данном этапе исследования не достигнута.

Выводы:

1. в результате исследований отмечена тенденция к увеличению концентрации ангиогенного фактора роста VEGF и эпидермального фактора роста EGF ($p_{\text{Mann-Whitney}} = <0,001$) у пациентов с глиальными опухолями головного мозга относительно клинически здоровых лиц;
2. полученные результаты свидетельствуют о возможности применения фактора роста VEGF ($\tau_{\text{Kendall}}=0,36$, $p<0,003$) в качестве прогностического критерия прогрессирования глиальных опухолей.

Pushkarev Yu., Saitarly S., Kravchenko I.

The influence of hyaluronic acid molecular mass on the rheological properties of bases for soft dosage forms

Odessa Polytechnic State University, Odessa, Ukraine

Hyaluronic acid (HA) is a biologically active extracellular elastic material. It fills the space between cells and collagen fibers, covers the epidermal tissues, protects and lubricate cells, stabilizes the collagen network and protects it from mechanical damage. It is the main lubricant in the tendons and on the surface of the synovial membrane, and also it is a factor contributing to the rheological mechanics of tissues. Mixtures of HA with different molecular weight are used for the effective treatment of various types of diseases and the manufacture of medical preparations.

The aim of the present research was to establish the influence of the HA molecular parameters on the rheological and structural-mechanical properties of its aqueous solutions. For this purpose, the rheological characteristics of low molecular weight hyaluronic acid (LMW-HA) solutions with molecular weight $M=8 \cdot 10^3 \text{ Da}$ and high molecular weight hyaluronic acid (HMW-HA) with molecular weight $M=1,15 \cdot 10^6 \text{ Da}$ (Truthful Concepts and Nutritional Integrity, USA) and mixtures thereof with the calculated average values $M=1 \cdot 10^4 \dots 3,9 \cdot 10^4 \text{ Da}$ were studied. The study of the solutions viscosity in the concentration range of 0.0156 to 1 % by weight was performed on a rotational viscometer "Rheotest-2". The study of the rheological dependences between the viscosity and shear rate of 1% HMW-HA solutions along with its LMW-HA mixtures was carried out within the ratio of HMW/LMW acids 80/20 $\rightarrow$ 20/80 at a temperature of 20–35 °C.

The forces of intermolecular interaction in hyaluronic acid dilute solutions are very weak, so the formation of fluctuation networks is not observed. The introduction of HMW-HA with long macromolecular chains into the LMW-HA solution increases the viscosity of solutions and determines the point of critical concentration, above which the viscosity increases sharply.

Compared to dilute HA solutions, which exhibit properties close to Newtonian fluids, moderately concentrated HA solutions are capable of forming gel-like structures with a certain ultimate shear stress value.

The value of HA molecular weight has decisive influence on ultimate shear stress value of such structures. For 1% HMW-HA solution with $M=1,15 \cdot 10^6$ Da this value 9,3 Pa. Increasing in the content of LMW-HA in the mixture of solutions from 20 % ($M_a=35412$ Da) to 60 % ($M_a=12568$ Da) ultimate shear stress decreases to 1.4 Pa. Fluctuation networks of gel structures from 1% solutions are destroyed as a result of exposure to temperature and shear stresses exceeding their ultimate shear stress, so the system goes over to a viscous flow. Mixture containing of LMW-HA up to 40% ($M_a=19240$ Da) exhibit properties of structured systems. Increasing in the content of LMW-HA up to 60% and more ($M_a=12680$ Da) the nature of their flow is more and more approaching Newtonian fluids. The values of the structural and plastic constituents of viscosity are calculated, and the effect of temperature and shear rate on the change in their ratio is determined.

Conclusions:

- 1) aqueous solutions of HMW-HA with a concentration of 1% are capable of forming fluctuation networks in gel-like structures characterized by ultimate shear stress of up to 9.3 Pa. The introduction of LMW-HA ($M=8 \cdot 10^3$ Da) into HMW-HA solution ($M=1,15 \cdot 10^6$ Da) leads to a weakening of the intermolecular forces and the strength of fluctuation networks;
- 2) fluctuation networks are not formed due to weak intermolecular interactions in LMW-HA solution with short molecular chains at a concentration of 1%;
- 3) weak fluctuation networks formed in HMW-HA solutions and its mixtures with LMW-HA are easily destroyed under the action of temperature and shear stresses exceeding their ultimate shear stress.

Ржеусский С.Э.¹, Степин С.Г.¹, Дикусар Е.А.², Манькова Ю.С.¹

Синтез и исследование антимикробной и противовирусной активности подметилата 4-бензилпиридина

¹УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Витебск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт физико-органической химии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Производные пиридина проявляют: противомикробную, антибактериальную, анальгетическую, антипаркинсоническую, противосудорожную, противоопухолевую, цитотоксическую, противомаларийную,

противодиабетическую и другие виды биологической активности. Лекарственные средства, содержащие пиридиновый фрагмент используют для лечения туберкулеза, ишемического инсульта, болезни Альцгеймера, паралича Белла, болезни Хантингтона, мигрени, множественных склерозов и болезни Паркинсона [1]. Доступным исходным для синтеза лекарственных средств является 4-бензоилпиридин, производные которого проявляют противосудорожное и противоэпилептическое действие [2].

Цель настоящей работы заключалась в синтезе и исследовании бактерицидной, противогрибковой и антивирусной активности потенциального лекарственного средства иодметилата 4-бензоилпиридина.

Материалы и методы исследования. ИК-спектры записывали на ИК-Фурье спектрометре фирмы Thermo Scientific Nicolet iS 10 в таблетках калия бромиды. Иодметилат 4-бензоилпиридина синтезирован кипячением эквимольных количеств 4-бензоилпиридина с иодметаном в растворе этанола.

Антивирусную активность изучали на монослойных культурах первичных клеток эмбрионов кур и на пассивируемых кожно-мышечных клетках эмбриона человека. Определению количественных характеристик противовирусного эффекта предшествовало нахождение максимально переносимой концентрации (МПК) для тканевых культур.

Испытания антимикробной активности проводили методом двукратных последовательных разведений, с последующим высеванием на агар.

Результаты и обсуждение. Иодметилат 4-бензоилпиридина образуется практически с количественным выходом и представляет собой желтые кристаллы с т. пл. 181-182°C, хорошо растворимые в воде.

Иодметилат 4-бензоидпиридина проявил антивирусную активность против РНК- и ДНК-содержащих вирусов: герпес простой 1 типа (+), Венесуэльский энцефаломиелит лошадей (+), бешенство (++), осповакцина (++), рота (+++), энтеровирус ЕСНО 6 (+++). МПК 200 мкг/мл. Препарат оказался неактивен к вирусам гриппа и парагриппа.

Установлено, что исследуемое вещество обладает антимикробной активностью по отношению к *Staphilococcus aureus* и *Echerichia coli*. Показано, что минимальная подавляющая концентрация для этих микроорганизмов составляет 0,25%. Минимальную бактерицидную концентрацию установить не удалось, поскольку если она есть, то превышает рабочую концентрацию раствора 1%.

Определено, что исследуемое вещество не обладает антимикотической активностью.

Заключение. Взаимодействием 4-бензоилпиридина с иодметаном синтезирован иодметилат 4-бензоилпиридина. Исследована его анти-микробная, противогрибковая и антивирусная активность. Установлено, что иодметилат 4-бензоилпиридина проявляет бактерицидную и антивирусную активность, является потенциальным лекарственным средством и доступным предшественником для синтеза новых потенциальных лекарственных средств.

Литература

1. Лукевич, Э. Производные пиридина в арсенале лекарственных средств (обзор) / Э. Лукевич // Хим. гетероцикл. соед. – 1995. – № 6. – С. 723–734.
2. Синтез и противосудорожная активность производных оксимов 3- и 4- бензоилпиридинов / Л.А. Жмуренко [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2018. – Т. 52. - № 1. – С. 19 – 28.

Рутковская Ж.А., Котович И.Л., Таганович А.Д.

Изменения показателей системы «оксиданты-антиоксиданты» в эритроцитах новорожденных морских свинок в динамике гипероксии

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Одной из актуальных проблем современной неонатологии является выхаживание недоношенных детей с экстремально низкой массой тела с использованием длительной искусственной вентиляции легких (ИВЛ) с высоким содержанием кислорода во вдыхаемой смеси. Использование высоких доз кислорода создает предпосылки для «окислительного стресса», который служит одним из факторов повреждения тканей легкого и развития бронхолегочной дисплазии у ребенка. Патологическое влияние гипероксии не ограничивается только бронхолегочной системой, поскольку у недоношенных детей часто развиваются и другие осложнения (ретинопатия, внутримозговые кровоизлияния и др.). В качестве связующего звена здесь очевидна роль эритроцитов, которые, с одной стороны, сами подвержены действию АФК, с другой – осуществляют газообмен между легкими и остальными органами и тканями.

Целью данного исследования явилось выяснить возможность повреждения эритроцитов в динамике гипероксии.

В эксперименте использовали новорожденных морских свинок, которые содержались в условиях гипероксии в течение 1, 3, 7 и 14 суток. Животные контрольной группы дышали обычным воздухом. По окончании инкубации животных обеих групп наркотизировали тиопенталом натрия (15 мг/кг интраперитонеально) и получали кровь для ис-

следования. Кровь использовали для определения осмотической резистентности эритроцитов (ОРЭ). В отмытых эритроцитах спектрофотометрически определяли содержание гемоглобина, продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активных продуктов), восстановленного глутатиона (G-SH), активность глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР), супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы (Гл-6-ф-ДГ).

Кратковременное воздействие гипероксии в течении 1 и 3 суток не оказывало значимого влияния на оксидантно-прооксидантный статус эритроцитов, так не выявлено достоверного изменения изучаемых показателей. После недельной инкубации в условиях гипероксии в эритроцитах резко возрастает активность СОД в 2,1 раза ($p < 0,05$), в то время как активность других антиоксидантных ферментов не изменяется. У животных этой группы также увеличивается содержание ТБК-активных продуктов в 1,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с интактными животными. При более длительной инкубации (в течение 14 суток) в эритроцитах снижается активность практически всех антиоксидантных ферментов: каталазы - в 2,5 раза, ГП - в 1,3 раза, а ГР - в 2,5 раза (для всех показателей $p < 0,05$) по сравнению с контролем. Одной из причин может быть недостаток коферментов, необходимых для их работы. ГР активно работает только при наличии в клетке достаточного количества восстановленного НАДФН⁺, образование которого зависит от активности Гл-6-ф-ДГ. Установлено, что при длительном воздействии гипероксии активность этого фермента снижается в 1,7 раза ($p < 0,05$). На фоне снижения активности антиоксидантных ферментов у животных, которые подверглись длительному воздействию гипероксии в эритроцитах возросло содержание ТБК-активных продуктов.

Полученные результаты свидетельствуют, что длительная гипероксия ведет к нарушению функционирования антиоксидантных систем эритроцитов и повреждению их продуктами свободнорадикального окисления. Этот факт подтверждается изменением такого важного показателя функциональной способности эритроцитов, как осмотическая резистентность (ОРЭ). С увеличением сроков содержания животных в среде с высоким содержанием кислорода снижается осмотическая резистентность эритроцитов. У здоровых животных в растворе с концентрацией 0,45% NaCl разрушалось 23,71% эритроцитов. После двухнедельной инкубации новорожденных в условиях гипероксии в растворе с концентрацией 0,45% NaCl разрушалось уже 86,39% всего эритроцитарного пула, что свидетельствует об очень низкой устойчивости эритроцитарной мембраны.

Учитывая важнейшую роль эритроцитов для газообмена всех органов и тканей, можно предположить, что выявленные изменения лежат в основе системного повреждения вследствие вдыхания смеси с высоким содержанием кислорода.

Рябцева Т.В., Таганович А.Д., Макаревич Д.А.

Молекулярное моделирование олигопептидов для связывания фактора некроза опухолей-альфа

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Семейство фактора некроза опухолей включает ФНО- α , ФНО- β , мембранные рецепторы ФНО-R1 (CD120a, 55 кДа), ФНО-R2 (CD120b, 75 кДа) и их растворимые формы. С гиперпродукцией молекул семейства ФНО связывают развитие бактериально-токсического шока, что проявляется соответствующей клинической картиной (снижение кровяного давления, лихорадку, диарею, тромбоз сосудов) [1]. Моделирование биомолекул *in silico* становится все более популярным направлением исследований. С помощью методов молекулярного моделирования можно получить предварительную информацию о возможных способах специфического связывания молекулы-мишени, что позволит сократить финансовые и временные расходы на создание новых фармакологических препаратов [2]. Одним из подходов лечения данного состояния является разработка способов инактивации и/или элиминации молекулы ФНО α с помощью специфических синтетических олигопептидов.

Целью данного исследования являлся анализ структурно-функциональных особенностей взаимодействия ФНО α с олигопептидами-аналогами участков взаимодействия ФНО α с его растворимым рецептором ФНО-R2.

Метод. Для анализа использовали pdb-файл 3ALQ. Визуализацию молекулярного комплекса и работу с pdb-файлом проводили с помощью программного обеспечения Chimera 1.14 с утилитой AutoDocVina. Всего было сконструировано и проанализированы особенности взаимодействия 42 олигопептидов с ФНО α , из них 15 дипептидов, 14 трипептидов и 13 тетрапептидов. Анализ взаимодействия каждого из олигопептидов проводили и с мономером (мФНО α), и с тримером (трФНО α) ФНО α . Результаты исследований обрабатывали непараметрическими методами статистики с использованием пакетов Statistica10.0.

Результаты. Анализ пространственной структуры комплекса ФНО α

с ФНО- α 2 показал наличие межмолекулярных водородных связей, между Trp⁶⁷ ФНО- α 2 и Ser⁸⁶ ФНО- α , Cys⁷¹ ФНО- α 2 и Ala³³ ФНО- α . На основе аминокислотной последовательности -Gln⁶³-Leu⁶⁴-Trp⁶⁵-Asn⁶⁶-Trp⁶⁷-Val⁶⁸-Pro⁶⁹-Glu⁷⁰-Cys⁷¹-Leu⁷²-Ser⁷³-Cys⁷⁴-Gly⁷⁵-Ser⁷⁶-Arg⁷⁷-Cys⁷⁸ - в цепочке Т белка ФНО- α 2 были сконструированы ди-, три- и тетрапептиды, молекулы предположительно обладающие связывающей активностью по отношению к молекуле ФНО α . Среди дипептидов наилучшие показатели энергии связывания как с мФНО α , так и с трФНО α показали дипептиды Trp-Asn, Asn-Trp, Trp-Val. Наименее эффективное - Cys-Gly, Gly-Ser, Ser-Cys. Среди трипептидов более эффективными энергиями связывания с мФНО- α обладают Trp-Asn-Trp, Leu-Trp-Asn, Gln-Leu-Trp, с трФНО- α - Trp-Val-Pro, Trp-Asn-Trp, Gly-Ser-Arg. Наименее эффективные с мФНО- α - Ser-Arg-Cys, Ser-Cys-Gly, Cys-Gly-Ser, с трФНО- α - у Val-Pro-Glu, Cys-Leu-Ser, Glu-Cys-Leu. Среди тетрапептидов более эффективными энергиями связывания с мФНО- α обладают Gln-Leu-Trp-Asn, Leu-Trp-Asn-Trp, Trp-Asn-Trp-Val, с трФНО- α - Gln-Leu-Trp-Asn, Leu-Trp-Asn-Trp, Trp-Asn-Trp-Val. Наименее эффективные с мФНО- α - Ser-Cys-Gly-Ser, Cys-Gly-Ser-Arg, Gly-Ser-Arg-Cys, с трФНО- α - Ser-Cys-Gly-Ser, Cys-Gly-Ser-Arg, Gly-Ser-Arg-Cys. Статистический анализ полученных данных показал, что олигопептиды, содержащие в своем составе аминокислотный остаток - Trp- являются наиболее энергетически эффективными, так как характеризуются наименьшей энергией взаимодействия ($p < 0,05$). При взаимодействии олигопептидов с мФНО α наблюдали увеличение эффективности связывания при увеличении количества аминокислотных остатков в цепи. При взаимодействии с трФНО α такой зависимости не наблюдали. Анализ разницы в энергии связывания ди-, три- и тетрапептидов показал статистически значимую разницу при исследовании их связывания с мФНО α , при связывании с трФНО α обнаруженные различия были статистически не значимы.

Таким образом, из 42 олигопептидных аналогов центра взаимодействия ФНО- α 2 с ФНО- α , учитывая результаты виртуального докинга и значение свободной энергии связывания, выбрали три олигопептида (Trp-Asn-Trp, Trp-Val-Pro, Trp-Asn-Trp-Val), которые являются наиболее перспективными для химического синтеза с целью оценки их эффективности *in vitro*.

Литература

1. Idriss H.T., Naismith J.H. TNF α and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s) / Microscopy research and technique, 2000, V.50, p.184-195

2. Zoete V., Grosdidier A., Michielin O.J. Docking, virtual high through put screening and in silico fragment-based drug design.// Cellular and Molecular Medicine. 2009. V. 13. P. 238–248.

Саваневская Е.Н., Чумак А.Г.

Активность афферентных волокон висцеральных и соматических нервов в условиях гипергликемии

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Гипергликемия сопровождается не только диабет 1 и 2-го типа [Laffitte et al., 2020], но может встречаться и при нарушениях питания или углеводного обмена. Механизмы контроля интерстициального уровня глюкозы, т.е. механизмов ее сенсорной рецепции в межклеточном пространстве органов, остаются скудно изученными. В литературе появляются сообщения о широком распространении в тканях так называемых «экстраоральных» рецепторов глюкозы [Murovets et al., 2019]. Афферентные пути передачи сигналов от них в центральную нервную систему установлены лишь для немногих из них.

Цель – электрофизиологически определить возможность активации внутривенно введенной глюкозой афферентных проводников в составе большого ушного, седалищного и брюшноаортального нервов в условиях модельной гипергликемии.

Материалы и методы. Для эксперимента были использованы 14 белых лабораторных крыс массой 150–250 г. Применяли уретановый наркоз (1г/кг) в разведении 1 мг/мл внутрибрюшинно. Регистрацию афферентной импульсации осуществляли в большом ушном, седалищном, брюшноаортальном нервах. Большой ушной нерв извлекали путем рассечения кожных покровов в области под ушной раковиной. Доступ к ветвям седалищного нерва достигался смещением поверхностной ягодичной мышцы. Нервные ветви брюшноаортального сплетения отпрепаровывались на вентральной поверхности брюшной аорты после ограниченной лапаротомии. Все предназначенные для регистрации нервные ответвления перерезались, для регистрации афферентных проводников лигатура накладывалась с периферического конца. На биполярном хлорсеребряном электроде под вазелиновой замазкой располагали отпрепарованные нервы. Активный и заземляющий электроды подключали к усилителю комплекса «Нейрон-Спектр 4» (Нейрософт, Россия).

Для создания гипергликемии осуществлялось введение в бедренную вену 1 мл водного раствора глюкозы комнатной температуры (ООО «Белмедпрепараты») массовой долей 20% (235 г/л) [Люзина и др,

2009]. Фоновый уровень импульсации определялся после введения 1 мл изотонического раствора NaCl.

Регистрация амплитуды и частоты импульсации осуществлялась в течение 2 ч. Достоверность различий определяли с помощью методов параметрической и непараметрической статистики ($p=0,05$).

Результаты. В ходе исследования было выявлено, что характеристики импульсации большого ушного и седалищного нервов не претерпевали достоверных изменений после интравенозной инъекции 20%-ного раствора глюкозы. Подобное отсутствие динамики, вероятно, может указывать на слабую выраженность глюкорецепторных свойств у нервных окончаний соматических афферентных волокон, либо на скудную их порцию в составе указанных нервов, не позволяющую зарегистрировать положительную реакцию на глюкозу.

При анализе афферентной активности, зарегистрированной от волокон брюшноаортального нерва, после внутривенного введения растворенной глюкозы, были обнаружены значимые сдвиги амплитуды и частоты импульсации. Реакция волокон брюшноаортального нерва выражалась в росте амплитуды регистрируемого сигнала. Внутривенной инъекции раствора моносахарида сопутствовало увеличение средней амплитуды импульсов от $18,8 \pm 2,3$ до $27,3 \pm 2,7$ мкВ ($p < 0,05$). Оно происходило уже через 2–3 с после введения и достигло максимума в $39,9 \pm 4,9$ мкВ уже на первой минуте записи и сохранялось более двух часов. Кроме того, наблюдался небольшой, но значимый рост значений частоты афферентной активности с $15,2 \pm 0,5$ имп./с в контроле до $18,4 \pm 2,4$ имп./с ($p < 0,05$) через 3–4 с после инъекции.

Заключение. Таким образом, внутрисосудистая инъекция 1 мл 20%-ного раствора глюкозы сопровождалась длительным значимым приростом амплитуды и частоты импульсации брюшноаортального нерва, что может свидетельствовать вовлеченности идущих в его составе афферентных проводников в рецепцию глюкозы в интерстициальном пространстве. В отличие от него, для седалищного и большого ушного нервов изменений в характере импульсации при внутривенном введении раствора глюкозы выявлено не было.

Исследование зависимости физических свойств водных растворов от концентрации базовых веществ

ФГБУН «Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН», Фрязино, Российская Федерация

Физические свойства водных растворов фармакологических препаратов во многом определяют их лечебное действие. В последнее время все большее применение находят фармакологические препараты, базирующиеся на высоком и сверхвысоком разведении базовых лекарственных веществ. Примером таких эффективных лекарств может служить препарат «Анаферон», содержащий антитела к гамма-интерферону в пропорции 10^{-15} к лактозе, веществу-наполнителю препарата. Однако механизм действия таких препаратов, содержащих базовое вещество в столь низких концентрациях, не ясен. В связи с этим вырисовывается задача, по каким физико-химическим критериям оценивать отличие водных растворов высоких и сверхвысоких разведений веществ от чистой воды, и какие свойства являются фармакологически определяющими.

Цель работы – определение физических параметров водных растворов, вариацию которых можно зафиксировать в зависимости от концентрации базового вещества при высоком и сверхвысоком разведениях.

Материалы и методы. В работе в качестве базовых веществ использовались:

1. Сульфат лития Li_2SO_4 , «Особо чистый», СТП ТУ КОМП 3-088-09.
2. Сульфат натрия Na_2SO_4 , «Особо чистый», ГОСТ 11125-88.
3. Сульфата калия K_2SO_4 , «Особо чистый», ГОСТ 24147-87.
4. Сульфата цезия Cs_2SO_4 , «Особо чистый», СТП ТУ КОМП 3-47857.

Для получения растворов веществ с их последующими разведениями использовалась вода 1 класса чистоты, которая имела сопротивление 17,5 Мом/см при 20С на момент получения, полученная на ионообменнике Aquapur MLW, VEB MLW LABORTECHNIK 85005, ILMENAU, Германия. Данная вода перед применением в эксперименте хранилась 24 часа в стеклянной банке с закрытой крышкой.

Образцы растворов базовых веществ приготавливались путем последовательного получения сотенных разведений. Первоначально приготавливалось разведение С1 (1:100) во флаконе 200мл. Далее флакон с полученным образцом потенцировался (перемешивался) в течении 60 секунд с помощью лабораторного встряхивателя THYS 2 MLW, Medizin-u, LABORTECHNIK Nr. 72 375, Leipzig, Германия. Частота встряхивания 10 Гц, амплитуда 100 мм, время встряхивания 60 се-

кунд. Потенцирование во встряхивателе проводилось вдоль вертикальной оси флакона. Далее, в другой флакон с водой в количестве 198 мл добавлялся раствор С1 в количестве 2 мл и проводилось потенцирование по методике аналогичной описанной выше, в результате получался раствор С2 (1:100:100). Последующие образцы растворов, С3 – С15, готовились аналогично. В работе исследовались растворы указанных базовых веществ с нормальным (С1 – С3), высоким (С4 – С12) и сверхвысоким (С13 – С15) разведением.

Результаты. Полученные результаты показывают значимое отличие значений коэффициентов поглощения исследуемых растворов электролитов от воды. Коэффициенты поглощения растворов имеют значения ниже, чем в контрольном эксперименте с чистой водой.

Однако монотонность повышения коэффициентов поглощения различается в зависимости от базового вещества. Так для растворов сульфата лития значение коэффициента поглощения наблюдается до разведения С12, для сульфата натрия до С13, сульфатов калия и цезия до С14. Увеличение коэффициентов поглощения для указанных значений разведения веществ показывает, что основным механизмом изменения физических свойств ЭМИ растворов является изменение диэлектрической проницаемости растворов. То есть, в сильно разбавленных растворах электролиты диссоциированы полностью и основной вклад в увеличение коэффициента поглощения и радиояркостной температуры вносит изменение концентрации молекул базового вещества.

Выводы. Проведенные в работе эксперименты впервые показали принципиальную возможность физическими методами установить различие свойств водных растворов веществ при высоких и сверхвысоких разведениях. Установлен эффект монотонного повышения значения коэффициента поглощения растворов электролитов вплоть до значений разведений, определяемых размером диссоциированных ионов и их подвижностью.

Индивидуальный характер изменения значений коэффициентов поглощения растворов сверхвысокого разведения используемых в работе веществ показывает, что данный метод можно использовать для решения задачи об определении базового вещества с помощью измерения радиотеплового излучения растворов в мм диапазоне длин волн при условии создания библиотеки значений физических свойств водных растворов веществ.

Работа выполнена в рамках госзадания ИРЭ им. В.А. Котельникова РАН.

Параметры респираторной активности митохондрий печени крыс при воздействии хлорноватистой кислоты в присутствии кверцетина и его комплекса с 2-гидроксипропил- β -циклодекстрином

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

Флавонолы являются наиболее распространенными представителями флавоноидов в природе, в высоких концентрациях присутствуют в диете человека, способны модулировать митохондриальный биогенез, формирование пор высокой проницаемости в митохондриях, мембранный потенциал, респираторную активность, кальциевый гомеостаз митохондрий.

Хлорноватистая кислота (НОСІ) – важнейший медиатор воспалительных повреждений тканей. При некоторых патологических состояниях наблюдается возрастание локальной концентрации НОСІ в ткани до 200 мкМ. НОСІ синтезируется миелопероксидазой нейтрофилов, путем диффузии проникает внутрь клеток, где вызывает модификацию белков, образуя хлорамины и хлортирозины. НОСІ в отличие от активных форм кислорода не является субстратом для ферментов антиоксидантной системы, следовательно инактивацию её воздействия осуществляют другие клеточные системы.

Цель – изучить влияние кверцетина и комплекса кверцетин-гидроксипропил- β -циклодекстрин (НР- β -CD) на респираторную активность митохондрий печени крыс при воздействии НОСІ.

Материалы и методы исследования. Митохондрии выделяли, используя метод дифференциального центрифугирования [1]. Дыхание митохондрий регистрировали полярографически [2].

Результаты. Внесение в суспензию митохондрий НОСІ в концентрации 150 мкМ индуцирует выраженное нарушение дыхательной активности митохондрий. НОСІ вызывает незначительное увеличение скорости субстрат-зависимого дыхания (V_2) и существенно снижает скорость потребления кислорода, сопряженного с фосфорилированием (V_3), при использовании сукцината в качестве субстрата энергизации митохондрий. Это приводит к уменьшению коэффициента акцепторного контроля (АК) и коэффициента фосфорилирования (АДФ/О). При этом кверцетин и комплекс кверцетин-НР- β -CD оказали значительный протекторный эффект на параметры респираторной активности митохондрий. Кверцетин оказался более эффективным в липидном бислое – вероятно, гидрофобность является ключевым фактором в предотвращении НОСІ-индуцированного повреждения в мембране митохондрий.

Выводы. Индуцируемый HOCl (150 мкМ) окислительный стресс в митохондриях вызывает ряд изменений, что сопровождалось нарушением параметров дыхания митохондрий (V_2 , V_3 , АК) при использовании сукцината в качестве субстрата дыхания. Нарушение параметров митохондриального дыхания при действии HOCl может быть обусловлено окислением белковых тиоловых групп и повреждением комплексов электрон-транспортной цепи, снижением активности ферментов цикла трикарбоновых кислот.

Известно, что гипохлорная кислота вызывает окислительные повреждения клеточных белков и мембран, включая окисление сульфгидрильных групп, формирование хлоргидринов жирных кислот и холестерина. Об участии свободных жирных кислот в разобщающем эффекте HOCl, которые образуются в присутствии HOCl в результате гидролиза фосфолипидов митохондриальных мембран, свидетельствует характер воздействия этого соединения на величину АДФ/О и дыхательного контроля митохондрий. Кверцетин предотвращает ингибирование дыхательной активности митохондрий при HOCl-индуцированном повреждении. Таким образом, кверцетин, известный антиоксидант, может инактивировать окислительное воздействие HOCl.

Литература

1. Johnson, D. Isolation of liver or kidney mitochondria / D. Johnson, H. A. Lardy // *Methods in Enzymology*. – 1967. – Vol. 10. – P. 94–101.
2. Oxygen-related processes in red blood cells exposed to tert-butyl hydroperoxide / I. K. Dremza [et al.] // *Redox Report*. – 2006. – Vol. 11, № 4. – P. 185–192.

Садовничук М.Д., Скоробогатова А.С.

Элементный состав периферической крови человека в зависимости от пола

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
Минск, Республика Беларусь

Роль химических элементов в физиологической деятельности организма и поддержании здоровья человека, несомненно, велика. Макро- и микроэлементы участвуют во всех основных процессах, протекающих в организме, поскольку входят в состав гормонов, витаминов, ферментов [1, 4]. Несмотря на то, что исследования их роли ведутся уже давно, в настоящий момент не существует конкретного представления о физиологической значимости многих нутриентов и о количественном содержании их в различных средах организма в норме и патологии, а существующие сведения слабо систематизированы. Одной из серьезных проблем элементной оценки статуса организма является

разработка критериев нормы, так как содержание различных элементов в биологических жидкостях зависит от ряда параметров, среди которых не последнее место занимает биогеохимическая провинция проживания [2]. Таким образом, для более полной оценки элементного статуса населения различных регионов необходимым представляется разработка собственных значений нормы для различных групп.

Целью работы являлась оценка содержания эссенциальных элементов в периферической крови потенциально здоровых доноров.

Эксперименты проведены на периферической крови доноров в консерванте гепарин. Анализ элементного состава выполнен методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой на приборе ICPE-9000 (Shimadzu, Япония) [3], статистический анализ проводился при помощи программы Statistica 10.

Проведен анализ цельной крови 69 доноров разного пола и возраста. В группу анализа включены 28 образцов женской крови и 41 образец мужской. В каждом образце определяли содержание следующих элементов: кальций, железо, калий, магний, натрий, цинк, литий, фосфор, селен. Было проведено сравнение содержания данных элементов в группах мужчин и женщин.

Было обнаружено, что в образцах крови женщин содержание всех элементов за исключением калия статистически значимо ($p > 0.05$) превышает их содержание в крови мужчин. При этом диапазон размаха и значения min/max в группах содержания исследуемых элементов сильно колебались. Так, например, в группе мужчин диапазон содержания натрия в крови составил 497,3 - 3126,6 мг/л, а в группе женщин - 849,35 - 2807,21 мг/л. Наименьший размах содержания элементов в цельной крови был обнаружен для селена (1,01 - 3,99 мг/л у женщин; 0,25 - 1,89 мг/л у мужчин). Полученные нами данные позволяют сделать вывод о существующем большом индивидуальном различии содержания элементов в организме человека.

Обнаруженные нами различия содержания ряда элементов можно объяснить существующими физиологическими особенностями, гормональным фоном, уровнем поступления нутриентов в организм, а также с воздействием условий окружающей среды. Все это указывает на необходимость проводить всесторонний и более полноценный анализ образа жизни при разработке критериев нормирования таких показателей, как содержание элементов в различных биологических средах организма человека.

Литература

1. Авцын А.П. Микроэлементозы человека (этиология, классификация, органопатология)/ А.П. Авцын, А.А. Жаворонков, М.А. Риш и др. – М.: Изд-во КМК, 1991. – 223-227 с.

2. Биоэлементный статус населения Беларуси: экологические, физиологические и патологические аспекты / под ред. Н. А. Гресь, А. В. Скального. – Минск: Харвест, 2011. – 350 с.
3. Гресь, Н. Элементоз избытка алюминия : распространенность у населения клинические и биологические аспекты : монография / Н. Гресь, Е. Слобожанина, Е. Гузик. - Германия : LAP LAMBERT Acad. Publ., 2014. - 116 с
4. Ребров, В. Г. Витамины, макро- и микроэлементы / В. Г. Ребров, О. А. Громова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 8–16 с.

Седакова В.А., Клебанов А.В., Клебанова Н.А.

Короткоцепочечные жирные кислоты как маркёры метаболической активности кишечной микрофлоры

УО «Могилевский государственный университет имени А.А. Кулешова», Могилев, Республика Беларусь

Роль и биохимические функции короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), которые представляют собой конечные продукты метаболизма сахаро- и протеолитической микрофлоры кишечника и используются для интегральной оценки ее состояния, в последнее время широко обсуждается в научной литературе. К одним из наиболее перспективных направлений исследования КЦЖК является использование их качественного и количественного содержания как маркёра благополучия микрофлоры в желудочно-кишечном тракте.

Для определения возможности использования короткоцепочечных жирных кислот в качестве маркеров благополучия кишечной микрофлоры были проведены эксперименты по установлению особенностей спектров КЦЖК в зависимости от вида пищевых волокон в рационе питания экспериментальных животных в нормальном функциональном состоянии и при индуцированном дисбактериозе.

В качестве объектов исследования использовали стандарты КЦЖК, различные виды пищевых волокон: цитрусовый и яблочный пектин, льняную и яблочную клетчатку, фекалии и сыворотку крови экспериментальных животных (предоставлены ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси»). Основным методом исследования являлась капиллярная газожидкостная хроматография [1].

В результате проведенных нами исследований по изучению динамики накопления короткоцепочечных жирных кислот в зависимости от вида пищевой добавки к рациону экспериментальных животных установлено, что прием всех видов пищевых волокон приводит к изменениям в метаболическом профиле кишечной микрофлоры. Причем практически для всех видов добавок максимальные положительные либо отрицательные отклонения были зарегистрированы к 21 дню эксперимента

и далее наблюдалась тенденция к нормализации уровня кислот в биоматериале. По совокупности образуемых кишечной микрофлорой метаболитов максимальное положительное действие при кормлении экспериментальных животных оказывали цитрусовый пектин и льняная клетчатка. В меньшей степени изменения концентрации КЦЖК в исследованном материале отмечались при введении в рацион питания экспериментальных животных яблочного пектина и яблочной клетчатки, эффект от введения которых носил сходный характер.

Проведенные нами исследования позволяют заключить, что с точки зрения метаболической активности кишечной микрофлоры развитие дисбактериоза сопровождается отрицательными отклонениями уровня пропионовой кислоты, что косвенно свидетельствует об угнетении активности и численности нормофлоры. Исследование спектра КЦЖК при введении в рацион экспериментальных животных с индуцированным дисбактериозом различных пищевых волокон показало, что с точки зрения нормализации метаболической активности микрофлоры при дисбактериозе кишечника выраженным эффектом, отличным от других волокон, обладала льняная клетчатка. При приеме остальных видов изученных пищевых волокон (цитрусового и яблочного пектина, а также яблочной клетчатки) корректирующее действие по отношению к метаболической активности микрофлоры при дисбактериозе кишечника выражено в меньшей степени.

Таким образом, как в нормальном функциональном состоянии, так и при антибиотико-индуцированном дисбактериозе, введение в рацион питания экспериментальных животных всех изученных видов пищевых волокон способствовало повышению уровня масляной кислоты и снижению отрицательных отклонений уровня пропионовой кислоты в фекалиях, что свидетельствует о нормализации деятельности микрофлоры кишечника.

Литература

1. Способ качественного и количественного определения смеси короткоцепочечных жирных кислот фракции C2 – C6 в сыворотке крови методом газожидкостной хроматографии: заявка на изобретение а 20150526 (2015.11.02). Зарегистрирован в Государственном реестре изобретений Республики Беларусь №23300 / В.А. Седакова, А.В. Клебанов, А.Н. Осипенко, Н.А. Клебанова // Официальный бюллетень «Изобретения. Полезные образцы. Промышленные образцы. Топологии интегральных микросхем», 2021. - №1/2021. – С.64-65.

Семенкова Г.Н.¹, Адзерихо И.Э.², Яцевич О.Н.², Амазгбери Н.В.¹,
Новицкий И.А.¹, Лукьянова К.А.¹, Мащёнский В.В.¹,
Владимирская Т.Э.²

Участие нейтрофилов в формировании оксидативного стресса при легочной артериальной гипертензии

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

²ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Республика Беларусь

Легочная артериальная гипертензия (ЛАГ) является редким заболеванием, при котором происходит ремоделирование и неконтролируемая вазоконстрикция легочных сосудов. При этом развивается сердечная недостаточность, что приводит к преждевременной гибели пациентов [1]. Одним из важнейших факторов, способствующих развитию ЛАГ, является воспаление, в результате чего повреждаются сосуды и ткань легких. Одной из причин воспаления может быть возникновение оксидативного стресса, обусловленного гиперпродукцией активных интермедиатов [2]. Они образуются в очаге воспаления фагоцитами (преимущественно нейтрофилами) при активации супероксидгенерирующей НАДФН-оксидазы и миелопероксидазы (МПО), катализирующей образование главного микробицидного агента и источника свободных радикалов – HOCl [3]. Примечательно, что у пациентов с ЛАГ в легких выявлена высокая иммунореактивность в отношении МПО [4]. Однако участие нейтрофилов в патогенезе ЛАГ практически не исследовано.

Цель работы: изучить роль циркулирующих нейтрофилов в формировании оксидативного стресса при ЛАГ у крыс в экспериментальной модели *in vivo*.

Активные формы кислорода и хлора (АФКХ) регистрировали методом хемилюминесценции с применением ингибиторного анализа. Изменение мембранного потенциала митохондрий и уровня внутриклеточных цитозольных Ca^{2+} определяли с применением флуоресцентных зондов JC-1 и Fura 2-AM соответственно. Секрецию МПО из нейтрофилов оценивали по методике, описанной в [5]. ЛАГ индуцировали у крыс с помощью монокроталина (МКТ), как показано в работе [6].

Показано, что во временной динамике ЛАГ (2–8 недель), наблюдается модификация механизмов формирования «дыхательного взрыва» в нейтрофилах, благодаря чему происходит преактивация циркулирующих клеток и развивается оксидативный стресс. Это связано с нарушением Ca^{2+} -зависимых процессов внутриклеточной сигнализации, изменением вкладов НАДФН-оксидазы, МПО, циклооксигеназы 1/2 и

ФИЗК в генерацию АФКХ, снижением мембранного потенциала митохондрий и усилением секреторной дегрануляции. В результате происходит гиперпродукция высокотоксичной для клеток и тканей НОСІ под действием высвобождаемой из нейтрофилов МПО. Установлено, что наблюдаемые в динамике ЛАГ изменения функциональной активности нейтрофилов не связаны с непосредственным влиянием МКТ на свойства клеток.

Полученные результаты позволяют заключить, что формирование оксидативного стресса в МКТ модели ЛАГ у крыс происходит с участием нейтрофилов, о чем свидетельствует их праймирование уже в циркулирующей крови. Эти клетки усиленно генерируют АФКХ и секретируют МПО во внеклеточную среду, что приводит к гиперпродукции НОСІ.

Литература

1. M. Humbert, J. Lynch III, Pulmonary hypertension (Informa Healthcare, UK, 2009).
2. Y. Hu, L. Chi, W. Kuebler et al., Perivascular inflammation in pulmonary arterial hypertension, *Cells* **9**, 2338 (2020).
3. B. Babior, Phagocytes and oxidative stress, *Am. J. Med.* **109**, 33–44 (2000).
4. C. Tang, Y. Luo, S. Li, Characteristics of inflammation process in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats, *Biomed Pharmacother* **133**, 111081 (2021).
5. A. Kavalenka, G. Semenkova, S. Cherenkevich, Effects of hydrogen peroxide on neutrophil ability to generate reactive oxygen and chlorine species and to secrete myeloperoxidase in vitro, *Cell Tissue Biol.* **1** (6), 551-559 (2007).
6. И. Адзериho, О. Яцевич, Т. Владимирская, Д. Михневич, Морфологические изменения в динамике легочной артериальной гипертензии, индуцированной монокроталином в эксперименте *in vivo*, *Патологическая физиология и экспериментальная терапия* **64** (1), 60–66 (2020).

Сёмченко И.М., Пронорович О.Н. Макарова О.В.

Изучение нуждемости в стоматологической помощи детей и подростков с ограниченными физическими возможностями

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Стоматологическое здоровье человека – одна из важнейших составляющих не только общего здоровья, но и качества жизни, поскольку какие-либо проблемы зубочелюстной системы существенно влияют на физическое, психологическое и социальное благополучие индивидуума.

Для повышения уровня стоматологического здоровья детей и подростков необходимо выявить факторы развития основных заболеваний полости рта, а также разработать и внедрить комплексные программы профилактики и лечения стоматологических заболеваний. Диагностика, лечение и профилактика стоматологических заболеваний у

пациентов с нарушением опорно-двигательного аппарата требует дополнительных усилий и индивидуального подхода.

Цель исследования: на основании комплексного стоматологического обследования, изучения уровня гигиенических знаний и навыков, привычек ухода за полостью рта выявить наличие факторов риска здоровья полости рта и оценить нуждаемость детей инвалидов в стоматологической помощи.

Объекты и методы исследования: в «Республиканском реабилитационном центре для детей-инвалидов» обследованы 2 группы детей с двигательными нарушениями: 6-12 лет (142 человека) и 13-17 лет (113 человек). Всего в исследовании приняли участие 255 человек. Изучались: распространенность кариеса, интенсивность кариеса по индексу КПУ (КПУ+кп в младшей возрастной группе), уровень гигиены полости рта по упрощенному индексу гигиены ОНІ-S (Грина-Вермиллиона), кровоточивость десны в соответствии с развернутым коммунальным периодонтальным индексом (СРІ), распространенность зубочелюстных аномалий.

Результаты исследования. Всего в исследовании приняли участие 255 человек (муж. 45,1% и жен. 54,9%). Средний возраст обследованных детей 6-12 лет составил $9,29 \pm 0,3$ лет, средний возраст подростков 13-17 лет – $13,73 \pm 0,2$ лет.

Стоматологическое обследование выявило достаточно высокую поражаемость кариесом как временных, так и постоянных зубов. Распространенность кариеса составила 84,5% в младшей возрастной группе, 86,73% в старшей. Интенсивность кариеса в группе детей 6-12 лет – $4,35 \pm 0,47$ (высокий уровень), в старшей возрастной группе – $4,47 \pm 0,43$ (средний уровень).

В структуре индекса КПУ+кп в младшей группе преобладали компоненты «П» и «к» ($0,73 \pm 0,17$ и $1,88 \pm 0,29$ соответственно). Структура индекса КПУ в группе подростков 13-17 лет выглядела следующим образом: «К» – $1,71 \pm 0,32$, «П» – $2,33 \pm 0,28$, «У» – $0,07 \pm 0,05$.

Средние значения упрощенного индекса гигиены ОНІ-S в группе детей 6-12 лет составляет 2,64, в группе подростков 13-17 лет составляет 2,62, что соответствует плохой гигиене полости рта. Структура индекса гигиены ОНІ-S группе детей 6-12 лет (DI-S = 2,63, CI-S=0,01), в группе подростков 13-17 лет (DI-S = 2,54, CI-S=0,08).

При оценке состояния тканей периодонта было выявлено, что начальные признаки воспаления десны в виде кровоточивости десен присутствуют и у 6-12летних детей и у 13-17 летних подростков. Среднее количество зубов с кровоточивостью (СРІ 1) составляло 5,54 в группе детей 6-12 лет и 9,44 в группе подростков 13-17 лет.

Распространенность ЗЧА составила в среднем 23,07%. (скупенность верхних и нижних зубов, промежутки между резцами и клыками, аномальные положения резцов на верхней и нижней челюстях).

Выводы. Потребность в терапевтическом стоматологическом лечении выявлена у большинства обследованных детей и подростков: в коррекции гигиены полости рта нуждается 97,6%, в проведении профессиональной гигиены 60,58%, лечении кариеса зубов 65,86%. Потребность в хирургическом и ортопедическом лечении у детей и подростков невелика и составляет 5,42% и 0,96% соответственно. Потребность в ортодонтическом лечении выявлена у 23,07% детей и подростков. Таким образом, уровень стоматологической заболеваемости среди обследованных детей и подростков остается высоким, что требует разработки и внедрения комплексных профилактических мероприятий.

Сивец Г.Г., Сивец А.В., Белько А.В.

Синтез N-гликозиламинов и изучение их биологической активности

ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Среди многочисленных производных моносахаридов аминсахара являются интересным классом соединений с разнообразными биологическими функциями и химиотерапевтическим потенциалом [1]. Многие из модифицированных N-гликозиламинов обладают метаболической стабильностью, могут выступать в качестве ингибиторов гликозидаз, гликогенфосфорилаз и используются в синтезе N-гликопротеинов. Несколько синтетических подходов было разработано для получения различных N-гликозидов [2]. N-Глюкопиранозиламиды обладают способностью селективно ингибировать гликогенфосфорилазу и широко исследуются для разработки антидиабетических лекарственных средств [3]. Установлено, что N-β-моноамидные производные глюкопираноз с карбоновыми кислотами являются эффективными ингибиторами гликогенфосфорилазы, а производные галактофуранозы в низких микромолярных концентрациях ингибируют рост бактерий. N-α-Галактофуранозиламиды представляют интерес в качестве ингибиторов галактофуранозидаз и галактофуранозилтрансфераз для создания потенциальных антимикробактериальных агентов [4].

Целью настоящего исследования являлось разработка одностадийного метода синтеза N-гликозиламинов из доступных D-сахаров и оценка их биологической активности. Новый синтетический подход был

нами разработан на основе реакции природного моносахарида с ацетонитрилом в присутствии эфирата трехфтористого бора и кислотного промоутера при комнатной температуре, последующей обработки реакционной смеси и выделении N-гликозиламида колоночной хроматографией на силикагеле. В результате реакции D-ксилозы и –арабинозы с ацетонитрилом были получены N- α -ксило- и - β -арабинофуранозил ацетамиды с выходами 38% и 42% соответственно. D-Рибоза давала N-(α -D-рибофуранозил)ацетамид с низким выходом (4%) в похожих реакционных условиях. Реакция D-глюкозы с ацетонитрилом приводила к образованию N-(α -D-глюкофуранозил) ацетамида (14%) после хроматографии смеси продуктов на силикагеле. Синтез N-(α -D-галактопиранозил)ацетамида был также осуществлен из галактозы через получение промежуточного блокированного производного 1,2-оксазолина галактопиранозы и его гидролиз. Структура полученных N-гликозидов была подтверждена данными ЯМР, масс-спектропии и встречным синтезом N-пентофуранозилацетамидов из 1,2-О-ацетонидов ксилозы, арабинозы и рибозы.

Цитостатическая активность N- β -арабинофуранозил и N- α -глюкофуранозилацетамидов изучена в культурах клеток гемобластозов (острая промиелоцитарная лейкемия HL-60 и Т-лимфобластная лейкемия MOLT-4) и двух клеточных линий солидных опухолей человека (аденокарцинома молочной железы MCF-7 и карцинома шейки матки Hela). Время инкубирования производных сахаров в культурах клеток составляло 72 часа, величина IC₅₀ (эффективная ингибирующая концентрация, вызывающая гибель 50% опухолевых клеток) была определена с помощью МТТ-теста. N-(β -D-Арабинофуранозил)ацетамид проявил слабую активность в отношении опухолевой клеточной линии Т-лимфобластной лейкемии (MOLT-4) при IC₅₀ = 72 мкМ. Тестируемые соединения не обнаружили специфической цитотоксичности в трех опухолевых клеточных культурах - HL-60, MCF-7 и Hela. Таким образом, исследован новый и простой подход к синтезу N-гликозиламинов в качестве потенциальных ингибиторов гликозидаз через образование промежуточных 2-оксазолинов D-сахаров. Цитостатическая *in vitro* активность двух N-гликозидов изучена на четырех культурах опухолевых клеток.

Литература

1. D.N.Gilbert. Aminoglycosides. In Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th Edition, Mandech G.L., Bennett G.L., Dolin R., Eds; Churchill Livingstone: New York, 2005, 328-356.
2. Z.J.Witczak, R.Bielski. Recent Examples of Novel Synthetic Approaches to Diverse Amino Sugars. Carbohydr. Chem. 2016, 42, 344–367.

3. S.A.Ross E.A.Gulve, M. Wang. Chemistry and biochemistry of type 2 diabetes. Chem. Rev. 2004, 104, 3, 1255-1282.
4. F.Nisic, A.Bernardi, Stereoselective synthesis of N-galactofuranosyl amides. Carbohydr. Res., 2011, 346, 465-471.

Скоростецкая Л.А., Герловский Д.О., Литвинко Н.М.

Определение фосфолипазной активности спермоплазмы больных бесплодием в качестве возможного диагностического подхода к установлению мужского бесплодия

ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь.

По данным ВОЗ 10-15% супружеских пар имеют проблемы с зачатием. При этом в 30-50% случаев бесплодие вызывается инфертильностью супруга. Фосфолипаза A_2 (КФ 3.1.1.4., ФЛА₂) известна как маркер воспалительно-деструктивных процессов в организме. Установлено, что ФЛА₂, участвуя в липидном обмене, регулирует процесс созревания сперматозоидов [1] и, следовательно, может служить диагностическим маркером готовности сперматозоидов к реализации своей основной функции. Нами обнаружена активация ФЛА₂ в спермоплазме у пациентов с бесплодием по сравнению со здоровыми людьми [2]. Цель данной работы – определение уровня фосфолипазной активности в спермоплазме и сыворотке крови пациентов с бесплодием в сравнении с больными ревматоидным артритом, характерным биохимическим признаком которого является повышенная активность ФЛА₂, как возможного критерия установления мужского бесплодия.

Для определения активности ФЛА₂ в сыворотке крови человека применяли разработанный ранее метод, в котором в качестве индикатора фосфолипазной реакции используется переход гемоглобина (Hb, Sigma, США) в гемихром. Реакционная смесь (4,2 мл на одну пробу) содержала 0,05М Трис-HCl-буферный раствор, pH 8,0, кофактор - 1 мМ CaCl₂ (конечная концентрация), Hb (конечная реакция 5 мкМ по гемю) и спермоплазму/сыворотку больных (от 1 до 20 мкл на 1 мл раствора). В качестве субстрата ФЛА₂ использовали смешанные мицеллы фосфатидилхолина яичного желтка (ФХ, Sigma) с желчной кислотой дезоксихолатом натрия (ДОХ, 72 мМ) в качестве детергента (соотношение ФХ/детергент=1/3, моль/моль). Реакционную смесь разливали в 2 кюветы по 2 мл, реакцию инициировали добавлением в опытную кювету 50 мкл раствора смешанных мицелл субстрата. В кювету сравнения добавляли такое же количество буферного раствора. Кюветы помещали в термостат (37° С) для проведения ферментативной реакции.

Через 30, 60, 120 и 180 минут кюветы доставали и записывали попарно дифференциальные спектры на спектрофотометре Спекорд uv-vis (Германия) либо определяли дифференциальную оптическую плотность (опытной кюветы против контрольной) на спектрофотометре Солар PV 1251C при длине волны 423 нм.

Показано, что активность ФЛА₂ в сыворотке крови больных бесплодием (группа 1) в 2 раза ниже, чем у пациентов с ревматоидным артритом (группа 2), в то время как в спермоплазме первой группы людей фермент активирован в 6 раз больше, чем в сыворотке крови второй группы и в 10 раз выше, чем в своей группе. Полученные результаты обсуждаются в свете возможного диагностического подхода к установлению мужского бесплодия.

Литература

1. Sato H. et al. J. Clin Invest. 2010; 120(5), P.1400–1414. doi:10.1172/JCI40493.
2. Папино Д.С., Литвинко Н.М., Герловский Д.О. Материалы Международной научно-практической конференции «Биотехнологии микроорганизмов», г. Минск, 27-29 ноября 2019 г., С.379 – 381.

*Sliusar M.Y., Rudnytska O.V., Khita O.O., Minchenko D.O., Yefimova Y.V.,
Minchenko O.H.*

Effect of single-walled carbon nanotubes on the expression of proliferation and apoptosis related genes in normal human astrocytes

Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

One of the most perspective directions in biomedicine during the past decades is the application of nanoparticles, including single-walled carbon nanotubes (SWCNTs) due to their unique and versatile properties. SWCNTs are considered as a new effective option for drug delivery, gene therapy, and bioengineering. However, increasing worries near their chronic toxicity results in the need to study the effects of SWCNTs on the genome functional stability.

Aim. The goal of our study was to evaluate the effect of low quantities of SWCNTs on the expression of *DNAJB9* (DnaJ heat shock protein family (Hsp40), member B9), *IGFBP3* (Insulin-like growth factor binding protein 3), *IGFBP6*, *ZNF395* (Zinc finger protein 39), *HILPDA* (hypoxia inducible lipid droplet associated), as well as corresponding microRNAs, which have relation to the control of studied mRNAs: miR-27-3p, miR-19a-5p, miR-145-5p, miR-7-5p, miR-150-5p, in normal human astrocytes.

Materials and Methods. The immortalized normal human astrocytes (NHA/TS cell line) were treated 24 hours by SWCNTs (2 and 8 ng/ml of medium). The expression level of *DNAJB9*, *IGFBP3*, *IGFBP6*, *ZNF395*,

and *HILPDA* genes as well as microRNA miR -27-3p, miR-19a-5p, miR-145-5p, miR-7-5p, miR-150-5p in normal human astrocytes by quantitative polymerase chain reaction was studied.

Results. It was detected the substantial up-regulation of the expression level of genes encoding the endoplasmic reticulum stress responsible proteins *DNAJB9* and *IGFBP3* in normal human astrocytes treated by SWCNTs (both 2 and 8 ng/ml of medium). Moreover, a significantly stronger effect (+102 and +160%, correspondingly for 2 and 8 ng/ml of SWCNTs) compared to the control cells was observed for the *DNAJB9* gene. We have also shown that the exposure of normal human astrocytes to SWCNTs (2 and 8 ng/ml of medium) led to down-regulation of the expression level of transcription factor *ZNF395* (-44 and -45%, correspondingly). Besides, dose-dependent down-regulation of the expression was detected for *IGFBP6* and *HILPDA* genes. We have also studied the effect of SWCNTs on the level of corresponding microRNA expressions. It was shown that the expression level of almost all studied microRNAs was up-regulated by SWCNTs. The exception was the expression level of miR-19a-5p (-30 %), which related to the control of IGFBP3 mRNA.

Conclusions. The results demonstrate that single-walled carbon nanotubes significantly affect the expression of studied genes in a dose-dependent and gene specific manner possibly through endoplasmic reticulum stress introduced by these nanoparticles through transcriptional and post-transcriptional mechanisms and lead to dysregulation of functional integrity of the genome. These results confirm the requirement of more cautions in biomedical applications of nanoparticles, including carbon nanotubes.

Соколова И.Б.

Возможности применения мезенхимных стволовых клеток для коррекции церебральной микроциркуляции у нефрэктомированных крыс

Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Хроническая болезнь почек (ХБП) – одна из глобальных медицинских проблем XXI века. К настоящему времени показано, что все патологии сосудистой системы, вызванные ХБП, распространяются и на микрососуды головного мозга. При данном заболевании происходит кальцификация церебральных сосудов, развивается эндотелиальная дисфункция, что приводит к деструкции микрососудов и повреждению мозговой ткани. В результате на 4 – 5 стадиях ХБП у пациентов в среднем в 20–35 раз чаще, чем в общей популяции возникают сердеч-

но - сосудистые заболевания, в несколько раз чаще развиваются геморрагические и ишемические инсульты, в 4 – 5 раз чаще наблюдаются лакунарные инсульты и повышается риск формирования когнитивных нарушений и деменций. В последнее десятилетие применение мезенхимных стволовых клеток при ХБП рассматривают как перспективный метод лечения. Клеточная терапия направлена на сохранение структуры и функции почки. Вопрос о влиянии трансплантации МСК на микроциркуляцию в головном мозге пациентов с ХПБ практически не исследован.

Цель исследования – изучить влияние внутривенной трансплантации МСК человека (МСКч) на основные параметры микроциркуляции (плотность микрососудистой сети, реактивность артериальных сосудов, тканевые перфузия и сатурация кислородом) в коре головного мозга крыс после нефрэктомии.

С помощью установки для изучения микроциркуляции (с увеличением 40 крат) исследовали плотность всей микрососудистой сети и плотность артериальных сосудов в пиальной оболочке сенсомоторной коры головного мозга ложнопериованых (ЛО), нефрэктомизированных (НЭ) и НЭ крыс после внутривенной трансплантации МСКч. На этой же установке с увеличением 160 крат исследовали реактивность пиальных артерий на воздействие ацетилхолина (ACh) и сероводорода (H_2S). Реакция на ACh является тестовой для функционирования эндотелиальных клеток; реакция на H_2S – гладкомышечных клеток. Параллельно с помощью лазерного доплерографа «ЛАКК-М» определяли тканевую перфузию (П) и сатурацию кислородом (SO_2).

Результаты показали, что через 4 месяца после нефрэктомии у крыс плотность всей микрососудистой сети и плотность артериальных сосудов понижались в среднем в 1,3 и 1,5 раз соответственно. Реактивность пиальных артерий значительно ухудшалась. Под воздействием ACh количество расширившихся артерий уменьшилось в 2,1 – 4,4 раза; под воздействием H_2S - 1,2 – 1,7 раза. Увеличение числа констрикций на воздействие ACh свидетельствует о развитии в пиальных артериях у НЭ крыс эндотелиальной дисфункции. Уменьшение диаметра пиальных артерий под воздействием H_2S говорит о нарушении функции гладкомышечных клеток. При этом статистически значимо понижались П (на 20%) и SO_2 (с $94,8 \pm 0,7$ % до $91,2 \pm 1,8$ %).

В группе НЭ животных, получивших клеточную терапию, плотность микрососудистой сети соответствовала таковой у ЛО крыс. Применение МСКч позволило сохранить и реактивность пиальных артерий и артериол на уровне ЛО животных: расширением на воздействие ACh или H_2S ответило столько же артериальных микрососудов, сколько в

контрольной группе. Степень их расширения была такой же, как у ЛО животных.

Трансплантация МСКч привела к сохранению более высокого уровня П, чем у нефрэктомизированных животных, не получавших клеточной терапии (нет статистически значимых различий между 2 другими группами экспериментальных животных) и SO₂ практически на уровне ЛО крыс.

Заключение. Внутривенная трансплантация МСКч нефрэктомизированным животным привела к сохранению структуры микрососудистой сети пиальной оболочки коры головного мозга, предотвратила развитие дисфункции эндотелиальных и гладкомышечных клеток, позволила поддерживать тканевую перфузию и сатурацию кислородом в сенсомоторной коре на уровне контрольных животных.

Сперанская Е. Ч.¹, Приступа В. Ч.², Прохорова Т. В.¹

Новые методические подходы к диагностике нарушений кислородной транспортной функции крови

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

²УО «Минский государственный медицинский колледж», Минск, Республика Беларусь

Защита организма человека от острого кислородного голодания является актуальной проблемой современной биологии и медицины. Кислородное голодание возникает при заболеваниях органов дыхательной и сердечно-сосудистой систем, нарушении функций желез внутренней секреции и системы крови, изменениях интенсивности тканевого обмена во время наркоза и операций, вследствие отравления различными ядами и других экстремальных ситуациях для организма.

В связи с этим в последние десятилетия интенсивно ведется поиск новых средств против гипоксии, а также методов диагностики гипоксических нарушений основных функциональных систем организма.

Очень часто в клинической практике встречается гипоксия (гемическая), вызываемая нарушением кислородтранспортной функции крови. Это может быть обусловлено наследственными анемиями или анемиями, возникающими в результате кровопотерь, бактериальных интоксикаций, угнетения эритропоэза, при гемолизе эритроцитов, а также вследствие отравлений различными токсическими веществами (нитро соединениями, перекисями и др.), при действии больших доз сульфамидных препаратов, вызывающих окисление гемоглобина.

Молекулярной основой нарушения кислородной функции крови служит образование так называемых "валентных гибридов" (частично окисленных молекул гемоглобина), которые не способны эффективно переносить кислород и могут приводить к развитию функциональной "скрытой" анемии (метгемоглобинемии). Для поддержания гемоглобина в физиологически активном состоянии в эритроцитах млекопитающих функционирует мощная восстанавливающая ферментативная система – NADH – метгемоглобин-редуктаза (цитоплазматическая NADH: цитохром B₅ оксидоредуктаза). При прогнозировании устойчивости организма человека к кислородной недостаточности необходимо определение активности этого фермента.

С помощью разработанного нами метода было проведено сравнительное исследование метгемоглобинредуктазной активности в эритроцитах доноров и гематологических больных.

Нами были исследованы образцы крови 34 пациентов. Результаты исследования показали, что у здоровых доноров (20 человек) активность фермента NADH-метгемоглобинредуктазы составляла $2,72 \pm 0,005$ мкГ/мин · гНб. У больных железодефицитной анемией (8 пациентов) активность этого фермента составляла $5,99 \pm 0,59$ мкГ/мин · гНб. При этом активность NADH-метгемоглобинредуктазы у больных различными формами лейкоза (4 пациента) составляла $2,33 \pm 0,33$ мкГ/мин · гНб (достоверные изменения при $P < 0.001$).

Как оказалось, у гематологических больных наблюдаются значительные вариации активности фермента. Так, в частности, отмечена тенденция к повышению активности у больных железодефицитной анемией (ЖДА). Таким образом, полученные данные указывают на то, что ЖДА формирует неэффективный эритропоэз, который является своеобразным физиологическим механизмом защиты клеток и тканей при анемиях, что отражается на активности метгемоглобинредуктазы.

Опыт использования разработанного нами метода в клинической практике позволяет расширить арсенал способов и упростить процедуру диагностики гематологических заболеваний, связанных с избыточным образованием метгемоглобина. Метод защищен авторским свидетельством, апробирован и внедрен в больнице скорой помощи.

Влияние циркуляционной экстракции с постоянным нагревом реакционной среды на экстракцию флавоноидов душицы травы
Национальный университет «Львовская политехника», Львов, Украина

Лекарственные растения нескончаемое поле для научных исследований. Объектами исследования ученых являются как новые малоизвестные, так и официальные растения. Это связано с комплексным подходом к изучению химического состава и биологической активности растительного сырья. Поиск новых технологий переработки и способов практического использования известных лекарственных растений позволяет более рационально относиться к природным ресурсам. Душица обыкновенная (*Origanum vulgare*) содержит эфирные масла и флавоноиды, обладающие противовоспалительными и антиоксидантными свойствами [1]. Комплекс биологически активных веществ (БАВ) душицы травы используют для таких лекарственных средств, как Уролесан и травяные сборы от кашля.

Целью исследования было изучить динамику выделения флавоноидов под влиянием постоянного циркулирующего экстрагента сквозь слой сырья с поддержанием температуры 40–45 °С и полученные результаты выходов сравнить с результатами экстрагирования методом традиционной мацерации, а также идентифицировать экстрагированные флавоноиды.

Материалы и методы исследования. Объектом изучения была собранная и высушенная трава душицы. Для проведения исследования использовали технологические, спектрофотометрические и хроматографические методы анализа.

Результаты. Траву душицы разделяли на две порции. Каждую порцию экстрагировали с использованием 70 % водно-спиртовой смеси в качестве экстрагента. Первую пробу экстрагировали традиционным методом мацерации, а вторую порцию экстрагировали с использованием лабораторного циркуляционного экстрактора с возможностью нагрева реакционной среды до 45 °С. После 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 60 часов от начала процесса мы проводили отбор проб. В каждой пробе определяли содержание сухого остатка. Идентификацию флавоноидов проводили с использованием метода тонкослойной хроматографии (ТСХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Их количественное содержание определяли методом дифференциальной спектрофотометрии [2, 3].

Нами установлено, что при использовании циркуляционной экстракции с нагревом реакционной среды до 45 °С, и при использовании ме-

тогда мацерации разницы по показателю сухой остаток первые 4 часа не было, но с точки 8 часов начался резкий рост количества БАВ. В изучаемых образцах идентифицировано высокое содержание лютеолин-7-гликозида. При изучении количественного содержания флавоноидов так называемое «плато экстракции» наступает после 8-12 часов при использовании циркуляции и нагрева, в то же время, когда в противовес при использовании метода мацерации максимальные показатели экстракции дополнены после 36-48 часов.

Выводы. Методом экстракции душицы обыкновенной с использованием циркуляции и нагрева высокое содержание флавоноида лютеолин-7-гликозида можно получить после 12 часов, в противовес методу мацерации, при использовании которого аналогичные показатели были получены после 48 часов.

Литература

1. Hrodzynskyi, A.M. *Likarski rosliny: Entsyklopedychnyi dovidnyk*. Kyiv: "Ukrainska entsyklopediia" imeni M.P. Bazhana, Ukrainnyi vyrobnycho-komertsiiyny tsentr "Olimp", 1991. – 544 с.
2. Государственная фармакопея Украины. - Изд. 2-е, [перераб. и доп.]. - Харьков: Изд-во Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств», 2011. - 540 с.
3. Государственная фармакопея Республики Беларусь. В 3 т. Т2. Контроль качества вспомогательных веществ и лекарственного растительного сырья / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранение»; под. общ. Ред. А.А. Шерякова – Молодечно: типография «Победа», 2008. - 385 с.

Станишевская П.А., Крымская Т.П., Матвейчук Ю.В.

Разработка метрологически аттестованной спектрофотометрической методики определения фторурацила в воздухе рабочей зоны

РУП «НПЦ Гигиены», Минск, Республика Беларусь

Фторурацил (5-Фтор-2,4-(1Н,3Н)-пиримидиндион) – противоопухолевое (цитостатическое средство), антиметаболит урацила. Препараты на основе фторурацила применяются для лечения колоректального рака, злокачественных опухолей головы и шеи, рака желудка, поджелудочной железы, молочной железы и шейки матки. Вещество относится к 1-ому классу опасности, при работе с ним должен быть исключен контакт с органами дыхания и кожей при обязательном контроле воздуха рабочей зоны на уровне чувствительности не менее 0,001 мг/м³. Работа с веществом может привести к слабости, аллергическим реакциям, тошноте, нарушению нервной, сердечно-сосудистой систем, нарушению функций органов, эндокринным нарушениям.

Фторурацил выпускают в виде препаратов типа «5-Фторурацил-ЭБЕВЕ» – производитель «EBEWE PHARMA, Ges.m.b.H.Nfg.KG.»

Австрия, «Фторурацил-лэнс» – производитель «Верофарм» Россия, «Фторурацил-Тева» – производитель «Тева» Германия и др. В настоящее время для определения фторурацила используются спектрофотометрические методы, однако имеющиеся методики не имеют метрологической аттестации и не могут использоваться для определения фторурацила в воздухе рабочих зон фармацевтических предприятий.

Целью работы являлась разработка методики определения фторурацила в воздухе рабочей зоны спектрофотометрическим методом.

Материалы и методы исследования. Методика основана на концентрировании фторурацила из воздуха рабочей зоны на фильтрах АФА-ВП, дальнейшей десорбции вещества с фильтров ацетонитрилом и количественном определении фторурацила спектрофотометрическим методом при длине волны 265 нм с длиной поглощающего слоя 1 см. Для измерения оптической плотности фторурацила применялся спектрофотометр Cary, Agilent Technologies Agilent.

Результаты и выводы. Диапазон измеряемых концентраций фторурацила в воздухе рабочей зоны составляет от 0,001 до 0,005 мг/м³ при отборе 6000 дм³ воздуха.

Установлены следующие показатели точности методики в диапазоне измерения концентраций фторурацила в воздухе рабочей зоны: предел повторяемости $r = 7,25 \%$, предел промежуточной прецизионности $R_{I(TO)} = 14,95 \%$, расширенная неопределенность $U = 24 \%$, предел количественного определения 0,00052 мг/м³.

Показатели прецизионности (повторяемости и промежуточной прецизионности) определялись в соответствии с СТБ ИСО 5725-2.

Методика выполнения измерений прошла метрологическую экспертизу в РУП «БелГИМ», утверждена директором республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены» и согласована с РУП «Белмедпрепараты».

Старовойтова С.А.

Метабиотики, как новый подход в пробиотикотерапии

Национальный университет пищевых технологий, Киев, Украина
Современным направлением в разработке препаратов для восстановления и коррекции нормобиоты является дизайн и конструирование нового поколения пробиотиков – метабиотиков. Метабиотики – это структурные компоненты пробиотических микроорганизмов и / или их метаболитов и / или сигнальных молекул с известной химической структурой. Метабиотики оказывают влияние на метаболические и сигнальные пути микробиома хозяина (человека и/ или животных),

оптимизируя состав и функцию местной микробиоты и специфической для хозяина физиологии, иммунитет и нейро-гормонобиологию, а также регулирует метаболические и / или поведенческие реакции, связанные с активностью микробиоты хозяина. Различные пробиотические штаммы могут стать источником метаболических веществ. Метабиотики также известны под разными названиями, такими как «метаболические пробиотики», «постбиотики», «пробиотики привидения» («ghostprobiotic»), «пробиотик, убитый жаром» («heat-killed probiotic»), «биогеники» («biogenics»), «БКС» бесклеточные супернатанты (“CFS” (Cell free supernatants)), «биологические препараты» или «фармакобиотики».

Целью данной работы является показать весь спектр преимуществ современного направления пробиотикотерапии – дизайна и конструирования метабиотиков.

Результаты. Метабиотики имеют определенные преимущества перед классическими препаратами пробиотиками. Основное преимущество – строго определенная химическая структура; а также определенная дозировка, безопасность, длительный срок хранения.

Кроме того, метабиотики обладают лучшими способностями всасывания, метаболизма, распределения и выделения, по сравнению с классическими пробиотиками на основе живых микроорганизмов. Метабиотики проявляют широкую ингибирующую активность в отношении различных видов патогенов. Метабиотические вещества содержат различные метаболиты и сигнальные молекулы, которые проявляют широкий антибактериальный спектр и иммуномодулирующее действие.

Применение метабиотиков позволяет создать управляемый микробиоценоз кишечника. Метабиотики характеризуются высокой биодоступностью, не вступают в конфликт с собственной микробиотой, начинают работать, как только попадают в желудочно-кишечный тракт (ЖКТ).

К основным терапевтическим эффектам, проявляемым метабиотиками относятся: модуляция физиологии и метаболизма; местный и системный эффект; регуляция метагеномной стабильности; мембранная проницаемость; присоединение к специфическим поверхностным клеточным рецепторам; эпигенетический контроль; способны к диффузии в жидкость организма.

Ограничения применения пробиотиков сегодня могут быть с легкостью преодолены с помощью дизайна и разработки нового поколения данного вида препаратов - метабиотиков.

Технологические достижения, основанные на «омических» технологиях, таких как транскриптомика, метаболомика, протеомика и другие позволили получить важную информацию для раскрытия более потенциального постоянного штамма для производства метаболитов. Анализ генома пробиотиков и его последующая функциональная характеристика, в настоящее время обозначаемая как пробиогеномика, предоставили захватывающие новые возможности для идентификации метаболитических компонентов, которые отвечают за влияние на физиологию и иммунную функцию их соответствующего хозяина. Появление инструментов биоинформатики и подходов системной биологии постоянно используется для понимания детального механизма биоактивных соединений и их взаимосвязи с кишечной микробиотой. Более поздние технологические попытки секвенирования с высокой пропускной способностью из метагеномного и мета-транскриптомного секвенирования показывают функциональную связь пробиотиков и кишечного микробиома хозяина.

Выводы. Таким образом, детальное понимание инициирования молекулярного диалога поверхностно-ассоциированных протеомов интенсивно исследованных с помощью недавно разработанных неинвазивных инструментов, таких как методы метаболомики, метапротеомики, транскриптомики и многие другие. Эти подходы дают возможность расширить знания в области метабиотики, предоставляя возможности для разработки соответствующих терапевтических подходов, а именно дизайн и разработка компонентного состава нового поколения препаратов для коррекции и восстановления нормобиоты – метаболитов, которые лишены основных негативных сторон, характеризующих классические пробиотические препараты.

Stasevych M.V.¹, Zvarych V.I.¹, Halenova T.I.², Savchuk O.M.²

Search for new antithrombotic compounds among sulfur-containing acetamide derivatives of 9,10-anthraquinone

¹Lviv Polytechnic National University, Lviv, Ukraine

²Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

Thrombotic complications, both venous and arterial, are often a key factor determining the course and result of pathologies of the cardiovascular system, as well as cancer, which together share the first place among the causes of death, both in Ukraine and in the world. Commonly used antiplatelet and anticoagulant drugs affect the process of platelet aggregation and the activation of factors of the blood coagulation system. However, their effectiveness often does not satisfy clinicians. In addition, the presence of side

effects of these drugs from the gastrointestinal tract limits their use in some categories of patients. Antiplatelet therapy is often accompanied by side effects such as resistance to their action, increased risk of uncontrolled bleeding, as well as the development of serious systemic complications. And, along with all of this, high cost of such medicines leads to necessity of further research to find perspective more effective and safe substances, and development on their basis of new antithrombotic drugs. Earlier, among the derivatives of 9,10-anthraquinone, compounds with antiaggregatory activity have already been found. In particular, it was found that mitoxantrone and bisanthrene as derivatives of amino-9,10-anthraquinone inhibited platelet aggregation induced by the action of both adenosine diphosphate (ADP) and collagen. A number of anthra[2,1-*d*]isothiazole-3,6,11-trione derivatives effectively inhibited ADP-dependent platelet aggregation in human plasma with an IC_{50} value of up to 10 μ m. 3-Alkylaminopropoxy-9,10-anthraquinone derivatives selectively inhibited platelet cyclooxygenase – enzyme involved in the synthesis of thromboxane A₂, one of the key mediators of the platelet aggregation process. Glycoside and dithiocarbamate derivatives of anthraquinones also have shown antithrombotic activity.

Aim. The search for new promising substances with antiplatelet action among new sulfur-containing derivatives of 9,10-anthraquinone.

Materials and research methods. The effect of the studied compounds on the platelet aggregation was assessed *in vitro* using a photo-optical aggregometer AT-02 (Medtech, Russia). Platelet-rich plasma (PRP) and platelet-poor plasma (PPP) were prepared from the citrated rabbit blood following the standard procedure. Before the assessment, the platelet count in PRP was adjusted with PPP to about $(230-250) \times 10^3$ cells/ μ L. The PRP suspension was incubated with the studied compounds (final concentration was 50 μ mol/L) or with 0.5% dimethylsulphoxide (DMSO) alone for 3 minutes. The aggregation was induced by adding ADP in the final concentration of 5 μ mol/L, and the change of light transmission was monitored for 7 minutes, measuring the maximal increase after the addition of the inducer. In each experiment, all samples were tested in triplicate.

Results. It has been found that the investigated *N*-acyl sulfide derivatives of 9,10-anthraquinone at the studied concentration did not cause spontaneous platelet aggregation. Three *N*-acyl sulfide derivatives of 9,10-anthraquinone exhibited antiaggregation activity, reducing the maximum degree of platelet aggregation by 20-30%. According to the results obtained, the most pronounced inhibitory effect is inherent in the acylmercaptoethanol derivative of 9,10-anthraquinone. It was found that the replacement of the hydroxy group in the alkyl fragment of the sulfide residue by a

carboxyl group leads to a decrease in antiaggregation potential, and the displacement of the acylthioethanol substituent from the position 1 to position 2 of the 9,10-anthraquinone ring also leads to a similar result. Replacement of a thioalkyl hydroxyl fragment by a thioaromatic one with a carboxyl group does not show any effect on antiaggregation activity.

Conclusions. As a result of the studies, three sulfide acetamide derivatives of 9,10-anthraquinone were identified, which exhibit antiaggregatory activity in *in vitro* experiments on rabbit PRP at a concentration of 50 μ M and inhibited ADP-dependent aggregation by 20-30%, which creates the prospect of further research in this direction.

*Степин С.Г.¹, Ржеусский С.Э.¹, Дикусар Е.А.², Яблонская О.В.¹,
Милевская К.В.¹*

Синтез и исследование бактерицидной и противогрибковой активности азометинового производного о-ванилина и новокаина

¹УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Витебск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт физико-органической химии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Основания Шиффа проявляют разнообразную биологическую активность [1]. Синтез азометиновых производных известных лекарственных средств является перспективным подходом к получению новых гибридных и химерных лекарственных средств. В работе [2] показано, что получение азометиновых производных известных лекарственных средств приводит к увеличению их активности и расширению спектра действия.

Цель настоящей работы заключается в синтезе и исследовании бактерицидной и антимикотической активности нового азометинового производного новокаина, которое является потенциальным местноанестезирующим, антиоксидантным и бактерицидным лекарственным средством.

Материалы и методы исследования. ИК-спектры записывали на ИК-Фурье спектрометре фирмы Thermo Scientific Nicolet iS 10 в таблетках калия бромид. Масс спектр записан на тройном квадрупольном масс-спектрометре с ионной ловушкой QTRAP 5500 (AB SCIEX) с прямым вводом пробы. 2-(Дизетиламино)этил-4-[(2-гидрокси-3-метоксибензилиден)амино]бензоат синтезирован кипячением спиртового раствора о-ванилина и новокаина гидрохлорида, взятых в эквимолярном соотношении. В качестве катализатора применяли ледяную уксусную кислоту, время завершения реакции 1 ч. Реакционную смесь

частично упарили в вакууме, выпавшие кристаллы отделяли фильтрованием в вакууме на фильтре Шотта и сушили при 40°C до постоянной массы.

Испытания антимикробной активности проводили методом двукратных последовательных разведений, с последующим высеванием на агар.

Результаты и обсуждение. Азометиновое производное имеет достаточную чистоту, получено с выходом 90% и не нуждается в дополнительной очистке. Представляет собой оранжевые кристаллы хорошо растворимые в воде.

Установлено, что исследуемое вещество обладает значительным противогрибковым действием. Его минимальная ингибирующая концентрация (МИК) составляет 0,06%, а минимальная бактерицидная концентрация (МБК) – 0,12%.

Определено, что вещество обладает противомикробным действием против грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Наибольшая активность наблюдалась при воздействии на *Echerichia coli* (МИК – 0,06%; МБК – 0,25%), наименьшая – по отношению к *P. Aeruginosa* (МИК – 0,25%; МБК – 0,25%).

Заключение. Взаимодействием *o*-ванилина с новокаином с выходом 90% получено потенциальное лекарственное средство 2-(диэтиламино)этил-4-[(2-гидрокси-3-метоксибензилиден)-амино]бензоат.

Установлено, что азометиновое производное обладает значительной противогрибковой активностью и бактерицидной активностью против грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Литература

1. Nayak, S.G. Synthesis of novel Schiff bases containing arylpyridines as promising anti-bacterial agents / S.G. Nayak, B. Poojary // Heliyon. – 2019. – Vol. 5. – P. e02318.
2. Синтез и исследование антибактериальной активности полуаминалей и оснований Шиффа на основе сульфаниламида/ С. Г. Степин [и др.] // Вестник фармации. – 2019. – № 3 (85). – С. 88-93.

Степин С.Г.¹, Ржеусский С.Э.¹, Слабин В.К.², Милевская К.В.¹

Синтез и исследование антимикробной активности гидрохлорида 1-диэтиламино-3-фенилпропина-2

¹УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Витебск, Республика Беларусь

²Университет Орегона, Юджин, США

Ацетиленовые соединения проявляют более выраженную физиологическую активность, меньшую токсичность и легче усваиваются организмом, чем их олефиновые или насыщенные аналоги. Производные

диацетилена и природные полиины обладают высокой антимикробной, фунгицидной и инсектицидной активностью и являются перспективными противоопухолевыми средствами. Среди синтетических производных диацетилена отмечена также противовирусная, антиаритмическая, спазмолитическая, холинолитическая, гипотензивная, сосудорасширяющая и другие виды активности [1]. Ацетиленовые амины проявляют высокую бактерицидную активность [2,3], в некоторых случаях, превосходящую по активности тетрациклин и ампилокс [3].

Цель настоящей работы заключается в синтезе и исследовании бактерицидной и антимикотической активности потенциального лекарственного средства - гидрохлорида 1-диэтиламино-3-фенилпропина-2.

Материалы и методы исследования. ИК-спектры записывали на ИК-Фурье спектрометре фирмы Thermo Scientific Nicolet iS 10 в таблетках калия бромида 1-Диэтиламино-3-фенилпропин-2 синтезирован взаимодействием фенилацетилена с изобутилдиэтиламинометиловым эфиром в присутствии каталитических количеств хлорида меди (I). Гидрохлорид 1-диэтиламино-1-фенилпропина-2 получен пропусканием хлористого водорода в эфирный раствор амина.

Испытания антимикробной активности проводили методом двукратных последовательных разведений, с последующим высеванием на агар.

Результаты и обсуждение. Известны методики синтеза ацетиленовых аминов при помощи реакции Манниха и взаимодействием концевых ацетиленов с *гем*-диаминами [4]. Изобутилдиэтиламинометиловый эфир и другие аминокатали легко синтезируются взаимодействием изобутилового спирта, параформа и вторичных аминов без использования в качестве катализаторов солей самария, которые необходимы в методике [4]. Синтезированное вещество представляет собой белые кристаллы легко растворимые в воде. Т. пл. 134-135°C.

Установлено, что исследуемое вещество в диапазоне концентраций 0,125-0,063% останавливает рост грамотрицательных микроорганизмов *P. Aeruginosa*, *K. Pneumoniae*, *Echerichia coli*. Минимальной бактерицидной активностью по отношению к исследуемым микроорганизмам обладает раствор вещества с концентрацией 0,250%.

Определено, что гидрохлорид 1-диэтиламино-3-фенилпропина-2 обладает противогрибковой активностью. В концентрации 0,125% его раствор обладает как фунгиостатической, так и фунгицидной активностью.

Показано, что в исследуемых концентрациях гидрохлорид ацетиленового амина не обладает антимикробной активностью против грамположительных микроорганизмов.

Заключение. Синтезировано потенциальное лекарственное средство - гидрохлорид 1-диэтиламино-3-фенилпропина-2. Установлена бактерицидная активность в отношении грамотрицательных бактерий и противогрибковая активность.

Литература

1. Шостаковский, М.Ф. Химия диацетилена/ М.Ф. Шостаковский, А.В. Богданова. – М., «Наука», 1971. – 524 с.
2. Синтез, строение и биологические свойства 1-(2-этоксипропил)-4-(3-феноксипропил)-4-[(2- метилпиридил-5)этинил]пиперидина/ К. Канитар [и др.]/ Химический журнал Казахстана. – 2013. – № 3. – С. 25-32.
3. Sheat, M.A. Synthesis and Study of Acetylenic Amines Derivatives Containing Sulfonamido, β -Naphthoxy and Hippurate Groups/ M.A. Sheat, Z.F. Saeed // National Journal of Chemistry. – 2006. – V -. 21. – P. 53-62.
4. Синтез пропаргиламинов аминометилированием ацетиленов гем-диаминами/ М.Г. Шайбакова [и др.]/ ЖОрХ. – 2010. – Т.46. - № 1. – С. 25-32.

Стенуро Т.Л., Зинчук В.В.

Модификация сродства гемоглобина к кислороду оксидом азота как механизм воздействия физико-химических факторов физиотерапии

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

В настоящее время активно развиваются технологии терапевтического воздействия, основанные на применении различных физико-химических факторов. Экспериментальная и клиническая эффективность лазерной медицины, фотодинамической, ультразвуковой, магнитной терапии, озono- и оксигенотерапии и ряда других подтверждена многочисленными результатами. Однако механизм действия многих из них до конца еще не раскрыт. Предполагают, что в основе терапевтического эффекта многих из перечисленных видов воздействия лежит генерация синглетного кислорода, озона, оксида азота (II) и ряда других низкомолекулярных сигнальных молекул [1, 2].

Образование выше перечисленных молекул в крови приводит к их взаимодействию с гемоглобином, что может оказывать влияние на функциональные свойства белка. Высказанное предположение определило цель исследования – оценить влияние оксида азота (NO) на кислородсвязывающие свойства гемоглобина.

В экспериментах использовалась гепаринизированная смешанная венозная кровь кроликов, которую инкубировали в отсутствие доступа

воздуха с различными донорами NO: нитроглицерином, молсидоминном, L-аргинином, нитропруссидом натрия, S-нитрозоцистеином (CysSNO), S-нитрозоальбумином (AlbSNO), S-нитрозо-N-ацетилпенициламином (SNAP), диэтиламин / монооксид азота диэтиламмониевая соль (DEANO), в концентрационном соотношении гемоглобина (тетрамера) и образующегося из донора NO 1:1. Во второй серии опытов образцы крови инкубировали с донорами NO (Hb:NO=1:1) в сатураторе, где происходило насыщение крови оксигенирующей (94,5% O₂ и 5,5% CO₂) газовой смесью. После этого кровь смешивали с равным объемом крови без NO из дезоксигенирующего сатуратора, где она подвергалась воздействию газовой смеси 94,5% N₂ и 5,5% CO₂. Изучение влияния NO на кислородсвязывающие свойства крови в условиях низкого парциального давления кислорода проводилось в результате смешивания крови с донорами NO из дезоксигенирующего сатуратора с равным объемом оксигенированной крови без модификаторов. В контрольной пробе кровь смешивали с изотоническим 0,9% раствором хлорида натрия. Сродство гемоглобина к кислороду (СГК) отражали показателем p50 стандартное, которое рассчитывали для pH=7,4, pCO₂=40 мм рт. ст., t=37 °C, исходя из значений реального p50, измеренного методом смешивания с помощью микрогазоанализатора ABL-330 ("Radiometer").

В экспериментах *in vitro* наиболее эффективными среди используемых нами соединений оказались S-нитрозосоединения: CysSNO, SNAP, AlbSNO. В смешанной венозной крови наблюдалось снижение p50_{станд} с 33,2 (32,1; 33,6) до 30,3 (27,5; 31,9) мм рт. ст. (p=0,01) в присутствии CysSNO и до величины 28,6 (27,4; 32,3) мм рт. ст. (p=0,02) в присутствии SNAP, а в эксперименте с AlbSNO p50_{станд} снижалось с 36,6 (36,5; 38,8) до 33,6 (31,6; 34,2) мм рт. ст. (p=0,008). При взаимодействии NO с кровью в условиях воздействия оксигенирующей газовой смеси стандартный показатель СГК снижался с 32,9 (28,8; 33,6) до 29,3 (27,6; 30,1) мм рт. ст. под влиянием CysSNO (p=0,034), до 27,9 (27,1; 29,9) мм рт. ст. в результате воздействия SNAP (p=0,004) и до 28,2 (27,9; 28,3) мм рт. ст. в присутствии DEANO (p=0,007). В то же время при дезоксигенации крови влияние доноров NO в отношении p50 не проявлялось.

В ходе анализа обнаружена корреляционная связь между изменением стандартного p50 и степенью сатурации гемоглобина (R=0,23, p=0,018), свидетельствующая о том, что модифицирующее действие NO в отношении p50 определяется степенью насыщения гемоглобина кислородом.

Представленные результаты исследования позволяют обосновать один из возможных механизмов воздействия физиотерапевтических процедур, основанный на изменении транспорта кислорода в ткани посредством модификации СГК оксидом азота. При этом необходимо учитывать, что эффект такого воздействия определяется исходным уровнем сатурации крови кислородом.

Литература

1. Узденский А.Б. Клеточные-молекулярные механизмы фотодинамической терапии. М.: Наука, 2010. – 321 с.
2. Colombo E. Experimental and Clinical Applications of Red and Near-Infrared Photobiomodulation on Endothelial Dysfunction: A Review / Colombo E, Signore A, Aicardi S, Zekiy A, Utyuzh A, Benedicenti S, Amaroli A. // Biomedicines. – 2021. – Mar 9;9(3):274. doi: 10.3390/biomedicines9030274.

Столярова М.В., Валькович Э.И.

Гистохимическое исследование кишечного эпителия *Saccoglossus mereschkowskii* (Enteropneusta, Hemichordata)

ФГБОУВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация
Кишечнодышащие (Enteropneusta), относящиеся к типу полухордовых (Hemichordata), близки к предкам хордовых (Cameron et al., 2000) и поэтому являются важным объектом сравнительно-гистологических исследований. Представляет интерес изучение кишечного эпителия кишечнодышащих, его клеточного состава и функций разных типов клеток.

Цель настоящей работы – гистохимическое исследование кишечного эпителия кишечнодышащих.

Материал и методы. Объектом исследования послужил представитель кишечнодышащих *Saccoglossus mereschkowskii*. Использовались фиксаторы Буэна, Карнуа, формалин-спирт-уксусная кислота, ценкер-формол. Парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином-эозином, железным гематоксилином, азуром-эозином, азаном по Гейденгайну. Гистохимическими методами выявляли: суммарные белки – реакция тетразониевого сочетания по Берстону, метод с сулемой - бромфеноловым синим, ксантопротеиновая реакция; основные и кислые белки – метод Микель-Кальво; слизь – окраска муцикармином; гликопротеины – метод ШИК; гликоген – ШИК-реакция, окраска кармином по Бесту; гликозаминогликаны – метод с альциановым синим; липиды – окраска суданом черным В по Лизону; нуклеиновые кислоты – окраска метиловым зеленым–пиронином.

Результаты. Средняя кишка у кишечнодышащих разделяется на две

области – печеночную и абдоминальную. Эпителий печеночной области проявляет ярко выраженную секреторную активность, в абдоминальной области секреторная активность менее выражена. В эпителии печеночной части кишки выявлены мерцательные клетки двух видов – несекретирующие и секретирующие, и железистые – базофильные, слизистые и зернистые. *Несекретирующие мерцательные клетки* имеют на апикальной поверхности реснички и исчерченную каемку шириной 3-4 мкм. Цитоплазма окрашивается слабо оксифильно, но в базальной части клеток – более интенсивно. Цитоплазма в апикальной и базальной частях клеток и исчерченная каемка отличаются высоким содержанием белков, представленных, преимущественно, основными белками, и гликопротеинов, обнаружены включения гликогена. В цитоплазме клеток содержатся также включения неправильной формы и разной величины (1-3 мкм в диаметре), имеющие желто-зеленую окраску. В составе этих включений обнаружены основные белки. *Секретирующие мерцательные клетки* отличаются наличием на апикальной поверхности колбовидных выростов цитоплазмы до 10-15 мкм в диаметре, в просвете кишки наблюдаются многочисленные отделившиеся глобулы. *Базофильные клетки* характеризуются значительным объемом цитоплазмы, которая всегда интенсивно базофильна. Механизм выведения секрета аналогичен таковому мерцательных секреторных клеток. Цитоплазма окрашивается в темно-синий цвет железным гематоксилином, в красновато-коричневый – азаном по Гейденгайну, дает положительную реакцию на основные белки. При окраске метиловым зеленым – пиронином цитоплазма этих клеток интенсивно пиронинофильна, что указывает на высокое содержание в ней РНК. *Слизистые клетки* относительно немногочисленны. Во многих случаях часть секрета у апикальной поверхности разбита на гранулы, остальной секрет имеет аморфное строение. Иногда вся апикальная часть заполнена гранулами. В составе секрета выявлены гликозаминогликаны, гликопротеины и основные белки, причем в составе аморфного секрета преобладают гликозаминогликаны, а в гранулах ведущим компонентом являются белки. Таким образом, слизистые клетки существуют в нескольких модификациях, которые, по-видимому, отражают этапы процесса секретобразования. *Зернистые клетки* – это призматической формы клетки, цитоплазма которых заполнена мелкими оксифильными гранулами. Секреция в зернистых клетках происходит путем отшнуровывания от апикальной поверхности крупных округлых выпячиваний цитоплазмы.

Заключение. У кишечнодышащих в печеночной области выявлено несколько типов секреторных клеток. Эпителий осуществляет сек-

рецию слизи и, вероятно, пищеварительных ферментов, запасание питательных веществ в виде гликогена, всасывание благодаря исчерпанной каемке из микроворсинок. В то же время мерцательные клетки имеют реснички, а в базальной части содержат миофиламенты, то есть являются эпителиально-мышечными (Столярова, 2012).

Стубеда Н.А., Блоцкая Д.Н.

Нейроактивные аминокислоты в отделах головного мозга крыс при остром нарушении мозгового кровообращения

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

Проблема метаболических сдвигов при остром нарушении мозгового кровообращения по типу ишемического инсульта приобрела большую значимость в связи с широкой распространенностью цереброваскулярной патологии, высоким уровнем летальности и инвалидности перенесших его больных. Установлено, что одним из звеньев патогенеза нарушений мозгового кровообращения является вызванный снижением транспорта кислорода и гипоксией дисбаланс фонда свободных аминокислот.

При этом относительно недостаточно изучены механизмы поддержания внутриклеточной концентрации нейроактивных аминокислот, хотя и показано, что указанные процессы определяют формирование сложных патогенетических последовательностей, приводящих к поражению головного мозга.

Целью настоящей работы является определение сдвигов в концентрациях нейроактивных аминокислот в отделах головного мозга крыс-самцов с различной функционально-метаболической ориентацией на фоне острой недостаточности мозгового кровообращения.

В качестве модели острого нарушения мозгового кровообращения в работе использована двухсторонняя перевязка обеих общих сонных артерий у 20 крыс. Операция проводилась под кратковременным внутрибрюшинным наркозом, который вводили за 40 минут до начала эксперимента. Контролем служили 20 ложнооперированных животных. После моделирования за животными наблюдали на протяжении 30 суток.

Крыс выводили из эксперимента декапитацией. Головной мозг извлекали и препарировали отделы (гипоталамус, средний мозг и стриатум) при 4 °С. Отделы мозга фиксировали и хранили до исследования в жидком азоте. Время от забоя животных до погружения тканей в жидкий азот составляло: для гипоталамуса - 40-50 с, для ствола мозга - 80-

100 с, для стриатума - 140-160 с, что обеспечивало приемлемый уровень точности результатов.

Определение нейроактивных аминокислот проводили в хлорнокислых экстрактах гомогенатов отделов головного мозга. Определение свободных аминокислот проводили на ВЭЖХ-системе "Aqilent 1100" (НР, США) методом обращенно-фазной хроматографии с изократическим элюированием Na^+ - ацетатным буфером, содержащим ацетонитрил и тетрагидрофуран (85:3:12) при скорости потока 0,8 мл/мин, температуре 30°C после предколоночной дериватизации с о-фталевым альдегидом и 2-меркаптоэтанолом и флуориметрическим детектированием (338/425нм).

Острое нарушение мозгового кровообращения сопровождалось снижением содержания в стриатуме крыс тормозных аминокислот глицина и ГАМК. Кроме того, отмечалось снижение суммарного содержания как возбуждающих, так и тормозных соединений, а их соотношение практически не изменилось. При этом из-за увеличения тормозного медиатора – глутамина, соотношение возбуждающих и тормозных соединений по сравнению с контролем снизилось, а в стриатуме и гипоталамусе опытных крыс содержания как возбуждающих, так и, в большей степени, тормозных (ГАМК, глицин, глутамин) аминокислот увеличилось, что свидетельствует о преобладании процессов торможения.

В среднем мозге на фоне моделируемой ситуации фонд исследованных соединений практически не изменялся.

В гипоталамусе, как и в стриатуме, увеличивались содержание глутамина и сумма аминокислот тормозного действия.

Результаты и выводы данной работы, помогают сделать заключение об относительно “мягком” действии острой недостаточности мозгового кровообращения на фонд определяемых соединений с преобладанием тенденции увеличения медиаторов тормозного типа.

*Сутько И.П., Шляхтун А.Г., Радута Е.Ф., Богдевич Е.В., Каспер Е.В.,
Семененя И.Н.*

Влияние активаторов рецепторов PPAR на потребление этанола у крыс в условиях свободного выбора

РНИ УП «Институт биохимии биологически активных соединений
НАН Беларуси», Гродно, Республика Беларусь

Вовлеченность рецепторов, активируемых пролифераторами пероксисом (PPAR), в широкий спектр физиологических процессов и нарушение их активности при развитии патологий позволяет широко исполь-

зовать агонисты PPAR при лечении атеросклероза, ишемической болезни сердца, сахарного диабета 2-го типа. В последние годы на моделях у животных выявлено снижение активности и/или экспрессии PPAR при алкогольной интоксикации, а также значительное подавление активности PPAR при развитии алкогольного стеатоза, этанол-индуцированного гепатита и фиброза. Интерес вызывает способность некоторых агонистов PPAR снижать потребление этанола у экспериментальных животных и уменьшать выраженность симптомов абстинентного синдрома.

Целью нашего исследования явилась оценка влияния активаторов рецепторов PPAR клофибрата, фенофибрата, пиоглитазона и метформина на потребление этанола у крыс.

Материалы и методы исследования. Эксперимент выполнен на половозрелых крысах-самцах линии Wistar массой 200–220 г. Все эксперименты выполнялись в соответствии с общепринятыми этическими нормами и правилами проведения научных работ с использованием экспериментальных животных.

Формирование алкогольной зависимости крыс проводили в течение 30 дней в условиях двухбутылочного теста (two bottle test). Был получен стабильный уровень потребления этанола крысами до 4–7 г/кг массы тела в сутки. Для дальнейшего исследования были отобраны животные с более высоким уровнем потребления алкоголя. Потребление и предпочтение этанола на фоне приема активаторов рецепторов PPAR исследовали в двухбутылочном тесте в течение 5 суток. Потребление этанола и воды измеряли ежедневно путем определения разности объема жидкости в поилках до и через 24 часа после введения препаратов, оценивали уровень потребления этанола в г/кг массы тела животного, а также предпочтение этанола в % к общему потреблению жидкости. Все препараты вводили внутривентрикулярно при помощи зонда 1 раз в сутки в виде суспензии в 2% крахмале в дозах: клофибрат, фенофибрат (агонисты α -PPAR рецепторов) – 100, 250 и 500 мг/кг/сут, пиоглитазон (агонист γ -PPAR рецепторов) – 10, 15, 20 мг/кг/сут, метформин – 100, 250 и 500 мг/кг/сут. Контрольные животные получали эквивалентные количества 2% раствора крахмала. Полученные данные подвергали статистической обработке методом однофакторного дисперсионного анализа. Различия между группами признавали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Животные всех экспериментальных групп до введения исследуемых препаратов не отличались по количеству потребляемого этанола (г/кг/сут) и по коэффициентам предпочтения этанола. Установлено дозозависимое снижение потребления этанола и коэффициен-

та предпочтения этанола у крыс с устойчивым алкогольным потреблением, сформированным в течение 30 дней, на фоне введения агонистов PPAR α фенофибрата и клофибрата в исследуемом диапазоне доз (100–500 мг/кг/сут). На их фоне (500 мг/кг/сут) потребление этанола снизилось соответственно на 32% и 26% по сравнению с группой плацебо. Метформин в дозе 500 мг/кг/сут через 5 суток после его введения животным снижал уровень потребления этанола и коэффициент предпочтения этанола у крыс соответственно на 34% и 27% по сравнению с контрольной группой, получавшей плацебо. Агонист рецепторов PPAR γ пиоглитазон в исследуемом диапазоне доз (10–20 мг/кг/сут) не оказывал влияния на уровни потребления и предпочтения этанола у крыс.

Заключение. Таким образом, установлено дозозависимое снижение потребления этанола и коэффициента предпочтения этанола у крыс с устойчивым алкогольным потреблением на фоне введения агонистов PPAR α клофибрата и фенофибрата, а также активатора рецепторов PPAR метформина в диапазоне доз 100–500 мг/кг/сут.

А.А. Сутягин

Исследование возможности связывания α -аминокислот молекулой β -циклодекстрина методом формольного титрования

Южно-Уральский государственный гуманитарно-педагогический университет, Челябинск, Российская Федерация

Циклодекстрины широко известны в качестве молекулярных контейнеров, способных включать в свою внутреннюю полость достаточно объемные молекулы, в том числе, составляющие основу лекарственных препаратов. Данный прием широко используется в современной фармакологии для инкапсуляции лекарственного средства с целью обеспечения его точечной доставки, пролонгированного действия, а также для защиты молекулы от воздействия деструктивных факторов среды. Образование комплексов включения позволяет проводить направленные изменения свойств молекул, например, повышать растворимость соединений, изменяя их реакционную способность.

Установлено, что циклодекстрины и их производные образуют соединения с аминокислотами, особенно включающими в свою структуру ароматические фрагменты. Так, L-аминокислоты образуют более устойчивые комплексы по сравнению с их изомерными D-формами. Показано возрастание устойчивости образующихся комплексов в ряду аланин – лейцин – гистидин – фенилаланин [1].

Нами проведено исследование возможности связывания α -аминокислот глицина и фенилаланина методом формольного титрования. Анализу подвергался водный раствор соответствующей аминокислоты, а также совместный раствор аминокислоты и β -циклодекстрина, взятых в эквимольных соотношениях.

В водном растворе свободные аминокислоты, в результате самопротонирования существуют в форме биполярного цвиттер-иона. Это вызывает искаженные результаты алкалометрического титрования, при котором объем щелочи, затраченной на титрование кислоты, значительно завышен. При формольном титровании по методу Серенсена происходит защита аминогруппы при реакции с формальдегидом с образованием метиленового Шиффова производного, в следствие чего самопротонирование становится невозможно.

При определении в растворе концентрации свободного β -аланина раствор аминокислоты обрабатывали формольным реактивом (раствор формальдегида, обработанный щелочью для нейтрализации примесей муравьиной кислоты), после чего раствор титровали щелочью. Аналогичные операции проводили с раствором аминокислоты и циклодекстрина. Установлено, что на титрование в присутствии циклодекстрина расход щелочи в два раза больше, чем при титровании свободной кислоты, что свидетельствует о наличии в системе цвиттер-иона даже после формилирования. Можно предположить, что в результате включения аминогруппы в гидрофобную полость циклодекстрина, осложняется формилирование и происходит стабилизация цвиттер-иона.

Можно ожидать, что ароматическое кольцо в составе фенилаланина способствует включению аминокислоты в гидрофобную полость циклодекстрина. Но результаты аналогичного эксперимента, проведенные с использованием неароматической аминокислоты – глицина также показали двух-кратное возрастание количества щелочи, затраченной на титрование в присутствии циклодекстрина по сравнению со свободной аминокислотой. Таким образом, влияние ароматического кольца на способность к включению аминокислоты в полость циклодекстрина в данном случае не доказано.

Таким образом, результаты формольного титрования глицина и фенилаланина в присутствии β -циклодекстрина свидетельствуют о возможности связывания аминокислот полостной системой. В то же время, попытки выделения из водного раствора комплекса включения не привели к положительным результатам. После осаждения из раствора и промывки водой в спектре ЯМР ^1H полученного соединения отмечались только сигналы протонов циклодекстринового остова, но от-

существовали протоны, характерные для структуры исследованных аминокислот. Таким образом, можно предположить, что аминокислоты не вступают с молекулой циклодекстрина в ковалентное связывание, а образующиеся соединения включения неустойчивы и разрушаются при попытке выделения из раствора.

Литература

1. Борисов Ю.А. Строение и энергия образования комплексов β - и γ -циклодекстринов с оптическими изомерами аминокислот / Ю.А. Борисов, С.С. Кисилев // Журнал физической химии. – 2016. – Т. 90, № 9. – С. 1368–1373.

Tkachenko H.¹, Kurhaluk N.¹, Osmólska U.^{1,2}, Kasiyan O.³, Yurchenko S.³

HCl-induced hemolysis in the patients with disturbance of thyroid function

¹Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland

²Non-public Health Care Center U & O Zdrowie – Home-based long-term care, Łębork, Poland

³Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Thyroid dysfunction is one of the most common endocrine disorders (Gardner et al., 2011). These disorders are divided into two types: hypothyroidism and hyperthyroidism reflect the deficiency and excess secretion of thyroid hormones (Romer, 1998; Ortiga-Carvalho et al., 2014). Regardless of the cause, the consequences of both low and high secretion of thyroid hormones are predictable, taking into account the knowledge of the functions of thyroid hormones (Mullur et al., 2014; Mancini et al., 2016). Thyroid hormones are known to influence the balance between the generation of reactive oxygen species (ROS) and the antioxidant defense system of cells (Venditti and Di Meo, 2006; Villanueva et al., 2013). It has been shown that hyperactivity increases the production of ROS by causing oxidative stress in the cell and facilitating cell damage (Oppenheimer et al., 1994). On the other hand, the metabolic state caused by hypothyroidism may have a protective function. Erythrocytes are the most sensitive to the effects of oxidative stress, mainly because they participate in the transport of oxygen, and therefore are directly exposed to it (Çimen Burak, 2008). The hemoglobin in the erythrocyte contains iron (II) ions, which enable the Fenton reaction and catalyze lipid peroxidation (Zapora and Jarocka, 2013). In this study, we aimed to analyze the changes in the resistance of erythrocyte membranes to the effects of hemolytic factors (HCl-induced resistance) in patients with disturbance of thyroid function.

The assessment of the levels of thyroid hormones and resistance of erythrocyte membranes to the HCl was carried out on 153 individuals, i.e. 71.55%

were women and 28.45% men. All these individuals were divided into groups: euthyroidism, with primary hypothyroidism, with latent (subclinical) hypothyroidism, with primary hyperthyroidism, with latent (subclinical) hyperthyroidism, with autoimmune thyroiditis. The blood samples were collected from the ulnar vein into the blood clot tubes (Serum Clot Activator). The HCl-induced resistance of the erythrocytes was measured spectrophotometrically by the method described by Terskov and Hitelzon (1957).

The analysis of the HCl-induced erythrocyte hemolysis in the blood of men and women with thyroid dysfunction showed the following trends. Statistically significant changes in the number of hemolyzed erythrocytes were obtained between the values in the groups of men with subclinical hyperthyroidism, primary hyperthyroidism, and euthyroidism. An increase in the percentage of hemolyzed erythrocytes at the beginning of hemolysis was noted in women with subclinical hyperthyroidism. Comparing the groups of women and men with primary hyperthyroidism, a lower percentage of hemolyzed erythrocytes was obtained in the women group. A higher percentage of hemolyzed erythrocytes has been shown in women with subclinical hypothyroidism. When analyzing the group of men with euthyroidism and subclinical hypothyroidism, a reverse tendency of changes was demonstrated.

The analysis of the HCl-induced hemolysis of erythrocytes in the group of women showed no statistically significant differences between patients with euthyroidism and primary hypothyroidism. However, in the male group, the HCl-induced hemolysis of erythrocytes differed significantly between patients with euthyroidism and primary hypothyroidism. The erythrogram of the HCl-induced hemolysis in men with primary hypothyroidism was very shifted to the right and flat (increased hemolysis time and decreased percentage of hemolyzed erythrocytes). The HCl-induced hemolysis in women with autoimmune thyroiditis was shifted to the left compared to the group of women with euthyroidism (reduced time of maximum hemolysis and increased number of hemolyzed erythrocytes). A statistically significant increase in the percentage of hemolyzed erythrocytes was obtained in the group of women with autoimmune thyroiditis compared to the group of women with the euthyroid state. Different trends were obtained by comparing the men groups among themselves. Men with autoimmune thyroiditis had a lower percentage of hemolyzed erythrocytes compared to the group of men with euthyroidism. The obtained results will allow for precise individual determination of the principles of diagnostics and treatment of thyroid diseases depending on age and gender.

Tkachenko H.¹, Kurhaluk N.¹, Osmólska U.^{1,2}, Kasiyan O.³, Yurchenko S.³
Lipid profile and lipid peroxidation biomarker in the blood of patients with subclinical hypothyroidism

¹Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk, Słupsk, Poland

²Non-public Health Care Center U & O Zdrowie – Home-based long-term care, Łębork, Poland

³Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Subclinical hypothyroidism (SH) is defined as an elevated serum thyroid-stimulating hormone (TSH) level associated with serum thyroid hormone concentrations within the reference range (Razvi et al., 2008). Patients with the subclinical stage of hypothyroidism have an increased risk of developing atherosclerosis and increased levels of total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and apolipoprotein (apo) B (Wiseman et al., 1993; Mya and Aronow, 2002; Gao et al., 2015). Hypercholesterolemia is a common feature in hypothyroidism since thyroid hormones upregulate LDL-receptor expression (Huesca-Gómez et al., 2002). Thyroid hormones may stimulate hydroxymethylglutaryl-coenzyme A (HMG CoA), the key enzyme of cholesterol biosynthesis, and induce increased synthesis of cholesterol. Additionally, the LDL-C receptor gene contains a thyroid hormone-responsive element (TRE) that could allow triiodothyronine (T3) to modulate the gene expression of the LDL-C receptor increasing LDL-C receptor synthesis (Santi et al., 2012). Oxidative stress biomarkers seem to be associated with secondary hypercholesterolemia to hypothyroidism, whereas hypothyroidism per se does not cause oxidative stress in SH patients. On the other hand, high-plasma lipids can be considered as an oxidation substrate for oxidative stress (Santi et al., 2012). Thyroid dysfunction influences lipid metabolism and consequently on oxidant/antioxidant status in these patients. Considering that there are different results regarding the values of blood oxidative stress markers in patients with hypothyroidism, our study aimed to analyze the lipid peroxidation in male and female populations with subclinical hypothyroidism from the central Pomeranian region (northern Poland). The present study aimed to evaluate the lipid profiles and lipid peroxidation biomarkers in patients with subclinical hypothyroidism (n = 31) and health controls (n = 30).

A total of 31 patients with hypothyroidism between 25 and 65 years old were studied. The participants in the study were recruited from healthy volunteers and patients. None of the patients was included when presenting history or underlying symptoms of diabetes, cardiovascular disease, as well as if receiving hormonal treatment. In all cases, the patients and controls were non-smokers and non-pregnant. The participants of the study were

recruited among patients of non-public Health Care Center U & O Zdrowie – Home-based long-term care (Lębork, Poland). A detailed medical history was taken, and a physical examination was performed on all participants. The protocol was approved by the Human Ethics Committee of the Medical University in Gdańsk (KB 32/2018, Gdańsk, Poland). The patients were separated into two groups. The euthyroid group (18 female and 12 male) presented normal free T4 (FT4) and TSH values in the serum. The experimental group presenting FT4 and TSH values indicative for subclinical hypothyroidism (19 female and 12 male).

Thyroid profile was assessed by estimation of serums TSH, T3, and fT4 that were measured by electrochemiluminescence immunometric assay on Cobas 6000 Roche/Hitachi (e601 module). Serum total cholesterol (TC) and triglycerides (TG) concentrations were measured using standard enzymatic methods by use of kit reagents on the fully automated analyzer Cobas 6000 Roche/Hitachi (module c501). High-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) was measured in the supernatant plasma after the precipitation of apolipoprotein B-containing lipoproteins. Low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) was estimated with the Friedewald equation. The level of lipid peroxidation was determined by quantifying the concentration of 2-thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) with the Kamyschnikov (2004) method for determining the malonic dialdehyde (MDA) concentration.

Our results showed that subjects with SH had significantly higher levels of TC, LDL-C, TG, and TC to HDL-C ratio. Thus, a more atherogenic lipid profile when compared with healthy individuals was observed. In the present study, we have demonstrated that hypothyroid patients had non-significantly higher levels of TBARS (by 4.95% and by 3.59% for females and males with sub-clinical hypothyroidism compared to the healthy individuals. SH patients had significantly higher TSH, TC, LDL-C, and TC to HDL ratio with FT4 normal range than the control group. We also observed a positive correlation between TC and TBARS ($r = 0.625$, $p = 0.001$), LDL and TBARS ($r = 0.712$, $p = 0.000$). A positive correlation between TSH and total cholesterol, triglyceride levels, and LDL fraction as well as thyroid hormones (T3 and FT4) was noted. TSH was also associated with deleterious changes in serum lipids, particularly HDL-C, LDL-C, and the ratio of LDL-C to HDL-C.

The present research has shown that thyroid hormones change lipid profiles. We have found associations between serum TSH levels and serum lipids levels, showing thyroid dysfunction influence on lipid metabolism and consequently on oxidant and antioxidant status in these patients. How-

ever, further studies are necessary to evaluate a larger series of patients, with a longer duration of subclinical hypothyroidism.

This study was carried out during the Scholarship Program supported by The Polish National Commission for UNESCO in the Department of Zoology and Animal Physiology, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Slupsk (Poland). We thank The Polish National Commission for UNESCO for supporting our study.

Таболіч А.А., Ляшенко Л.С., Комар Е.И.

Физико-химические свойства полиметинового красителя в модельных средах с грамположительными бактериями

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Клинически отмечается увеличение устойчивости штаммов бактерий к применяемым препаратам, что в свою очередь определяет актуальность в поиске новых лекарственных средств и методов антибактериальной терапии. Об этом может свидетельствовать создание онлайн-платформы AMRmap анализа данных резистентности, описанной в статье [1], разработка и ежегодная актуализация рекомендаций по определению чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Наиболее агрессивными и устойчивыми принято считать такие широко распространенные патогены, как *E.coli* и *S.aureus*, что подтверждает анализ 876 штамов стафилакоков, приведенный в статье [2], где среди стафилаков наиболее часто выделяется вид *S. aureus* - 36,1%. Одним из перспективных методов, позволяющим ускорить лечение является фотодинамическая антибактериальная терапия, предполагающая использование фотосенсибилизаторов в комбинации с воздействием лазерным излучением [3].

Целью данной работы являлось исследование физико-химических свойств полиметинового красителя в модельных средах с грамположительными бактериями.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования послужил водорастворимый трикарбоцианиновый краситель (ПК220) используемый в качестве фотосенсибилизатора, синтезированный в лаборатории спектроскопии НИУ «Институт прикладных физических проблем имени А.Н. Севченко» БГУ, а также штамм грамположительных микроорганизмов *Staphylococcus aureus*.

В качестве питательной среды для культивирования бактерий использовался пептонно-дрожжевой бульон (ПДБ). Исследования проводились в пяти модельных средах:

1. 24-часовая культура *S. aureus* в питательном бульоне. Температура культивирования 37°C;
2. надосадочная культурная жидкость, которая образуется после удаления микроорганизмов из бульонов (т.е. бульон с продуктами жизнедеятельности микроорганизмов без клеток бактерий);
3. клетки бактерий, полученные в результате центрифугирования, отмытые от остатков культуральной жидкости и ресуспендированные в стерильном физиологическом растворе;
4. стерильный изотонический (физиологический) раствор для контроля;
5. стерильный питательный бульон для контроля.

Результаты. В спектрах поглощения и флуоресценции ПК 220 в ПДБ с *S. aureus* отмечены значительные изменения по сравнению со стерильными средами. Произошел сдвиг максимума поглощения на 27 нм и падение оптической плотности, что свидетельствует о проникновении молекулы красителя, через клеточную стенку бактерий. Падение интенсивности поглощения вероятно обусловлено повторным перепоглощением агрегированного красителя или соединений, которые образуются при вхождении красителя внутрь клетки.

В спектрах поглощения и флуоресценции ПК 220 в надосадочной жидкости наблюдается сдвиг максимума спектра поглощения на 10 нм в длинноволновую область спектра.

Из спектров поглощения и флуоресценции ПК 220 в ФСБ с отмытыми клетками *S. aureus* отмечен сдвиг максимума поглощения на 21 нм. Причем с течением времени растет доля молекул ПК в виде ассоциатов.

Заключение. Таким образом, в результате проведенного исследования было показано, что молекулы изученного полиметинового красителя проникают через клеточную стенку грамположительных бактерий, находясь в ПДБ. Для проникновения красителя внутрь клетки грамположительных бактерий *S. aureus*, красителю необходимы вещества, продуцируемые самими клетками.

Литература

1. Alexey Y. Kuzmenkov, Ivan V. Trushin, Alina G. Vinogradova, Andrey A. Avramenko, Marina V. Sukhorukova, Surbhi Malhotra-Kumar, Andrey V. Dekhnich, Mikhail V. Edelstein, Roman S. Kozlov AMRmap: An Interactive Web Platform for Analysis of Antimicrobial Resistance Surveillance Data in Russia Front. Microbiol., 12 March 2021.
2. Gordinskaya N.A., Belyaeva E.V., Boriskina E.V., Kryazhev D.V Antimicrobial resistance of staphylococci in pediatric hospitals KMAX, 22 №4 2020.
3. Subramanian G, Mural R, Hoffman SL, Venter JC, Broder S. Microbial disease in humans: a genomic perspective. Mol. Diagn 2001; 6: 243 —52.

Таганович А.Д.¹, Ковганко Н.Н.¹, Прохорова В.И.², Державец Л.А.²,
Готько О.В.², Колб А.В.¹, Мурашко Д.И.¹

Комплекс белков в периферической крови как инструмент диагностики ранних стадий плоскоклеточного рака легкого

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

²ГУ «РНПЦ Онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова», Лесной, Республика Беларусь

К настоящему времени сформировалось представление о том, что цитокиновые биомаркеры могут быть перспективным инструментом для обнаружения рака легкого в начальных стадиях, а также помочь в определении развития этого заболевания. Однако они не нашли широкого применения в практике из-за низких диагностической чувствительности и (или) диагностической специфичности.

Цель: разработка оригинальной комбинации белков крови, определение уровня которых могло повысить эффективность их использования в диагностике I-II стадий плоскоклеточного рака легкого (ПКРЛ).

Материал и методы. Обследован 61 пациент (37 мужчин и 24 женщины) с впервые диагностированным первичным ПКРЛ. В качестве контроля обследованы 36 здоровых людей и 13 пациентов с гамартомой. В сыворотке крови обследуемых определяли уровень SCC (антиген плоскоклеточной карциномы), CXCL5 – иммуноферментным методом, С-реактивного белка (СРБ) турбидиметрическим методом и плотность расположения рецепторов CXCR2 на лимфоцитах (проточной цитометрией).

Результаты. Диагностическая эффективность анализируемых по отдельности тестов на SCC, CXCL5, MFI CXCR2 и СРБ в случае выявления ранних стадий ПКРЛ была 73,2%, 69,0%, 70,4% и 71,8% соответственно. В случае наличия у пациента доброкачественной опухоли гамартотомы, диагностическая эффективность тестов в сравнении с пациентами с ранними стадиями ПКРЛ была 66,7%, 60,4%, 64,6% и 62,5% соответственно. С целью улучшения диагностической эффективности тестов было разработано регрессионное уравнение, использующие комбинацию из значений четырех маркеров для диагностики начальной фазы развития ПКРЛ:

$$Y = \frac{\exp(-3,207 + 0,608 \times X1 + 0,103 \times X2 + 0,217 \times X3 + 0,075 \times X4)}{1 + \exp(-3,207 + 0,608 \times X1 + 0,103 \times X2 + 0,217 \times X3 + 0,075 \times X4)},$$

где Y – результат регрессионного вычисления комбинации индивидуальных показателей; X_1 , X_2 , X_3 – концентрации антигенов SCC, CXCL5 и С-реактивного белка соответственно; X_4 – средняя интенсивность флуоресценции рецептора CXCR2 в лимфоцитах, числа перед значениями концентраций – коэффициенты логистической регрессии; $\exp(\approx 2,718)$ – основание натурального логарифма.

С помощью ROC-анализа установлены оптимальные значения порогов классификации. Диагностическая эффективность совместного определения четырех показателей в случае определения ранних стадий ПКРЛ при пороговом значении $Y \geq 0,287$ составила 90,1%. В случае дифференцировки гамартума/ранние стадии ПКРЛ при пороговом значении $Y \geq 0,321$ диагностическая эффективность теста составила 85,4%. Пороговое значение $Y \geq 0,529$ позволяет с диагностической эффективностью 83,6% диагностировать поздние стадии ПКРЛ. Таким образом, диагностическая эффективность модели, использующей комбинацию измерения SCC, CXCL5, MFI CXCR2 и СРБ при значениях Y в интервале 0,321–0,52 для пациентов с ПКРЛ в начальных стадиях заболевания составила около 77%.

Выводы Значения эффективности полученной модели показывают, что использование комбинации определяемых белков в крови пациентов значительно увеличили их диагностический потенциал.

*Церахава М.М.¹, Шчарбін Д.Г.¹, Брышэўска М.², Цю Дж.³,
Мажараль Ж.-П.³, дэ ла Мата Ф.Х.⁴, Гомез Р.⁴*

Параўнанне ўплыву hard- і soft-нанацасціц на малекулы ферментаў на прыкладзе фосфаліпазы A2

¹ГНУ «Інстытут біяфізікі і клетачнай інжынерыі НАН Беларусі»,
Мінск, Рэспубліка Беларусь

²Лодзінскі Ўніверсітэт, Лодзь, Польшча

³Нацыянальны цэнтр навуковых даследаванняў, Тулуза, Францыя

⁴Універсітэт Алькалы, Алькала, Іспанія

З развіццём нанатэхналогій пашыраецца ўжыванне нанацасціц у самых розных сферах чалавечай дзейнасці. Адным з найбольш перспектывных кірункаў развіцця нанатэхналогій з'яўляецца іх ужыванне ў медыцыне і біялогіі. Біясэнсары, дыягностыка і візуалізацыя, выкарыстанне ў хірургіі, а таксама выкарыстанне ў хіміятэрапіі, прычым як у якасці ўласна лекавых рэчываў, так і сродкаў для іх дастаўкі ў клеткі. Такая разнастайнасць прымянення нанацасціц забяспечваецца разнастайнасцю іх хімічнай прыроды, якая абгрунтоўвае іх уласцівасці. Таму паўстае пытанне пра стварэнне класіфікацыі нанацасціц паводле іх

хімічнай структуры. Аднак пакуль што найбольш слушная, хоць і найбольш абстрактная класіфікацыя была прапанавана Дональдам Тамаліяй [1]. У адпаведнасці з ёй, наначасціцы падзяляюцца на дзве буйныя катэгорыі: *hard* (заснаваныя на неарганічных рэчывах) і *soft* (арганічныя наначасціцы). У дадзенай працы разглядаецца ўплыў наначасціц двух вышэйзгаданых тыпаў на фосфаліпазу A2. У якасці *hard*-наначасціц былі абраныя ПЭГіляваныя срэбныя наначасціцы BDAB27, у якасці *soft*-наначасціц – фосфарзмяшчальныя дэндрымеры AE2G3. Фосфаліпаза A2 была абраная як прыклад паўсюднага ферменту з вялізнай біялагічнай роллю.

Мэта – даследаваць і параўнаць уплыў срэбных наначасціц BDAB27 і дэндрымераў AE2G3, як прыкладаў *hard*- і *soft*-наначасціц адпаведна, на фосфаліпазу A2.

Матэрыялы і метады. У дадзенай працы вывучаўся ўплыў наначасціц на другасную структуру і канфармацыю фосфаліпазы A2. Уплыў наначасціц на другасную структуру быў даследаваны з дапамогай метаду спектраскапіі кругавога дыхраізму, на канфармацыю – з дапамогай метаду бялковай флюарэсцэнцыі. Таксама былі даследаваны характэрыстыкі ўтвораных комплексаў паміж бялком і наначасціцамі метадам вымярэння дзэта-патэнцыялу.

Рэзультаты. У выніку даследавання ўплыву наначасціц на канфармацыю фосфаліпазы A2 пры розных значэннях pH было выяўлена, што тушэнне флюарэсцэнцыі срэбнымі наначасціцамі BDAB27 адбывалася паступова, даходзіла да 50% на плато і амаль не залежала ад кіслотнасці асяроддзя. Насупраць, тушэнне флюарэсцэнцыі фосфаліпазы A2 дэндрымерамі AE2G3 было рэзкім і пры выхадзе графікаў на плато складала ад 25% да 55% у залежнасці ад pH. Даследаванне ўплыву дадзеных наначасціц на другасную структуру фосфаліпазы A2 паказала, што найбольшыя змены ў кругавым дыхраізме пад уплывам срэбных наначасціц адбываліся пры іх нізкай канцэнтрацыі і пасля 0,25 мкМ ужо не былі істотнымі; у той жа час змена значэнняў кругавога дыхраізму фосфаліпазы A2 пад уплывам дэндрымераў адбывалася больш раўнамерна пры канцэнтрацыях да 3 мкМ, але былі значна большымі. Даследаванне ўтвораных комплексаў метадам дзэта-патэнцыялу паказала, што комплексы фосфаліпазы A2 з дэндронамі могуць дасягаць 1000 нм у залежнасці ад канцэнтрацыі апошніх, у той час як памер комплексаў са срэбнымі наначасціцамі не перавышаў 300–500 нм.

Вынікі. Дадзеныя, атрыманыя ў выніку праведзеных даследаванняў, дазваляюць наглядна ацаніць адрозненні ва ўплыве наначасціц рознай хімічнай прыроды на фермент фосфаліпазу A2.

Дадзеная работа падтрымана Беларускай рэспубліканскай фондам фундаментальных даследаванняў і Дзяржкамітэтам РБ па навуцы і тэхналогіях, грант Б19АРМГ-002.

Літаратура

1. Tomalia, D.A. In quest of a systematic framework for unifying and defining nanoscience. J Nanopart Res 11, 1251–1310 (2009). <https://doi.org/10.1007/s11051-009-9632-z>

Терехова Т.Н.¹, Матвеев А.М.², Близнюк В.В.², Бутвиловский А.В.¹
Анализ обращений детского населения к стоматологу с целью профилактических осмотров

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

²ГУ «Республиканская клиническая стоматологическая поликлиника», Минск, Республика Беларусь

Согласно интегральному показателю качества стоматологической помощи населению, построенному на основе рекомендованных Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) критериях, процент обращений населения с целью профилактики должен составлять 50% [1]. Актуальность исследования связана с отсутствием информации о доле обращений детского населения Республики Беларусь к стоматологу для профилактических осмотров.

Цель: проанализировать обращения детского населения к стоматологу с целью профилактических осмотров.

Материалы и методы. Изучены сводные ведомости лечебно-профилактической работы государственных организаций здравоохранения Республики Беларусь (форма № 039-СВ/у-10, прием за счет средств государственного бюджета) за 2015-2019 гг.

При анализе динамических рядов проведено вычисление абсолютного прироста (убыли), темпа прироста (убыли) и среднего многолетнего темпа роста (убыли), интенсивность вариации оценена с помощью коэффициента вариации (V), устойчивость тенденции динамики определена по шкале Чеддока с использованием коэффициента корреляции Спирмена (ρ).

Результаты. Установлено, что общее количество посещений врача-стоматолога детским населением в 2015, 2016, 2017, 2018 и 2019 годах соответственно составило 3 008 884, 3 025 717, 2 570 494, 2 505 755 и 2 783 428. В 2015, 2016, 2017, 2018, 2019 годах количество обращений детского населения для профосмотра врачом-стоматологом составило 368 976, 429 134, 497 704, 536 341 и 592 222, соответственно. Установлено, что в 2015-2019 годах темп прироста количества обращений

детского населения к врачу-стоматологу с целью профосмотра колебался в диапазоне 7,76-15,98%. Средний многолетний темп роста данного показателя составил 1,13, интенсивность вариации – умеренная ($V=18,12$), устойчивость тенденции – полная ($\rho=1,0$; $p=0,017$). Динамика данного показателя описывается линейным трендом $y=55370x+318766$ с коэффициентом аппроксимации $R^2=0,99$.

Необходимо отметить, что в анализируемом периоде отмечен рост доли обращений для профосмотра в структуре общего количества посещений. Так, в 2015 году этот показатель составил 12,26%, в 2016 году – 14,18%, в 2017 году – 19,36%, в 2018 году – 21,40% и в 2019 году – 21,28%. Полученные данные свидетельствуют о повышении обращаемости детского населения с целью профилактики стоматологических заболеваний, однако в соответствии с рекомендациями ВОЗ (50%) доля обращений детского населения для профилактических осмотров является недостаточной. Таким образом, мотивация родителей детей на посещение стоматолога для проведения профилактических осмотров и мероприятий является одним из актуальных резервных направлений для стоматологической службы.

Выводы. В 2015-2019 гг. обращаемость детского населения к стоматологам в государственные организации здравоохранения Республики Беларусь с целью профилактических осмотров увеличилась с 12,26% до 21,28%, однако остается недостаточной по критериям, рекомендованным ВОЗ (50%).

Литература

1. Леус, П.А. Интегральный показатель качества стоматологической помощи населению / П.А. Леус, П.Е. Запашник // Стоматологический журнал. – 2001. - №3. – С. 29-34.

*Терпинская Т.И.¹, Осипов А.В.², Лукашевич В.С.¹, Цетлин В.И.²,
Уткин Ю.Н.²*

Роль циклооксигеназ в противовоспалительном эффекте никотина

¹ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

²Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Российская Федерация

Никотиновые холинорецепторы (нХР) – это семейство ацетилхолиновых рецепторов, которые, помимо ацетилхолина, активируются никотином. НХР представляют собой лиганд-управляемые катионные каналы и участвуют в передаче нервного импульса, а также в регуляции

ряда не связанных с нейропередачей физиологических функций, в том числе воспаления. К настоящему времени установлена противовоспалительная активность никотина, хотя молекулярные механизмы его действия до конца не раскрыты.

К основным эндогенным регуляторам воспаления относятся ферменты циклооксигеназного пути и образующиеся в ходе этого пути медиаторы, в частности, простагландин E2 (ПГЕ2). В связи с этим возникает вопрос о взаимосвязи нХР и циклооксигеназного пути в регуляции воспаления.

Цель данной работы – исследовать участие циклооксигеназ в противовоспалительном эффекте никотина.

Материалы и методы. Форболмиристатацетат (ФМА)-дифференцированные клетки U937 высевали в лунки 24-луночного планшета в среде RPMI с 10% ЭТС и антибиотиками, вносили бактериальный липополисахарид (ЛПС), никотин, ингибиторы ЦОГ: SC-560, NS 398 или индометацин (ИМ) – ингибиторы ЦОГ-1, ЦОГ-2 или неселективный ингибитор ЦОГ соответственно, в контроле - растворители для этих препаратов. Инкубировали клетки 18 часов в CO₂-инкубаторе, получали образцы культуральной среды и клеточных лизатов. Методом иммуноферментного анализа определяли уровень фактора некроза опухоли α (ФНО α) в культуральной среде.

В отдельном опыте аналогичным образом исследовали влияние ЛПС, никотина и селективных блокаторов различных подтипов нХР (α -конотоксинов и α -кобратоксина) на уровень ФНО α , а также ПГЕ2 в культуральной среде и в лизатах клеток.

Результаты. ЛПС повышал уровень характерного для воспаления цитокина ФНО α в культуральной среде клеток U937 в 2,4 раза. Индометацин снижал ЛПС-индуцированный синтез ФНО α до уровня контроля. При использовании NS-398, но не SC-560, также наблюдалась тенденция к снижению. Следовательно, для эффекта ЛПС необходимо участие ЦОГ, вероятно, преимущественно ЦОГ-2.

Никотин оказывал противовоспалительное действие, снижая ЛПС-индуцированный синтез ФНО α в 2,3 раза. Селективные ингибиторы ЦОГ-1 или ЦОГ-2 ослабляли этот эффект, способствуя повышению уровня ФНО α в 1,5 раза. Индометацин оказывал сходную, но менее выраженную тенденцию. Таким образом, противовоспалительный эффект никотина требовал активности ЦОГ. Так как индометацин снижал противовоспалительное действие никотина слабее, чем селективные ингибиторы ЦОГ-1 или ЦОГ-2, возможно, что эффект никотина может быть реализован и с помощью других ферментов каскада арахидоновой кислоты, например, липоксигеназ, активность которых,

как известно, может повышаться при блокаде циклооксигеназного пути.

Блокаторы $\alpha 7$ -подтипа нХР ослабляли противовоспалительное действие никотина, повышая уровень ФНО α в клеточной среде. Кроме того, их действие сопровождалось снижением внутриклеточного уровня ПГЕ2 и повышением его секреции. Это доказывает участие $\alpha 7$ -нХР в противовоспалительном действии никотина и свидетельствует в пользу взаимосвязи нХР и циклооксигеназного пути в регуляции воспаления.

Заключение. В реализации эффектов как ЛПС, так и никотина участвуют циклооксигеназы. Циклооксигеназная активность необходима для проявления провоспалительного действия ЛПС и усиления синтеза ФНО α – цитокина, характерного для воспаления. В то же время циклооксигеназы участвуют и в противовоспалительном действии никотина, способствуя снижению ЛПС-индуцированного синтеза ФНО α . Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект М20Р-254) и Российского фонда фундаментальных исследований (проект 20-54-00033).

*Терпинская Т.И.¹, Янченко Т.Л.¹, Полукошко Е.Ф.¹, Радченко А.В.²,
Грибовская В.А.², Артемьев М.В.²*

Участие протеинкиназ в поглощении клетками флуоресцентных наночастиц с полимерной оболочкой

¹ГНУ «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси»,
Минск, Республика Беларусь

²НИИ Физико-химических проблем Белорусского государственного
университета, Минск, Республика Беларусь

Протеинкиназы представляют собой группу ферментов, осуществляющих фосфорилирование белков, что приводит к изменению функциональной активности последних. Фосфорилируемые белки часто сами являются ферментами, участвуют в передаче биохимических сигналов и регулируют важнейшие процессы клеточного метаболизма. К таким процессам, в числе других, относится эндоцитоз – поглощение клеткой различных веществ посредством образования мембранных везикул. Таким путем клетка поглощает не только рецепторы и их лиганды, но также многие вирусы и искусственные наночастицы. Применение флуоресцентных наночастиц позволяет, используя проточную цитофотометрию, количественно оценить интенсивность эндоцитоза при воздействии различных факторов и исследовать молекулярные механизмы интернализации.

Целью нашей работы было исследовать участие протеинкиназ в процессах поглощения флуоресцентных наночастиц, покрытых оболочкой из производных амфифильного полимера.

Материалы и методы. Опыты проведены на клетках глиомы С6. В экспериментах использованы два типа флуоресцентных полупроводниковых наночастиц CdSe/ZnS, покрытых полимерной оболочкой, включающей положительно заряженные четвертичные аммонийные группы и отрицательно заряженные карбоксильные (наночастицы типа 1) или сульфонатные (наночастицы типа 2) группы. Дзета-потенциал наночастиц составлял +7,8 и +10,3 мВ соответственно.

При проведении экспериментов клетки отмывали от среды культивирования и ресуспендировали в фосфатном буфере. В клеточные пробы вносили ингибиторы протеинкиназ - генестеин в дозе 100 мкМ, хлорпромазин в дозе 56 мкМ и стауроспорин в дозах 0,01; 0,4; 1 и 4 мкМ, в контрольных сериях – изотонический раствор. Инкубировали 30 мин при 37°C и 5% CO₂ 30 мин и затем добавляли наночастицы в конечной концентрации 0,02 мкМ. Еще через 30 мин инкубации в тех же условиях оценивали интенсивность флуоресцентной маркировки клеток, анализируя пробы с использованием проточного цитофлуориметра BD FACSCanto II.

Результаты. Генестеин (ингибитор тирозинкиназ) и хлорпромазин (ингибитор кальмодулина и кальмодулин-зависимых протеинкиназ) на треть снижали маркировку клеток наночастицами типа 1. Это свидетельствует в пользу участия тирозинкиназ и кальмодулин-зависимых протеинкиназ в эндоцитозе данных наночастиц. Также наблюдалось снижение на 15 – 26% маркировки клеток, обработанных стауроспорином в дозах 0,01 и 0,4 мкМ, но не в дозах 1 и 4 мкМ. Стауроспорин является неселективным ингибитором протеинкиназ, в наномолярных дозах он ингибирует протеинкиназы C (PKC) α , γ , η , δ и ϵ , в более высоких – протеинкиназу C ζ , а также такие киназы, как PKA, PKG, S6K, CaMKII и другие. Вероятно, что существенное значение для поглощения наночастиц имеют протеинкиназы C, за исключением подтипа ϵ . Можно также предположить, что определенные киназы подавляют процессы эндоцитоза. Активность этих киназ ингибируется микромолярными дозами стауроспорина, что способствует поглощению наночастиц даже при подавлении PKC. Применение высокоселективных ингибиторов протеинкиназ позволит более точно определить ферменты, которые способствуют, либо, наоборот, препятствуют эндоцитозу. При использовании поглощения наночастиц типа 2 наблюдались сходные, хотя и менее выраженные тенденции – стауроспорин в дозах

0,01 и 0,4 мкМ, а также хлорпромазин и генестеин способствовали снижению флуоресцентной маркировки клеток на 16 – 32%.

Заключение. Протеинкиназы участвуют в регулировании процессов эндоцитоза наночастиц. Поглощению положительно заряженных наночастиц клетками глиомы С6, инкубируемыми в фосфатном буфере, способствуют ферменты, относящиеся к тирозинкиназам, кальмодулин-зависимым протеинкиназам и, вероятно, протеинкиназам С.

Работа выполнена при поддержке задания ГПНИ 2.1.04 и гранта БРФФИ X20M-031.

Ткаченко А.С., Посохов Е.А., Наконечная О.А., Онищенко А.И.

Изучение физико-химических особенностей гидрофобного региона фосфолипидного бислоя мембран лейкоцитов, инкубированных с высокими концентрациями пищевой добавки Е407а

Харьковский национальный медицинский университет, Харьков,
Украина

Полисахариды морских водорослей успешно используются в пищевой промышленности для улучшения текстуры и внешнего вида пищевых продуктов в качестве желирующих агентов, загустителей и стабилизаторов благодаря их гидроколлоидным свойствам. В эту группу соединений входят агар, альгинаты и каррагинаны. Каррагинаны (добавки Е407 и Е407а) - наиболее распространенные полисахариды, полученные из красных морских водорослей, на рынке пищевых добавок. Таким образом, их безопасность и законодательное регулирование содержания каррагинанов в продуктах питания имеют огромное значение. Европейское агентство по безопасности продуктов питания (EFSA) выпустило официальный запрос на сбор экспериментальных данных, позволяющих оценить токсичность пищевой добавки каррагинан (EFSAQ-number: EFSA-Q-2018-00771). Имеются данные об иммунотоксичности каррагинанов, поэтому актуальным является вопрос изучения их влияния на структурно-функциональные особенности клеточной мембраны лейкоцитов.

Целью исследования явилась оценка влияние полуочищенного каррагинана (пищевая добавка Е407а) на гидрофобную область фосфолипидного бислоя клеточных мембран лейкоцитов, подвергшихся воздействию раствора с высокой концентрацией этой пищевой добавки.

Материалы и методы. Флуоресцентный зонд РН1 (2-фенилфенантро[9,10-d]-1,3-оксазол) был использован для исследования влияния Е407а на состояние липидного бислоя в лейкоцитах, выделенных от 8 интактных половозрелых крыс популяции WAG и ин-

кубированных с 5% раствором пищевой добавки E407a в течение 4 часов. После инкубации кровь лизировали (FACS™ Lyse solution, Becton Dickinson, США) для получения суспензии лейкоцитов. Спектры флуоресценции в суспензиях лейкоцитов измеряли после инкубации с зондом в течение 1 часа (концентрация зонда равнялась $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л) на спектрофлуориметре Hitachi F850 (Токио, Япония) в диапазоне 350-630 нм с шагом 2 нм. Длина волны возбуждения равнялась 330 нм. Щели возбуждения и испускания составляли 5 нм. Зонд RH1 в липидных мембранах локализуется в области углеводородных цепей фосфолипидов липидного бислоя и центре липидного бислоя. Отношение интенсивностей наиболее коротковолновой полосы флуоресценции и наиболее длинноволновой полосы флуоресценции зонда RH1 использовали в качестве параметра для оценки изменений протонодонорной способности микроокружения зонда. Исследование проводилось в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (EST 123), а также Директивой 2010/63 / EU по защите животных, используемых в научных целях. Для сравнения двух независимых групп показателей использовали критерий Манна-Уитни.

Результаты. Формы спектров флуоресценции зонда не различались в суспензиях лейкоцитов крыс, которые инкубировали с пятипроцентным раствором полуочищенного каррагинана, и лейкоцитов контрольных образцов. Установлено, что отношение интенсивностей флуоресценции зонда статистически достоверно не отличались ($p=0.49$) между контрольными и опытными образцами. Подобные результаты свидетельствуют о том, что воздействие E407a не вызывает изменений протонодонорной способности среды в липидных мембранах лейкоцитов в области расположения зонда (т.е. в области жирнокислотных цепей фосфолипидов). Полученные экспериментальные данные согласуются с нашими предыдущими результатами, которые продемонстрировали влияние инкубации лейкоцитов с E407a на более полярные области мембран. Снижение полярности и протонодонорной способности микроокружения флуоресцентных зондов O1O (2-(2'-гидроксифенил)-5-фенил-1,3-оксазол) и O6O (2-(2'-гидроксифенил)-5-(4'-бифенил)-1,3-оксазол) свидетельствовали о снижении гидратации в области глицериновых остатков и карбонильных групп фосфолипидов и, таким образом, предполагали увеличение липидного порядка мембраны.

Выводы. Полуочищенный каррагинан не влияет на гидратацию гидрофобной области фосфолипидного бислоя мембраны лейкоцитов.

Нейропротективная роль $\alpha 2$ -адренорецепторов в гиппокампе в условиях моделирования гипоксии *in vitro*

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Агонисты $\alpha 2$ -адренорецепторов широко используются для терапии артериальной гипертензии, обезболивания и седативного эффекта в течение многих лет, однако их потенциальное использование в качестве нейропротекторов до сих пор ограничивалось лабораторными экспериментами. Существует ряд доказательств эффективности препаратов как *in vivo*, так и *in vitro* [1], однако их точные нейропротективные механизмы остаются неуловимыми. Цель данной работы заключалась в анализе эффектов кратковременной гипоксии на амплитудно-временные показатели вызванных ответов при стимуляции СА1 области гиппокампа *in vitro* на фоне введения альфа2-адреномиметика (клонидина).

Эксперименты проводили на переживающих срезах гиппокампа толщиной 400 мкм 4-недельных крысят ($n = 30$). Для регистрации сигналов использовали аппаратно-программный комплекс для исследования электрической активности нейронов [2]. Стимулирующий электрод помещали в области коллатералей Шаффера, регистрирующие электроды в двух точках СА1 области гиппокампа: в *stratum radiatum*, где записывали возбуждающие постсинаптические потенциалы (ВПСП), и в *stratum pyramidale*, где регистрировали популяционный спайк. Интервал между импульсами стимуляции составлял 20 с, амплитуда – 20–30 мкА, частота – 0,05 Гц, длительность стимула – 0,2 мс, межимпульсный интервал 10 мс.

Гипоксию моделировали путем замены оксигенированного перфузионного раствора на идентичный неоксигенированный в течение 5 минут. Одновременно в перфузию вводили раствор альфа2-адреномиметика клонидина или альфа2-адреноблокатора йохимбина в конечной концентрации 3 мкг/мл или неоксигенированную перфузионную жидкость («контроль») в пропорции 1:100 в течение 20 минут до полного стабильного восстановления амплитуд вызванных ответов. Для оценки достоверности различий между группами использовали U критерий Манна-Уитни для независимых выборок и Т-критерий Уилкоксона для зависимых выборок.

Результаты эксперимента показали, что моделирование гипоксии приводит к выраженному угнетению активности нейронов гиппокампа с ее последующим восстановлением. Амплитуды популяционного спайка обладали высокой вариабельностью, не позволившей надежно

установить различия между группами. В результате моделирования гипоксии амплитуда вызванных ответов ВПСР в группе «контроль» снизилась на 71%. После возобновления подачи оксигенированного раствора амплитуда сигналов постсинаптической передачи восстанавливалась до 91% от первоначальных значений. Уровень снижения амплитуд ВПСР после гипоксии и их последующее восстановление в группе «контроль» и после введения йохимбина достоверно не отличались. Введение клонидина на фоне гипоксии сопровождалось достоверно ($p < 0,05$) более сильным снижением амплитуд ВПСР с их последующим восстановлением в среднем на 59% выше первоначального. Таким образом, активация альфа2-адренорецепторов в гиппокампе сопровождается модификацией протективных процессов в нейронах СА1 области гиппокампа в ответ на острую гипоксию.

Предполагаемым механизмом вовлечения $\alpha 2$ -адренорецепторов является ингибирование внутриклеточного притока Ca^{2+} либо связь с K^{+} -каналами, которые вызывают гиперполяризацию мембран нейронов [1]. На это указывает форсированное снижение активности нейронов во время гипоксического стимула под воздействием клонидина, что ведет к уменьшению клеточного энергопотребления и является преимуществом при острой ишемии. Устойчивая постгипоксическая гипервозбудимость, отмеченная при перфузии раствором клонидина, демонстрирует сохранение жизнеспособности нейронов гиппокампа и минимизацию последствий неврологического дефицита.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № Б20М-104).

Литература

1. Ma D., Rajakumaraswamy N., Maze M. $\alpha 2$ -Adrenoceptor agonists: shedding light on neuroprotection? // British Medical Bulletin, 2005. - Vol. 71. - Issue 1. - P. 77–92.
2. Денисов А.А., (с соавт.) Установка для внеклеточной регистрации и стимуляции электрической активности нейронов среза гиппокампа крысы // В сб.: «Медэлектроника-2003». Минск. 2003. – С. 69–72.

Нейрогуморальная сопряженность при обучении в многоальтернативном лабиринте

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Российская Федерация

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека»,
Москва, Российская Федерация

Как известно, гормоны, выделяемые эндокринными железами непосредственно в кровь, оказывают сложное и многогранное воздействие на организм в целом либо на определённые органы и системы-мишени. При этом во многих работах активность гуморальных факторов связывают с обеспечением энергетического баланса организма (Nadal et al., 2017). В последнее время появилось немало работ о том, что гормоны принимают участие в психоэмоциональных проявлениях и памяти (Quaedflieg, Schwabe, 2017; Szőnyi, 2019). При этом, как правило, исследователи оценивают разные когнитивные аспекты в разных экспериментальных парадигмах, что приводит к фрагментарности и противоречивости данных о роли гормонов в регуляции психических функций.

Цель работы – описать нейрогуморальную сопряженность у мышей F1 (C57BL/6 x DBA/2) при решении сложной пищедобывательной задачи.

Эксперименты выполнены на 10 половозрелых мышах-самцах F1 (C57BL/6 x DBA/2), исходная масса тела 20–22 г (питомник «Столбовая»). Длительность опыта 10 мин, длительность эксперимента 15 дней. Животных обучали пищедобывательному навыку в оригинальном многоальтернативном лабиринте. Регистрировали поведенческие показатели на 4 уровнях: 1) локомоторный: количество пройденных отсеков, скорость перемещения, длина и длительность пробы, 2) безусловнорефлекторный: количество стоек, обнюхиваний, остановок, колебаний, актов груминга, отряхиваний, облизываний и кусаний стен лабиринта и целевых элементов задачи, 3) условнорефлекторный: число проб, которые в нашей задаче могли рассматриваться как проявление уровня мотивации, количество подкреплений, уровень ошибок, 4) способность воспроизводить оптимальное решение подряд в пределах опыта как фактор, отображающий устойчивость функции воспроизведения памятного следа. После окончания эксперимента у мышей определяли уровень грелина, лептина, нейропептида Y (NPY), кортикостерона, тестостерона, общего трийодтиронина (Т3) и тироксина (Т4) в сыворотке крови. Все экспериментальные процедуры проводили в соответствии с директивами Европейского парламента

2010/63/EU «О защите животных, используемых в экспериментальных целях» (от 22.09.2010 г.). Статистическую обработку морфометрических данных проводили в программе Statistica 8. с использованием непараметрического коэффициента Спирмена.

Благодаря корреляционному анализу удалось установить, что «сердцем» нейрогуморальной сопряженности оказался тестостерон. Он высоко коррелировал практически со всеми локомоторными показателями поведения (число пройденных отсеков за опыт, средняя скорость перемещения, длина и длительность пробы), с мотивационными характеристиками (количество проб, $R = 0.72$), показателями поведенческой эффективности (число подкреплений в опыте, $R = 0.73$) а также со способностью многократно воспроизводить оптимальное решение в пределах опыта ($R = 0.75$). Для кортикостерона, Т4 и NPY были выявлены более локальные формы корреляционных отношений. Содержание NPY коррелировало с количеством таких безусловных реакций, как остановки, колебания в развилках лабиринта ($R = -0.86$) и количество актов груминга (-0.71) и не коррелировало с поведенческими характеристиками на других уровнях анализа поведения. Уровень Т4 коррелировал исключительно со способностью длительное время воспроизводить оптимальное решение ($R = 0.85$). Уровень кортикостерона положительно коррелировал преимущественно с количеством ошибок, совершенных за время опыта ($R = 0.94$). Вопреки представлениям о грелине, как о «гормоне голода» и «гормоне аппетита», мы не выявили значимых корреляций между его содержанием в сыворотке крови и количеством подкрепления, полученного за время опыта, а также другими анализируемыми параметрами. Несмотря на биохимическое родство с гормоном Т4, тиреоидный гормон Т3 не коррелировал со способностью к безошибочному воспроизведению навыка, как и с другими параметрами.

Исследование выполнено в рамках научного проекта государственного задания МГУ №121032500080-8 и государственного задания ФГБНУ «НИИ морфологии человека» АААА-А19-119021490067-4.

Томашёва А.Ю.

Ультразвуковая стандартизация исследований желудка

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Республика Беларусь

Сведения о строении и функциях желудка необходимы специалистам для диагностики болезней этого важного отдела пищеварительной системы человека. В различных руководствах по ультразвуковой диа-

гностике полые органы желудочно-кишечного тракта рассматривались как препятствие для получения четкого эхографического изображения из-за наличия в них газа. Возникающие внутри полого органа многократные отражения звука (реверберации) создавали неустраняемые артефакты, а стенки этих органов и содержащийся в них газ и воздух практически полностью отражали ультразвуковые волны.

Цель исследования. Изучение методик стандартизации ультразвукового исследования (УЗИ) желудка.

Материалы и методы. Для диагностики использовался ультразвуковой аппарат высокого класса «АЛОКА альфа 6» с конвексным датчиком на 3,5 МГц. Провели ультразвуковое исследование желудка у 103 мужчин и 126 женщин в возрасте от 19 до 72 лет, находившихся на стационарном лечении или проходивших обследования по поводу различных заболеваний или по профилактическому осмотру.

В связи с совершенствованием ультразвуковой аппаратуры в настоящее время все чаще используют УЗИ в диагностике заболеваний желудочно-кишечного тракта, обычно сочетая с эндоскопическим и рентгенологическим методами. УЗИ желудка обычно проводили натощак. С целью уменьшения количества воздуха и газа в первую очередь в кишечнике. Применялась предварительная подготовка по традиционной методике. Пациенту натощак проводили ультразвуковое исследование желудка при помощи конвексного датчика 3,5-5 МГц в В-режиме серой шкалы.

Началом УЗИ желудка является выполнение нескольких вертикальных срезов в эпигастральной области, начиная с левой парастеральной линии. Затем выполняя постепенно сдвиг эхографической плоскости вправо, исследовали контуры передней стенки желудка, далее выявлялись закругленные контуры пилорического отдела желудка. После этого выполняли горизонтальные ультразвуковые срезы вдоль условной линии, соединяющий пилорический канал желудка и просвет горизонтального отдела двенадцатиперстной кишки. Для более четкого изображения дна и субкардиального отдела желудка исследование проводили в горизонтальном положении пациента на левом боку с изучением левой части эпигастральной области - кардиоэзофагальной зоны. Тело, антральный и пилорический отделы желудка исследовались в положении пациента стоя или сидя.

Результаты и выводы. Проанализированы результаты ультразвукового исследования желудка у 103 мужчин и 126 женщин в возрасте от 19 до 72 лет, находившихся на стационарном лечении или проходивших обследования по поводу различных заболеваний или по профилактическому осмотру. Выявлено: 11 полипов тела и антрального от-

делов желудка, 2 лейомиомы антрального отдела желудка, 3с-ма поражения полого органа (рак), у 37 обследованных выявлены признаки гастрита.

Таким образом, одним из главных преимуществ УЗИ желудка является высокая информативность в сочетании с его быстрым неинвазивным применением, с последующей клинико-анатомической оценкой полученной информации, и в зависимости от полученных результатов, выработать тактику дальнейшего дообследования и лечения пациента.

Тураева С.К.¹, Заломаяева Е.С.^{1,2,3}, Никитина Е.А.^{1,2}

Анализ динамики краткосрочной и среднесрочной памяти у *Drosophila melanogaster* с нейроспецифическим подавлением экспрессии гена *limk1*

¹ФГБОУВО «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена», Санкт-Петербург, Российская Федерация

²ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Российская Федерация

На сегодняшний день одной из актуальных проблем современной науки является понимание этиологии и патогенеза различных нейродегенеративных заболеваний (НДЗ), к которым относят болезнь Альцгеймера, Хантингтона, Паркинсона и др. Данные заболевания являются результатом сложного взаимодействия неблагоприятных внешних факторов, а также индивидуальных особенностей генома, предрасполагающих к развитию болезни. Согласно современным представлениям, основу интеллектуальных проблем при нейрологических повреждениях мозга составляет активное забывание, регулируемое сигнальным каскадом ремоделирования актина, ключевым ферментом которого является LIMK1. Также известно, что изменения экспрессии гена *limk1* приводят к нейрокогнитивным патологиям. Анализ нуклеотидной последовательности гена *limk1 D. melanogaster* выявляет 71% гомологии с геном *limk1 H. sapiens*, в связи с чем *D. melanogaster* является наиболее удобным модельным объектом для осуществления данного исследования.

Цель – изучение роли гена *limk1* в процессах формирования и динамики кратко- и среднесрочной памяти у самцов дрозофилы в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания (УРПУ).

Материалы и методы исследования. Исследование проводили на гибридах с нарушением экспрессии гена *limk1* в дофаминергических

нейронах (7009x26294) и линии дикого типа *Canton-S (CS)*. Для подавления экспрессии гена *limk1* у самцов *D. melanogaster* методом РНК-интерференции применяли систему скрещивания GAL4/UAS. Способность к обучению и формированию памяти оценивали методом УРПУ самца за оплодотворенной самкой. Для выработки УРПУ 5-суточного самца, не имеющего опыта полового поведения, помещали в специальную камеру с оплодотворенной самкой *CS* на 30 мин. Для оценки эффективности обучения вычисляли индекс обучения (ИО). Память характеризуется как абсолютным уровнем ИО, так и его динамикой на протяжении тестируемого периода времени. Для оценки активности процессов забывания провели анализ скорости снижения ИО на коротких временных интервалах (0,15, 30, 60 минут после обучения) и спустя 24 часа, когда ИО может оставаться высоким при нарушении активного забывания. Для статистического анализа использовали двусторонний тест рандомизации.

Результаты. Мухи линии *CS* характеризуются высоким уровнем ИО на всех исследуемых точках, однако мы можем наблюдать тенденцию к его снижению с течением времени. Гибриды 7009x26294 характеризуются низким уровнем ИО на всех исследуемых точках, однако достоверных отличий их от *CS* спустя 0, 15, 30 и 60 минут после обучения не выявлено. Спустя 24 часа после обучения наблюдали достоверное резкое снижение ИО у гибридов 7009x26294 относительно других исследуемых точек, а также он был достоверно ниже ИО мух линии *CS* в тот же период времени. У мух линии *CS* резкого снижения ИО спустя 24 ч после обучения не обнаружено.

Выводы. Таким образом, мухи дикого типа проявляют высокую способность к формированию кратко- и среднесрочной памяти, а также способны сохранять её в течение суток. Мухи с нарушением экспрессии гена *limk1* проявляют пониженную способность к формированию памяти, а также характеризуются более ярко выраженным протеканием активного забывания по сравнению с линией дикого типа. Полученные данные открывают новые перспективы для дальнейшего изучения роли гена *limk1* в процессах формирования и сохранения памяти.

Работа поддержана грантом РФФИ (№20-015-00300 А).

Спектрофотометрическое определение гепарина натрия в воздухе рабочей зоны

РУП «НПЦ Гигиены», Минск, Республика Беларусь

Гепарин (линейный гетерополисахарид $C_{12}H_{19}NO_{20}S_3$) – вещество, препятствующее свертыванию крови (прямой антикоагулянт). Используется в качестве главного активного компонента в составе препаратов «ГЕПАРИН», «ТРОМБЛЕСС», «ГЕПАРИН-РИХТЕР», «ГЕПАРИН НАТРИЕВАЯ СОЛЬ», «ГЕПАРИН-ИНДАР» (Белмедпрепараты (Беларусь), Биосинтез (Россия), Гедеон Рихтер А.О. (Венгрия), Спофа Прага (Чехия) и др.) в виде натриевой соли.

Однако, гепарин натрия может оказывать побочное действие на организм: аллергические реакции, тошноту, изменения показателей крови, кровотечения из органов желудочно-кишечного тракта. Поэтому при работе с ним недопустимо попадание его в дыхательные пути и на кожу. Ориентировочный безопасный уровень воздействия в воздухе рабочей зоны – 1 мг/м^3 . Вследствие этого, необходим контроль состояния воздушной среды при производстве данного лекарственного средства.

В настоящее время для определения гепарина натрия используются следующие методы: хроматография, электрофорез, масс-спектрометрия, спектрофотометрия. Однако на основании изучения литературных источников выявлено, что метрологически аттестованной методики определения гепарина натрия в воздухе рабочей зоны в Республике Беларусь не существует. Спектрофотометрия, из приведенных выше методов, относится к наиболее доступным.

Целью работы являлась разработка методики определения концентраций гепарина натрия в воздухе рабочей зоны спектрофотометрическим методом.

Материалы и методы исследования. Методика основана на концентрировании гепарина натрия из воздуха рабочей зоны на аналитические аэрозольные фильтры АФА-ВП-20-1, дальнейшей десорбции химического вещества с фильтров, смоченных деионизированной водой, проведении реакции взаимодействия гепарина натрия с Азуром-1 (основной тиазиновый краситель) и количественном определении спектрофотометрическим методом при длине волны 490 нм (колориметр фотоэлектрический концентрационный КФК-2-УХЛ4.2).

Результаты и выводы. Диапазон измеряемых концентраций гепарина натрия в воздухе рабочей зоны составил от 20 мкг до 80 мкг в 10 см^3 анализируемого раствора при отборе 80 дм^3 воздуха.

Показатели точности метода измерений массовой концентрации гепарина натрия в воздухе рабочей зоны в заданных диапазонах измерений составили: предел повторяемости – $r = 16 \%$, предел промежуточной прецизионности – $r_{I(To)} = 20\%$, максимальная расширенная неопределенность – $U = 16\%$.

Показатели прецизионности (повторяемости и промежуточной прецизионности) определялись в соответствии с СТБ ИСО 5725-2.

*Усманова С.Р., Шерова З.У., Джонмуродов А.С., Бобокалонов Дж.Т.,
Муҳидинов З.К.*

Количественное изучение комплекса белков молочной сыворотки и яблочного пектина методом капиллярного электрофореза

Институт химии им. В.И. Никитина НАН Таджикистана, Душанбе,
Республика Таджикистан

Использование полисахаридов для образования комплексов с белком представляет большой интерес, поскольку он увеличивает физическую стабильность эмульсии за счет электростатических и стерических эффектов, увеличивает вязкость водной фазы, изменяет межфазные реологические свойства и стабилизирует межфазные слои [1–3]. Это стало возможным благодаря лучшему пониманию физико-химии стабильности эмульсии и внедрению новых методов определения характеристик, таких как межфазная реология. Белки обладают амфифильными характеристиками и, как таковые, способны прочно адсорбироваться на границе раздела масло-вода [3–5]. Взаимодействие протеинов с полисахаридами могут разделяться на два класса, характеризующиеся «специфичными» и «неспецифичными» участками связывания. Эти комплексы или коацерваты, применяются во многих областях пищевой и фармацевтической промышленности, включая заменители жира, концентрирование белков, микроинкапсулирование ЛВ и иммобилизацию энзимов [1–6].

Исследования, в данном направлении, актуальны в связи с постоянно растущими потребностями фармацевтической промышленности в новых функциональных материалах на основе полидисперсных систем.

Цель. Количественное изучение комплекса на основе изолята белка молочной сыворотки с высокометилованным яблочным пектином методом капиллярного электрофореза.

Материалы и методы исследования. В работе использовали очищенный образец сывороточных белков молока, полученный с применением диаультраfiltrации, так называемый изолят сывороточного

белка (ИСБ) и высокометилированный (ВМ-) яблочный пектин с приведенными характеристиками: ГК 68 %; СЭ 52 %; M_w 130 КД.

Для количественной оценки и состава комплекса ИСБ с яблочным пектином проведен анализ белкового состава в растворах фильтрата и ретентата капиллярным электрофорезом, пользуясь покрытой капиллярной колонкой USIL-WAX (50.0 μ m, с общей длиной 95.0 см и эффективной - 70.0 см) на капиллярном электрофорезе (Agilent HPCE G1600AX) с использованием компьютерной программы Agilent ChemStation Software B.02.01 SR2 посредством анализа несвязанной части белков, прошедших через ультрафильтрационную мембрану, как описано в работе [6] при изучении комплексообразования в системе β -лактоглобулин (β -Lg) с пептидами и цитрусовым пектином.

Результаты и выводы. Методом капиллярного электрофореза анализирован белковый состав ИСБ состоящий из 37.35 % β - LgA, 52.9 β - LgB и 9.7 % α - La. Установлено, что в комплексе с яблочным пектином с молярным соотношением 1:41 (пектин : ИСБ) участвуют три фракции ИСБ со степенью связывания: 62.41 % β -Lg A, 31.52 % β -Lg B, 58.2 % α - La, с увеличением фракции ИСБ происходит одновременное взаимодействие протеинов на поверхности комплекса друг с другом, что указывает на кооперативное взаимодействие протеинов на поверхности уже сформировавшегося комплекса.

Литература

1. Tolstogulzov, V. B. Thermodynamic aspects of biopolymer functionality in biological systems, foods, and beverages. Crit. Rev. Biotechnol., 2002. – 22. - P. 89-174.
2. Doublier, J.L. Protein polysaccharide interaction. / J.L. Doublier, C. Garnier, D. Renard, C. Sanchez // Cur. Opin. Colloid Interface Sci. 2000. - V 5. - P. 202.
3. E. Bouyer, G Mekhloufi V. Rosilio et al. Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field / International Journal of Pharmaceutics 2012 – 436. – P. 359–378.
4. Dickinson E. Hydrocolloids and emulsion stability. In: Phillips GO, Williams PA, editors. Handbook of hydrocolloids. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd. 2009. P. 23–47.
5. Mc.Clements DJ. Food emulsions. Boca Raton: CRC Press; 1999111–24.
6. Girard, M. Quantification of the Interactions between β -Lactoglobulin and Pectin through Capillary Electrophoresis Analysis. / M. Girard, S.L. Turgeon, S.F. Gauthier. // J. Agric. Food Chem. 2003. - V.51. - P. 6043-6049.

*Усольцев К.В., Сафина Р.Ф., Горбунова М.Е., Сальманова Г.Р.,
Шангараев Р.И., Фаизов Т.Х., Хаммадов Н.И.*

**Изучение возможности использования синтетических пептидов
для обнаружения присутствия вирионов возбудителя энзоотиче-
ского лейкоза в организме человека и животных**

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и
биологической безопасности» г. Казань, Российская Федерация

Считается, что энзоотический лейкоз является заболеванием преимуще-
ственно крупного рогатого скота. Однако есть сообщения, что ви-
рионы возбудителя заболевания были найдены в тканях молочной же-
лезы и клетках крови человека, и этот вирус может участвовать в раз-
витии рака молочной железы у женщин [1, 2, 3]. Поэтому разработка
методов обнаружения присутствия вирионов возбудителя в организме
человека является актуальной задачей. Одним из показателей наличия
вирионов в организме являются антитела к возбудителю лейкоза. Они
образуются в большинстве случаев при попадании в организм возбу-
дителя и являются специфичным маркером присутствия вирионов в
организме. В настоящий момент разработаны различные способы об-
наружения противолейкозных антител (РИД, ИФА), однако, как пра-
вило, в них в качестве антигена используют нативные белки оболочки
и капсида вируса энзоотического лейкоза, которые являются трудно
культивируемыми и недостаточно специфичными.

Цель – изучение возможности использования синтетических пептидов
для обнаружения присутствия вирионов возбудителя энзоотического
лейкоза в организме человека и животных.

Материалы и методы исследования. Биоинформационный анализ
эпитопов белков вириона ВЛ КРС осуществляли с помощью ресурса
иммуногенных эпитопов «Immune epitope date base and analysis
resource» и онлайн-утилиты BLAST интернет-ресурса NCBI.

Результаты и выводы. Наиболее антиген-специфичными и иммуно-
генными белками ВЛ КРС являются гликозилированные белки вирус-
ной оболочки gp51, gp30 и нуклеокапсидный белок p24. С помощью
ресурса иммуногенных эпитопов, используя биоинформационный
анализ, установлены наиболее антигенспецифичные эпитопы белков
gp51, gp30 и p24, которые могут быть использованы для дизайна син-
тетических пептидов с целью разработки методов ИХА и ИФА при
диагностике энзоотического лейкоза:

- | | |
|-------------|-----------------------|
| 1. ID 18750 | GARAMVTYDCEPRCPYVGAD; |
| 2. ID 60362 | SQADQGSFYVNHQILFLHLK; |
| 3. ID 47063 | PDCAICWEPSPPWAPE; |
| 4. ID 72113 | VYNKTISGSGP; |

5. ID 49009

PQGRRRFGARAMVTYDCE;

6. ID 55707

RRRFGARAMV.

Также с помощью проведенного BLAST-анализа подтверждено, что представленные эпитопы являются неотъемлемой частью белков, образующих вирусную оболочку, и являются строго специфичными для возбудителя энзоотического лейкоза.

Представленные выше эпитопы вирусных белков возбудителя энзоотического лейкоза могут быть использованы для дизайна синтетических пептидов, представляющих собой короткие аминокислотные последовательности вирусных белков. С помощью них можно будет создать новые высокоспецифичные и высокочувствительные методы обнаружения присутствия вирионов возбудителя в организме человека и животных и принять необходимые лечебно-профилактические меры.

Литература

1. Baltzell, K. A., Shen, H. M., Krishnamurthy, S., Sison, J. D., Nuovo, G. J., & Buehring, G. C. (2018). Bovine leukemia virus linked to breast cancer but not coinfection with human papillomavirus: Case-control study of women in Texas. *Cancer*, 124(7), 1342–1349.
2. Buehring, G. C., Delaney, A., Shen, H., Chu, D. L., Razavian, N., Schwartz, D. A., Bates, M. N. (2019). Bovine leukemia virus discovered in human blood. *BMC Infectious Diseases*, 19(1).
3. Martinez Cuesta, L., Lendez, P. A., Nieto Farias, M. V., Dolcini, G. L., & Ceriani, M. C. (2018, September 1). Can Bovine Leukemia Virus Be Related to Human Breast Cancer? A Review of the Evidence. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. Springer New York LLC.

Фандо Г.П.

Исследование методов синтеза 13,14-секо аналогов тестостерона

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Поиск новых биологически активных соединений среди секостероидов является одной из актуальных задач химии природных соединений. 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. Исследования в области химического синтеза секостероидов представляют интерес в связи с перспективой получения новых фармакологически активных веществ. Изучение методов получения 13,14-секо аналогов андрогенов представляет значительный научный интерес, поскольку полученные результаты помогают понять до какой степени наличие тетрациклического стероидного скелета важно для проявле-

ния ими какой-либо активности. Необходимым условием решения проблемы доступности 13,14-секо аналогов тестостерона является выбор должным образом функционализированных исходных стероидов. В настоящей работе для их получения использовался 3 β -ацетокси андростенолон. Набор функциональных группировок в циклах C и D в молекуле данного соединения позволил добиться получения 13,14-секостероидов. Подобную трансформацию осуществили с 17-незамещенными 14 α -гидроксидостероидами.

Цель – изучить особенности реакции радикального окисления 14 α -гидроксидостероидов.

Материалы и методы. Для получения 13,14-секо аналогов тестостерона использовался продукт микробиологического окисления андростенолона 3 β -ацетокси-14 α -гидроксидандрост-5-ен-17-он.

Результаты исследования. Анализ схемы радикального окисления 14 α -гидроксидостероидов показал, что наличие заместителя при C₁₇ позволило бы добиться повышения выхода целевых 13,14-секостероидов. Поставленную задачу удалось выполнить при наличии кето-группы при C₁₇. Окисление 14 α -гидроксид производного андростеналона с помощью тетраацетата свинца привело к 13,14-секостероиду с выходом всего 16%. Низкий выход данной реакции обусловлен нестабильностью 3 β -ацетокси- Δ^5 -системы в условиях радикального окисления. Единственным продуктом радикального окисления 14 α -гидроксидостероидов, который мог быть выделен с препаративным выходом (85%), стал 13-йодо-14,17-дикетон. Его использование для синтеза 13,14-секо аналогов тестостерона предполагало решение как минимум двух проблем: удаление атома йода при C₁₃ и дифференциацию C₁₄ и C₁₇ кетогрупп. Первым удачным методом, использование которого привело к решению поставленной задачи, оказалось использование гидроксилamina. Дальнейшие эксперименты показали, что лучшие результаты могут быть получены при использовании для этой цели трифенилфосфина. Использование триметилсилилцианида позволило решить проблему разделения кето групп при C₁₄ и C₁₇. В результате реакции с Me₃SiCN отмечено образование только C₁₄ кетона. В дальнейшем это соединение было использовано для синтеза 13,14-секо производных тестостерона.

Выводы. Осуществлен синтез практически неисследованной ранее группы соединений - 13,14-секо аналогов тестостерона. Показано, что реакция радикального окисления 14 α -гидроксидостероидов под действием тетраацетата свинца дает сложные смеси соединений. Наиболее эффективным способом получения 13,14-секостероидов

является радикальная фрагментация 14 α -гидроксипроизводных, содержащих кето-группу при C₁₇, под действием тетраацетата свинца в присутствии йода.

Федоров В.П., Федоров Н.В.

Состояние дегидрогеназ нейронов коры головного мозга при первичной алкогольной интоксикации

Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н.

Бурденко, Воронеж, Российская Федерация

Несмотря на большое количество публикаций, посвященных влиянию алкоголя на организм первичные механизмы его действия, в частности на нервную систему, остаются практически не изученными. Встречаются лишь единичные сведения о морфофункциональном состоянии нейронов головного мозга впервые встретившихся с алкогольной интоксикацией. На этом фоне представляет интерес состояние энергетического обмена, который в головном мозге отличается чрезвычайно высокой реактивностью к патологическим воздействиям, но его изменения при первой встрече с алкоголем изучены недостаточно.

Цель работы. В эксперименте на животных исследовать изменения энергетического обмена в нейронах коры головного мозга при первичной алкогольной интоксикации.

Материал и методы исследования. Эксперимент, с соблюдением правил биоэтики, проведен на 120 белых крысах-самцах линии Вистар массой 250-270 г, которым внутрибрюшинно вводили 15 % раствор этилового алкоголя из расчета 1,5 и 2,25 г на 1 кг массы. Дозы были выбраны как «крайние» (пороговая и транквилизирующая) по механизму действия на ЦНС. В качестве биологического контроля использованы крысы, которым вместо алкоголя вводили физиологический раствор в аналогичном объеме. Животных выводили из эксперимента через 3, 10, 17, 35, 60, 150, 300 и 600 мин после воздействия. Из нефиксированных участков лобной коры формировали комбинированные тканевые блоки, замораживали в твердой углекислоте и в камере криостата готовили срезы толщиной 10 мкм. Выявление активности основных окислительно-восстановительных ферментов (СДГ, ЛДГ, Г-6-ФДГ, АлДГ) проводили стандартными тетразолий-редуктазными методиками с использованием соответствующего субстрата и соли «нитро-СТ». Активность ферментов оценивали по величине оптической плотности конечных продуктов гистохимических реакций в видимой части спектра с помощью компьютерной программы «Image J» и последующим определением для полученных показателей средних

значений и доверительных интервалов при уровне значимости 95%, а также математическим моделированием и определением прогноза их состояния в различные временные интервалы восстановительного периода.

Результаты. Проведенные гистохимические исследования показали, что активность ключевого фермента окисления глюкозы в цикле Кребса (СДГ) снижалась уже сразу после введения алкоголя в дозе 2,25 г/кг, а при дозе 1,5 г/кг через только через 150 минут наблюдения. Через 10 минут активность СДГ восстанавливалась до исходного уровня, но после 300 мин наблюдения вновь статистически значимо снижалась. Активность ЛДГ сразу после введения транквилизирующей дозы алкоголя статистически значимо повышалась, достигала наибольших значений к 60 минуте наблюдения, а в последующие сроки соответствовала контролю. Активность Г-6-ФДГ повышалась через 10 мин после введения алкоголя ($P<0,05$) и оставалась выше контроля до окончания эксперимента. Активность алкогольдегидрогеназы (АлДГ) повышалась через 10 мин после введения алкоголя ($P<0,05$) и оставалась повышенной до 60 мин восстановительного периода. Примечательно, что повышение активности этого фермента более выражено при пороговой дозе алкоголя, чем при транквилизирующей.

Заключение. Проведенные исследования выявили статистически значимое повышение активности в нейронах головного мозга окислительно-восстановительных ферментов анаэробных путей обмена глюкозы. Ранее нами было установлена высокая реактивность нейронов при введении алкоголя, отражающая нарушение баланса процессов возбуждения и торможения в нейронах, сохраняющееся и через 600 мин наблюдения. Но самым заметным были изменение в структурах ГЭБ в виде набухания переваскулярной астроцитарной муфты, которое сохраняется во все сроки наблюдения. Довольно типичным для действия алкоголя является снижение информативности межнейрональных контактов, что проявляется в уменьшении протяженности контактирования активных зон синаптических мембран и расширении синаптической щели. Кроме этого, при транквилизирующей дозе алкоголя увеличивается количество синапсов, дегенерирующих как по светлomu, так и по темному типу.

Федотов А.Д.¹, Гафт С.С.¹, Кельцьева О.А.^{1,2}, Александрова М.Л.¹
Оценка биодоступности D-маннозы при внутрижелудочном введении

¹ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

В настоящее время углевод D-манноза в больших дозировках используется для лечения рецидивов цистита. Фармакологический эффект достигается за счет того, что D-манноза выстилает стенку мочевого пузыря и не дает бактериям, вызывающим цистит, прикрепиться к его стенке.

Существует несколько различных методов определения D-маннозы в плазме крови: ферментативные методы, высокоэффективная жидкостная хроматография, капиллярный электрофорез и газожидкостная хроматография. Ни один из этих методов не является рутинным, так как в некоторых случаях требуется устранение мешающего влияния глюкозы, большой объем образца, дополнительное оборудование.

Целью работы было установление времени полувыведения и биодоступности D-маннозы при внутрижелудочном введении, для количественной оценки применяли метод газовой хроматографии.

Суспензию D-маннозы (672 мг/кг) вводили кроликам шиншиллам с помощью зонда, отбор крови осуществляли через 0, 15, 30, 45, 60, 120, 240, 360, 720 мин после введения. Для количественного определения D-маннозы был выбран газохроматографический метод разделения с детектированием на пламенно-ионизационном детекторе (GC-2010, Shimadzu). Углеводы сами по себе не являются летучими соединениями, для их анализа необходимо проводить предварительную подготовку. Для этого применяли силилирование образца, в процессе которого гидроксильные радикалы модифицируются триметилсилильной группой, позволяя получить летучее производное. В качестве силилирующего агента был выбран 1-(триметилсилил)имидазол, при его использовании не требуется вводить дополнительных реактивов и растворителей. Поскольку углеводы силилируются не полностью для точной количественной оценки был введен внутренний стандарт пентаэретрит, он силилируется полностью и при содержании 0,05 мг на пробу дает стабильный аналитический сигнал. Градуировочный график строится как функция $S_m/S_p(C_m) = a \cdot x + b$, где S_m – площадь пика D-маннозы, S_p – площадь пика пентаэретрита, C_m – концентрация D-маннозы в пробе.

Для определения маннозы 0,1 мл плазмы крови помещали в микропробирку, добавляли 0,4 мл ацетона для осаждения белков, центрифугировали, надосадочный слой декантировали в стеклянную вials, добавляли 0,1 мл раствора внутреннего стандарта (0,5 мг/мл), затем выпаривали досуха в сушильном шкафу при температуре 75 °С. После охлаждения пробы к сухому остатку прибавляли 0,04 мл силилирующего агента, вials плотно закручивали крышкой и силилировали в сушильном шкафу (75 °С, 20 минут). После охлаждения в вials вносили 0,05 мл гексана, тщательно перемешивали. В инжектор хроматографа вводили 0,002 мл полученного образца. Режим работы хроматографа: температура инжектора – 300 °С, режим дозирования с делением 1:30, скорость потока по колонке 1 мл/мин, колонка – 5%-фенил-95%-диметилполисилоксан, 30 м x 0,25 мм x 0,25 мкм, начальная температура колонки – 100°C, температурный градиент – 5 °С/мин до 200 °С, далее по 15 °С/мин до 280°C.

При количественной оценке D-маннозы необходимо учитывать наличие эндогенных углеводов в крови. Для этого контролировали количество D-маннозы до введения. Установлено постепенное увеличение концентрации D-маннозы в плазме крови с достижением максимума через 90 (60: 120) мин, медианное значение времени полувыведения D-маннозы составляет 124 (41: 211) минут. Общий клиренс составил 196 (68,8: 245,2) мл/ч·кг, данную величину можно охарактеризовать как малую, общий плазменный клиренс находится в пределах и ниже 1/10 от величины печеночного кровотока, который у кроликов составляет 2400 мл/ч·кг. Абсолютная биодоступность D-маннозы составила 9,3% по медиане и 12,4% в среднем.

Хадарович А.Ю., Калиновский А.А., Тузиков А.В.

Предсказание структур димерных белковых комплексов с помощью нейронных сетей глубокого обучения

ГНУ «Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Актуальность и цель. Вступая во взаимодействие, белки образуют белок-белковый комплекс. Задача нахождения трехмерной структуры комплекса, образованного при взаимодействии белков, называется белковым докингом. Как и в случае индивидуальных белков, экспериментальные методы для определения структуры комплекса могут использоваться в ограниченном количестве случаев и требуют длительного времени, а в массовом порядке и вовсе неприменимы. Поэтому ускоренное развитие получили вычислительные методы, кото-

рые позволяют получать трехмерные структуры комплексов быстро, используя в качестве входных данных трехмерные структуры белков, составляющих комплекс [1,2]. Наибольшее значение при этом имеет область связывания белков, или интерфейс белкового комплекса, поскольку именно в данной области находятся аминокислоты, являющиеся необходимыми для образования комплекса, который, в свою очередь, выполняет соответствующую функцию в организме. Это особенно актуально в исследованиях, посвященных созданию потенциальных лекарственных препаратов, где в сжатые сроки нужно получить множество моделей белковых комплексов и оценить их жизнеспособность и влияние на организм. Поэтому актуальной является задача разработки алгоритма моделирования трехмерной структуры белкового комплекса. В данной работе рассматривались только димерные белковые комплексы.

Материалы и методы. Авторами был предложен алгоритм предсказания белковых интерфейсов гомодимеров (области связывания) на основе глубокого обучения и алгоритм предсказания структуры белкового комплекса по предсказанной карте контактов [3]. Алгоритмы были реализованы на языке программирования Python и библиотеки для машинного обучения pytorch [4] и использованы для предсказания набора белковых гомодимерных и гетеродимерных комплексов из базы данных белков PDB [5].

Результаты и выводы. Алгоритм на основе нейронной сети глубокого обучения позволяет ограничить пространство поиска возможных структур при докинге белковых комплексов, существенно упрощая и ускоряя процесс моделирования. Кроме того, анализ полученных результатов показывает, что разработанный алгоритм моделирования структур димерных белковых комплексов на основе известной матрицы контактов позволяет получить на тестовом множестве белковых комплексов корректные трехмерные модели для 94% гетеродимеров и 96 % гомодимеров. Разработанный алгоритм предсказания структуры белкового комплекса по предсказанной карте контактов может использоваться не только для гомодимеров, но и для гетеродимеров, то есть комплексов, состоящих из двух разных белков, поскольку не зависит от количества аминокислотных остатков в одной и другой белковой цепи. Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что данный подход является перспективным для решения задачи моделирования димерных белковых комплексов.

Литература

1. Lecun, Y. Deep learning / Y. Lecun, Y. Bengio, G. Hinton // Nature. – 2015. – Vol. 521, № 7553. – P. 436-444.
2. DT Jones, S.K. High precision in protein contact prediction using fully convolutional

- neural networks and minimal sequence features / S.K. DT Jones // *Bioinformatics*. – 2018. – Vol. 34. – P. 3308-3315.
3. А. Ю. Хадарович. Предсказание структуры гомодимерных белковых комплексов на основе глубокой нейронной сети / А. Ю. Хадарович, А. А. Калиновский, А. В. Тузиков // *Информатика*. – 2020. – № 17(2). – С. 44–53.
4. PyTorch: An Imperative Style, High-Performance Deep Learning Library / A. Paszke [et al.] // *Advances in Neural Information Processing Systems 32* / Curran Associates, Inc. ; eds. H. Wallach [et al.]. – 2019. – P. 8024-8035.
5. Berman, H. The Protein Data Bank / H. Berman // *Nucleic Acids Res.* – 2000. – Vol. 28. – P. 235-242.

Ханчевский М.А., Квасюк Е.И.

**Молекулярный докинг бривудина с кристаллической структурой
мультимедикаментозного клинического изолята-769 ВИЧ-1
(4NKK)**

Международный государственный экологический институт имени
А.Д. Сахарова Белорусского государственного университета, Минск,
Республика Беларусь

Возникновение резистентности к действию лекарственных препаратов требует их постоянного обновления для обеспечения эффективности процесса лечения различных заболеваний. В результате постоянно проводимых научных исследований по поиску биологически активных соединений и появляются препараты нового поколения. Одним из таких соединений, к которым в последнее время возник интерес исследователей, является 5-бромовинил-2'-дезоксиуридин (бривудин). Соединение относится к классу модифицированных пиримидиновых нуклеозидов и обладает сильным антивирусным действием.

Бривудин используется для лечения опоясывающего герпеса у взрослых пациентов. Его принимают перорально один раз в день, в отличие от ацикловира, валацикловира и других противовирусных препаратов. Бривудин – аналог нуклеозида тимидина. Его активным метаболитом является бривудин-5'-трифосфат, который образуется при фосфорилировании нуклеозида вирусной (но не человеческой) тимидинкиназой и, предположительно, нуклеозид-дифосфаткиназой.

Бривудин 5'-трифосфат включается в вирусную ДНК, а также блокирует действие ДНК-полимераз, тем самым подавляя репликацию вируса.

Цель исследования – изучение возможности бривудина образовывать водородные связи и стерические взаимодействия с кристаллической структурой мультимедикаментозного клинического изолята-769 ВИЧ-1 4NKK.

Для расчета стартовой геометрии молекулы выбран метод молекулярной механики (ММ⁺) программного пакета HyperChem 08. Выбор метода ММ⁺ обоснован тем, что он разработан для органических молекул, учитывает потенциальные поля, формируемые всеми атомами рассчитываемой системы, и позволяет гибко модифицировать параметры расчета в зависимости от конкретной задачи. Стартовая геометрия молекулы дополнительно оптимизирована в вакууме полуэмпирическим методом PM6 программного пакета Gaussian 09W до достижения глобального минимума полной энергии изучаемых систем.

Кристаллическая структура мультимедикаментозного клинического изолята-769 ВИЧ-1 4NKK взята из базы 3D структур белков: <https://www.rcsb.org/>. Из 6 предложенных структур, имеющих разрешение от 1 до 2 Å, выбрана молекула 4NKK с разрешением 1.8 Å. Выбранная модель очищена от воды и низкомолекулярных соединений, включённых в структуру белка. Расчет стартовой геометрии проведен методом Amber99 программного пакета HyperChem 08. Для оптимизации геометрии белка использованы следующие параметры: Algorithm – Steepest Descent, RMS gradient – 0.1 kcal/mol, maximum cycles – 23235.

Установлено, что в ходе докинга 4NKK с бривудином возникают 2 водородные связи между аминокислотой Pro 79 и 5'-гидроксильной группой дезоксирибозы, O4 пиримидинового кольца и аминокислотой Asn 25. Энергия водородной связи между Pro 79 и 5'-гидроксильной группой дезоксирибозы составила -0.26 kcal/mol, а между Asn 25 и O4 пиримидинового кольца бривудина -1.13 kcal/mol, что свидетельствует о сильном взаимодействии между бривудином и белковой молекулой 4NKK.

Кроме водородных связей, бривудин образует с молекулой 4NKK стерические взаимодействия, в образовании которых участвует 14 аминокислот.

Возникающие при этом изменения конформации кристаллической структуры мультимедикаментозного клинического изолята-769 ВИЧ-1 4NKK, могут сказаться на процессе активации важных сигнальных каскадов приводящих к образованию зрелых белков вириона ВИЧ.

Молекулярный докинг между кристаллической структурой плацентарной ароматазы цитохрома P450 человека и 5'-фосфатидил-6-тио-2'-дезоксигуанозинном

¹Международный государственный экологический институт имени А.Д. Сахарова Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Молекулярно-стыковочный анализ – важный инструмент для разработки лекарств и молекулярной структурной биологии. Целью молекулярного стыковочного анализа является прогнозирование предпочтительного места связывания, аффинности и активности лигандов и их белковых мишеней.

Ароматаза цитохром P450 – единственный фермент у позвоночных, который, катализирует биосинтез всех эстрогенов из андрогенов. Таким образом, ингибиторы ароматазы представляют собой соединения, которые могут быть использованы в терапии эстроген-зависимого рака груди. В трехступенчатом процессе, каждый этап которого требует 1 моль O₂ и 1 моль NADPH и связанного с его окислительно-восстановительным партнером – цитохромом P450 редуктазой, ароматаза превращает андростендион, тестостерон и 16альфа-гидрокситестостерон в эстрон, 17бета-эстрадиол и 17бета-16альфа-эстриол соответственно. Первые две стадии представляют собой стадии C19-метилгидроксилирования, а третья включает ароматизацию стероидного А-кольца.

Среди P450-зависимых редуктаз, большинство из которых не обладают высокой специфичностью к субстрату, ароматаза обладает высокой андрогенной специфичностью.

Цель исследования – изучение возможности 5'-фосфатидил-6-тио-2'-дезоксигуанозина образовывать водородные связи и стерические взаимодействия с кристаллической структурой плацентарной ароматазы цитохрома P450 человека (3EQM).

Для расчета стартовой геометрии молекулы выбран метод молекулярной механики (ММ⁺) программного пакета HyperChem 08. Выбор метода ММ⁺ обоснован тем, что он разработан для органических молекул, учитывает потенциальные поля, формируемые всеми атомами рассчитываемой системы, и позволяет гибко модифицировать параметры расчета в зависимости от конкретной задачи. Стартовая геометрия молекул дополнительно оптимизирована в вакууме полуэмпи-

рическим методом РМ6 программного пакета Gaussian 09W до достижения глобального минимума полной энергии изучаемых систем. Кристаллическая структура плацентарной ароматазы цитохрома P450 человека (3EQM) взята из базы 3D структур белков: <https://www.rcsb.org/>. Из 6 предложенных структур, имеющих разрешение от 1 до 3 Å, выбрана молекула 3EQM с разрешением 2.90 Å. Выбранная модель очищена от воды и низкомолекулярных соединений, включённых в структуру белка. Расчет стартовой геометрии проведен методом Amber99 программного пакета HyperChem 08. Для оптимизации геометрии белка использованы следующие параметры: Algorithm – Steepest Descent, RMS gradient – 0.1 kcal/mol, maximum cycles – 32767.

Установлено, что в ходе докинга 3EQM с 5'-фосфатидил-6-тио-2'-дезоксигуанозином возникают 2 водородные связи между аминокислотой Asp 344 и гидроксильной группой дезоксирибозы, аминокислотой Arg 495. Энергия водородной связи между Asp 344 и гидроксильной группой дезоксирибозы составила -0.24 kcal/mol, а между Arg 495 и аминокислотой 5'-фосфатидил-6-тио-2'-дезоксигуанозина -2.5 kcal/mol, что свидетельствует о сильном взаимодействии между 5'-фосфатидил-6-тио-2'-дезоксигуанозина и белковой молекулы 3EQM.

Кроме водородных связей, 5'-фосфатидил-6-тио-2'-дезоксигуанозин образует с молекулой 3EQM стерические взаимодействия, в образовании которых участвует 13 аминокислот.

Результаты расчетов свидетельствуют о том, что 5'-фосфатидил-6-тио-2'-дезоксигуанозин способен привести к изменению конформации плацентарной ароматазы цитохрома P450 человека (3EQM). Это может сказаться на процессе активации сигнальных каскадов, приводящих к приостановке синтеза эстрогенов и андрогенов, что позволяет предположить возможность использования цитарабина как ингибитора ароматазы в терапии эстроген-зависимого рака груди.

Характеристика сайтов замен аминокислот и 3D моделей ферментов, гены которых используются в MLST менингококков

¹РНПЦ Эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Менингококк – генетически пластичная бактерия, популяция которой изменяет свои характеристики, приводя к развитию новых гипервирулентных штаммов.

Цель – на основании анализа результатов секвенирования 7 фрагментов генов «домашнего хозяйства» менингококка, выявленных в Республике Беларусь, оценить аминокислотную изменчивость в кодируемых ими белках и установить их локализацию на примере их 3D моделей.

Материалы и методы исследования. Секвенировали 7 фрагментов «генов домашнего хозяйства» у 60 изолятов менингококка: *abcZ* (АВС-переносчик), *adk* (аденилатциклаза), *aroE* (шикимат-дегидрогеназа), *fumC* (фумарат-гидратаза), *gdh* (глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа), *pdhC* (пируват-дегидрогеназа), *pgm* (фосфоглюкомутаза). Исследование проводили в рамках мультилокусного сиквенс-типирования, «золотого стандарта» для характеристики генетической структуры популяции менингококка. Переводили нуклеотидную последовательность в аминокислотную онлайн (<https://web.expasy.org/translate/>). Для поиска описанных гомологов и сравнительного моделирования 3D-структур белков использовали сервис MODELLER: энергозависимый трансляционный белок, фумарат-гидратазу, пируват-дегидрогеназу *Escherichia coli*; аденилаткиназу *Photobacterium profundum*; шикимат-дегидрогеназу *Vibrio cholerae*; глюкозо-6-фосфат-1 дегидрогеназу человека; фосфоглюкомутазу *Burkholderia thailandensis*. Просмотр и редактирование 3D модели белка осуществляли в программе UCSF Chimera. Аннотацию проводили на онлайн ресурсе UniProt (IDP0A9W3, Q6LTE1, Q9KVT3, P05042, P11413, Q2SYG4, P0AFG8).

Результаты. Секвенированный фрагмент АВС-переносчика менингококка (положения 88–231 на модели) наиболее гомологичен с энергозависимым трансляционным белком EttA. В его 3D-структуре описан домен arm (95–139), который, вероятно, способствует взаимодействию белка с рибосомальным протеином L1. Все аминокислотные замены лежат в пределах домена arm.

В области фрагмента аденилаткиназы (положения 48–202) в 3D-структуре описаны сайты связывания АМФ; АТФ; Zn^{2+} . Периферические домены NMbind и LID перемещаются во время катализа. Аминокислотная замена приходится на фрагмент, который при построении 3D-модели формирует изгиб вторичной структуры, и не является сайтом связывания.

В области фрагмента шикимат-дегидрогеназы (положения 109–217) в 3D-структуре описаны сайты связывания шикимата, акцептора H^+ , НАДФ. Аминокислотная замена в 1 из 43 положений приходится на сайт связывания НАДФ ($^{51}N \leftrightarrow R$), которая, возможно, может влиять на функциональную активность фермента. 41,9% замен аминокислот располагались на α -спирали, а 11,6% на β -складчатости.

В области фрагмента фумарат-гидратазы (положения 266–419) в 3D-структуре описаны сайты связывания субстрата, донора/акцептора H^+ , 2 активных сайта, важных для катализа, замен в которых не обнаружено. Однако описана замена в 315-м положении глутамата на глутамин, которая не влияет на значение сродства фермента к S-малату или фумарату, в то время как каталитическая эффективность снижается. Во всех вариантах белка, формируемых аллелями *fumC* белорусской популяции менингококка в этом положении отмечено наличие глутамата.

В области фрагмента глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы (положения 220–382) в 3D-структуре описаны сайты связывания субстрата, акцептора H^+ , НАДФ. В области фрагмента пируват-дегидрогеназы (положения 702–861) и фосfogлюкомутазы (251–400) описаны сайты связывания Mg^{2+} (PdhC) и Zn^{2+} (Pgm) соответственно. Положения аминокислотных замен трех фрагментов не приходятся на эти сайты.

Заключение. На основании биоинформационного анализа лишь у 2 фрагментов белков выявлено наличие аминокислотных замен в функционально значимых положениях. В ABC-переносчике (ген *abcZ*) в области агт-домена расположены аминокислотные замены в 10 положениях, что, вероятно, может приводить к изменению сродства белка к лиганду. В сайте связывания НАДФ шикимат-дегидрогеназы (ген *aroE*) располагается одна аминокислотная замена ($^{51}N \leftrightarrow R$). Высокая консервативность аденилатциклазы (ген *adk*), единственная аминокислотная замена $^{154}P \leftrightarrow A$ которой приходится на фрагмент, не являющийся сайтом связывания, свидетельствует о важности выполняемых функций. Выявленные сайты мутаций во фрагментах отдельных генов MLST и их комбинаций могут быть основой адаптационных изменений популяции патогена, приводящих к повышению/снижению инвазивности, клональному распространению сиквент-типов и кло-

нальных комплексов, равно как и резистентности бактерий к противомикробным средствам.

Хлудеев И.И.¹, Самцов М.П.², Тарасов Д.С.², Белько Н.В.²

Влияние структуры полиметиновых красителей в составе комплексов с белками сыворотки крови на процессы фотоиндуцированной деградации

¹УО «Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники», Минск, Республика Беларусь

²НИИ ПФП им. А.Н. Севченко Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь

В настоящее время отмечается огромный интерес к развитию методов флуоресцентной визуализации в ближнем инфракрасном диапазоне (NIR). Этот многообещающий новый метод визуализации потенциально может обеспечить чувствительность, сравнимую с методами изотопной диагностики, но без ограничений, связанных с токсичностью радиоактивных материалов. Он основан на использовании органических флуорофоров, которые поглощают и излучают в спектральном окне 650-900 нм (NIR-I), что обеспечивает достаточно глубокое проникновение фотонов в ткань и минимальную ее автофлуоресценцию. Например, индоцианиновый зеленый (ICG) используется почти 60 лет для измерения сердечного выброса, функции печени или изучения состояния сосудов сетчатки. NIR-флуоресцентная визуализация считается перспективной в лечении рака, позволяя проводить интраоперационную хирургию с использованием контроля изображений [1]. Важным аспектом является увеличение длительности нахождения красителей в кровеносной системе для визуального контроля микроциркуляции в тканях и кровенаполнения крупных сосудов, в частности с помощью устойчивых аддуктов красителей с белками сыворотки крови.

В работе исследованы индотрикарбоцианиновые (полиметиновые, ПК) красители, синтезированных нами, которые имеют ортофениленовый мостик в цепи сопряжения – ПК154 и ПК 220. ПК220 имеет в структуре две молекулы полиэтиленгликоля с молекулярной массой 300 Да, повышающих его водорастворимость, а в красителе ПК154 имеются две карбоксильные группы [2]. Ранее было показано, что образование комплексов ПК с транспортными белками сыворотки крови способствует переходу красителей из агрегированного в мономерное состояние. При этом наблюдается батохромный сдвиг спектров поглощения ПК. Для исключения влияния процессов агрегации ПК в

водной среде проводили исследования фотодегradации ПК в водных растворах красителей, содержащих 1 % сыворотку крови человека. Облучение образцов проводили в 1 см кювете при верхнем расположении источника света при интенсивном непрерывном перемешивании образца.

Анализ экспериментальных результатов показал существенные различия в скоростях фотодегradации исследуемых ПК в присутствии сыворотки. При плотности мощности светового потока 90 мВт/см^2 оптическая плотность образцов в максимумах спектров поглощения снизилась после 200 с облучения для ПК220 в 1,4 раза, а для ПК154 – в 2,2 раза. После 10-минутного светового воздействия соотношение D/D_0 для ПК154 уменьшилось в 5 раз, тогда как для ПК220 – всего в 2 раза. В присутствии сыворотки скорость дегradации ПК154 при воздействии лазерного излучения существенно выше в сравнении с ПК220. Кроме того, нами установлено, что скорость фотодегradации красителей в растворах сывороточного альбумина была существенно выше в сравнении с сывороткой крови. При этом фотодегradация ПК154 также протекала быстрее в сравнении с ПК220, но различия были значительно меньше. То есть можно полагать, что в окрашенной сыворотке крови молекулы ПК, связанные с САЧ, в большей степени подвержены дегradации в сравнении с молекулами красителя в составе комплексов ПК-ЛНП. Возможно, это связано, во-первых, с образованием ковалентных связей между ПК и молекулами альбумина, а во-вторых с проявлением ферментативной (псевдоэстеразной) активности, присущей альбумину. Следует отметить, что разрушение молекул альбумина при фотовоздействии составляло менее 7%.

Таким образом, образование комплексов ПК с белками сыворотки крови существенно влияет как на спектральные характеристики красителей, так и на их фотостабильность. Полученные данные свидетельствуют о необходимости учета влияния интенсивности возбуждающего света при визуализации кровеносных сосудов и тканей с помощью спектрально-флуоресцентных методов.

Литература

1. Canovas C. [et al.] Site-specific near-infrared fluorescent labelling of proteins on cysteine residues with meso-chlorosubstituted heptamethine cyanine dyes // *Org. Biomol. Chem.*, 2018, 16, 8831–8836.
2. Lugovski A. [et al.] // *J. Photochem. Photobiol. A*. 2016. V. 316. P. 31-36.

Постнатальный нейрогенез в субвентрикулярной зоне и возможная коррекция нарушений архитектоники элементов тормозной ГАМКергической системы после воздействия перинатальной гипоксии

ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Основным тормозным нейротрансмиттером в мозге человека и млекопитающих является ГАМК (γ -аминомасляная кислота), осуществляющий синаптическую передачу сигнала. Установлено, что синаптическая передача тормозного сигнала осуществляется в основном через активацию рецептора GABAR1 α . В неокортексе взрослого мозга интернейроны, экспрессирующие ГАМК с колокализацией парвальбумина (кальций-связывающего белка), представляют главный подтип корковых ГАМКергических интернейронов, специализированных на обеспечение быстрого и надежного перисоматического торможения основных пирамидных нейронов. Известно, что снижение численности субпопуляции этих тормозных интернейронов в мозге приводит к развитию эпилепсии, снижению когнитивных способностей и т.д. Учитывая функциональную важность присутствия этих тормозных нейронов, возникает необходимость в исследовании возможности пополнения численности этой субпопуляции интернейронов в разных формациях мозга в ранний неонатальный период в норме и после воздействия повреждающих факторов. У человека и позвоночных животных после рождения в мозге остаются, так называемые, нейрогенные ниши, в которых нейрогенез сохраняется в течение длительного периода времени. Одной из них является субвентрикулярная зона (СВЗ). Установлено, что во взрослом мозге в СВЗ формируются нейрорасты, экспрессирующие ГАМК, они способны мигрировать в обонятельную луковицу, неокортекс и другие формации мозга и интегрироваться в тормозные сети.

В работе изучали состояние популяции нейробластов субвентрикулярной зоны, экспрессирующих парвальбумин, в норме и после воздействия перинатальной гипоксии в ранний неонатальный период развития, когда формируются локальные тормозные сети в неокортексе. Работа выполнена на лабораторных крысах линии Wistar. Были проведены иммуногистохимические реакции на выявление β -III-тубулина - маркера нейральной дифференцировки стволовых клеток, и парвальбумина -кальций-связывающего белка в клетках СВЗ в неонатальный период (на 5 и 10 постнатальные сутки) в норме и после воздействия гипоксии (на 2 постнатальные сутки).

Показано, что в СВЗ присутствуют клетки, экспрессирующие β -III-тубулин (т.е. дифференцирующиеся по нейральному типу), они представлены одним морфологическим клеточным типом А и являются нейробластами. Число таких клеток остается постоянным во время неонатального периода и составляет более 30% от общего числа клеток СВЗ. Значительная часть дифференцирующихся нейробластов экспрессирует парвальбумин. Число таких клеток составляет более 20% от общего числа всех типов клеток и является постоянным во время неонатального периода. Показано, что воздействие гипоксии в неонатальный период вызывает активацию процессов нейрогенеза в СВЗ, в частности, приводит к увеличению числа клеток, содержащих парвальбумин до 33%. В этот период часть нейробластов, экспрессирующих парвальбумин, вероятно, достигает определенной степени дифференцировки по нейромедиаторному типу. Это дает основание предполагать, что нейробласты этой субпопуляции, мигрируя в слои неокортекса и другие формации мозга, могут интегрироваться в формирующиеся локальные тормозные сети. Обсуждаются вопросы, способствующие пониманию механизмов клеточного самовосстановления численности популяций нейронов, утраченных при повреждениях мозга или развития нейродегенеративных заболеваний в ЦНС. Работа поддержана грантом РФФ № 20-015-00052.

Хожай Л.И.

Реорганизация сети ГАМКергических интернейронов, экспрессирующих парвальбумин, в неокортексе у крыс в неонатальный период после воздействия гипоксии, и возможность фармакологической коррекции их численности

ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Развитие и становление неокортекса у млекопитающих и человека является одним из важных и сложных процессов, происходящих в онтогенезе. В неокортексе человека формируются структурные и функциональные механизмы речи, мышления, сенсорных ответов и других когнитивных реакций. При этом в состав коры головного мозга входят разные типы нейронов, каждый из которых обладает специфическими молекулярными и функциональными особенностями. Особый статус имеют тормозные ГАМКергические интернейроны, регулирующие активность отдельных популяций пирамидных нейронов неокортекса. Одна из субпопуляций ГАМКергических интернейронов содержит Ca^{2+} -связывающий белок парвальбумин (PV). Известно, что парваль-

бумин играет важную роль во многих физиологических процессах: в регуляции клеточного цикла, организации микротрубочек, фототрансдукции, участвует в модуляции динамики внутриклеточного кальция в нейронах, влияет на процессы возбуждения и синхронную импульсную активность нейронов. Нарушение функций и гибель интернейронов, экспрессирующих парвальбумин, приводит к развитию нейроде-генеративных заболеваний (синдрому Туретта, болезни Паркинсона, шизофрении, эпилепсии, аутизм). Одним из значимых повреждающих факторов в неонатальный период является гипоксия/ишемия, последствия воздействия которой приводят к развитию психоневрологических расстройств различной степени тяжести. Установлено, что перинатальная гипоксия оказывает повреждающее действие на ГАМК-ергические интернейроны, при этом сокращается их численность, снижается экспрессия рецепторных белков к ГАМК. Остается неизвестной реакция интернейронов, экспрессирующих парвальбумин, на воздействие гипоксии и возможность фармакологической коррекции их численности в неокортексе в неонатальный период, что и явилось целью исследования.

Работа проведена на крысах линии Wister. Для выявления клеток, содержащих парвальбумин, проводили иммуногистохимическую реакцию с использованием кроличьих поликлональных антител к парвальбумину (Abscam, США) в разведении 1:100. Воздействие гипоксии на мозг животных осуществляли на 2 постнатальные сутки в специальной камере с содержанием кислорода в дыхательной смеси равным 7.8%. Мозг животных исследовали в неонатальный период на 10 постнатальные сутки (П10). В качестве нейропротекторного препарата использовали фенибут, синтезированный на основе ГАМК.

Исследование показало, что у контрольных животных на П10 в каждом слое неокортекса присутствует значительная по численности субпопуляция ГАМКергических нейронов, экспрессирующих парвальбумин. Наибольшая их локализация оказалась в верхних слоях II, III-IV и слое V. После воздействия перинатальной гипоксии во всех слоях коры их численность значительно сокращается, особенно, в слоях III-IV и V, при этом размеры клеточных тел не изменяются. К концу неонатального периода (П10) количество интернейронов, экспрессирующих парвальбумин, снижается в верхних слоях: в слое II в 1.4 раза; в слоях III-IV в 2.4 раза; в глубоких слоях: в слое V в 1.9 раза; в слое VI в 1.4. Применение фенибута сразу после воздействия гипоксии, приводит к увеличению численности этой субпопуляции тормозных интернейронов. Во всех слоях неокортекса их число почти соответствует контрольным значениям. Можно предположить, что фенибут (как ве-

щество, производное ГАМК) в неонатальный период развития оказывает влияние на пролиферацию и миграционные процессы нейробластов, хотя механизм этого эффекта пока неизвестен. Работа поддержана грантом РНФ № 20-015-00062.

Хотько Е.А., Макаревич В.В., Пикуза А.Р.

Роль полиморфизма гена IL-10 при хронической обструктивной болезни легких

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

По данным ВОЗ хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) занимает одну из лидирующих позиций среди причин смерти в мире, при этом заболеваемость прогрессивно увеличивается. В 2019 году в Республике Беларусь наблюдались 43 670 пациентов, страдающих ХОБЛ. Рассмотрение генного полиморфизма в контексте углубления имеющихся представлений о молекулярных механизмах развития ХОБЛ имеет высокую актуальность в связи с распространенностью данного заболевания на территории Республики Беларусь.

Цель – изучить ассоциацию полиморфизма rs1800896 гена интерлейкина-10 (IL-10) с риском развития ХОБЛ среди населения Республики Беларусь.

Материалы и методы. Клиническое обследование и диагностика проводились на базе Минского консультативно-диагностического центра. Было обследовано 95 пациентов с ХОБЛ и 95 клинически здоровых лиц. Материалом для исследования служила ДНК, выделенная из лейкоцитов крови. Генотипирование проводили с использованием Taq-Map зондов (ООО «ТестГен»). Анализ отклонения наблюдаемых частот генотипов от равновесия Харди-Вайнберга проводили с помощью пакета программ Microsoft Excel. Выборки сравнивали путем составления таблиц сопряженности и вычисления критерия хи-квадрат. Оценка риска развития ХОБЛ в зависимости от носительства аллели или генотипа проводилась с помощью показателя отношения шансов (ОШ). Значения доверительного интервала 95% (ДИ95%) не пересекали 1. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Сила связи данного полиморфного локуса с развитием ХОБЛ оценивалась с помощью критерия Крамера (V) с использованием программы SPSS Statistics 23.

Результаты. Носительство гомозиготного генотипа AA полиморфизма rs1800896 (IL-10) повышает риск развития ХОБЛ в 2,72 раза ($p=0,002$; ОШ=2,73; 95%ДИ>1). Генотип GG является протективным,

и его носительство уменьшает вероятность возникновения ХОБЛ в 2,38 раз ($p=0,002$; ОШ= 0,42; 95%ДИ<1). При этом сила связи данного полиморфного локуса с развитием ХОБЛ оценивалась как средняя ($V=0,249$). У курящих лиц носительство гомозиготного генотипа AA было ассоциировано с увеличением вероятности возникновения ХОБЛ в 2,89 раза ($p=0,023$; ОШ=2,89; 95%ДИ=1,23-6,68). В отношении носительства генотипа GG у курящих лиц не было определено статистически значимой ассоциации с риском развития ХОБЛ ($p=0,023$; ОШ= 0,45; 95%ДИ=0,20-1,01). Связь между полиморфным локусом rs1800896 и заболеванием у курильщиков определена как средняя ($V=0,280$). При анализе носительства генотипов исследуемого полиморфизма среди некурящих здоровых лиц и пациентов с ХОБЛ статистически значимых различий в исследуемой подгруппе выявлено не было ($p>0,05$).

Выводы. Носительство гомозиготного генотипа AA полиморфного варианта rs1800896 гена IL-10 у белорусов ассоциировано с повышенным риском развития ХОБЛ в 2,72 раза. У курящих лиц носительство генотипа AA полиморфизма rs1800896 увеличивает вероятность возникновения ХОБЛ в 2,89 раза. Таким образом, среди двух факторов – носительства генотипа AA полиморфизма rs1800896 и курения, ведущее значение принадлежит генетической предрасположенности.

Хотько Е.А., Таганович А.Д., Харлап А.Ю.

Полиморфизм генов CCL5 и CXCR4 при хронической обструктивной болезни легких

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – мультифакторное заболевание, характеризуется прогрессирующим ограничением скорости воздушного потока. В настоящее время ведется поиск генетических маркеров, способных повышать риск развития ХОБЛ.

Хемокин CCL5 экспрессируется эпителиальными клетками бронхов и регулирует миграцию лейкоцитов. Показано, что количество CCL5 в подслизистом слое бронхов в 2-15 раз выше, чем других хемокинов при ХОБЛ. Среди возможных причин измененного синтеза CCL5 отмечают носительство полиморфизма rs2280788. Экспериментально показано, что данный полиморфизм связан с увеличением экспрессии этого белка *in vitro*. Ещё одним перспективным маркером выступает полиморфизм rs2228014 рецептора CXCR4. Было отмечено, что у па-

циентов с ХОБЛ экспрессия мРНК данного рецептора в эндотелиальных клетках снижена.

Цель – выявить ассоциацию полиморфизмов rs2228014 гена CXCR4 и rs2280788 гена CCL5 с вероятностью возникновения ХОБЛ у жителей Республики Беларусь, а также оценить эффективность прогнозирования риска развития ХОБЛ в зависимости от носительства генотипов изучаемых полиморфных локусов и индекса курения.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования служила ДНК лейкоцитов крови 95 человек с ХОБЛ и 95 клинически здоровых лиц. Генотипирование проводили с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени коммерческими наборами (ООО «ТестГен») на основании детекции флуоресценции «по конечной точке». Статистическую обработку проводили с использованием программы «IBM SPSS Statistics 23».

Результаты. При анализе распределения частот генотипов полиморфизма rs2280788 гена CCL5 отклонений от равновесия Харди-Вайнберга как в группе пациентов с ХОБЛ ($\chi^2=0,698$, $p=0,404$), так и в группе здоровых лиц ($\chi^2=0,044$, $p=0,834$) выявлено не было, что указывает на репрезентативность исследуемых выборок. В отношении полиморфизма rs2228014 гена CXCR4 было определено несоответствие наблюдаемых частот генотипов уравнению Харди-Вайнберга в группе клинически здоровых лиц ($\chi^2=100,0$, $p=0,001$). В связи с тем, что распределение частот генотипов полиморфного локуса rs2228014 не могло характеризовать явление в белорусской популяции, исследуемый генетический маркер был исключен из дальнейшего анализа.

Сравнение частот генотипов полиморфизма rs2280788 гена CCL5 выявило существенные отличия их носительства в исследуемых группах ($\chi^2=7,08$, $p=0,014$). Доля носителей гетерозиготного генотипа G/C в выборке пациентов с ХОБЛ составила 15,8%. В то же время в группе здоровых людей частота носительства этого генотипа была на уровне 4,2%. Для определения рискованности того или иного генотипа полиморфного локуса rs2280788 был рассчитан показатель отношения шансов (ОШ). Носительство генотипа G/C было ассоциировано с повышением риска развития ХОБЛ в 4,27 раз (ОШ=4,27; 95%ДИ=1,36-13,38).

В целях повышения эффективности прогнозирования риска развития ХОБЛ у пациентов, являющихся носителями гетерозиготного генотипа G/C, был принят во внимание еще один фактор риска – курение. Для этого создана математическая модель в виде регрессионного уравнения ($\chi^2=20,37$, $p<0,0001$), с использованием, помимо полиморфизма rs228078, значения индекса курения. Чувствительность модели

составила 57,9%, специфичность - 71,6%, прогностическая эффективность - 64,7%.

Выводы. Носительство генотипа G/C полиморфизма rs2280788 повышает риск развития ХОБЛ в 4,27 раз у жителей Республики Беларусь. Прогностическая эффективность логистической модели на основе носительства генотипа rs2280788 и показателя индекса курения составила 64,7%.

Хрусталёв В.В.¹, Ясевич Е.Г.¹, Бондарь Ю.А.¹, Хрусталёва Т.А.^{1,2}

Алгоритм ХАІ для оценки характера взаимодействий одноатомных катионов и анионов с белками

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика
Беларусь

Актуальность. Существует большое количество программ и серверов для определения характера связей между белками и лигандами. Однако большинство таких программ направлены на поиск строго определённых связей между ними: например, координационных и водородных. Для таких связей расстояние между контактирующими атомами строго детерминировано, контактирующие атомы выбираются из строго определённых функциональных групп. Алгоритм ХАІ позволяет находить контакты не только с функциональными группами, но и с атомами углерода. Такая опция делает возможным сравнение между реальными контактами и случайными. Последние могут оказывать существенное влияние на строение всего комплекса лиганда с белком, но остаются незамеченными при работе большинства подобных программ.

Цель исследования – создать и протестировать алгоритм ХАІ для оценки характера взаимодействий одноатомных катионов и анионов с функциональными группами аминокислотных остатков белков.

Материалы и методы. Оригинальный алгоритм ХАІ представляет собой таблицу MS Excel без использования макросов. В качестве исходных данных используются строки «АТОМ» из файла PDB, содержащего описание трёхмерной структуры белка, и строки «НЕТАТМ», содержащие описание гетероатомов, принадлежащих лигандам. Перечисленные выше текстовые строки должны быть скопированы на лист ХАІ под названием «Input PDB». На втором листе ХАІ, под названием «Results», в специально обозначенные ячейки необходимо ввести: имя лиганда (например, «Cl»), его порядковый номер (если на трёхмерной

структуре только один такой лиганд – его номер «1»), расстояние от лиганда до атомов белка (в Ангстремах). На том же листе расположены три таблицы с результатами анализа: номерами остатков, контактирующих с лигандом; количеством аминокислотных остатков каждого типа, контактирующих с лигандом; количеством контактов с каждым типом аминокислотного остатка, осуществляемых за счёт определённых атомов. Последняя таблица, фактически, показывает, к какому из атомов аминокислотного остатка лиганд наиболее приближен: к атому кислорода или азота пептидной связи, к атому азота, кислорода или серы из боковой цепи, к атомам углерода. Алгоритм протестировали на выборке негомологичных бактериальных белков со связанными хлорид-ионами (177 белков GC-бедных бактерий, 122 белка бактерий со средней GC-насыщенностью геномов, 153 белка GC-богатых бактерий).

Результаты. Результаты проверки алгоритма показали, что функциональные группы аминокислотных остатков, с помощью которых происходит связывание, распознаются правильно. Так, аргинин и гистидин преимущественно (в 82,9% и 64,3% случаев, соответственно) приближены к анионам Cl^- атомами азота боковых цепей, при учёте только тех контактов, которые осуществляются на расстоянии до 3 Ангстрем. Остатки глутаминовой и аспарагиновой кислоты, а также серина и треонина преимущественно приближены к Cl^- атомами кислорода из боковых цепей (в 100%, 72,7%, 79,2% и 87,5% случаев, соответственно). Важно отметить, что атомы водорода на трёхмерных структурах, определённых с помощью рентгеноструктурного анализа, отсутствуют, так как данным методом их расположение не распознаётся. Так что близкие контакты Cl^- образует, по всей вероятности, с протонированными атомами кислорода. Остатки аспарагина и глутамина преимущественно контактируют с хлорид-ионами атомами азота, а не кислорода из амидных групп. Остатки лизина, однако, с одинаковой вероятностью контактируют с этими анионами атомами азота из боковой и основной цепи. Интересно отметить, что при рассмотрении контактов на расстоянии от 3 до 4 Ангстрем, для каждого из 20 аминокислотных остатков процент контактов с атомом азота из пептидной связи достоверно превышает таковой для атома кислорода из пептидной связи. Тем не менее, только пять остатков достоверно чаще контактируют с Cl^- атомом азота из пептидной связи, чем атомами углерода. При рассмотрении контактов на расстоянии от 4 до 5 Ангстрем описанная выше картина исчезает: только для цистеина процент контактов с атомом азота достоверно выше, чем с атомом кислорода из

пептидной связи, а для глицина, аспарагиновой кислоты и фенилаланина – наоборот.

Выводы. Оригинальный алгоритм ХАI может быть использован как для изучения отдельных сайтов связывания одноатомных катионов и анионов, так и для проведения широкомасштабных исследований по установлению специфики связывания катионов и анионов белками.

Хрусталёв В.В.¹, Хрусталёва Т.А.¹, Попинако А.В.², Блажко В.В.¹
Особенности аминокислотного состава *Pyrococcus furiosus* обуславливают повышенную устойчивость альфа-спиралей и бета-тяжей

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

²ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва,
Российская Федерация

Архея *Pyrococcus furiosus* обитает в глубоководных морских отложениях, в анаэробных условиях, под высоким давлением, при температуре от 70 до 103°C. Белки организма *Pyrococcus furiosus* в данных экстремальных условиях обитания не подвергаются денатурации. За последние десятилетия количество трёхмерных структур белков *P. furiosus* в базе данных Protein Data Bank увеличилось до ~500 (апрель 2021), что является достаточным для проведения анализа.

Цель работы – найти характерные особенности альфа-спиралей и бета-тяжей белков *P. furiosus*, обуславливающие их устойчивость к денатурации под воздействием высокой температуры.

Материалы и методы. Использованы 156 негомологичных трёхмерных структур белков *P. furiosus* из базы данных PDB. Вторичную структуру этих белков определяли с помощью метода DSSP. Установление особенностей аминокислотного состава белков *P. furiosus*, и отдельно альфа-спиралей и бета-тяжей, проводили с помощью t-теста для относительных величин по сравнению с выборками негомологичных белков эукариот (альфа-спиральных, бета-структурных, классов «альфа + бета» и «альфа/бета») и бактерий (с геномами низкой, средней и высокой GC-насыщенности) [1].

Результаты. Аминокислотный состав белков *P. furiosus* уникален по сравнению с таковыми для белков эукариот и бактерий. Наиболее выдающейся особенностью аминокислотного состава белков этого представителя архей является высокая частота использования остатков глутаминовой кислоты. Частота использования остатков глутаминовой кислоты достоверно превышает таковые для семи выборок, ис-

пользованных для сравнения, в 1,28 – 1,66 раз. Вторым аминокислотным остатком, который достоверно чаще встречается в белках *P. furiosus*, является лизин: его больше в 1,31 – 1,52 раза по сравнению с четырьмя выборками белков эукариот; в 1,79 и 3,55 раза больше, чем у бактерий со средней и высокой GC-насыщенностью геномов, соответственно; но только в 1,06 раза – по сравнению с белками GC-бедных бактерий. Достоверно ниже в белках *P. furiosus*, по сравнению с семью выборками для сравнения, частоты использования аминокислотных остатков серина, треонина, аспарагиновой кислоты, глутамина, гистидина и цистеина.

Частота использования валина в белках *P. furiosus* достоверно выше, чем в шести из семи выборок для сравнения: только в белках GC-богатых бактерий она настолько же высока. Под воздействием мутационного АТ-давления в белках эукариот и бактерий особенно увеличиваются частоты использования остатков лизина, изолейцина и аспарагина [2]. В белках *P. furiosus* частота использования изолейцина, действительно, значимо выше, чем в шести из семи выборок для сравнения, но находится на том же уровне, что и в белках GC-бедных бактерий. Частота же аспарагина у изученного представителя архей достоверно ниже, чем во всех выборках для сравнения, за исключением выборки белков GC-богатых бактерий, где она настолько же низкая.

Альфа-спирали *P. furiosus* достоверно (в 1,33 – 1,68 раз) обогащены остатками глутаминовой кислоты и обеднены остатками глутамина (в 1,73 – 2,77 раз), при этом частота использования лизина в них значительно повышена в 1,33 – 1,86 раз (по сравнению с белками GC-богатых бактерий – в 3,81 раза, а с белками GC-бедных бактерий достоверных различий нет). Бета-тяжи достоверно обогащены остатками валина (кроме белков класса альфа/бета и белков GC-богатых бактерий) и изолейцина (кроме белков GC-бедных бактерий), значимо обеднены остатками лейцина (кроме белков GC-бедных бактерий), серина и треонина (кроме альфа-спиральных белков), остатками глутамина.

Выводы. Альфа-спирали белков *P. furiosus* чаще стабилизируются ионными контактами между боковыми цепями глутаминовой кислоты и лизина, которые должны сохраняться и при высокой температуре, в отличие от других типов слабых взаимодействий, в том числе, водородных связей. Гидрофильных бета-тяжей в белках *P. furiosus* мало, и бета-структура, в основном, формирует их гидрофобные ядра. Частоты использования преимущественно бета-структурных гидрофобных остатков валина и изолейцина в них выше, а частота использования лейцина (который в большей степени склонен формировать альфа-

спирали) – ниже. Описанные закономерности должны способствовать устойчивости белков *P. furiosus* к высоким температурам. Являются ли эти особенности характерными для всех архей, исключительно для *P. furiosus*, или только для гипертермофилов, покажет дальнейший анализ.

Литература

1. Хрусталёв, В. В. Репликация, транскрипция, мутационное давление : Монография / В. В. Хрусталёв; под ред. Е. В. Барковского. – Минск: БГМУ, 2011. – 278 с.
2. Khrustalev V.V., Khrustaleva T.A., Poboinev V.V. Amino acid content of beta strands and alpha helices depends on their flanking secondary structure elements // Biosystems. – 2018. – 168. – P. 45 - 54.

Хрусталёва Е.К., Король С.М.

Дифференцированный подход к снятию гипертонических кризов у детей с первичной артериальной гипертензией

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Республика Беларусь

У детей и подростков с артериальной гипертензией (АГ) на фоне эмоционального или физического перенапряжения могут развиваться гипертонические кризы (ГК), что требует оказания неотложной помощи. Гипертонический криз – это внезапное ухудшение общего состояния, обусловленное резким повышением артериального давления (АД). Несвоевременная и неадекватная терапия может привести к поражению внутренних органов.

Целью нашего исследования было изучение характера и частоты ГК у детей с первичной АГ и подбор адекватной терапии.

Материалы и методы исследования. Под нашим наблюдением в течение 6-ти лет находились 150 детей в возрасте от 10 до 17 лет с первичной АГ. Комплексное обследование и наблюдение проводилось на базе Республиканского ревматологического детского центра, расположенного в 4-й городской детской клинической больнице г. Минска. Из обследованных детей 69 (46%) имели стабильную АГ и 81 (54%) – лабильную.

Результаты исследования. Среди пациентов с лабильной АГ (1-я стадия) у 30 (37%) наблюдались гипертонические кризы. При этом у 78 детей наблюдался I тип ГК – гиперкинетический (с увеличением сердечного выброса крови), сопровождающийся синусовой или пароксизмальной тахикардией. При этом повышалось систолическое давление, увеличивалось пульсовое давление.

Среди детей со стабильной АГ гипертонические кризы встречались в 43,5% случаев (30 детей). При этом в 79,7% случаев наблюдался II тип

ГК – гипокинетический, при котором повышалось как систолическое, так и диастолическое давление (был выражен спазм периферических сосудов). При этом частота сердечных сокращений не изменялась или даже появлялась синусовая брадикардия.

Крайне важно было определить тип гипертонического криза, так как тактика ведения пациентов отличалась при разных типах кризов.

Вначале при всех типах кризов мы назначали седативные препараты быстрого действия: корвалол или валокордин по 20 капель внутрь. По возможности успокаивали пациента.

При I типе криза мы использовали ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ) и бета-адреноблокаторы. Вначале назначали каптоприл (иАПФ быстрого действия) сублингвально в дозе 25 мг (реже – 50 мг, если АД очень высокое), при этом через 0,5 часа АД снижалось на 20 мм рт. ст. Если этого было недостаточно, добавляли неселективный бета-адреноблокатор внутрь. Препаратами выбора были пропранолол (синонимы: индерал, обзидан, анаприлин) в дозе 20 мг, или конкор (синоним: биспролол) в дозе 5 мг. Обычно этих мероприятий было достаточно для снятия гипертонического криза I типа.

При II типе криза необходимо было быстро расширить сосуды большого круга кровообращения (особенно мелкие). Для этого мы применяли нифедипин или амлодипин в дозе 5 мг сублингвально, при этом через 0,5 часа АД снижалось более, чем на 20 мм рт.ст. Желательно, чтобы при этом пациент находился в постели. Если через некоторое время АД вновь повышалось, мы назначали иАПФ внутрь: эналаприл или берлиприл в дозе 2,5 мг – 5,0 мг 2 раза в день в течение нескольких дней под контролем АД. Иногда при затянувшемся кризе к лечению мы добавляли диуретик (гипотиазид или даже фуросемид) однократно.

Следует отметить, что у детей и подростков гипертонический криз снимался довольно быстро, при этом мы не использовали парентеральное введение препаратов.

Выводы. Гипертонические кризы встречаются у детей с первичной АГ, как при стабильной, так и при лабильной стадии. Важно проводить дифференциальную диагностику ГК и соответствующую форме криза терапию.

Результативность применения суточного мониторирования артериального давления у детей с артериальной гипертензией

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Республика Беларусь

Проблема диагностики и лечения артериальной гипертензии (АГ) у детей и подростков занимает приоритетное положение в детской кардиологии. Известно, что у 20 – 25% подростков с АГ заболевание приобретает прогрессирующее течение и в дальнейшем приводит к формированию гипертонической болезни взрослых.

Целью нашего исследования являлось изучение эффективности метода суточного мониторирования артериального давления (СМАД) у детей и подростков с выявленным повышением артериального давления (АД).

Материалы и методы. Проведено обследование и динамическое наблюдение в течение 6-ти лет 150 детей (52 девочки и 98 мальчиков) в возрасте от 10 до 17 лет с АГ. Все дети проходили обследование на базе Республиканского детского ревматологического центра, расположенного в 4-й городской детской клинической больнице г. Минска. Первоначально обследовались 215 детей с периодическим повышением АД. С помощью метода СМАД удалось верифицировать АГ у 150 человек. Всем детям с АГ проводилось СМАД в начале обследования и в процессе наблюдения и лечения. Пациенты во время СМАД вели дневник, в котором отражался характер основной активности: прогулки, учебные занятия, физические упражнения, прием пищи и др. Определение уровня АД при физической нагрузке важно для прогнозирования течения гипертензии и дачи рекомендаций по занятиям физкультурой и спортом.

Основными показателями при оценке метода СМАД являлись:

- среднесуточные, среднедневные и средненочные показатели систолического АД (САД) и диастолического АД (ДАД);
- индекс времени (ИВ) гипертензии;
- суточный индекс (СИ);
- вариабельность АД;
- утренний подъем АД;
- влияние физических нагрузок на уровень АД.

Результаты. Благодаря проведению СМАД нам удалось провести верификацию истинной АГ, а также определить стадию заболевания и эффективность назначенной терапии. Из обследованных пациентов 81 (54%) имели лабильную АГ (1-я стадия), а 69 (46%) – стабильную (2-я

стадия). Нами установлено, что для пациентов с **1-й стадией АГ** характерно повышение среднесуточных или среднедневных показателей систолического АД ($135,2 \pm 4,8$ мм рт. ст., $p < 0,01$); увеличение индекса времени (ИВ) гипертензии (составлял от 25 до 50%, при норме от 10 до 25%); недостаточная степень ночного снижения АД (СИ – от 0 до 10% , при норме от 10 до 20%); повышенная вариабельность АД; утренние подъемы систолического давления (выявлено в 42% случаев); адекватная реакция на физическую нагрузку. Для пациентов со **2-й стадией АГ** – повышение средних значений систолического и диастолического АД ($142,6 \pm 6,3$ мм рт. ст., $p < 0,01$); ИВ гипертензии превышал 50% в дневное и ночное время; устойчивое повышение ночного АД (СИ ниже 0); утренние подъемы систолического и диастолического АД; неадекватная реакция на физическую нагрузку (у 51% обследованных наблюдалось резкое и продолжительное повышение АД).

Проведение СМАД на 5–7-й день получения гипотензивных средств показало, что у 28% пациентов отмечалась резистентность к проводимой терапии. В связи с этим им были назначены препараты другого ряда.

Заключение. Учитывая все вышеизложенное, можно сделать вывод о важности проведения СМАД у детей с повышением АД. Нами выделены основные показания к проведению этого метода обследования:

- 1) наличие эпизодов повышения АД у детей в течение месяца, особенно при отягощенной наследственности по АГ;
- 2) для определения стадии АГ (лабильная, стабильная);
- 3) для выявления реакции на физическую нагрузку;
- 4) для установления эффективности проводимого лечения.

*Khrustaleva T.A.¹, Rudnichenko Yu.A.¹, Basalay A.A.¹, Parmar H.S.²,
Das A.K.³, Ghosh T.³, Lukashevich V.S.¹*

Antitumor effects of mitochondrial targeted peptide in the solid form of Ehrlich's carcinoma

¹Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

²School of Biotechnology, Devi Ahilya University, Indore, India

³Indian Institute of Technology Indore, Simrol, India

Mitochondria play an important role in energy production through ATP synthesis, maintenance of redox homeostasis, and regulation of cell survival and apoptosis. The described functions are directly related to the devel-

opment of cancer. Basically, tumor cells use aerobic glycolysis, which is known to trigger processes associated with cancer progression, accompanied by increased chemoresistance, migration and invasive potential, etc. Reducing the potential of the mitochondrial membrane increases the resistance of cells to apoptosis, since most apoptotic pathways are mediated through mitochondria. Various mitochondrial defects in tumor cells lead to the formation of reactive oxygen species and, as a result, to mutations in the mitochondrial genome.

The aim of this work is to investigate the possible antitumor effects of a mitochondrial target peptide (MTP) with MM 751.688 (MTP-FF; formula: $C_{42}H_{44}BrN_2O_4P^+$) on the development of solid form of Ehrlich carcinoma (CE).

Materials and methods. A suspension of ascitic CE cells ($6 \cdot 10^6$) was injected subcutaneously on the back of Af mice and the growth of solid carcinomas was monitored for 17 days. Subcellular fractions of tumor cells were obtained by differential centrifugation and the activity of catalase, superoxide dismutase (SOD), lactate dehydrogenase (LDH), the content of lactate, pyruvic acid (PVA), ATP, apoptosis factors Bcl2 and Bax were determined. Biochemical studies of various subcellular fractions of the mouse tumor were performed using Biotek ELx-808 (USA) and ChemWell (USA) analyzers.

Results. In the experiment, a 99% survival rate of the tumor was observed. With subcutaneous administration of MTP, the tumor volume decreased throughout the entire follow-up period. By day 11, the difference in tumor volume values in mice from the "Tumor+MTP" group compared to the "Tumor" group was significantly reduced (17%, $p < 0.05$), and by day 18, this difference reached 23%.

An increase in LDH activity was found in the clarified homogenate and, especially, in the cytosolic fraction, that is the evidence of the activation of glycolysis in tumor cells under the action of the peptide.

A significant increase in catalase activity in the cytosol and mitochondria of carcinoma cells was observed under the influence of MTP by 47 and 22%, respectively. Given that the peptide caused 23% suppression of the development of the carcinoma tumor, it is possible to assume the activation of peroxidation processes, possibly due to inflammatory processes in the tumor cells.

The activity of SOD after introduction of MTP significantly increased in the cytosolic fraction by 22 %. Since the tumor process is associated with increased generation of reactive oxygen species (ROS), which can play a dual role in carcinogenesis, acting, on the one hand, as a factor of tumor

progression, and, on the other hand, at high concentrations can stimulate apoptosis and necrosis, thereby damaging the cancer cell.

Under the influence of the peptide, the content of ATP and lactate in the cytosolic fraction increased by 60 and 21.5%, respectively, with a decrease in the concentration of PVA, which ones again is evidence of the activation of glycolysis in tumor cells under the action of the peptide. In the same fraction, under the action of MTP, an increase in the antiapoptotic factor Bcl2 by 31.2% was found, while the level of Bax remains unchanged, indicating a possible role of necrotic pathway involved into tumor cell death.

Conclusion. Under the influence of the studied peptide on the development of Ehrlich's carcinoma, the activation of glycolysis characteristic of tumor cells, increased generation of reactive oxygen species, and an increase in the antiapoptotic factor Bcl2 were shown, which led to a significant suppression of tumor growth.

The work was supported by the BRFFR grant No.19INDG-005.

*Цыганков В.Г.¹, Головач Т.Н.², Курченко В.П.², Журихина Л.Н.¹,
Бондарук А.М.¹*

**Антирадикальные и антигенные свойства клатратов цикло-
декстрина с продуктами ферментативного гидролиза сывороточ-
ных белков коровьего молока**

¹РУП «НПЦ Гигиены», Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный университет, Минск, Республика
Беларусь

Благодаря своим свойствам циклодекстрины нашли широкое применение в пищевых технологиях, фармацевтике, косметике, биотехнологии. Возможность с применением циклодекстринов улучшать биодоступность и органолептические свойства многих биологически активных веществ, в том числе пептидной природы, обусловило актуальность проведенного исследования. Получены экспериментальные образцы комплексов включения β -циклодекстрина (далее – β -ЦД) с пептидами сывороточных белков молока и молозива. Для получения клатратов использовали метод сорастирания β -ЦД и продуктов протеолиза молочной сыворотки и обезжиренного молозива алкалазой и нейтразой. Образцы замораживали при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ и лиофильно высушивали. Для ВЭЖХ-анализа применяли хроматограф Agilent 1100 производства Agilent (США), разделение белков и пептидов молока проводили на колонке Zorbax–300SB C8 (4,6×250 мм, 5 мкм) производства Agilent (США). Изучение молекулярно-массового состава гидролизата сывороточных белков молока проводили на масс-спектрометре Bruker

Microflexr (США). Согласно данным термогравиметрического анализа подтверждено образование клатратов β -ЦД с пептидами. Установлена стабилизация гидролизата сывороточных белков в составе механической смеси и клатратов с олигосахаридом. Для клатратов β -ЦД с гидролизатом, изготовленных при 50 °С, выявлено существенное снижение горечи (на 60–70 %). Это обеспечило оптимальные условия для растворения компонентов и экранирования аминокислот, обуславливающих горький вкус, что позволяет использовать эти растворы для клинического лечебного питания. Были охарактеризованы антирадикальные и антигенные свойства полученных частичных гидролизатов и их клатратов с β -ЦД. Ферментативный гидролизат молочной сыворотки был представлен пептидным компонентом с молекулярной массой ≤ 10 кДа, тогда как в гидролизате молозива обнаружена высокомолекулярная фракция частично расщепленных иммуноглобулинов. Показано, что уровень антирадикальной активности зависят как от глубины протеолиза, так и от состава белкового компонента опытных образцов. Установлено возрастание антирадикальных свойств гидролизованных белков молочной сыворотки и молозива в 2,8 и 5,0 раза соответственно. Увеличение антирадикального потенциала наблюдалось с возрастанием температуры образования клатратов с 25 до 50°С. Максимальная ингибирующая активность установлена для комплексов включения β -ЦД с пептидами, полученных при температуре 50°С, что в 1,6 раза превышает показатели гидролизата белков молочной сыворотки. Антигенные свойства гидролизатов белков сыворотки молока и их клатратов с β -ЦД исследовали методом двойной иммунодиффузии. В эксперименте определяли наличие бивалентных антигенных детерминант белков сыворотки молока, их гидролизатов алкалазой и нейтразой, и в клатратных комплексах. Гидролизат полученный путем ферментативного гидролиза белков сыворотки молока алкалазой не образует преципитата, что свидетельствует об отсутствии антигенных детерминант способных вызывать аллергенную реакцию. Комплексы включения ферментативного гидролизата с β -ЦД не взаимодействуют с антисывороткой. В соответствии с данными иммунохимического анализа ферментативный гидролизат белков сыворотки молока алкалазой и его комплексы включения в циклодекстрин на проявляют иммунореактивности и являются гипоаллергенным продуктом. В результате проведенных исследований на тест-объекте *Tetrahymena pyriformis* установлено, что по среднесмертельной дозе β -ЦД, гидролизат сывороточного белка и их комплексы относятся к 5 классу опасности (является неопасными). По коэффициенту кумуляции β -ЦД, гидролизат сывороточного белка, а также комплексы: 5%

гидролизат сывороточного белка с 3% β -ЦД и 5% гидролизат сывороточного белка с 5% β -циклодекстрином, полученные при 20°C, также относятся к 5 классу опасности (неопасные), комплексы: 5% гидролизат сывороточного белка с 3% β -ЦД и 5% гидролизат сывороточного белка с 5% β -ЦД, полученные при 50°C, – к 4 классу опасности (малоопасные). Полученные данные свидетельствуют о возможности безопасного использования клатратов циклодекстринов с продуктами протеолиза белков молока в клинической практике для нутритивной поддержки медицинской помощи.

Цыганков В.Г.¹, Курченко В.П.², Журихина Л.Н.¹, Бондарук А.М.¹

**Получение и токсиколого-гигиеническая оценка соединений
включения циклодекстрина с витаминами**

¹РУП «НПЦ гигиены», Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный университет, Минск, Республика
Беларусь

Способность циклодекстринов образовывать комплексы включения с различными группами органических и неорганических соединений определяет актуальность их изучения и применения в том числе в медицине, фармакологии, нутрициологии. Разработан способ получения соединений включения циклодекстрина с витаминами и методы контроля их физико-химических свойств, основанный на методе сорастирания смеси бета-циклодекстрина (далее – β -ЦД) с субстанцией вещества «гостя». После завершения процесса комплексообразования смесь высушивается без дополнительной обработки, либо промывается небольшим количеством воды и отфильтровывается или лиофильно высушивается. С использованием этого метода можно включить в β -ЦД до 10 % молекулы «гостя». При использовании данного метода были получены лабораторные образцы соединений включения β -ЦД с витаминами D₂, D₃, B₁₂. При высушивании пасты вместо тонкодисперсного порошка формируется плотный спрессованный комок, что обусловлено свойствами витаминов. В такой ситуации полученную массу комплексов включения необходимо размолоть на шаровой мельнице до тонкодисперсного состояния. Необходимо отметить, что витамин D₃ почти не растворим в водных средах. Растворимость его значительно увеличивается за счет включения в β -ЦД при одновременном увеличении его биологической активности, стабильности и улучшения всасываемости. В свободном виде витамин разрушается при 80° С в течении 24 ч, однако в комплексе при той же температуре после 43 суток воздействия сохраняется около 49% исходной активно-

сти. Полученный порошок высушивается в эксикаторе, просеивается через сита и хранится в плотно закупоренной таре. Для контроля включения применяли метод хромато-масс-спектрометрии. Исследования проводились на газовом хроматографе Agilent 6850, оснащенном масс-детектором Agilent 5975B.

Проведена токсиколого-гигиеническая оценка β -ЦД, и комплексов β -ЦД с витаминами D₂, D₃, B₁₂ с использованием тест-объекта одноклеточных организмов *T. pyriformis*. По результатам токсикологической оценки в остром и подостром экспериментах на *T. pyriformis* β -ЦД по средней смертельной дозе и коэффициенту кумуляции относится к 5 классу опасности (неопасные вещества). По результатам токсиколого-гигиенической оценки в остром и подостром экспериментах на *Tetrahymena pyriformis* комплекс β -ЦД с витамином D₂ (соотношение 4:1) по зоне хронического действия и коэффициенту кумуляции в остром эксперименте относится к 3 классу опасности (умеренно опасные вещества). В процессе токсиколого-гигиенической оценки в остром и подостром экспериментах на *Tetrahymena pyriformis* установлено, что комплекс β -ЦД с витамином D₃ (соотношение 4:1) по коэффициенту кумуляции в хроническом эксперименте относится к 5 классу опасности (неопасные вещества), по остальным показателям – к 4 классу опасности (малоопасные вещества). Таким образом, комплекс β -ЦД с витамином D₃ (4:1) является малоопасным соединением. По результатам токсиколого-гигиенической оценки на тест-объекте *Tetrahymena pyriformis* установлено, что комплекс β -ЦД с витамином B₁₂ является малоопасным соединением.

Полученные данные о классе опасности изученных комплексов, а также улучшение некоторых физико-химических характеристик соединений включения β -ЦД с жирорастворимыми витаминами (D₂ и D₃), позволяет рассматривать данные соединения, как перспективные для применения в фармакологической практике и в клинике для нутриционной поддержки медицинской помощи.

Влияние антител к рецепторам фактора роста нервов NGFRp75 на действие L-аминокислот в органотипической культуре ткани

¹Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Актуальной проблемой современной биологии и медицины является исследование механизмов регулирования сложного равновесного состояния между пролиферацией и апоптозом. Экспрессия генов при этих процессах регулируется различными цитокинами, включающими в себя полипептидные факторы роста, такие, как фактор роста нервов (Nerve growth factor -NGF) (Калюнов 1986, Rocco et.al.2018). NGF регулирует синтез белков, важных для роста нервов и трансмисерной функции. Низкоаффинные рецепторы к NGF (NGFRp75), относящиеся к семейству фактора некроза опухолей, являются индукторами апоптоза. В настоящее время накапливаются также данные о том, что 20 кодируемых L-аминокислот являются не только пластическим материалом при синтезе белковых молекул, но и сами могут модифицировать экспрессию генов-мишеней, играя роль сигнальных молекул. (Чалисова и др. 2011). Целью работы было исследование влияния антител к рецепторам фактора роста нервов (Nerve growth factor receptor75 - NGFRp75), на действие L-аминокислот в органотипической культуре лимфоидной ткани селезенки крыс. Эксперименты проведены на половозрелых крысах линии Вистар, которые умерщвлялись при вдыхании паров эфира. Ткань селезенки в стерильных условиях, разделялась на фрагменты величиной 1 мм³, 20-25 таких фрагментов помещались на дно чашки Петри, покрытое полилизинном. Контрольные и экспериментальные чашки Петри заливались 3 мл питательной среды и помещались на 3 суток в термостат при температуре 37±0,1°C. В культуральную среду каждой из экспериментальных чашек добавлялись либо одна аминокислота в концентрации 0.05 нг/мл, либо аминокислота + NGFRp75 (концентрация 10 нг/мл). Рост эксплантатов исследовался с помощью фазово-контрастного микроскопа. Индекс площади (ИП) рассчитывался как отношение площади всего эксплантата, включая периферическую зону роста, к площади центральной зоны. Достоверность различий значений ИП в контроле и опыте оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Статистическая обработка производилась с использованием пакета программ «Microsoft Excell». Установлено, что при действии тех аминокислот, которые стимулируют клеточную пролиферацию (аспарагин, гистидин,

глутаминовая кислота, пролин) увеличение зоны роста происходило в присутствии антител к NGFRp75 так же, как и при изолированном действии аминокислот, т.е. независимо от низкоаффинных рецепторов NGF. Напротив, у тех аминокислот, которые при изолированном применении вызывали ингибирование зоны роста, происходила отмена угнетающего влияния на развитие эксплантатов в присутствии антител к NGFRp75, и значения ИП не отличались от контрольных значений. Уменьшение ИП на 25-38% происходило при действии 10 гидрофобных аминокислот – аспарагиновой кислоты, валина, тирозина, треонина, цистеина, метионина, лейцина, фенилаланина, триптофана. Однако в присутствии антител к NGFRp75 происходило устранение ингибирующего влияния этих аминокислот. Например, при действии валина происходило уменьшение ИП на $32 \pm 5\%$ ($n=22$, $p<0,05$) по сравнению с контролем ($n=24$), однако в присутствии NGFRp75 ИП становился равен ИП контрольных эксплантатов. На основании полученных данных можно заключить, что группа аминокислот, находящихся на конце спектра возрастающей гидрофобности (5.3–7.5 кДж/моль) может опосредовать свое проапоптотное действие через низкоаффинные рецепторы NGF, так как при блокаде рецепторов антителами NGFRp75 устраняется ингибирующее влияние аминокислот на ткань. Полученные данные раскрывают некоторые механизмы регулирующего действия L-аминокислот на процессы клеточного апоптоза.

Литература

1. Калюнов В.Н. Фактор роста нервной ткани. – Минск: «Наука и техника», 1986. — 205 с.
2. Rocco ML, Soligo M, Manni L, Aloe Nerve Growth Factor: Early Studies and Recent Clinical Trials. *L.Curr Neuropharmacol*. 2018;16(10):1455-1465.

Чаплинская Е.В., Гурбо Т.Л.¹

Значимость расчета и оценки значения размера эффекта при статистической обработке антропометрических данных

¹ГНУ «Институт истории НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

В настоящее время для опубликования результатов исследований в зарубежных научных журналах, считается недостаточным использовать лишь значение *p-value*. Необходимым требованием у такого рода изданий, является представление среди статистических показателей размера эффекта (*ES*), кроме того важен и анализ его значений, особенно в случае недостоверных результатов. Стандартным условием в такой ситуации является указание значений *ES* в качестве оценки

практической значимости результатов, исходя из положения о том, что статистическая достоверность различий результатов не всегда является эквивалентом практической значимости. В отечественных научных публикациях значение *ES* приводится крайне редко, а оценка практической значимости результатов производится преимущественно на основе значений *критериев значимости* и/или расчета значений *p-value*.

Целью исследования является представление способа расчета и оценки значения *ES* при статистической обработке данных антропометрии.

Результаты и их обсуждение. Аббревиатура *ES* (*effect size*) обозначает размер эффекта и относится к целому семейству индексов [1]. посредством *ES* оценивается величина или степень проявления изменения в изучаемом явлении. Существуют разные способы расчета *ES*: в зависимости от типа исследуемых данных, гипотезы исследования, модели эксперимента и критерия значимости. Нами рассмотрен и применен в работе с антропометрическими данными способ расчета *ES* при проверке статистической гипотезы с использованием *t-критерия Стьюдента* для парных независимых выборок. Наиболее часто в изученных публикациях в качестве *ES* приводятся значения *d*-Козна (Cohen's *d*), который был использован и нами в своей работе. Для расчета *ES* используется формула: *Cohen's d_z = M_d/S_d*, где: *d_z* – размер эффекта при использовании *t-критерия* Стьюдента для двух выборок; *M_d* – среднее арифметическое разности между парами результатов двух сравниваемых выборок; *S_d* – стандартное отклонение разности между парами результатов. Я. Козном [2] были предложены ориентировочные границы для оценки *ES* при сравнении средних значений: маленький размер эффекта – *d* = 0,2, средний – *d* = 0,5 и большой – 0,8. Уровень значимости различий, определенный на основании *t-критерия Стьюдента*, зависит от объема выборки. Если мы не нашли различий, а *ES* средний и больше, нельзя говорить о том, что различий действительно нет: это повод провести дополнительные исследования, увеличив размер выборки. Если мы не нашли различий, а *ES* маленький, то можно говорить, что даже если выборку увеличить, различий скорее всего не будет. Это очень важно в случае недостоверного результата и часто это единственный способ их опубликовать. К сожалению, Я. Козн [2] разрабатывал оценки *ES* только для результатов психологических и социальных тестов. Расчет *ES* для анализируемых нами антропометрических данных показал, что его значения могут быть и больше единицы (например, *d* = 1,5).

Выводы:

1. расчет ES при проверке статистических гипотез достаточно прост и позволяет более точно оценить практическую значимость полученных результатов, как имеющих статистические различия, так и не имеющие их;
2. в настоящее время в области антропометрических исследований не разработаны обоснованные оценки ES , поэтому необходима дальнейшая работа в этом направлении.

Литература

1. Барникова, И.Э. Использование информационных технологий для оценки размера эффекта в биомеханических исследованиях // Труды кафедры биомеханики университета им. П.Ф. Лесгафта. – СПб. – 2017. – Вып. 11. – С. 6–11.
2. Cohen, J. Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences. – New York: Lawrence Erlbaum Associates, 1988 –568 p.

Челнокова И.А.¹, Стародубцева М.Н.^{1,2}

Влияние облучения крови мыши рентгеновским излучением в дозе 0,5 Гр на упругие свойства экзосом из её плазмы

¹ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси», Гомель, Республика Беларусь

²УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Республика Беларусь

В последние годы увеличивается количество диагностических и лечебных процедур с использованием рентгеновского излучения, проходящихся на одного жителя Республики Беларусь. Экзосомы, являющиеся везикулами размером от 30 до 150 нм с жидким содержимым и ограниченной мембраной, потенциально могут изменять свои свойства после радиационного воздействия на клетки и ткани человеческого организма. Экзосомы с измененными свойствами могут быть одними из ключевых участников механизмов развития радиационных эффектов, отдаленных как по времени, так и пространственно от места локализации первичного радиационного воздействия. Если на настоящий момент влияние рентгеновского излучения на механические свойства клеток мало изучено, то его влияние на свойства экзосом не изучалось вовсе. В биомедицинской литературе постулируется, что биомеханические свойства (то есть, деформируемость, жесткость, эластичность) клеток крови являются важным биомаркером и предиктором эффективности кровообращения.

Цель – выявить изменение параметров геометрических и механических свойств экзосом после облучения цельной крови мыши линии C57BL/6 рентгеновским излучением в дозе 0,5 Гр методом атомно-силовой микроскопии.

Облучение рентгеновским излучением опытных образцов проводилось с помощью рентгеновской установки X-RAD 320 для облучения биологических образцов и мелких лабораторных животных. Доза облучения исследуемых образцов составляла 0,5 Гр (напряжение на трубке 320 кВ, мощность 0,97 сГр/мин). Экзосомы выделяли из плазмы крови методом последовательного ультрацентрифугирования. Полученные экзосомы ресуспендировали в фосфатно-солевом буферном растворе и наносили на поверхность свежесколотой слюды со слоем поли-L-лизина. Сканирование проводили в фосфатно-солевом буферном растворе в режиме PeakForce QNM иглой-зондом SCANASYST-FLUID+ (радиус закругления 2 нм) на атомно-силовом микроскопе BioscopeResolve (Bruker). Сканировали участки размером 250-1000 нм со скоростью 0,9 Гц с пиковой силой 0,15-0,20 пН и амплитудой 100-150 нм. Полученные АСМ-изображения анализировали в программе NanoScope Analysis 1.9.

Экзосомы из плазмы крови мыши, адгезированные к поверхности слюды со слоем поли-L-лизина, представляли собой полусферы с диаметром 74,35 (66,17;88,74) нм. Экзосомы из плазмы крови после её облучения рентгеновским излучением характеризовались большей «размытостью» формы и усложнением рисунка пространственного распределения их упругих свойств на полученных АСМ-изображениях. Статистически значимых отличий диаметра экзосом из плазмы облученной крови и контрольного образца крови не обнаружено. Диаметр экзосом опытной выборки - 67,89 (59,73; 85,19) нм, $p > 0,05$ U-критерий Манна-Уитни в сравнении с параметром контрольной выборки. В тоже самое время, для экзосом из плазмы облученной крови выявлено существенное увеличение жёсткости их поверхности: значение модуля Юнга для опытной выборки - 2,15 (1,54; 4,03) МПа, для контрольной выборки – 1,37 (0,97;1,51) МПа ($p = 0,009$ U-критерий Манна-Уитни).

Таким образом, впервые оценены упругие свойства экзосом из плазмы крови после воздействия на цельную кровь рентгеновским излучением. Установлено, что в дозе 0,5 Гр рентгеновского излучение вызывает существенное увеличение модуля упругости поверхности экзосом, выделенных из плазмы крови мыши линии C57BL/6.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (№ договора Б20Р-427).

Респираторная активность митохондрий печени крыс при воздействии *трет*-бутилгидропероксида

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

Выяснение взаимосвязи структуры и функций отдельных биомолекул может служить основой для раскрытия как молекулярных механизмов химических процессов, лежащих в основе состава и функций отдельных клеток и целостного организма, - так и процессов, обеспечивающих биологическую индивидуальность живых организмов. Окислительный стресс, генерируемый *трет*-бутилгидропероксидом (tBHP), аналогом гидроперекисей липидов, приводит к митохондриальной дисфункции: генерации активных форм кислорода, истощению GSH, окислению мембранных липидов, повреждению компонентов электрон-транспортной цепи.

Целью работы является изучение влияния модельного окислительного агента tBHP на респираторную активность митохондрий печени крыс.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования являлись митохондрии печени крыс. Митохондрии изолировали методом дифференциального центрифугирования [1]. Печень быстро извлекали на холоду (4°C), осушали фильтровальной бумагой, взвешивали и гомогенизировали в гомогенизаторе (тефлон-стекло) (600 об/мин, 1 мин) в охлажденной среде выделения, содержащей 0,25 М сахарозы, 0,02 М Трис-HCl, pH 7,2. Ядерную фракцию удаляли центрифугированием при 600 g в течение 10 мин при 4 °C. Для осаждения митохондрий полученный супернатант центрифугировали при 8500 g в течение 10 мин при 4 °C, далее митохондриальный осадок дважды промывали в среде выделения при 4 °C и ресуспендировали в среде выделения таким образом, чтобы концентрация белка составила 40-50 мг/мл. Концентрацию белка определяли по методу Лоури [2]. Потребление кислорода митохондриями измеряли полярографически, используя термостатируемую ячейку объемом 3 мл и электрод Кларка (Oxytherm plus, Hansatech Instruments, Great Britain) при 25°C в буфере дыхания, содержащем 175 mM сахарозы, 50 mM KCl, 10 mM фосфатный буфер, 20 mM Трис (pH 7,4), 2 mM MgSO₄ [3].

Результаты. Окислительный стресс, индуцируемый tBHP в невысоких концентрациях (65–200 мкМ), приводил к полному нарушению респираторной и синтетической активности митохондрий в среде, не содержащей EDTA (этилендиаминтернаукусная кислота). Мы наблюдали уменьшение скорости АДФ-стимулируемого дыхания и увеличе-

ние скорости субстрат-стимулируемого дыхания при использовании глутамата и в качестве субстрата дыхания. Коэффициент акцепторного контроля вследствие полного разобщения процессов окисления и фосфорилирования достигал 1, а коэффициент фосфорилирования уменьшался до 0 при концентрации tBHP (65–200 мкМ) в присутствии глутамата в качестве субстрата дыхания.

Выводы. Таким образом, при окислительном воздействии *трет*-бутилгидроперекиси наблюдали интенсивное нарушение респираторной активности митохондрий, что соответствует данным других авторов [4, 5]. Нами показано, что в отсутствие EDTA полное разобщение процессов окисления и фосфорилирования при использовании субстратов I комплекса дыхательной цепи происходит при уже низких концентрациях окислителя (60–200 мкМ). Уровень нарушений митохондрий увеличивался с возрастанием концентрации *трет*-бутилгидроперекиси.

Литература

1. Johnson, D. Isolation of liver or kidney mitochondria / D. Johnson, H. A. Lardy // Methods in Enzymology. – 1967. – Vol. 10. – P. 94–101.
2. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–275.
3. Oxygen-related processes in red blood cells exposed to tert-butyl hydroperoxide / I. K. Dremza [et al.] // Redox Report. – 2006. – Vol. 11, № 4. – P. 185–192.
4. Kriváková, P. Inhibitory effect of t-butyl hydroperoxide on mitochondrial oxidative phosphorylation in isolated rat hepatocytes / P. Kriváková, A. Lábjová, Z. Cervinková, Z. Drahotá // Physiol Res. – 2007. – Vol. 56, № 1. – P. 137–140.
5. Tert-butyl hydroperoxide selectively inhibits mitochondrial respiratory-chain enzymes in isolated rat hepatocytes / Z. Drahotá [et al.] // Physiol Res. – 2005. – Vol. 54, № 1. – P. 67–72.

Чудиловская Е.Н.

Активность тиреопероксидазы в щитовидной железе крыс на фоне влияния высококалорийной диеты и кратковременного стресса

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Адаптация организма к различным факторам среды зависит от активности щитовидной железы и достигается путем регуляции поступления тиреоидных гормонов в кровь. Известно, что ключевым ферментом синтеза тиреоидных гормонов является тиреопероксидаза (ТПО), осуществляющая окисление йодида в присутствии перекиси водорода с образованием молекулярного йода, который затем присоединяется к тирозиновым остаткам молекулы тиреоглобулина. На сегодняшний

день одними из важнейших патогенетических влияний являются такие факторы, как избыточное высококалорийное питание и подверженность стрессам.

Исходя из этого, целью работы было изучение влияния высококалорийной диеты и кратковременного стресса на активность фермента ТПО в щитовидной железе (ЩЖ) крыс.

Методы. Опыты проводились на половозрелых крысах самцах линии Вистар с соблюдением правил биоэтики. Контрольная группа получала стандартный рацион вивария. Высококалорийная диета (ВКД) включала добавление к стандартной диете вивария свиное сало – 45 % от суточной калорийности и 10% водный раствор фруктозы вместо питьевой воды *ad libitum*. Общая длительность эксперимента составила 4 месяца. Кратковременный стресс моделировался в виде принудительного плавания в воде с температурой 13 °С в течение 5 минут, выведение животных из эксперимента проводилось с использованием тиопенталового наркоза через 1 час после стрессорного воздействия. Определение ТПО в ткани ЩЖ осуществлялось по методике [1]. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием Statistica 7.0.

Результаты и заключение. Показано, что по окончании эксперимента у крыс группы «ВКД» масса тела нарастала в среднем на 17%, при этом масса висцерального жира достоверно увеличивалась в 3,9 раз, систолическое артериальное давление повышалось на 8,6% по сравнению с контрольными животными. Медиана активности ТПО в ЩЖ крыс контрольной группы составляла 0,69 [0,31; 0,82] МЕ/мг ткани ЩЖ. При высококалорийном питании наблюдалось существенное и достоверное снижение активности фермента (0,40 [0,22; 0,49] МЕ/мг ткани ЩЖ). Полученные данные согласуются с результатами Sh. Shao и соавторов, 2014 [2] и могут объясняться феноменом липотоксичности. На фоне кратковременного стресса у контрольных животных отмечалась выраженная тенденция к повышению активности ТПО, которая, однако, не достигала статистической значимости. У животных группы «ВКД» активность фермента сохранялась на сниженном уровне. Полученные данные свидетельствуют о том, что высококалорийное питание приводит к существенному снижению активности ключевого фермента синтеза тиреоидных гормонов — ТПО в щитовидной железе. При этом на фоне кратковременного стресса активность фермента остается на сниженном уровне.

Литература

1. Митюкова Т.А. Определение активности тиреопероксидазы в ткани щитовидной железы (экспериментальное исследование) / Т.А.Митюкова, Е.Н. Чудиловская, А.С.

Мигалевич // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2020. – Т. 9, № 3. – С. 285-293.

2. Dietary high-fat lard intake induces thyroid dysfunction and abnormal morphology in rats / Sh. Shao [et al.] // Acta Pharmacol. Sin. – 2014. – Vol. 35, №11. – P. 1411-1420.

Шахаб С.Н., Ханчевский М.А., Трифонова А.Р.

Физическая сорбция молекулы сульфорофана и нанотрубки CNT (8,0-10)

Международный государственный экологический институт имени А.Д. Сахарова Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь

В связи с развитием нанотехнологий сегодня можно говорить о появлении нового направления – наномедицины. Благодаря нанотехнологиям в дальнейшем возможно создание роботов-врачей, которые будут способны проводить хирургические операции на жизненно важных органах, а также капсул, заполненных лекарственным препаратом, которые способны доставлять его в пораженные ткани или органы.

Сульфорофан (SFR) – органическое соединение растительного происхождения, обладающее противоопухолевым и антибактериальным свойствами. Предшественник сульфорофана – глюкорафанин присутствует в овощах семейства капустных, таких как брокколи, белая капуста, цветная капуста, кольраби и др. Наиболее богаты глюкорафанином побеги брокколи и цветной капусты. При механическом повреждении этих растения (что происходит, например, и при пережаривании) растительный фермент мирозиназа превращает глюкорафанин в сульфорофан, который защищает растение от инфекции.

Целью работы является оценка возможности образования комплекса между углеродной нанотрубкой CNT (8,0-10) и молекулой сульфорофана.

В настоящее время любое систематическое исследование в химии базируется, прежде всего, на какой-либо теоретической модели, позволяющей, по крайней мере, полуколичественно или качественно описывать характеристики вещества.

Квантово-химическое моделирование пространственного и электронного строения соединений, их химических и физико-химических свойств, а также изучение возможности образования атомно-молекулярных структур и их объединений является эффективным методом исследований.

Информативность квантово-химических расчетов в сравнении с экспериментальными методами изучения строения молекул также гораз-

до выше. Действительно, в одном-двух расчетах можно сразу получить данные о геометрии молекулы, термодинамических функциях состояния, энергиях ионизации, дипольном моменте, распределении электронной плотности, электронном спектре и т.п. Ни один из экспериментальных методов не позволяет получить такого широкого набора данных. Более того, некоторые рассчитываемые свойства молекул (порядки связей, свободные ковалентности, свойства переходных состояний) сложно определить экспериментально, хотя они оказываются важными для описания поведения молекул в химических реакциях.

В работе выполнены расчеты равновесных геометрий соединений SFR и комплекса CNT (8,0-10)/SFR используя теорию функционала плотности CAM-B3LYP/6-311+G* программного пакета Gaussian 09W на персональном компьютере Pentium IV/4.28 ГГц.

Рассмотрено три положения для взаимодействия SFR с CNT (8,0-10). Значения энергии (Е) для трех оптимизированных состояний I, II, III составляют -4023.654, -4023.662, -4023.674 Хартри, соответственно. Вычисленные энергии показывают, что наиболее стабильным является состояние III.

Установлено, что электронное состояние сульфорафана изменяется при адсорбции на нанотрубках CNT (8,0-10). Дипольный момент комплекса CNT (8,0-10)/SFR увеличивается с 0,0004 до 3,6524 Дб.

Установлено, что образованный комплекс сульфорафана с нанотрубками CNT (8,0-10). энергетически более стабилен по сравнению с молекулой сульфорафана.

Шевляков В.В., Баранов С.А., Крыж Т.И.

Влияние на биохимические показатели крови лабораторных животных субхронического ингаляционного воздействия белоксодержащих субстанций органической пыли

РУП «НПЦ Гигиены», Минск, Республика Беларусь

В ингаляционных экспериментах при воздействии на белых крыс полученными из разных видов органической пыли (далее – ОП) экстрактами-аллергенами (далее – ЭА) с достаточно высоким содержанием белоксодержащих субстанций (далее – БС) как антигенного комплекса ОП установлены по типичным проявлениям иммунотоксического и гематоксического действия эффективно действующие, пороговые и недействующие концентрации. На этой основе обоснованы по критерию ведущего вредного аллергического действия БС на организм предельно допустимые концентрации в воздухе рабочей зоны изученных ОП животного и растительного происхождения соответственно на

уровне 0,1 и 0,2 мг/м³ по белку. При этом у опытных животных установлено также развитие общетоксических эффектов, выявленных по существенным сдвигам в биохимическом статусе их организма, что актуально для оценки механизмов дозозависимого вредного действия на организм ОП.

Цель – установить характерные проявления токсического действия белоксодержащих субстанций различных видов ОП при ингаляционном поступлении в организм лабораторных животных по сдвигам биохимических показателей крови.

Материалы и методы исследования. Для определения дозозависимого биологического действия БС ОП использована модель интраназального динамического введения в течение месяца полученных ЭА из ОП лабораторным животным в объеме по 0,1 см³/животного в последовательно снижающихся расчетных концентрациях по белку. Для оценки токсического действия БС ОП у подопытных животных определяли комплекс биохимических показателей сыворотки крови на автоматическом анализаторе «Ассент 200» (Польша), а также известными методами в гемолизате крови показатели системы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты.

Результаты. В сыворотке крови опытных белых крыс после субхронического ингаляционного воздействия полученными ЭА из ОП животного происхождения (пыль шерстяная, птицеводческого и животноводческого производств, сухих пищевых дрожжей, молочных продуктов и др.) в основном в высоких концентрациях (3,0-1,0 мг/м³ по белку) преимущественно установлено существенное снижение содержания общего билирубина, креатинина и мочевины, увеличение содержания белка и глюкозы на фоне активации ферментов лактатдегидрогеназы и аланинаминотрансферазы как отражение компенсаторного возрастания в организме метаболических процессов и функционального состояния печени.

На воздействие ЭА из растительной ОП (пыль комбикормовая, мучная, крупяная, льняная) только в высоких концентрациях (на уровне 5 мг/м³ по белку) в сыворотке крови опытных животных, наоборот, в основном определены существенное нарастание содержания креатинина, мочевины и белка, активности ферментов лактатдегидрогеназы и сукцинатдегидрогеназы на фоне снижения активности аспартатаминотрансферазы. Причем на их более низкие концентрации значимые сдвиги всех изученных показателей биохимического статуса у опытных животных не выявлены.

В большинстве случаев на воздействие ЭА из всех видов ОП в крови опытных животных отмечались активация ферментов антиоксидант-

ной защиты (глутатионредуктазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы), увеличение уровня SH-групп на фоне снижения содержания глутатиона восстановленного. Но наиболее характерно определение у опытных животных, даже на низкие концентрации ЭА из животной пыли, высокой активности фермента супероксиддисмутазы.

Выводы:

1. наиболее информативными в оценке дозозависимого общетоксического действия на организм белых крыс белоксодержащих субстанций органической пыли при их ингаляционном воздействии являлись биохимические показатели системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты;
2. изучение основных показателей биохимического статуса организма лабораторных животных должно быть обязательным в методологии доказательного экспериментального обоснования гигиенических нормативов содержания ОП в воздухе рабочей зоны.

Шевченко Н.И., Логинова О.П.

Биомаркеры поражений слизистой оболочки желудка у пациентов с сахарным диабетом

ГУ «РНПЦ Радиационной медицины и экологии человека», Гомель,
Республика Беларусь

Среди пациентов с сахарным диабетом (СД), которые обращаются за медицинской помощью, различные гастроэнтерологические жалобы предъявляют более 76% пациентов. По данным J. Тоугу и соавторов, длительность заболевания сахарного диабета 2-го типа больше 10 лет приводит к диабетической автономной нейропатии практически у 65% пациентов. При гастроинтестинальной форме диабетической нейропатии могут наблюдаться гастриты с воспалением слизистой полости желудка и подавлением секреторной функции желез. Это приводит к нарушению процесса нейтрализации желудочного сока, что влечет усугубление болезни, неэффективности симптоматического лечения и появлению язвенной болезни желудка. Известно, что уровень сывороточного пепсиногена- это тот показатель, который отражает функциональное и морфологическое состояние слизистой оболочки желудка. Человеческий пепсиноген имеет диагностическую ценность для различной гастродуоденальной патологии, особенно для язвенной болезни, атрофического гастрита и рака желудка и является своеобразным биомаркером состояния слизистой оболочки желудка. Содержание сывороточного пепсиногена I (ПГ I) или соотношение пепсиноген I/пепсиноген II (ПГ II) с высокой степенью надежности отражает ко-

личество клеток и количество главных желез в области тела желудка, т.е. степень выраженности атрофии слизистой оболочки тела желудка. По мере увеличения тяжести атрофического гастрита тела желудка уровень пепсиногена I и соотношение пепсиноген I/пепсиноген II снижаются.

Цель – оценить функциональное состояние слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки у пациентов с сахарным диабетом с использованием лабораторных маркеров.

Материалы и методы. Для решения поставленной цели исследованы уровни сывороточных пепсиногенов у пациентов с СД. Обследовано 97 пациентов в возрасте от 19 до 82 лет: 48 мужчин (средний возраст $55,7 \pm 14,1$ года) и 49 женщин (средний возраст $37 \pm 12,9$ года). Все пациенты находились на стационарном лечении в эндокринологическом отделении ГУ «РНПЦ РМиЭЧ». Материалом для исследования служила венозная кровь, взятая с соблюдением процедуры преаналитического этапа. Исследование выполняли на иммунохимическом анализаторе «Architect i1000» («Abbott», США). Фундальную атрофию оценивали как выраженную, если уровень ПГI был ниже 30 нг/мл. Концентрацию ПГII ниже 3 нг/мл считали низкой. Как критерий атрофии, учитывали также соотношение ПГI/ПГII (показатель менее 3).

Результаты и обсуждение. В ходе проведенного исследования установлено, что преимущественно выраженная степень повреждения слизистой оболочки желудка, по данным значений ПГI (< 30 нг/мл), установлена у 40,2 % пациентов (39 человек), причем у мужчин этот процент составил 27,1 (13 чел.), у женщин - 46,9 (26 чел.). Для мужчин повышение ПГI более 200 нг/мл отмечено в 6,3% (3 пациента) случаев, увеличение этого показателя зарегистрировано для 4 женщин (8,2%). Повышение уровня сывороточного пепсиногена II (> 22 нг/мл), который связывают с *H. pylori*-инфекцией, в обследуемой группе пациентов повышен у 5 женщин (10,2%) и у 8 мужчин – 16,7%. Также для раннего выявления гастрита и его осложнений используют индекс ПГI/ПГII – соотношение концентраций пепсиногена I и II, который снижен при атрофическом гастрите тела желудка и пангастрите. Снижение данного соотношения ниже 3 отмечено для 26,8% пациентов, при этом процент женщин в этой группе составил 34,7 (17 женщин), а для мужчин этот показатель отмечен для 9 пациентов (18,8%).

Заключение. Таким образом, тесты на определение сывороточных пепсиногенов крайне ценны для оценки состояния слизистой оболочки желудка у пациентов с сахарным диабетом и являются основными показаниями для детального эндоскопического исследования.

Анализ и оценка влияния различных типов шока на работу сердца

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

В жизнедеятельности человеческого организма и его взаимодействии с окружающей средой можно выделить три состояния: здоровье, болезнь, терминальное или критическое состояние.

Если какой-либо внешний фактор действовал на организм, но компенсаторные механизмы сохранили постоянство внутренней среды (гомеостаз), то это состояние можно обозначить как здоровье. В противном случае развивается болезнь.

В зависимости от степени воздействия фактора в реакцию организма включаются различные функциональные системы, обеспечивающие мобилизацию защитных сил, в случае заболевания. Если рациональная терапия поддерживает их, то наступает выздоровление. Однако иногда пост агрессивная реакция организма превращается из защитной в убивающую. Возникает критическое состояние пациента. К числу таких состояний относятся и разного типа шоки. Клинически доказано, что одним из факторов, определяющих состояние человека в этих случаях, является нарушение гемодинамики, определяющей работу сердца.

Цель данной работы – проанализировать результаты, полученные в ходе клинических исследований; связать гемодинамические показатели с физическими характеристиками, определяющими работу сердца; рассчитать и провести анализ работы сердца пациентов, используя числовые значения гемодинамических показателей при двух видах шока (кардиогенного и гиповолемического).

В работе были использованы опубликованные клинические данные: начальные (в момент поступления) и конечные (перед смертью или выпиской) пациентов, находившихся в отделении интенсивной терапии одной из больниц. С помощью программы Excel были выполнен расчет и оценка основных характеристик гемодинамики. Так же был проведен статистический анализ параметров, определяющих состояние пациента при двух видах шока и вычислено численное значение работы сердца.

В условиях клиники были получены следующие гемодинамические параметры: среднее давление крови в аорте; частота сердечных сокращений; сердечный индекс, один из основных клинических параметров, оценивающих работу сердца.

В ходе работы были выполнены расчеты следующих гемодинамических параметров.

1) *Сердечный выброс* - ценнейший показатель гемодинамики, так как

наиболее полно характеризует кровоснабжение в целом. Другое название параметра – *минутный объем крови*, выбрасываемый желудочками сердца в единицу времени, который традиционно в медицине измеряется в л/мин. Значение сердечного выброса рассчитали, используя значение сердечного индекса и площади поверхности тела пациента.

2) *Ударный (систолический) объем крови* - объем крови, перекачиваемой из желудочка за одно сокращение, вычислили пользуясь формулой связи сердечного выброса и частоты сердечных сокращений.

3) *Сердечный выброс* определяет *объемную скорость кровотока*. Чтобы получить его значение сердечный выброс выразили в м³/с.

4) *Линейная скорость кровотока* в аорте при выбросе крови в аорту. Для ее расчета воспользовались связью между *объемной и линейной скоростью кровотока*.

5) *Работа сердца* за одно сокращение (систола) была вычислена с помощью формулы, следующей из элементарного физического анализа.

В ходе работы несистемные клинические единицы измерения гемодинамических параметров, полученных в условиях клиники, были переведены в международную систему единиц СИ.

Для наглядного представления полученных числовых результатов с помощью табличного процессора Excel были построены графики иллюстрирующие соотношения величин.

Был проведен анализ данных, характеризующих работу сердца людей в состоянии шока и сделана оценка влияния различных типов шока на работу сердца.

Непрерывным условием при выполнении данной работы было участие студентов медиков, которыми были выполнены расчеты, с целью научить студентов систематизировать имеющиеся числовые данные, выполнять вычисления и делать самостоятельные выводы.

Шишко В.И., Шульга Е.В., Гуляй И.Э., Милош Б.А.

Механизмы антиоксидантной защиты при синдроме обструктивного апноэ/гипопноэ во сне

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

Синдром обструктивного апноэ/гипопноэ во сне (СОАГС) – патологическое состояние, характеризующееся повторяющимися эпизодами гипоксемии и гиперкапнии, на фоне которых запускаются механизмы свободнорадикального окисления и повреждения тканей. Однако регуляция изменений антиоксидантной системы (АОС) крови при СОАГС изучена недостаточно.

Цель – изучить механизмы антиоксидантной защиты эритроцитов крови при СОАГС.

Материал и методы. Обследованы 96 человек. Средний возраст $47,8 \pm 9,5$ лет. Мужчин 61 (63,5%), женщин 35 (36,5%). С целью выявления СОАГС проводилось ночное респираторное мониторирование с использованием системы SOMNOcheckmicro. На основании полученных результатов были сформированы группы: основная ($n=50$) – пациенты с СОАГС и группа сравнения ($n=46$) – пациенты без СОАГС. Группы не отличались по гендерному составу ($p=0,92$).

Активность АОС оценивали по показателям ферментативного (каталаза) и неферментативного (восстановленный глутатион) звеньев. Активность каталазы в эритроцитарной массе регистрировали при длине волны 410 нм на спектрофотометре PV1251C «SOLAR» (Беларусь). Содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах определяли спектрофотометрическим методом с добавлением реактива Элмана при длине волны 412 нм. Продукцию NO оценивали по суммарному содержанию нитрат/нитритов ($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$) в плазме крови спектрофотометрическим методом при длине волны 540 нм. Применялись методы непараметрической статистики.

Результаты и выводы. При анализе внутриэритроцитарного звена АОС при СОАГС наблюдались разнонаправленные изменения. Так, повышение активности каталазы (ферментативное звено): $26,0 [23,7; 28,5]$ vs $23,8 [21,9; 26,5]$ ммоль H_2O_2 / мин/г Нв ($p<0,0$) и уменьшение концентрации восстановленного глутатиона (неферментативное звено): $24,7 [20,4; 29,7]$ vs $30,7 [25,7; 33,8]$ мкмоль/г Нв, ($p<0,05$) было выявлено у пациентов с СОАГС. Вероятнее всего, обладая выраженным антиоксидантным действием, каталаза, разрушая перекись водорода, защищает биологические системы, в частности мембраны эритроциты от повреждения и играет роль в механизмах внутриэритроцитарного регулирования в условиях гипоксии при СОАГС.

При проведении корреляционного анализа выявлены прямые связи умеренной силы между активности каталазы и степенью тяжести апноэ во сне ($0,38$; $p<0,05$) и обратные связи умеренной силы между уровнем восстановленного глутатиона и степенью тяжести апноэ во сне ($-0,34$; $p<0,05$). Также получены прямые взаимосвязи между содержанием каталазы и концентрацией восстановленного глутатиона ($0,39$; $p<0,05$).

Пациенты основной группы по отношению к группе сравнения характеризовались достоверно более низким уровнем $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ($13,33 [10,5; 16,3]$ и $10,0 [8,23; 12,3]$ ммоль/л соответственно), $p<0,05$. При проведении корреляционного анализа выявлены обратные связи умеренной

силы между уровнем $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ и степенью тяжести апноэ во сне ($-0,28; p < 0,05$), а также уровнем восстановленного глутатиона ($-0,47; p < 0,05$).

На основании полученных нами данных, можно сделать вывод об NO-зависимых механизмах регуляции глутатионовой антипероксидазной системы, которая защищает клетки крови от окислительных повреждений в условиях хронической гипоксии при СОАГС.

Шишко Т.Т.

Изменение в ГАМКергической системе неокортекса в ювенильном и препубертатном периодах у крыс после острой перинатальной гипоксии и возможность их фармакологической коррекции
ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация

В настоящее время в клинических и экспериментальных исследованиях большое внимание уделяется изучению механизмов гипоксически-ишемических поражений головного мозга новорожденных и формированию патологии в ранний период развития. Воздействие гипоксии в неонатальный период является одной из основных причин возникновения патологии головного мозга, определяемой клиницистами как гипоксически-ишемическая энцефалопатия или перинатальная энцефалопатия (ПЭП), которая включает большую группу поражений головного мозга, возникающих во время беременности и родов, и является собирательным диагнозом, подразумевающим структурные и функциональные нарушения в различных формациях головного мозга. Известно, что нарушения в ГАМКергической системе приводят к развитию широкой гаммы неврологических расстройств: к ювенильной миоклонической эпилепсии, фибриллярным судорогам, идеопатической эпилепсии, психоэмоциональным нарушениям. В настоящее время среди лекарственных препаратов отсутствуют средства для фармакологической коррекции последствий повреждающего действия перинатальной гипоксии на мозг. Поэтому, поиск и разработка высокоэффективных средств для коррекции этих повреждений является одной из актуальных задач современной фармакологии.

Работа проведена крысах линии Wistar на экспериментальной модели энцефалопатии новорожденных. Воздействие гипоксии на мозг осуществляли в течение 1 часа на 2 постнатальные сутки в специальной камере с содержанием кислорода в дыхательной смеси равной 8 %. В качестве нейротропного препарата использовали ноотропный препарат фенибут (вещество, производное ГАМК, гидрохлорид гамма-амино-бета-

фенилмасляной кислоты). Фенибут вводили подкожно, однократно в течение 14 суток. Исследование сенсомоторной области неокортекса проводили на 20 и 40 постнатальные сутки (П20, П40) (ювенильный и препубертатный периоды). Для выявления клеток, содержащих ГАМК использовали кроличьи поликлональные антитела к глутаматдекарбоксилазе (GAD-67) (Spring Bioscience, США); в качестве вторичных реагентов использовали реактивы из набора EnVision+System-HRP Labelled Polymer Anti-Rabbit (DakoCytomation, США). Количественный подсчет ГАМК-ергических нейронов проводили на цифровых изображениях. Для статистической обработки данных использовали прикладные компьютерные программы Statistica 8.0., t критерий Стьюдента и *onewayANOVA*.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у животных обоих возрастных групп, перенесших перинатальную гипоксию, число ГАМК-ергических нейронов во всех слоях (II-VI) сенсомоторной области значительно уменьшается на П20 и остается сниженным на П40, применение фенибута приводит к повышению численности популяции тормозных ГАМКергических нейронов до контрольных значений. Изучение динамики изменения численности ГАМКергических нейронов в неокортексе в ювенильном и препубертатном периодах, когда продолжает осуществляться реализация программы морфогенетического развития мозга показало, что применение фенибута сразу после воздействия гипоксии нивелирует ее повреждающие эффекты в отношении тормозных ГАМКергических интернейронов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-015-00052.

Шляхтун А.Г., Радута Е.Ф., Сутько И.П., Каспер Е.В., Богдевич Е.В., Семененя И.Н.

Нейропротекторное действие комплексного средства на основе сукцината натрия, N-ацетил-L-цистеина и ресвератрола при тяжелой алкогольной интоксикации у крыс

РНИ УП «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси», Гродно, Республика Беларусь

Алкогольная интоксикация (АИ) наносит значительный ущерб здоровью населения большинства стран мира. Этанол нарушает передачу сигналов нейротрансмиттеров, увеличивает выработку активных форм кислорода (АФК), инициирует процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и снижает активность антиоксидантных систем защиты (АОС) в ЦНС.

Учитывая многогранность токсического действия этанола, предложе-

но комплексное нейропротекторное средство метаболического действия на основе сукцината натрия, N-ацетил-L-цистеина (АЦЦ) и ресвератрола.

Целью работы стало исследование нейропротекторного действия комбинации сукцината натрия, N-ацетил-L-цистеина (АЦЦ) и ресвератрола при моделировании тяжелой АИ у крыс.

Материалы и методы исследования. Исследования проводили на самцах крыс линии Wistar массой 180–200 г. Животные были разделены по 15 особей на 3 группы – контрольную, группу «АИ» и группу «АИ + Препарат». АИ у крыс вызывали по методу Majchrowicz. Животные получали 30 % этанол в/ж в дозах до 12 г/кг/сут, дважды в сутки, с 12 ч интервалами, на протяжении 5 суток. Этанол вводили в максимально переносимых дозах, которые подбирались индивидуально. С 3 дня и до конца эксперимента, на фоне АИ, крысам в/ж вводили водный раствор из сукцината натрия, АЦЦ, ресвератрола и вспомогательных компонентов, в дозах 37,5 мг/кг, 15 мг/кг и 11,5 мг/кг соответственно.

По завершению эксперимента животных эвтаназировали. В ткани больших полушарий головного мозга (БП) определяли содержание ТБК-реагирующих соединений (ТБКРС) для оценки ПОЛ и выражали в нмоль/г ткани. Для оценки состояния АОС измеряли содержание низкомолекулярных тиолов (НМТ), активностей глутатионредуктазы (ГР), глутатион-S-трансферазы (GST), глутатионпероксидазы (ГПО). Активности ГР выражали в нмоль НАДФН/мин/мг белка, GST – в мкМ ХДНБ/мин/мг, ГПО – в мкМ GSH/мин/мг, содержание НМТ – в нмоль GSH/мг. Содержание белка определяли по Bradford.

Для статистической обработки использовали ANOVA и тест Тьюки. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее, m – стандартная ошибка среднего значения.

Результаты и выводы. Показано, что уровень ТБКРС в БП в группе АИ повышался на 30% ($0,39 \pm 0,03^*$ vs. $0,30 \pm 0,02$, $p < 0,05$ по отношению к контролю). Введение животным комплекса на фоне алкоголизации предотвращало развитие ПОЛ в ткани БП – содержание ТБКРС оставалось на контрольном уровне ($0,29 \pm 0,03$ vs. $0,30 \pm 0,02$). Для оценки влияния разработанного комплекса на показатели АОС исследованы активности ГР, ГПО, GST и содержание НМТ в БП.

Показано, что в условиях АИ уровень НМТ в ткани БП снижался на 31,8% по сравнению с контрольной группой ($3,37 \pm 0,14^*$ vs. $4,94 \pm 0,14$, $p < 0,05$). Также наблюдалось снижение активностей ГР ($41,7 \pm 3,8^*$ vs. $54,7 \pm 3,0$) и GST ($57,3 \pm 2,6^*$ vs. $69,8 \pm 3,4$, $p < 0,05$), соответственно на

23,8 % и 17,9 %, и напротив – увеличение активности ГПО ($146,3 \pm 8,8^*$ vs. $108,9 \pm 6,7$, $p < 0,05$) на 34,3 %.

Введение животным разработанного комплекса нормализовало содержание НМТ ($5,06 \pm 0,20$ vs. $4,94 \pm 0,14$), повышало активности ГР ($57,3 \pm 3,2$ vs. $54,7 \pm 3,0$) и GST ($65,3 \pm 3,4$ vs. $69,8 \pm 3,4$), а также предотвращало повышение активности ГПО ($123,1 \pm 7,7$ vs. $108,9 \pm 6,7$) в ткани БП крыс при АИ.

Таким образом, при АИ в ткани БП наблюдалось усиление наработки АФК, проявляющееся в значимом увеличении концентраций ТБКРС, при этом снижались уровни НМТ и активности ферментов АОС. Введение животным на фоне АИ разработанной комбинации на основе сукцината натрия, АЦЦ и ресвератрола предотвращало снижение активностей ферментов АОС, нормализовало содержание НМТ и снижало уровни ТБКРС в ткани БП у крыс.

Шляхтун А.Г., Радута Е.Ф., Сутько И.П., Каспер Е.В., Богдевич Е.В., Севко А.А.

Скрининг молекулярных мишеней, обуславливающих гипогликемическое действие лупановых тритерпеноидов

РНИ УП «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси», Гродно, Республика Беларусь

Сахарный диабет – одна из важнейших медико-социальных проблем современности, занимающая значительное место в структуре хронической патологии всех возрастных групп. Целевыми задачами фармакотерапии сахарного диабета являются достижение стабильной компенсации гипергликемии, предотвращение развития осложнений и поиск способов профилактики. Учитывая относительную ограниченность и значительное количество побочных эффектов синтетических препаратов, огромный интерес представляет поиск природных субстанций, обладающих гипогликемическим действием. Перспективными в указанном аспекте являются лупановые терпеноиды (ЛТ) – бетулин, лупеол, бетулин-3,28-диацетат, бетулиновая и бетулоновая кислоты, аллобетулин. Ранее нами показан гипогликемический эффект некоторых ЛТ при экспериментальном сахарном диабете, однако механизмы их действия не установлены.

Цель работы заключалась в установлении белков-мишеней, опосредующих гипогликемическое действие тритерпеноидов группы лупана.

Материалы и методы исследования. Предварительно выбраны 48 различных ключевых регуляторов обмена глюкозы, среди которых регуляторные белки гликолиза и глюконеогенеза, транспортеры глюкозы, а также ряд белков, являющихся мишенями для действия из-

вестных синтетических гипогликемических препаратов всех групп – инсулина, средств, повышающих секрецию инсулина (производные сульфонилмочевины и меглитиниды), сенситайзеров инсулина (бигуаниды и тиазолидиндионы), ингибиторов α -глюкозидаз, глифлозинов, агонистов ГПП-1, глиптинов. Файлы белков-мишеней из Protein Data Bank подготавливали для докинга с использованием MGLTools. Докинг проводился в 2 этапа. Отборочный докинг проводили с использованием дарвиновского генетического алгоритма при помощи iGemdock. Выходные данные по каждому лиганду были ранжированы по энергии взаимодействия. Для последующего анализа были выбраны по 6 белков, с которыми взаимодействие лиганда энергетически наиболее выгодно. После первого, отборочного этапа, использовали AutoDock Tools 4.2.6. Комплексы белок-лиганд исследовали в области размером 20 куб. Å для известных по литературным данным участкам связывания, либо по целой молекуле белка, с шагом 0,375 Å в случае отсутствия данных сайтах связывания. Атомные заряды для построения сетки потенциалов рассчитывали методом Gasteiger-Marsili. Для визуализации, постпроцессинга и анализа использовали UCSF Chimera. Для оценки влияния ЛТ на активность ферментов проводили их инкубацию с ферментными препаратами на протяжении 30 мин (без субстратов) в диапазоне концентраций от 0 до 25 мкМ, после чего определяли соответствующие ферментативные активности.

Результаты и выводы. В результате докинга установлен ряд белков имеющих высокое сродство к ЛТ – фосфоенолпируваткарбоксикиназа – 1KNF, GLUT1 – 4PYP, гликогенфосфорилаза – 1EM6, инсулизин – 2WBY, фосфофруктокиназа-1 – 4OMT, глюкокиназа – 4NO7, глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа – 2BHL, регуляторный белок глюкокиназы – 4LC9, панкреатическая α -амилаза – 1B2Yc, и, вероятно, опосредующих наблюдаемое гипогликемическое действие ЛТ. Для гликогенфосфорилазы печени крыс, гексокиназы печени и скелетных мышц крысы, глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы печени крыс, фосфофруктокиназы печени и скелетных мышц крысы исследовано взаимодействие в лупановыми терпеноидами *in vitro*. Показано, что бетулин, бетулин-3,28-диацетат, аллобетулин, бетулоновая и бетулиновая кислоты, обладают ингибирующим действием на гликогенфосфорилазу печени и мышц и на глюкозо-6-фосфат дегидрогеназу печени крыс. Ингибирующий эффект дозозависим и возрастает с увеличением в среде инкубации концентраций ЛТ. Наиболее выраженным ингибирующим действием на указанные ферменты обладают бетулин и бетулиновая кислота.

Prediction of biological activity for *Ficaria verna* compounds

Lviv Polytechnic National University, Lviv, Ukraine

Today, compounds of natural origin are becoming increasingly popular. Their advantage over synthetic compounds is due to safety, because they do not cause allergic reactions.

The object of our study is *Ficaria verna* – representative of the family *Ranunculaceae*. *Ficaria verna* has diuretic, expectorant, laxative, anti-inflammatory, wound healing and purifying properties. However, as a medicinal plant, it is insufficiently studied. Therefore, a detailed examination and research of *Ficaria verna* for the purpose of introduction into medicinal medicine has a potential interest. The plant contains biologically active compounds, in particular saponins, protoanemonin, anemonin, ascorbic acid, carotene were found in the leaf. Phytochemical studies of flowers and leaves have identified four phenolic compounds that are of potential interest for study. Phenolic compounds are represented by the following series of compounds: nicotiflorin, vitexin, orientin, flavosativazide.

Aim. The use of *in silico methods*, including predictive screening, has made a significant impact on the search and study of biologically active compounds.

Materials and methods. Prediction of biological activity of compounds using the compensatory program PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances). The chemical structure is represented in PASS in the form MNA descriptors (Multilevel Neighbourhoods of Atoms). The results of the forecast are obtained in the form of estimation of the probabilities of presence (P_a) and the absence of each activity (P_i), having values from 0 to 1.

Results. **Nicotiflorin** is predicted to show hemostatic ($P_a=0,992$), membrane permeability inhibitor ($P_a=0,989$), cardioprotectant ($P_a=0,990$), free radical scavenger ($P_a=0,984$), membrane integrity agonist ($P_a=0,984$), CYP1A inducer ($P_a=0,979$), vasoprotector ($P_a=0,979$) action. **Vitexin** — a potential TP53 expression enhancer ($P_a=0,973$), membrane integrity agonist ($P_a=0,966$), cardioprotectant ($P_a=0,950$), HIF1A expression inhibitor ($P_a=0,940$), free radical scavenger ($P_a=0,901$), membrane permeability inhibitor ($P_a=0,891$), anaphylatoxin receptor antagonist ($P_a=0,890$) action. **Orientin** — a potential TP53 expression enhancer ($P_a=0,974$), membrane integrity agonist ($P_a=0,961$), free radical scavenger ($P_a=0,955$), cardioprotectant ($P_a=0,952$), HIF1A expression inhibitor ($P_a=0,940$), hepatoprotectant ($P_a=0,927$), membrane permeability inhibitor ($P_a=0,927$), UGT1A9 substrate ($P_a=0,892$) action. **Flavosativaside** — a potential free radical scavenger ($P_a=0,970$), membrane integrity agonist ($P_a=0,970$), TP53 expression

enhancer ($P_a=0,966$), hepatoprotectant ($P_a=0,958$), cardioprotectant ($P_a=0,955$), membrane permeability inhibitor ($P_a=0,933$), chemopreventive ($P_a=0,932$), anaphylatoxin receptor antagonist ($P_a=0,928$) and monophenol monooxygenase inhibitor ($P_a=0,919$) action.

Conclusions. According to the results of predicting the activity of biologically active substances, *Ficaria verna* is a prospect to develop hemostatic and antioxidant agents and as a means to enhance the expression of TP53 based on the presented plant.

Якимович М.В.

Регуляция мембранного потенциала митохондрий печени крыс кверцетином и его комплексом включения с 2-гидроксипропил- β -циклодекстрином при воздействии хлорноватистой кислоты

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

Одним из важных показателей функционального состояния митохондрий, является мембранный потенциал, представляющий разность потенциалов, который возникает в следствии переноса протонов на внешнюю сторону внутренней мембраны митохондрий при прохождении электронов через I, III и IV комплексы дыхательной цепи. Флавоноиды – это природные полифенольные соединения, обладающие антиоксидантными свойствами. Кверцетин, важный с медицинской точки зрения член семейства флавоноидов, является одним из наиболее известных пищевых антиоксидантов. Это распространенный ингредиент в многочисленных пищевых добавках, таких как овощи, лук, цитрусовые яблоки и оливковое масло. Помимо овощей и фруктов, другими источниками являются напитки растительного происхождения, такие как зеленый чай и красное вино [1]. Флавоноиды и их комплексы включения с циклодекстринами оказывают благоприятные эффекты при нарушении деятельности митохондрий благодаря их антиоксидантной и регуляторной активности.

Цель. Оценить эффекты кверцетина и его комплекса включения с 2-гидроксипропил- β -циклодекстрином (HP- β -CD) на мембранный потенциал митохондрий печени крыс при повреждающем воздействии хлорноватистой кислоты.

Материалы и методы исследования. Митохондрии печени крыс выделяли методом дифференциального центрифугирования [2]. Комплекс включения кверцетина с HP- β -CD осуществляли по методу, предложенным И. М. Савиком (I. M. Savic) и соавторами [3]. Определение концентрации митохондриального белка осуществляли по ме-

тоту Лоури [4] с использованием в качестве стандарта бычьего сывороточного альбумина. Повреждение митохондрий моделировали внесением в суспензию митохондрий хлорноватистой кислоты (150 мкМ). Мембранный потенциал митохондрий измеряли спектрофлуориметрически с помощью положительно заряженного липофильного флуоресцентного зонда сафранина О [5].

Результаты. При внесении в суспензию митохондрий хлорноватистой кислоты (150 мкМ) наблюдается уменьшение величины митохондриального мембранного потенциала при использовании сукцината в качестве субстрата энергизации митохондрий. Предварительное внесение кверцетина дозозависимо препятствует диссипации мембранного потенциала на фоне хлорноватистой кислоты. Внесение комплекса кверцетин-НР- β -CD не выявило достоверных различий по сравнению с кверцетином на величину мембранного потенциала митохондрий, что, вероятно, связано с распределением молекул флавоноида в липидном бислое.

Выводы. В данных экспериментах обработка митохондрий хлорноватистой кислотой *in vitro* существенно нарушает их функциональную активность, значительно снижая мембранный потенциал митохондрий печени крыс. Известно, что гипохлорная кислота вызывает окислительные повреждения клеточных белков и мембран, включая окисление сульфгидрильных групп, формирование хлоргидринов жирных кислот и холестерина. Таким образом, кверцетин / комплекс кверцетин-НР- β -CD может реагировать со всеми АФК, образующимися в клеточной системе, и, следовательно, инактивировать хлорноватистую кислоту посредством ее поглощения.

Литература

1. Quercetin: Dietary sources, functions and health benefits / M. T. Mercader-Ros [et al.] // Nova Science Pub Inc. – 2012. – P. 179–198.
2. Johnson, D. Isolation of liver or kidney mitochondria / D. Johnson, H. A. Lardy // Methods in Enzymology. – 1967. – Vol. 10. – P. 94–101.
3. Investigation of properties and structural characterization of the quercetin inclusion complex with (2-hydroxypropyl)- β -cyclodextrin / I. M. Savic [et al.] // Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry. – 2015. – Vol. 82. – P. 383–394.
4. Lowry, O. H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193. – P. 265–275.
5. Akerman, K. E. O. Safranin as a probe of the mitochondrial membrane potential / K. E. O. Akerman, M. K. F. Wikström // FEBS Lett. – 1976. – Vol. 6, № 2. – P. 191–197.

Особенности проявления биохимических идентификационных признаков у клинических штаммов *S. aureus*, образующих биопленку

ГУ «РНПЦ Радиационной медицины и экологии человека», Гомель,
Республика Беларусь

Золотистый стафилококк (*S. aureus*) относится к категории клинически значимых микроорганизмов и подлежит обязательному мониторингу в организациях здравоохранения в рамках проводимого инфекционного контроля. Воздействие антимикробных средств, хроническое течение инфекционного процесса обуславливает формирование защитной биопленки, а также изменение метаболических свойств *S. aureus*, что может сказаться на проявлении основных биохимических признаков на этапе видовой микробиологической идентификации.

Цель – оценить наличие биохимических идентификационных критериев у клинических штаммов *S. aureus*, имеющих генотипические и фенотипические признаки продукции биопленки.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования были 46 штаммов *S. aureus*, выделенных из раневого отделяемого пациентов с острыми и хроническими ранами. Биохимическую идентификацию *S. aureus* проводили по наличию лецитиназной, гемолитической активности, реакции плазмокоагуляции, ферментации маннита, с использованием стандартных микробиологических методов. Для подтверждения результатов биохимической идентификации дополнительно применяли данные, полученные с помощью автоматического анализатора Vitek2-Compact (BioMerieux, Франция). Оценку способности штаммов *S. aureus* формировать биопленку выполняли с помощью спектрофотометрической детекции (патент Республики Беларусь № 20326). Наличие генов образования биопленки – *icaAD*, *icaBC* определяли методом полимеразной цепной реакции. В качестве контроля использовали штамм *S. aureus* ATCC 29213.

Результаты. Контрольный штамм *S. aureus* ATCC 29213 характеризовался наличием генов *ica* оперона (*icaAD*, *icaBC*), проявлял гемолитическую, плазмокоагулязную и лецитиназную активность, ферментировал маннит. По результатам спектрофотометрической детекции, выполненной через 24 часа инкубации, *S. aureus* ATCC 29213 обладал низкой способностью к накоплению основного вещества биопленки и умеренной способностью к образованию биомассы биопленки. У клинических штаммов *S. aureus* гены *ica* оперона, ответственные за синтез полисахаридов биопленки, определялись в 89 % случаев (n=41), 11 % штаммов *S. aureus* (n=5) были *ica*-негативными. Среди *ica*-

позитивных штаммов 24,4% (n=10) не проявляли гемолитической активности, у 14,6% (n=6) отсутствовала лецитиназная активность, 12,2% (n=5) не обладали реакцией плазмокоагуляции. Всего определялось 18 штаммов (n=44%) с нарушенными биохимическими свойствами. При этом отсутствие нескольких биохимических идентификационных признаков (гемолитической и лецитиназной или гемолитической активности и реакции плазмокоагуляции) регистрировалось у 3-х изолятов *S. aureus*. Анализ фенотипической оценки продукции биопленки у *ica*-позитивных штаммов *S. aureus* показал высокий уровень образования основного вещества и низкую способность к накоплению биомассы у изолятов с нарушенной биохимической активностью. Из *ica*-позитивных *S. aureus* с сохранным комплексом биохимических признаков (n=23, 56%) 18 изолятов характеризовались низкой или умеренной способностью к синтезу полисахаридного матрикса биопленки, 5 – высокой способностью к накоплению основного вещества. У *ica*-негативных штаммов *S. aureus* определялась высокая фенотипическая способность к формированию матрикса биопленки, что может быть обусловлено наличием альтернативных механизмов формирования биопленки, не зависящих от синтеза межклеточного полисахаридного адгезина и поли-N-ацетилглюкозамина (например, опосредованных синтезом гомолога протеина, ассоциированного с биопленкой, кодируемого геном *bhr*, и т.п.).

Заключение. Нарушение биохимической активности *S. aureus* в виде исчезновения реакции плазмокоагуляции, гемолитической или лецитиназной активности, может явиться идентификационным фенотипическим признаком высокой способности к продукции полисахаридного матрикса биопленки, и служить дополнительным критерием оценки патогенного потенциала *S. aureus*, выделенного из клинического материала пациентов.

Исследование выполнено в рамках финансируемого задания государственной программы научных исследований на 2021–2025 гг. ГПНИ 4 «Трансляционная медицина», подпрограмма 4.2 «Фундаментальные аспекты медицинской науки» по теме «3.20 Изучение патогенного потенциала клинически значимых штаммов бактерий для повышения эффективности системы инфекционного контроля в стационаре».

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Хрусталёв В.В., Хрусталёва Т.А., Стожаров А.Н.</i> Докторская диссертация Евгения Викторовича Барковского – фундамент для отечественной школы структурной биохимии	2
<i>В.Э. Бутвиловский, А.В. Бутвиловский</i> Е.В. Барковский – основатель научной школы молекулярной эволюции и филогенетики в Республике Беларусь	6
<i>Чиркин А.А., Балаева-Тихомирова О.М., Долматова В.В., Семенов И.О.</i> Роль научной школы профессора Е.В. Барковского в изучении протеолиза и его регуляции на кафедре химии и естественнонаучного образования Витебского государственного университета	8
<i>Бутвиловский В.Э., Бутвиловская С.И.</i> Наш первый учитель...10	
<i>А.В. Бутвиловский</i> Путь в науку под руководством профессора Е.В. Барковского	11
<i>Акишина Е.А., Казак Д.В., Дикусар Е.А., Пушкарчук А.Л., Безъязычная Т.В., Поткин В.И., Солдатов А.Г., Кутень С.А., Стёпин С.Г., Низовцев А.П., Килин С.Я.</i> Квантово-химическое моделирование кортизон-фуллереиоловых агентов терапии онкологических заболеваний.....	13
<i>Акишина Е.А., Казак Д.В., Дикусар Е.А., Алексеев Р.С., Бумагин Н.А., Поткин В.И.</i> Синтез новых производных бисакридина с 1,2-азольными фрагментами	15
<i>Акулич В.А., Лапцевич Н.А., Пильщиков А.К., Патапович М.П.</i> Роль бумажной хроматографии в определении концентрации микроэлементов в высохших каплях биологических жидкостей при лазерной абляции.....	17
<i>Акулич В.А., Малец М.А., Патапович М.П.</i> Создание модельных образцов с целью выявления патологических процессов в организме человека методом лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии	19
<i>Акуневич А.А., Хрусталёв В.В., Хрусталёва Т.А.</i> Олигомерное состояние эпидермального фактора роста человека в растворе.20	
<i>Алиева А.М., Жданова А.В., Кривопалова М.А., Глубокова М.Н.</i> Исследование структуры гуминовых кислот пелоидов методом ЯМР ¹³ C	22

<i>Алиева А.М., Кривопалова М.А., Катунина Е.Е.</i> Способ исследования равновесий в системах «ионы металлов-гумусовые кислоты»	23
<i>Антипова Т.А., Николаев С.В., Антипов П.И.</i> ГК-2 – дипептидный миметик 4-й петли NGF проявляет активность на клеточной модели болезни Паркинсона и увеличивает содержание BDNF	25
<i>Ачинович О.В., Хрусталёв В.В., Побойнев В.В., Гуцу А.И., Петрушенко Л.Г., Контява О.В.</i> О формировании элементов вторичной структуры белков при pH=9	27
<i>Ашуров А.А., Гулмамад С., Джонмуродов А.С., Усманова С.Р., Мухидинов З.К.</i> Анализ ИК-Фурье спектров олигосахаридов из растения <i>E. hissaricus</i> , выращенных в разных условиях	29
<i>Барабанова Е.М., Конончик Ю. Ю., Коробчиц А. А.</i> Потенциальная возможность определения концентрации пируваткиназы M2 и HIF1 α в сыворотке крови при ранней диагностике немелкоклеточного рака лёгкого	31
<i>Басалай А.А.</i>	32
<i>Batyuk L.V., Kizilova N.N.</i> Dielectric parameters for cell model calculation	34
<i>Белевич Е.И., Слобожанина Е.И.</i> Влияние ионов лития на перераспределение фосфатидилсерина в мембранах эритроцитов человека	35
<i>Билецкая Е.С., Mahfat Chalaki, Зинчук В.В.</i> Влияние озона на сродство гемоглобина к кислороду в условиях гипоксии и модуляции системы газотрансмиттеров	37
<i>Биричевская Л.Л., Винтер М.А., Булатовский А.Б., Зинченко А.И., Квасюк Е.И.</i>	39
<i>Блоцкая Д.Н., Стубеда Н.А.</i> Фонд нейроактивных аминокислот в отделах головного мозга крыс на фоне энцефалопатии печёночного генеза	41
<i>Борава М.І., Лахвіч Т.Т.</i> Даследаванне <i>in silico</i> узаемазалежнасці структура-біялагічная актыўнасць інгібітараў сінтэзу мікалавых кіслат на аснове маноз	42
<i>Борисевич С.Н., Гришенкова Л.Н., Зайтуллаева Л.Э.</i> Структура острых летальных отравлений в Республике Беларусь в 2016-2019 годах	44

<i>Бурлака А.П., Ганусевич И.И., Бурлака А.А., Лукин С.Н.</i> Супероксид- и NO-зависимые механизмы формирования метастатического микроокружения отдаленных сайтов метастазирования больных колоректальным раком.....	46
<i>Бутвиловский А.В., Терехова Т.Н.</i> Анализ сохранности покрытий из стеклоиономерных цементах при менеджменте кариеса дентина временных зубов путем его приостановления	48
<i>Бутвиловский А.В., Терехова Т.Н., Колб А.В., Бутвиловский В.Э.</i> Сравнительный анализ цветового расстояния при различных способах применения фторида диамминсеребра.....	49
<i>Бутов Д.А., Бутова Т.С.</i> Особенности содержания миелопероксидазы нейтрофилов у больных с туберкулезом легких	51
<i>Viletska Y, Minchenko D.</i> Molecular mechanisms of the development of metabolic complications in obesity	52
<i>Войнаровский В.В., Мартинович Г.Г.</i> Регуляция структурной стабильности эритроцитов с участием окисленных форм гемоглобина: математическая модель и эксперимент.....	53
<i>Вьюн Т.И., Цимох И.Э.</i> Значение биохимических маркеров минеральной плотности костной ткани для диагностики остеопоротических состояний при хроническом панкреатите сочетанном с гипертонической болезнью	55
<i>Галушко В.В., Хрусталёва Т.А., Хрусталёв В.В.</i> Сайты связывания катионов цинка на бактериальных белках	57
<i>Галюк Е.Н., Ринейская О.Н.</i> Математическое моделирование дифференциальных кривых плавления ДНК, модифицированных противоопухолевым препаратом цисплатин и его неактивным аналогом трансплатином.....	59
<i>Гармаза Ю.М., Тамашевский А.В., Слобожанина Е.И.</i> Окислительный стресс в системе внутриклеточной цинковой сигнализации	60
<i>Гладчук А.С., Краснов К.А., Гафт С.С., Александрова М.Л., Рейнюк В.Л., Суходолов Н.Г., Подольская Е.П.</i> Исследование механизмов образования катионов при анализе полипептидов методом МАЛДИ масс-спектрометрии	62
<i>Глинник С.В., Ринейская О.Н., Романовский И.В.</i> Уровень свободных аминокислот в головном мозге крыс с	

экспериментальным гипотиреозом в условиях стрессового воздействия.....	64
<i>Глинская Н.Д., Сидоров А.В.</i> Устойчивость ядерной ДНК в клетках центральных нервных ганглиев моллюска <i>Lymnaea stagnalis</i> в условиях пролонгированного действия пероксида водорода.....	66
<i>Глуткин С.В., Гуляй И.Э., Зинчук В.В., Щурко А.С.</i> Моно- и комбинированный эффект адаптогена на активность процессов перекисного окисления липидов	68
<i>Голуб Н.В., Бычковский П.М., Юрkitович Т.Л., Юрkitович Н.К., Костерова Р.И.</i> Получение и изучение свойств макромолекулярной системы карбоксиметилцеллюлоза-мирамистин.....	69
<i>Гольцев М.В., Гузелевич И.А., Белая О.Н.</i> Метапредметная парадигма в биофизическом образовании.....	71
<i>Gonchar O.O., Klyuchko O.M., Mankovska I.M.</i> N-acetylcysteine neuroprotective effect on restraint-induced oxidative stress in rat brain	73
<i>Горбунов А.Ю., Бабаков В.Н., Подольская Е.П.</i> МАЛДИ мишень, модифицированная TiO ₂ : платформа для изучения окислительной биотрансформации ксенобиотиков.....	74
<i>Горуко И.В., Григорьева Д.В., Живолковская А.Д., Реут В.Е., Соколов А.В., Графская Е.Н., Панасенко О.М., Лазарев В.Н.</i> Влияние антимикробных пептидов медицинской пиявки <i>Hirudo medicinalis</i> на клетки крови человека.....	76
<i>Горшков Д.А., Глубокова М.Н., Жданова А.В., Катунина Е.Е.</i> Антиоксидантные свойства гуминовых веществ из отработанных лечебных грязей	77
<i>Григорьева Д.В., Горуко И.В., Графская Е.Н., Соколов А.В., Панасенко О.М., Лазарев В.Н.</i> Влияние антимикробных пептидов медицинской пиявки <i>Hirudo medicinalis</i> на ферментативную активность миелопероксидазы	79
<i>Грищенко А.Н., Меленец М.А.</i> Оценка внешнего дыхания в условиях ношения медицинской маски.....	81
<i>Гросу В.В.</i> Состояние перекисного окисления липидов в эволюции острого инфекционного миокардита у детей	83

Гросу В.В. Диагностическое значение биомаркеров ремоделирования миокарда при хронической сердечной недостаточности.....	84
Гросу В.В. Диагностическая значимость нейрогормонов при миокардитах осложненных сердечной недостаточностью у детей	86
Губич О.И., Шляхтина Е.А., Копылева Д.В., Джаафар Н.С. Исследование гепатопротекторных и антиоксидантных свойств падуба парагвайского (<i>Plex paraguariensis</i>) на экспериментальной модели хронической алкогольной интоксикации.....	88
Губич О.И., Окорокова С.С., Дуц Д.В., Коваль М.И. Изучение влияния падуба парагвайского (<i>Plex paraguariensis</i>) на углеводный и энергетический обмен лабораторных мышей в экспериментальной модели интенсивной физической нагрузки	90
Гусаковская Э.В., Максимович Н.Е., Трусова И.С., Рыбаков Р.В. Мышечная сила крыс с экспериментальным перитонитом в условиях модуляции NO-синтазной активности	91
Danilovskyi S.V., Kryvdiuk I.V., Minchenko D.O. Regulation of the expression of TP53 and its associated proteins under hypoxia in glioma cells is ERN1 dependent	93
Денисов А.А., Никифоров А.В., Сахарук Д.С., Токальчик Д.П., Пашкевич С.Г., Губкин С.В. Аппаратно-программная система для исследования электрической активности и синаптических процессов в нервной ткани <i>in vitro</i>	95
Довнар Р.И., Васильков А.Ю., Соколова Т.Н., Наумкин А.В. Количественные характеристики антибактериального действия наночастиц серебра.....	97
Долгопалец В.И., Варакса Т.С., Грабовец И.П., Ладыко А.С., Чернов Ю.Г., Шкель Т.В. Изучение биологической активности стероидов с гетероциклическим фрагментом в боковой цепи ...	99
Дыбов О.Г., Воробей А.В., Адамович А.Ю., Шадрина В.К., Нижегородова Д.Б., Старостин А.М., Владимирская Т.Э., Зафранская М.М. Сравнение моделей язвенного колита у крыс	101
Жаворонок И.П., Ерофеева А.-М.В., Семёник И.А., Лисовская М.В. Влияние производных 5-аминолевулиновой кислоты на	

опухолевый рост асцитной карциномы Эрлиха у экспериментальных животных	103
<i>Жоров О.В., Кравчук З.И., Коцюбко В.М., Власов А.П.</i> Набор реагентов для количественного определения фактора свертывания крови VII человека в плазме крови человека и лекарственных средствах хромогенным методом	105
<i>Занкевич В.А., Просвирякова И.А., Гриценко Т.Д.</i> К вопросу влияния загрязнения атмосферного воздуха мелкодисперсными твердыми частицами на показатели заболеваемости детского населения	106
<i>Захарова И.А.</i> Анализ динамики показателя рН раствора местного анестетика в течение 2-х лет	108
<i>Зорин В.П., Зорина Т.Е., Кравченко И.Е., Коблов И.В.</i> Сравнительный анализ структурных и кинетических характеристик комплексов фотосенсибилизатора мета- тетрагидроксифенилхлорина с различными типами	110
<i>Зорина З., Катеренюк И., Мансуров В.А., Трушель Н.А.</i> Особенности течения, обусловленные строением дочерних сосудов подмышечной и плечевой артерий	112
<i>Зорина Т.Е., Кравченко И.Е., Ермилова Т.И., Шман Т.В., Зорин В.П.</i> Термочувствительные липосомальные носители фотосенсибилизаторов	113
<i>Зубрицкая Г.П., Венская Е.И., Климович Н.Н., Скоробогатова А.С., Лукьяненко Л.М., Козарезова Т.И., Слобожанина Е.И.</i> Изменение элементного состава и общей антиоксидантной активности плазмы крови у детей с железодефицитной анемией в процессе терапии	115
<i>Ivanchenko S.V.</i> Features of the clinical course of pneumonia in the elderly	117
<i>Ильюшонок С.К., Подольская Е.П., Горбунов А.Ю., Краснов Н.В., Кельцеева О.А., Мурадымов М.З.</i> Модификация малди мишени металл-афинными сорбентами в ходе электрораспыления в нормальных условиях	118
<i>Краецкая О.Ф., Бабенко А.С., Удовенко Е.В.</i> Изучение особенностей образования in silico комплексов VEGF-A- рецептор	120
<i>Kraetskaya O.F., Babenko A.S., Udoenko E.V.</i> Study of the effect of the structure of pioglitazone derivatives on the main parameters of	

binding to the endothelial growth factor of blood vessels VEGF-A in silico	122
<i>Кажаева Н.М., Гладчук А.С., Подольская Е.П., Мельникова М.В., Шустов Е.Б., Кельцьева О.А., Александрова М.Л., Краснов К.А.</i>	
Исследование биологически активных веществ лиофилизата гонад зеленого морского ежа	123
<i>Канаиш Ю.С., Тамашиэўскі А.У., Гармаза Ю.М., Слабажаніна К.І.</i>	
Функцыянаванне мембраназвязаных транспартных бялкоў MRP1 і RLIP76 у эрытрацытах чалавека пры мадыфікацыі іх рэдокс-статусу <i>in vitro</i> антыаксідантамі рознай прыроды	125
<i>Карамзина Л.А.</i> Речевая коммуникация: насущность слуховой диспансеризации	
	127
<i>Карая Е.В., Рудик Н.В.</i> Особенности когнитивных нарушений у больных сахарным диабетом 2 типа с ишемической болезнью головного мозга	
	128
<i>Кельцьева О.А., Калниня Я.К., Гладчук А.С., Томилин Н.В., Краснова А.А., Краснов К.А., Александрова М.Л., Суходолов Н.Г., Подольская Е.П.</i> Технология Ленгмюра как способ получения металл-аффинных сорбентов на твердых подложках для анализа долгоживущих продуктов метаболизма галогенсодержащих ксенобиотиков алкилирующего действия	
	130
<i>Клыч А.В., Мигас А.А.</i> Конструирование и оценка функциональной активности химерного антигенного рецептора к белку CD19 человека	
	132
<i>Ковалевская Е.В., Минченко А.Г.</i> Исследование влияния цитиколина на экспрессию генов пролиферации и апоптоза в культурах клеток головного мозга	
	133
<i>Kavalenka A.I., Sobolevskaya E.M., Kulahava T.A.</i> Cytotoxic action of graphene nanoplatelets functionalized by serum albumin on leucocytes	
	135
<i>Ковальчук М.П.</i> Расчет факторов риска развития бронхиальной астмы у детей с помощью информационных ресурсов	
	136
<i>Ковганко Н.Н., Слабко И.Н., Ковганко В.Н., Принькова Т.Ю.</i> Синтез и антимикобактериальные свойства полифторзамещенных бензальдоксимов	
	138
<i>Коктыш И.В., Мельникова Я.И., Кулакович О.С., Маскевич С.А.</i> Влияние положительно заряженного полиэлектролита	

полидиаллилдиметиламмония хлорида на сорбционную способность молекул иммуноглобулинов на поверхности твердой фазы, сформированной нанопленками серебра.....	140
<i>Колбас Н.Ю., Колбас Е.А.</i> Антиоксидантная способность антоцианов и их метаболитов	141
<i>Kolesnik D.L., Shliakhtova N.A., Pyaskovskaya O.N.</i> Viability and glucose metabolism of cancer cells with different metastatic potential under deadhesive growth	143
<i>Король Ю.С.</i> Влияние вкусовых раздражителей аминокислотной природы на вариабельность сердечного ритма	144
<i>Косюк М.И., Кравченко И.А.</i> Жирнокислотный состав рапсового масла с разным содержанием эруковой кислоты.....	146
<i>Kosyakova H.V., Goridko T.M., Berdyshev A.G., Dyadyun S.T., Asmolkova V.S., Starosila D.B., Porva Y.I., Chumak A.A., Ribalko S.L., Hula N.M.</i> Prospects for the use of N-stearoylethanolamine as an effective antiviral agent for the pharmacotherapy of herpes infection caused by human herpes simplex virus.....	147
<i>Кохановский А.И., Кохановская Е.Ю.</i> Взаимодействие эмодина с клеточными мембранами	149
<i>Крутько В.К., Мусская О.Н., Кулак А.И.</i> Формирование апатитовых структур на кальцийфосфатных биоматериалах <i>in vitro</i> в среде SBF	150
<i>Кудря А.А.</i> Определение уровня такролимуса в крови у реципиентов почечного трансплантата в отдаленном периоде после трансплантации.....	152
<i>Кулагова Т.А., Голубева Е.Н., Борисов К.Н., Екимчик В.В., Соболевская Е.М., Коваленко Е.И.</i> Графеновые квантовые точки как перспективные наноструктуры для исследования окислительно-восстановительных процессов в нейтрофилах..	154
<i>Кулик В.К., Голубева Е.Н., Кулагова Т.А., Кужир П.П., Максименко С.А.</i> Моделирование радиационного повреждения опухолевых клеток при использовании бор-нитридных квантовых точек в бор-нейтронной терапии.....	156
<i>Курьян Н.Н.</i> Особенности накопления химических элементов в клубнях картофеля в зависимости от типа почвы	158
<i>Kukharensko L.V., Fuchs H., Goltsev M.V.</i> Atomic force microscopy use in apoptosis investigation	159

Лазовская О.И., Леонтьев В.Н. О применении метода флуоресцентной спектроскопии для определения остаточного количества билирубина в препаратах альбумина	161
Лазюка Ю.В., Потапенко В.В., Харченко Е.В., Скроцкая О.И. Использование сахаромикетов для биосинтеза наночастиц серебра.....	162
Latushka S.I., Latushka T.V., Zhaludkevich D.V. Crystal structure of bismuth ferrite based compounds prepared by sol-gel method.....	164
Лещенко В.Г., Минченя Н.Т., Инсарова Н.И., Шеламова М.А. Устройство для определения твердости оттисковых безводных эластомеров	165
Литвинова Т.М., Косенко И.А., Церковский Д.А., Демина С.А. Оценка влияния моно- и полихимиотерапии на рост экспериментальных опухолей <i>in vivo</i>	166
Литвинова Т.М., Сиренко С.Н., Перхова О.А., Зубарик Н.А., Пранович И.М. Первый этап пилотного популяционного скрининга рака шейки матки в г. Минске	168
Логвинов И.О., Николаев С.В., Тарасюк А.В., Сазонова Н.М., Антипов П.И., Антипова Т.А., Гудашева Т.А. Оценка пролиферативной активности дипептидных миметиков 1-й, 2-й и 4-й петель мозгового нейротрофического фактора <i>in vitro</i> ...	169
Логинова О.П., Шевченко Н.И. Антигены плесневых грибов в диагностике аспергиллеза	171
Логинова О.П., Шевченко Н.И. Кальпротектин – неинвазивный биомаркер воспалительного процесса кишечника	173
Любас Н.М., Искра Р.Я., Стадницкая Н.Е., Меньша Н.Я., Гавриляк В.В., Лубенец В.И. Антиоксидантная активность тиосульфатов в опытах <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>	175
Макаревич Д.А., Рябцева Т.В., Ковганко Н.Н., Принькова Т.Ю., Штемплук Р.Г. Неспецифическая адсорбция ионов плазмы крови иммобилизованными нанокремнеземными лигандами	176
Макаревич Д.А., Рябцева Т.В., Ковганко Н.Н., Принькова Т.Ю., Штемплук Р.Г. Суспендированные и ковалентно связанные нанокремнеземы в полиакриламидном геле: сравнительный анализ гемосовместимости <i>in vitro</i>	178
Малик Н.В. Особенности течения транзиторных ишемических атак у пациентов с пролапсом митрального клапана в общеклинической практике	179

<i>Matvyeyeva S.L.</i> Immunological parameters in tuberculosis patient with diabetes militus and autoimmune thyroiditis with subclinical hypothyroidism	180
<i>Матвеенков М.В.</i> Эффекты снижения метаболической активности некоторых опухолевых линий клеток человека при их культивировании с экстрактами из <i>Ramalina pollinaria</i> и <i>Evernia prunastri</i>	182
<i>Мельникова Я.И., Коктыш И.В., Кулакович О.С., Маскевич С.А.</i> Изучение сорбционных характеристик молекул иммуноглобулинового типа фолдинга на поверхности нанопленок серебра, покрытых полилизинном	184
<i>Minchenko O.H., Tsymbal D.O., Minchenko D.O., Khita O.O., Hnatiuk O.S., Krasnytska D.A., Ratushna O.O.</i> Endoplasmic reticulum stress plays an important role in tumor growth and chemoresistance	185
<i>Михальчук А.Л.</i> N-ацилэтаноламины — биогенные агенты поддержания гомеостаза организма человека и животных в норме и восстановления при патологиях и возрастных изменениях.....	187
<i>Михаленко В.А., Михалёнок П.А., Кохановская Е.Ю., Кохановский А.И.</i> Сравнение экстракции фенольных соединений из растительного сырья разными экстрагентами.....	189
<i>Моисеева А.А., Присный А.А., Скворцов В.Н.</i> Влияние применения фторхинолонов на содержание гемоглобина в крови цыплят	190
<i>Монька Н.Я., Бобало И.Ю., Комаровская-Порохнявец О.З., Лубенец В.И.</i> Антимикробная активность некоторых алкилтиосульфанилатов	192
<i>Мурашко Д.И., Таганович А.Д.</i> Количественные взаимоотношения хемокина CXCL8 и его рецептора CXCR1 в крови пациентов с немелкоклеточным раком легкого	194
<i>Мусская О.Н., Крутько В.К., Кулак А.И.</i> Твердеющие композиции на основе фосфатов кальция и магния для 3D-печати костнозамещающих биоматериалов.....	195
<i>Мухарлямова А.З., Тремасова А.М., Фицев И.М.</i> Защитное влияние витамина А при воздействии на организм афлатоксинов	197

<i>Николаев С.В., Колясникова К.Н., Логвинов И.О., Кузнецова Е.А., Антипова Т.А.</i> Нейропротекторное антигипоксическое действие циклопролилглицина и замещенных глипролинов на модели химической гипоксии в культуре гиппокампальных клеток линии НТ-22	199
<i>Никоненко Н.А., Иванов А.А.</i> Анализ ИК спектров водорастворимых эфиров целлюлозы с применением математических методов обработки спектральных данных.....	201
<i>Новаковская С.А., Арчакова Л.И.</i> Реорганизация ультраструктуры печени при хронической алкогольной интоксикации в эксперименте	202
<i>Новаковская С.А., Арчакова Л.И.</i> Структурные особенности ремоделирования миокарда при сахарном диабете и ишемии в эксперименте	204
<i>Онищенко А.И., Прокотюк В.Ю., Ефимова С.Л., Максимчук П.О., Ткаченко А.С.</i> Наночастицы ортованадата гадолиния-итрия ингибируют липополисахарид-индуцированную генерацию активных форм кислорода.....	206
<i>Отеллин В.А., Хожай Л.И., Шишко Т.Т.</i> Влияние перинатальной гипоксии на мозг новорожденных крыс и возможность фармакологической коррекции ее последствий.....	208
<i>Panada J.U., Klopava V.A., Kulahava T.A., Faletrov Y.V., Frolova N.S., Shkumatov V.M.</i> Toxicity of antiproliferative indole-steroid and 5-hydroxyindole in a yeast model system.....	209
<i>Пасиешвили Т.М., Пасиешвили Л.М., Железнякова Н.М., Ковалева О.Н.</i> Марганец-супероксиддисмутаза в реализации второй фазы антиоксидантной системы у лиц молодого возраста с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью и аутоиммунным тиреоидитом	211
<i>Побойнев В.В., Кордюкова Л.В., Хрусталёв В.В., Хрусталёва Т.А.</i> Структурная нестабильность подмембранной части гемагглютинирина вируса гриппа типа А	212
<i>Polish N.V., Yaremkevych O.S., Karkhut A.I., Polovkovych S.V., Marintsova N.G., Zhurakhivska L.R., Karpenko O.V.</i> Antioxidant activity of compositions based on aminopyrazole derivatives of naphthoquinone and biosurfactants.....	214

<i>Полулях О.Е., Митюкова Т.А., Марчук С.А., Авласенок И.Ю., Басалай А.А.</i> Уровень мозгового нейротрофического фактора (BDNF) в сыворотке крови у детей с аутизмом	216
<i>Полуян О.С., Костюк С.А., Бенько А.Н., Герасименко М.А.</i> Методические особенности разработки мультиплексной in-house тест-системы для выявления р-РНК <i>Chlamydia pneumoniae</i> и <i>Mycoplasma pneumoniae</i> в биоптатах коленного сустава	218
<i>Полуян О.С., Костюк С.А., Бенько А.Н., Герасименко М.А.</i> Технологические этапы получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами	220
<i>Пономарёв В.С.</i> Влияние препарата с гепатопротекторной активностью «Гепатон» на показатели крови лабораторных животных	222
<i>Пономарёв В.С.</i> Влияние препарата с гепатопротекторной активностью «Гепатон» на показатели мочи лабораторных животных	223
<i>Пономарёв В.С.</i> Влияние препарата с гепатопротекторной активностью «Гепатон» на биохимические показатели мочи у собак	224
<i>Попова О.С.</i> Влияние фитосорбционного комплекса на биохимический статус организма телят при бронхопневмонии	226
<i>Попова О.С.</i> Влияние фитобиотического комплекса с <i>Saccharomyces Boulardii</i> на количество общего белка в крови цыплят	227
<i>Попова О.С.</i> Влияние фитосорбентов на биохимические показатели крови крупного рогатого скота	229
<i>Потапович А. И., Яссен А. Т., Костюк В. А.</i> Природный химиопрофилактический агент куркумин может функционировать как эффективный УФ-фотосенсибилизатор	230
<i>Пристромова Ю.И., Юркишович Т.Л., Голуб Н.В., Соломевич С.О., Костерова Р.И.</i> Исследование процессов получения и химического гидролиза полиальдегиддекстрана в опытах <i>in vitro</i>	232
<i>Пристupa В.Ч., Сперанская Е.Ч., Сперанская И.С.</i> Оценка состояния перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы при остром отравлении азалептином	234

<i>Прохорова В.И., Красный С.А., Державец Л.А., Цырусъ Т.П., Грачев Ю.Н., Готько О.В., Грицкова О.А.</i> Информативная значимость факторов роста VEGF и EGF при опухолевой прогрессии глиальных опухолей головного мозга	235
<i>Pushkarev Yu., Saitarly S., Kravchenko I.</i> The influence of hyaluronic acid molecular mass on the rheological properties of bases for soft dosage forms.....	237
<i>Ржеусский С.Э., Степин С.Г., Дикусар Е.А., Манькова Ю.С.</i> Синтез и исследование антимикробной и противовирусной активности иодметилата 4-бензоилпиридина	238
<i>Рутковская Ж.А., Котович И.Л., Таганович А.Д.</i> Изменения показателей системы «оксиданты-антиоксиданты» в эритроцитах новорожденных морских свинок в динамике гипероксии	240
<i>Рябцева Т.В., Таганович А.Д., Макаревич Д.А.</i> Молекулярное моделирование олигопептидов для связывания фактора некроза опухолей-альфа	242
<i>Саваневская Е.Н., Чумак А.Г.</i> Активность афферентных волокон висцеральных и соматических нервов в условиях гипергликемии.....	244
<i>Савельев С.В., Морозова Л.А.</i> Исследование зависимости физических свойств водных растворов от концентрации базовых веществ.....	246
<i>Савко А.И.</i> Параметры респираторной активности митохондрий печени крыс при воздействии хлорноватистой кислоты в присутствии кверцетина и его комплекса с 2-гидроксипропил- β - циклодекстрином	248
<i>Садовничук М.Д., Скоробогатова А.С.</i> Элементный состав периферической крови человека в зависимости от пола.....	249
<i>Седакова В.А., Клебанов А.В., Клебанова Н.А.</i> Короткоцепочечные жирные кислоты как маркёры метаболической активности кишечной микрофлоры.....	251
<i>Семенкова Г.Н., Адзерихо И.Э., Яцевич О.Н., Амазгбери Н.В., Новицкий И.А., Лукьянова К.А., Мащёнский В.В., Владимирская Т.Э.</i> Участие нейтрофилов в формировании оксидативного стресса при легочной артериальной гипертензии	253

<i>Сёмченко И.М., Пронорович О.Н. Макарова О.В.</i> Изучение нуждаемости в стоматологической помощи детей и подростков с ограниченными физическими возможностями.....	254
<i>Сивец Г.Г., Сивец А.В., Белько А.В.</i> Синтез N-гликозиламинов и изучение их биологической активности	256
<i>Скоростецкая Л.А., Герловский Д.О., Литвинко Н.М.</i> Определение фосфолипидной активности спермоплазмы больных бесплодием в качестве возможного диагностического подхода к установлению мужского бесплодия	258
<i>Sliusar M.Y., Rudnytska O.V., Khita O.O., Minchenko D.O., Yefimova Y.V., Minchenko O.H.</i> Effect of single-walled carbon nanotubes on the expression of proliferation and apoptosis related genes in normal human astrocytes	259
<i>Соколова И.Б.</i> Возможности применения мезенхимных стволовых клеток для коррекции церебральной микроциркуляции у нефрэктомизированных крыс	260
<i>Сперанская Е.Ч., Пристupa В.Ч., Прохорова Т.В.</i> Новые методические подходы к диагностике нарушений кислород транспортной функции крови	262
<i>Стадниция Н.Е., Брыда А.Р.</i> Влияние циркуляционной экстракции с постоянным нагревом реакционной среды на экстракцию флавоноидов душицы травы.....	264
<i>Станишевская П.А., Крымская Т.П., Матвейчук Ю.В.</i> Разработка метрологически аттестованной спектрофотометрической методики определения фторурацила в воздухе рабочей зоны	265
<i>Старовойтова С.А.</i> Метабиотики, как новый подход в пробиотикотерапии.....	266
<i>Stasevych M.V., Zvarych V.I., Halenova T.I., Savchuk O.M.</i> Search for new antithrombotic compounds among sulfur-containing acetamide derivatives of 9,10-anthraquinone	268
<i>Степин С.Г., Ржеусский С.Э., Дикусар Е.А., Яблонская О.В., Милевская К.В.</i> Синтез и исследование бактерицидной и противогрибковой активности азометинового производного о- ванилина и новокаина.....	270
<i>Степин С.Г., Ржеусский С.Э., Слабин В.К., Милевская К.В.</i> Синтез и исследование антимикробной активности гидрохлорида 1-диэтиламино-3-фенилпропина-2	271

Степура Т.Л., Зинчук В.В. Модификация сродства гемоглобина к кислороду оксидом азота как механизм воздействия физико-химических факторов физиотерапии	273
Столярова М.В., Валькович Э.И. Гистохимическое исследование кишечного эпителия <i>Saccoglossus mereschkowskii</i> (Enteropneusta, Hemichordata)	275
Стубеда Н.А., Блоцкая Д.Н. Нейроактивные аминокислоты в отделах головного мозга крыс при остром нарушении мозгового кровообращения	277
Сутько И.П., Шляхтун А.Г., Радута Е.Ф., Богдевич Е.В., Каспер Е.В., Семененя И.Н. Влияние активаторов рецепторов PPAR на потребление этанола у крыс в условиях свободного выбора ...	278
А.А. Сутягин Исследование возможности связывания α -аминокислот молекулой β -циклодекстрина методом формольного титрования	280
Tkachenko H., Kurhaluk N., Osmólska U., Kasiyan O., Yurchenko S. HCl-induced hemolysis in the patients with disturbance of thyroid function	282
Tkachenko H., Kurhaluk N., Osmólska U., Kasiyan O., Yurchenko S. Lipid profile and lipid peroxidation biomarker in the blood of patients with subclinical hypothyroidism	284
Таболитч А.А., Ляшенко Л.С., Комар Е.И. Физико-химические свойства полиметинового красителя в модельных средах с грамположительными бактериями	286
Таганович А.Д., Ковганко Н.Н., Прохорова В.И., Державец Л.А., Готько О.В., Колб А.В., Мурашко Д.И. Комплекс белков в периферической крови как инструмент диагностики ранних стадий плоскоклеточного рака легкого	288
Церахава М.М., Шчарбін Д.Г., Брышэўска М., Цю Дж., Мажараль Ж.-П., дэ ла Мата Ф.Х., Гомез Р. Параўнанне ўплыву hard- і soft-наначасціц на малекулы ферментаў на прыкладзе фосфаліпазы А2	289
Терехова Т.Н., Матвеев А.М., Близнюк В.В., Бутвиловский А.В. Анализ обращений детского населения к стоматологу с целью профилактических осмотров.....	291
Терпинская Т.И., Осипов А.В., Лукашевич В.С., Цетлин В.И., Уткин Ю.Н. Роль циклооксигеназ в противовоспалительном эффекте никотина	292

<i>Терпинская Т.И., Янченко Т.Л., Полукошко Е.Ф., Радченко А.В., Грибовская В.А., Артемьев М.В.</i> Участие протеинкиназ в поглощении клетками флуоресцентных наночастиц с полимерной оболочкой.....	294
<i>Ткаченко А.С., Посохов Е.А., Наконечная О.А., Онищенко А.И.</i> Изучение физико-химических особенностей гидрофобного региона фосфолипидного бислоя мембран лейкоцитов, инкубированных с высокими концентрациями пищевой добавки Е407а	296
<i>Токальчик Д.П.</i> Нейропротективная роль $\alpha 2$ -адренорецепторов в гиппокампе в условиях моделирования гипоксии <i>in vitro</i>	298
<i>Толченникова В.В., Никольская К.А., Кондашевская М.В.</i> Нейрогуморальная сопряженность при обучении в многоальтернативном лабиринте	300
<i>Томашиёва А.Ю.</i> Ультразвуковая стандартизация исследований желудка	301
<i>Тураева С.К., Заломаева Е.С., Никитина Е.А.</i> Анализ динамики краткосрочной и среднесрочной памяти у <i>Drosophila melanogaster</i> с нейроспецифическим подавлением экспрессии гена <i>limk1</i>	303
<i>Турко М.С., Крымская Т.П., Матвейчук Ю.В.</i> Спектрофотометрическое определение гепарина натрия в воздухе рабочей зоны	305
<i>Усманова С.Р., Шерова З.У., Джонмуродов А.С., Бобокалонов Дж.Т., Мухидинов З.К.</i> Количественное изучение комплекса белков молочной сыворотки и яблочного пектина методом капиллярного электрофореза	306
<i>Усольцев К.В., Сафина Р.Ф., Горбунова М.Е., Сальманова Г.Р., Шангараев Р.И., Фаизов Т.Х., Хаммадов Н.И.</i> Изучение возможности использования синтетических пептидов для обнаружения присутствия вирионов возбудителя энзоотического лейкоза в организме человека и животных.....	308
<i>Фандо Г.П.</i> Исследование методов синтеза 13,14-секо аналогов тестостерона	309
<i>Федоров В.П., Федоров Н.В.</i> Состояние дегидрогеназ нейронов коры головного мозга при первичной алкогольной интоксикации	311

<i>Федотов А.Д., Гафт С.С., Кельцьева О.А., Александрова М.Л.</i> Оценка биодоступности D-маннозы при внутрижелудочном введении	313
<i>Хадарович А.Ю., Калиновский А.А., Тузиков А.В.</i> Предсказание структур димерных белковых комплексов с помощью нейронных сетей глубокого обучения	314
<i>Ханчевский М.А., Квасюк Е.И.</i> Молекулярный докинг бривудина с кристаллической структурой мультимедикаментозного клинического изолята-769 ВИЧ-1 (4NKK)	316
<i>Ханчевский М.А., Квасюк Е.И., Зинченко А.И.</i> Молекулярный докинг между кристаллической структурой плацентарной ароматазы цитохрома P450 человека и 5'-фосфатидил-6-тио-2'- дезоксигуанозином	318
<i>Хархаль А.Н., Титов Л.П., Дормешкин Д.О.</i> Характеристика сайтов замен аминокислот и 3D моделей ферментов, гены которых используются в MLST менингококков.....	320
<i>Хлудеев И.И., Самцов М.П., Тарасов Д.С., Белько Н.В.</i> Влияние структуры полиметиновых красителей в составе комплексов с белками сыворотки крови на процессы фотоиндуцированной деградации	322
<i>Хожай Л.И.</i> Постнатальный нейрогенез в субвентрикулярной зоне и возможная коррекция нарушений архитектоники элементов тормозной ГАМКергической системы после воздействия перинатальной гипоксии	324
<i>Хожай Л.И.</i> Реорганизация сети ГАМКергических интернейронов, экспрессирующих парвальбумин, в неокортексе у крыс в неонатальный период после воздействия гипоксии, и возможность фармакологической коррекции их численности	325
<i>Хотько Е.А., Макаревич В.В., Пикуза А.Р.</i> Роль полиморфизма гена IL-10 при хронической обструктивной болезни легких ...	327
<i>Хотько Е.А., Таганович А.Д., Харлап А.Ю.</i> Полиморфизм генов CCL5 и CXCR4 при хронической обструктивной болезни легких	328
<i>Хрусталёв В.В., Ясевич Е.Г., Бондарь Ю.А., Хрусталёва Т.А.</i> Алгоритм ХАИ для оценки характера взаимодействий одноатомных катионов и анионов с белками.....	330

<i>Хрусталёв В.В., Хрусталёва Т.А., Попинако А.В., Блажко В.В.</i> Особенности аминокислотного состава <i>Pyrococcus furiosus</i> обуславливают повышенную устойчивость альфа-спиралей и бета-тяжей.....	332
<i>Хрусталёва Е.К., Король С.М.</i> Дифференцированный подход к снятию гипертонических кризов у детей с первичной артериальной гипертензией	334
<i>Хрусталёва Е.К., Король С.М.</i> Результативность применения суточного мониторингирования артериального давления у детей с артериальной гипертензией	336
<i>Khrustaleva T.A., Rudnichenko Yu.A., Basalay A.A., Parmar H.S., Das A.K., Ghosh T., Lukashevich V.S.</i> Antitumor effects of mitochondrial targeted peptide in the solid form of Ehrlich's carcinoma	337
<i>Цыганков В.Г., Головач Т.Н., Курченко В.П., Журихина Л.Н., Бондарук А.М.¹</i> Антирадикальные и антигенные свойства клатратов циклодекстрина с продуктами ферментативного гидролиза сывороточных белков коровьего молока	339
<i>Цыганков В.Г., Курченко В.П., Журихина Л.Н., Бондарук А.М.</i> Получение и токсиколого-гигиеническая оценка соединений включения циклодекстрина с витаминами.....	341
<i>Чалисова Н.И., Рыжак Г.А.</i> Влияние антител к рецепторам фактора роста нервов NGFRp75 на действие L-аминокислот в органотипической культуре ткани	343
<i>Чаплинская Е.В., Гурбо Т.Л.</i> Значимость расчета и оценки значения размера эффекта при статистической обработке антропометрических данных	344
<i>Челнокова И.А., Стародубцева М.Н.</i> Влияние облучения крови мышы рентгеновским излучением в дозе 0,5 Гр на упругие свойства экзосом из её плазмы	346
<i>Чёрная М.Н.</i> Респираторная активность митохондрий печени крыс при воздействии <i>трет</i> -бутилгидропероксида.....	348
<i>Чудиловская Е.Н.</i> Активность тиреопероксидазы в щитовидной железе крыс на фоне влияния высококалорийной диеты и кратковременного стресса.....	349
<i>Шахаб С.Н., Ханчевский М.А., Трифонова А.Р.</i> Физическая сорбция молекулы сульфорофана и нанотрубки CNT (8,0-10)	351

<i>Шевляков В.В., Баранов С.А., Крыж Т.И.</i> Влияние на биохимические показатели крови лабораторных животных субхронического ингаляционного воздействия белоксодержащих субстанций органической пыли.....	352
<i>Шевченко Н.И., Логинова О.П.</i> Биомаркеры поражений слизистой оболочки желудка у пациентов с сахарным диабетом	354
<i>Шеламова М.А., Инсарова Н.И.</i> Анализ и оценка влияния различных типов шока на работу сердца.....	356
<i>Шишко В.И., Шульга Е.В., Гуляй И.Э., Милош Б.А.</i> Механизмы антиоксидантной защиты при синдроме обструктивного апноэ/гипопноэ во сне	357
<i>Шишко Т.Т.</i> Изменение в ГАМКергической системе неокортекса в ювенильном и препубертатном периодах у крыс после острой перинатальной гипоксии и возможность их фармакологической коррекции	359
<i>Шляхтун А.Г., Радута Е.Ф., Сутько И.П., Каспер Е.В., Богдевич Е.В., Семененя И.Н.</i> Нейропротекторное действие комплексного средства на основе сукцината натрия, N-ацетил-L-цистеина и ресвератрола при тяжелой алкогольной интоксикации у крыс	360
<i>Шляхтун А.Г., Радута Е.Ф., Сутько И.П., Каспер Е.В., Богдевич Е.В., Севко А.А.</i> Скрининг молекулярных мишеней, обуславливающих гипогликемическое действие лупановых тритерпеноидов	362
<i>Yuzkiv S.L., Konechna R.T.</i> Prediction of biological activity for <i>Ficaria verna</i> compounds	364
<i>Якимович М.В.</i> Регуляция мембранного потенциала митохондрий печени крыс кверцетином и его комплексом включения с 2-гидроксипропил- β -циклодекстрином при воздействии хлорноватистой кислоты.....	365
<i>Ярец Ю.И., Мартинков В.Н., Шевченко Н.И.</i> Особенности проявления биохимических идентификационных признаков у клинических штаммов <i>S. aureus</i> , образующих биопленку	367

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ КАК ОСНОВА СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЫ

Тезисы докладов участников Международной научной конференции,
посвященной 75-летию
со дня рождения профессора Е.В. Барковского
(Минск, 21 мая 2021 г.)

Под редакцией В. В. Хрусталёва, А. Д. Тагановича, Т. А. Хрусталёвой

Ответственный за выпуск В. В. Хрусталёв
Компьютерная верстка Т. А. Хрусталёва
Корректор Е.Ю. Кохановская

Усл. печ. л. 22,32. Уч.-изд. л. 22,35. Тираж 10 экз.

Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.